



Simpósio de Ciência, Tecnologia e Inovação em Biotecnologia



Simpósio de Ciência, Tecnologia e Inovação em Biotecnologia
(2021: Niterói, RJ).

Simpósio de Ciência, Tecnologia e Inovação em Biotecnologia, 13 a
15 de abril de 2021 [Recurso eletrônico] / Marcelo Abrahão Strauch
(Org.) – Niterói: Instituto Vital Brazil, 2022.

ISBN: 978-85-88231-15-3

1. Biotecnologia. 2. Patrimônio Genético. 3. Toxinologia. 4.
Farmacologia. 5. Covid-19. I. Título.

CDD: 660.6

Prefácio

Desde sua primeira edição, o Simpósio de Biotecnologia estimula o compartilhamento de informações e a construção de conhecimento em sintonia com os interesses do país e do mundo, com foco na definição de estratégias de aplicabilidade das pesquisas biotecnológicas no desenvolvimento de fármacos, produtos e serviços para saúde.

Reunindo pesquisadores de renome, a sexta edição do Simpósio recebeu o nome oficial de “Simpósio On-Line de Ciência, Tecnologia e Inovação em Biotecnologia” e aconteceu entre os dias 13 e 15 de abril de 2021. O evento visou compartilhar informações sobre o desenvolvimento de fármacos, os estudos sobre venenos animais, a importância dos Núcleos de Inovação Tecnológica e o soro anti-COVID, desenvolvido pelo Instituto Vital Brazil e seus parceiros. O simpósio, aliás, privilegiou os debates a respeito do vírus Sars-CoV-2, causador da Covid-19.

As palestras foram transmitidas ao vivo pelo canal do YouTube do Instituto Vital Brazil – e ainda estão disponíveis no canal¹, com convidados nacionais e internacionais, que compartilharam suas experiências nas áreas de inovação tecnológica, desenvolvimento de novos medicamentos e produtos e processos que englobem as ciências. O evento teve mais de 3 mil visualizações, ao todo. Marca registrada desse encontro, a multidisciplinaridade é o caminho facilitador que permite transformar ideias em inovações, permitindo o avançar da humanidade.

Este volume reúne todos os trabalhos técnico-científicos submetidos e aprovados, bem como os apresentados pelos palestrantes. É o resultado da seleção feita pelo Comitê Técnico-Científico do evento. Como praxe do Simpósio, os melhores trabalhos apresentados foram premiados.

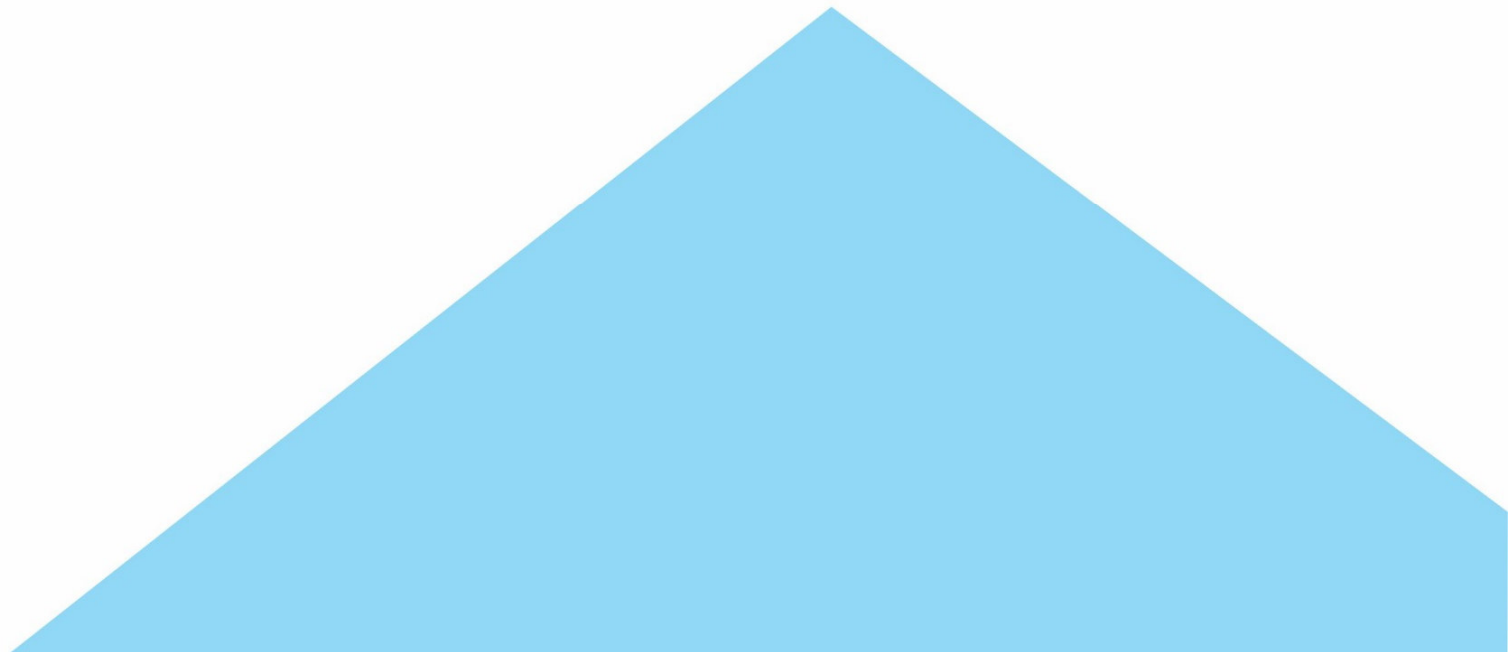
Você pode obter mais informações sobre o evento em <http://www.vitalbrazil.rj.gov.br/biotecnologia>

Esperamos que todos contribuam, de alguma forma, com o engrandecimento da ciência.

¹ O evento inteiro pode ser conferido pelo link https://www.youtube.com/playlist?list=PLvdAV-MmnvsxE_HKFaCGhm4dsBXyrJ6YS



PROGRAMAÇÃO



Dia 13 de abril de 2021

14h: Abertura – Marcia Antunes (Diretora Industrial do Instituto Vital Brazil)

www.youtube.com/watch?v=OoiQeDhMNQw

14h30: O papel dos NITs na biotecnologia - Ana Claudia Oliveira (ABIFINA)

www.youtube.com/watch?v=xSykZGZZg-4

15h: O acesso ao patrimônio genético e a biotecnologia - Danilo Ribeiro de Oliveira (UFRJ)

www.youtube.com/watch?v=mKI-WZjohM4

15h30: Ações Estratégicas em Ciência, Tecnologia e Inovação - Marcelo Morales (MCTI)

www.youtube.com/watch?v=ha78XVUHY3U

Dia 14 de abril de 2021

14h: A Synthetic Metalloproteinase Inhibitor Derivative From Natural Naphthoquinones - Paulo Melo (UFRJ)

www.youtube.com/watch?v=jhD3Ot3tg-E

14h30: Uso de compostos obtidos de venenos de serpentes como perspectiva terapêutica para o controle da Encefalomielite Autoimune Experimental: Propriedades imunomoduladoras potencializadas pela sílica Sba-15 - Gisele Picolo (Instituto Butantan)

www.youtube.com/watch?v=9qIEkefWXw

15h: Biotecnologias da reprodução animal e sua aplicação na saúde humana - Angelo Burla (UENF)

www.youtube.com/watch?v=n32eqeVj1Co

15h30: Peptídeos Naturais e Sintéticos Derivados de Peçonhas de Aracnídeos, como Fontes de Novos Fármacos - Maria Elena de Lima (Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte)

www.youtube.com/watch?v=3rkfvjNg4GE

Dia 15 de abril de 2021

14h: Vacina de spray nasal para a COVID-19 - Marco Antonio Stephano(USP)

www.youtube.com/watch?v=nzdEJdJnqiU

14h30: Mesa Redonda: Desenvolvimento dos soros, vacinas e medicamentos para combate à Covid-19 - Luis Eduardo Ribeiro da Cunha (Instituto Vital Brazil), Marcelo Strauch (Instituto Vital Brazil), Tulio Lima (UFRJ), Jerson Lima (UFRJ)

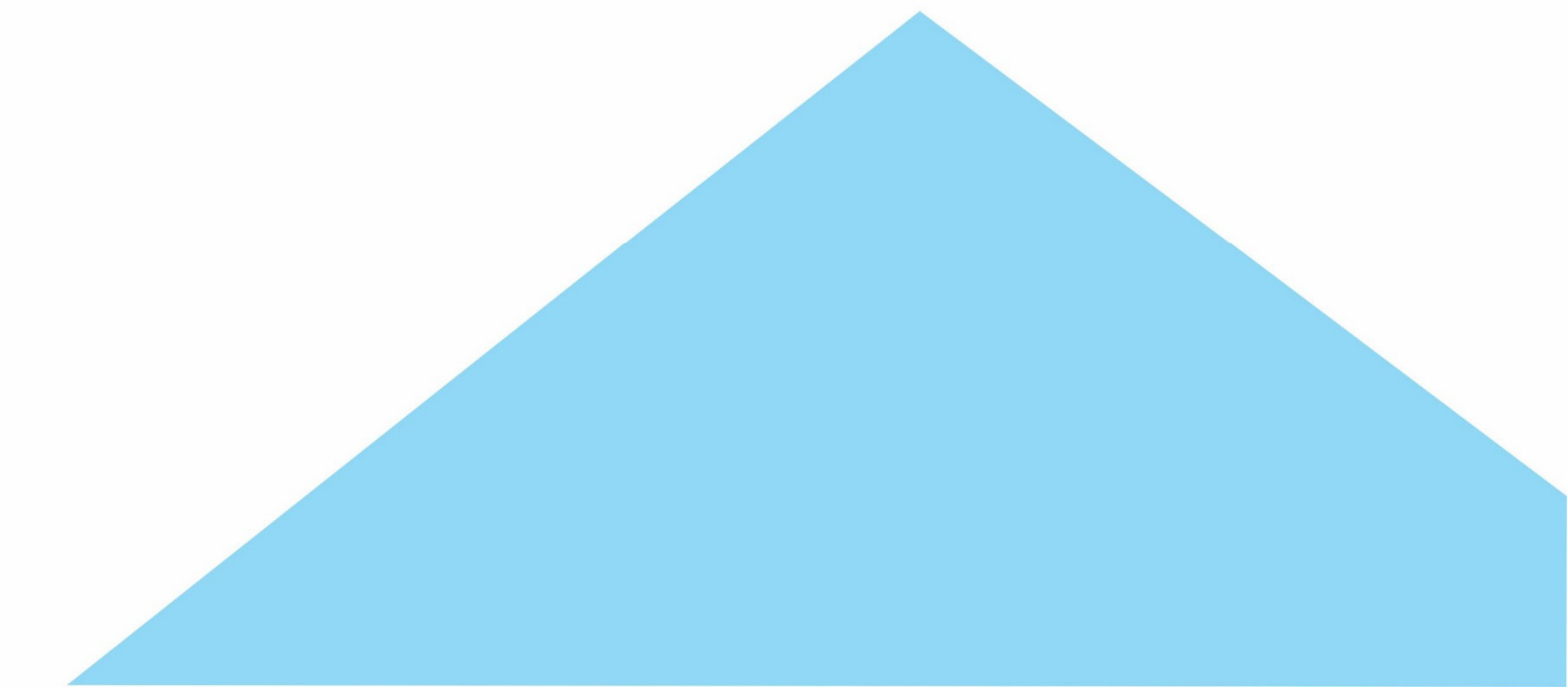
www.youtube.com/watch?v=VVbjR-Oqn2U

16h30: Encerramento - Marcelo Strauch (Instituto Vital Brazil) -

www.youtube.com/watch?v=VVbjR-Oqn2U

A large, dark blue geometric shape that starts as a horizontal line at the top and tapers to a point, forming a large downward-pointing triangle.

RESUMOS DAS PALESTRAS

A large, light blue geometric shape that starts as a horizontal line at the bottom and tapers to a point, forming a large upward-pointing triangle.



Ana Claudia Dias de Oliveira

Doutora em Biotecnologia Vegetal pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Bióloga formada pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), tem experiência nas áreas de Biotecnologia, Propriedade Intelectual, Inovação e Biodiversidade. Atualmente, é consultora autônoma de entidades e empresas como Fiocruz, CBPF, INT, LNCC, CETEM, UFRJ, Phytobios, Centroflora, entre outras, e professora colaboradora no Curso de Especialização em Gestão da Inovação da Fiocruz.

E-mail de contato: consultoria.tecnica@abifina.org.br

O papel dos Núcleos de Inovação Tecnológica (NITs) na biotecnologia

Ana Claudia Dias de Oliveira

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do planeta. Apesar dessa característica, a utilização e transformação de tais ativos naturais na geração de riquezas, especialmente através da promoção das biotecnologias, ainda pode ser considerada modesta frente ao potencial nacional. De acordo com seus recursos naturais e seu grau de desenvolvimento tecnológico, os países apresentam interesses específicos, e muitas vezes divergentes, na proteção à biodiversidade e às inovações biotecnológicas. Especialmente a partir do avanço da biotecnologia, a questão da biodiversidade deixa de ser meramente ecológica, tornando-se tema central nos debates econômicos e científicotecnológicos entre nações. As condições brasileiras para pesquisa e desenvolvimento da biotecnologia são promissoras, seja pela produção científica seja pelo fato de o Brasil ser o país com a maior biodiversidade do mundo. Entretanto, o desenvolvimento acadêmico e industrial no tema ainda é lento. Há volume crescente de produção científica, mas ainda há escassez de inovações. A cultura de propriedade intelectual ainda é incipiente, há pouco incentivo à fixação de doutores em empresas, baixo envolvimento de universidades e empresas com a cultura patentária e um volume pouco expressivo de projetos cooperativos. A posição fragilizada do Brasil pode ser, em parte, explicada pelo fato de a Lei 9.279/96 (LPI) vedar o patenteamento de seres vivos e partes dos mesmos. Entretanto, atualmente é possível considerar que a interpretação dessa vedação não é tão restritiva assim, sendo permitido o patenteamento de produtos biotecnológicos, desde que não sejam mera diluição, no caso de extratos, que não sejam encontrados na natureza e que preencham todos os requisitos e condições de patenteabilidade. De acordo com levantamento feito pelo INPI em março de 2021, o tempo médio de decisão na área de biotecnologia, contado a partir do depósito, era de aproximadamente 9 anos. Na área de biofármacos esse tempo aumenta para quase 10 anos. Um setor onde as inovações surgem a cada dia, surge a necessidade ainda mais urgente de apoio pelos Núcleos de Inovação Tecnológica (NITs). Os NITs podem apoiar de diversas formas, através da busca, do apoio e da disseminação de conhecimento, através da promoção de uma cultura de inovação permanente e através da transformação do conhecimento científico em resultados práticos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi analisar as fragilidades relacionadas ao ambiente de inovação em instituições de pesquisa e desenvolvimento na área de biotecnologia para evidenciar como os NITs podem apoiar os pesquisadores e os funcionários da instituição. Algumas das formas de apoio que podem ser executadas pelos NITs são prospecção tecnológica de patentes e de artigos científicos, avaliação patentária de invenções propostas, análise de mercado e observação da concorrência, apoio à criação de parcerias estratégicas, apoio na elaboração de contratos entre empresas e universidades, auxílio na elaboração de projetos para captação de recursos, aplicação de técnicas direcionadas ao setor específico da instituição, por exemplo, *brainstormings*, questionamentos de suposições, desenhos de cenários e técnica de *Scamper* aplicada a produtos e processos e, finalmente, capacitações em prospecção tecnológica, elaboração de projetos, criação de banco de ideias, inovações da bancada e do campo ao mercado, redação de patentes e técnicas de negociação. O incentivo às parcerias pode ocorrer através da interação entre a instituição e o mercado e através da disponibilização de informações sobre as pesquisas em desenvolvimento

na instituição que possam ser de interesse das indústrias. Além disso, podem ser criados bancos de *know-how*, nos quais os pesquisadores podem disponibilizar suas habilidades nos diferentes setores de interesse, bancos de projetos de pesquisa, os quais poderão conter pesquisas ainda na fase embrionária para possíveis parcerias e um banco de prestação de serviços, no qual os pesquisadores podem inserir testes e uso de equipamentos em parceria com a indústria. Através de reuniões periódicas com os pesquisadores da instituição e de ações de apoio como as citadas anteriormente, é possível criar e manter um ambiente propício à inovação, em que haja um ciclo de geração de ideias e criação e proteção de novos produtos e processos biotecnológicos, além da atração de parcerias e projetos cooperativos.

Palavras-chave: Inovação, NIT, Biotecnologia, Patentes, Capacitações

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=xSykZGZZg-4



Angelo José Burla Dias

Doutor em Biociências e Biotecnologia pela Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF). Formado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa, é professor associado da UENF com experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Biotecnologia da Reprodução, atuando principalmente nos seguintes temas: bovino, produção *in vitro* de embriões, criopreservação de sêmen e embriões.

E-mail de contato: aburla@uenf.br

Biotecnologias da Reprodução Animal e sua Aplicação na Saúde Humana¹

Angelo José Burla Dias

As biotecnologias da reprodução animal têm sido amplamente utilizadas nos últimos anos, contribuindo para um importante aumento de produtividade nos rebanhos. Notadamente, todo esse progresso no desenvolvimento de técnicas como a inseminação artificial, a transferência de embriões, a produção *in vitro*, a micromanipulação de embriões, assim como o avanço nas técnicas de edição gênica, permitiram o desenvolvimento da transgênese animal, tornando possível o nascimento de animais capazes de secretar moléculas de interesse para a indústria farmacêutica veterinária e humana. O presente resumo fornece informações sobre a história, estágio atual e a participação de várias biotécnicas reprodutivas, de forma integrada, na produção de biofármacos de interesse para a saúde humana.

A inseminação artificial foi a primeira das biotécnicas reprodutivas a ser utilizada comercialmente. Baseia-se na introdução de sêmen no útero de uma fêmea em estro, utilizando-se de instrumentos adaptados às características anatômicas do sistema genital de cada espécie.

A primeira inseminação artificial com sucesso foi realizada pelo monge italiano Lazzaro Spallanzani, que em 1779 inseminou uma cadela, utilizando uma seringa para deposição do sêmen, o que resultou no nascimento de três filhotes (MARTINS et al., 2009). Seguindo os mesmos princípios do Spallanzani, em 1799, John Hunter conseguiu a primeira gestação humana decorrente da inseminação artificial (Herman, 1981).

Porém a grande expansão da inseminação artificial só aconteceu após a descoberta do glicerol como agente crioprotetor (Polge et al., 1949), o que permitiu a estocagem dos espermatozoides por longos períodos de tempo, quando mantidos em nitrogênio líquido (-196°C). Apesar dos grandes avanços nessa área, como o desenvolvimento da técnica de sexagem de espermatozoide por citometria de fluxo, a dificuldade de criopreservação de sêmen equino, suíno e ovino, ainda persiste. Atualmente a inseminação artificial é utilizada em uma grande variedade de espécies, mas seu maior uso se deu na espécie bovina, na qual em 2020, foram comercializadas cerca de 24 milhões de doses de sêmen no Brasil.

A ampla difusão da inseminação artificial estimulou o desenvolvimento de outras tecnologias como a transferência de embriões (TE). Esta técnica permite o incremento do número de descendentes de uma fêmea, devido a indução do aumento do número de ovulações por ciclo estral, estimulado pela administração de hormônio folículo estimulante (FSH). Em espécies mono-ovulatórias como a bovina, a TE permite uma produção média de 18-20 crias por ano, o que traz um grande benefício para o progresso genético.

O primeiro relato de uma transferência de embriões foi feito por Walter Heape, em 1890, transferindo embriões de coelha. Em bovinos, as primeiras transferências com sucesso foram

¹ Trabalho de co-autoria de: Álvaro Fabrício Lopes Rios (Centro de Biociências e Biotecnologia Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF), Gláucia Mota Bragança (Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias), Luis Fonseca Matos (Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias), Maria Clara Caldas Bussiere (Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias), Paula Magnelli Mangiavacchi (Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias).

realizadas pela equipe do Dr. Willett, em 1951, com a transferência de embriões de cinco dias obtidos em matadouro.

No início da década de 70, no entanto iniciaram-se os primeiros programas de transferência em bovinos, utilizando a coleta dos embriões por via cirúrgica. Para isso as doadoras tinham que ser mantidas sob anestesia geral, em decúbito dorsal, para que se fizesse a exteriorização do útero. Tais condições limitavam muito a difusão da técnica. Trabalhos do Dr. Rowe et al. (1980), no entanto permitiram o estabelecimento da técnica não-cirúrgica, o que permitiu a coleta dos embriões nas próprias fazendas.

Com o advento da ultrassonografia na reprodução bovina, muitos estudos sobre a dinâmica folicular foram realizados, fornecendo importantes informações para melhoria dos protocolos de controle do ciclo estral de doadoras e receptoras de embrião, assim como dos protocolos de superovulação, o que veio a contribuir para o aumento dos resultados obtidos com o tratamento superovulatório e das taxas de gestação.

No final dos anos 1980, enquanto a transferência de embriões vinha se expandindo mundialmente, nasceram os primeiros bezerros produzidos totalmente *in vitro* (FUKUDA et al., 1990). Devido a sua capacidade de produzir um grande número de embriões, o desenvolvimento de inúmeras pesquisas contribuiu para o estabelecimento de protocolos que lançaram as bases para o estabelecimento comercial da produção *in vitro* de embriões (PIV) em bovinos.

A PIV envolve a obtenção dos ovócitos imaturos, a sua maturação, fertilização e cultivo dos embriões em condições laboratoriais até o estágio de blastocisto, momento em que os embriões encontram-se aptos para serem transferidos para o útero de uma receptora. Por essa técnica, uma fêmea é capaz de produzir cerca de 100 embriões por ano, o que contribui decisivamente para o melhoramento genético, devido a maior pressão de seleção. A incorporação das tecnologias de sexagem de sêmen e de seleção genômica deram novo impulso à PIV e contribuíram para aumentar ainda mais a participação desta biotécnica no melhoramento genético (Sirard, 2018).

A PIV é também uma ótima ferramenta para estudo de eventos biológicos relacionados a maturação ovocitária, capacitação espermática, fertilização e desenvolvimento embrionário inicial.

No Brasil, esta técnica encontrou condições adequadas para sua difusão, chegando o país a ser o maior produtor mundial de embriões produzidos *in vitro*. Em 2008 o Brasil produziu 86% dos embriões PIV em todo o mundo. Em 2017, o Brasil foi responsável pela produção 345.528 embriões PIV, perdendo a liderança para os Estados Unidos (Viana, 2018).

Devido a capacidade de produção de grande número de embriões, a PIV tem importante participação no desenvolvimento de outras biotécnicas reprodutivas como a clonagem e a transgênese.

A clonagem por transferência nuclear de células somáticas (SCNT) tem sido utilizada na multiplicação de animais de elevado potencial genético, na preservação de espécies em extinção, e como ferramenta para produção ou multiplicação de animais transgênicos.

A técnica se baseia na transferência do núcleo de uma célula do animal que se deseja clonar, para o interior de um ovócito maturado, o qual teve seu núcleo previamente removido, com o objetivo de gerar um animal geneticamente idêntico ao animal doador do núcleo. O grande

progresso nessa área observado nos últimos anos fez com que surgissem empresas que disponibilizam esse serviço aos criadores fazendo com que animais de várias espécies sejam gerados por essa técnica.

Atualmente, embriões bovinos produzidos por SCNT podem se desenvolver ao estágio de blastocisto numa taxa similar àqueles produzidos por fertilização *in vitro*. No entanto, a taxa de desenvolvimento a termo é muito baixa, devido ao elevado percentual de perdas embrionárias e fetais. Além disso, os bezerros clonados apresentam peso aumentado e elevada taxa de mortalidade ao nascimento (Akagi et al., 2013). Meireles et al. (2008) descreveram taxas de nascimento de aproximadamente 7% para as fêmeas e 12% para os machos.

As falhas de desenvolvimento apresentadas por embriões produzidos por SCNT têm sido relacionadas a anormalidades na reprogramação epigenética do status diferenciado do núcleo da célula somática, para o status totipotente das células embrionárias. O melhor conhecimento sobre os mecanismos que controlam a reprogramação dos genes e as alterações epigenéticas ao longo da vida do embrião clonado irá contribuir para o aumento da eficiência da técnica, o que terá um impacto positivo também na transgênese mediada por SCTN.

A transgênese constitui uma importante ferramenta para a indústria farmacêutica, biomedicina e produção agrícola e as pesquisas nessa área têm se concentrado em quatro objetivos principais: produzir animais resistentes a enfermidades; melhorar características importantes para a produção animal; produzir órgãos para transplantes em seres humanos; e obter animais transformados em biorreatores de proteínas humanas na glândula mamária. A utilização de animais transgênicos como biorreatores representa uma alternativa promissora para a produção de proteínas recombinantes de elevado valor biológico à saúde humana.

A modificação genética das células/embriões pode ser realizada por diferentes métodos, sendo os mais comuns: a microinjeção pronuclear, a transdução lentiviral, a eletroporação e a transferência de DNA por lipossomos. Após o advento da CRISPr, a microinjeção citoplasmática passou a ser outra alternativa importante para a produção de animais transgênicos. A clonagem por transferência nuclear tem sido uma alternativa eficiente para aumentar os rendimentos da técnica, pois permite a utilização de células doadoras de núcleo, oriundas de cultivos celulares que sabidamente expressem o transgene de interesse (Bressan et al., 2008).

O principal fator limitante da transgênese, independentemente da técnica de transfecção utilizada é a baixa eficiência, o que torna o processo caro e laborioso. A microinjeção pronuclear, por exemplo, a mais comumente utilizada, produz aproximadamente 2% de camundongos transgênicos, 0,1- 0,5% em suínos e um número ainda menor de caprinos, ovinos e bovinos.

Atualmente algumas estratégias para aumentar a taxa de incorporação do transgene têm sido desenvolvidas, incluindo as *zinc finger nucleases* (ZFNs), as *transcription activator-like effector nucleases* (TALENs) e as *clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated* (CRISPR/Cas). Esses sistemas guiam as nucleases para o sítio inserção do transgene, o que aumenta a eficiência do processo (Wijshake et al., 2014).

Apesar dos melhores resultados alcançados na produção de animais transgênicos nas últimas décadas, a eficiência da técnica ainda baixa. Melhorias nas técnicas de edição gênica e também na eficiência das biotecnologias reprodutivas ligadas a transgenia, podem auxiliar no aumento

dos índices de produção desses embriões, contribuindo para a redução dos custos de produção de animais biorreatores.

REFERÊNCIAS

FUKUDA, Y. et al. Birth of normal calves resulting from bovine oocytes matured, fertilized, and cultured with cumulus cells in vitro up to the blastocyst stage. *Biology of reproduction*, v. 42, n. 1, p. 114-119, 1990.

MARTINS, Carlos Frederico et al. *Inseminação artificial: uma tecnologia para o grande e o pequeno produtor*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009 (Documentos 261).

VIANA, João Henrique Moreira et al. A historical perspective of embryo-related technologies in South America. *Animal Reproduction*, v. 15, supl. 1, p. 963-970, 2018.

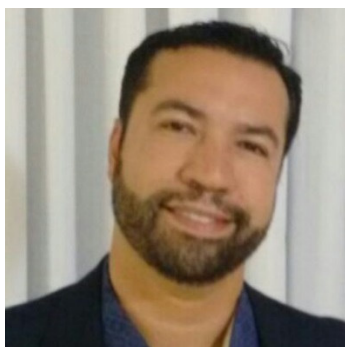
VIANA, Joao. 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*, v. 36, n. 4, p. 8-25, 2018.

WIJSHAKE, Tobias; BAKER, Darren J.; VAN DE SLUIS, Bart. Endonucleases: new tools to edit the mouse genome. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1842, n. 10, p. 1942-1950, 2014.

WILEY, Caitlin et al. Anatomical location of bovine embryos following superstimulation in beef heifers. *Clinical Theriogenology*, v. 10, n. 4, p. 427-434, 2018.

WILLETT, E. L. et al. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science*, v. 113, n. 2931, p. 247-247, 1951.

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=n32egeVj1Co



Danilo Ribeiro de Oliveira

Doutor em Química de produtos naturais pela UFRJ. Formado em Farmácia Industrial, atualmente é professor associado da Faculdade de Farmácia da UFRJ e professor permanente dos Programas de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da mesma universidade, onde atua também como Coordenador de Biodiversidade.

E-mail de contato: oliveiradr@pharma.ufrj.br.

O acesso ao patrimônio genético e à biotecnologia¹

Danilo Ribeiro de Oliveira

Um histórico mundial de exploração indiscriminada do meio-ambiente e de expropriação indevida do Patrimônio Genético (PG) e/ou do conhecimento tradicional associado (CTA), sem repartição justa e equitativa de benefícios, resultou na assinatura em 1992 da Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB), durante a Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento (ECO-92), prevendo a necessidade de conservação da biodiversidade, utilização sustentável de seus componentes e partilha justa de benefícios, além de reconhecer a soberania dos estados sobre os seus recursos naturais. Atualmente, a CDB foi suplementada por um acordo internacional, denominado Protocolo de Nagoya, ratificado por pelo menos 130 países. (SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 2011).

No Brasil o primeiro instrumento jurídico a regular sobre o acesso ao PG, ao CTA e à repartição de benefícios, a Medida Provisória nº 2186-16/2001, foi publicado às pressas após um acordo suspeito de bioprospecção de micro-organismos do solo amazônico, envolvendo uma farmacêutica suíça e uma organização social brasileira, considerado lesivo à soberania nacional. Contudo, a MP 2.186/01 causou diversos efeitos colaterais, fazendo com que pesquisadores brasileiros chegassem a ser taxados de “biopiratas” e vivessem uma “bioparanoia”, pela burocratização da pesquisa e receio de processos administrativos e judiciais, bem como pelas dificuldades de compreender e se submeter à legislação que exigia ‘autorizações prévias’ para acesso ao PG e ao CTA. No âmbito da MP foi criado o temido Conselho de Gestão do Patrimônio genético, o CGEN, como órgão de caráter deliberativo e normativo, se tornando a autoridade nacional do Ministério do Meio Ambiente, competente para decidir sobre as solicitações de acesso ao PG e ao CTA, ou mesmo para realizar denúncias de eventuais irregularidades ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, mais conhecido pelo acrônimo (IBAMA).

Frente ao desconhecimento e à inaceitabilidade gerada pela burocratização, a maioria da comunidade acadêmica brasileira, subordinada a MP, “ficou à deriva”. A única exceção foi a comunidade de pesquisadores ligados as áreas de ciências básicas de biodiversidade, tais como zoologia, botânica, ecologia, que se organizaram e, através de diálogos com representantes do MMA, conseguiram regulamentar suas pesquisas através da Resolução CGEN nº 21/2006. Este marco legal destacava explicitamente que pesquisas básicas na área de diversidade, bem como pesquisas epidemiológicas e para formação de coleções biológicas, não estavam relacionadas à exploração econômica, e desta forma estavam dispensadas da obtenção de autorização de acesso a componente do patrimônio genético. Desta forma, pesquisa em taxonomia, filogenia, epidemiologia molecular, ecologia, e utilização de informações de bancos de dados públicos de sequências genéticas estavam fora do âmbito da burocratização imposta pelo marco legal.

As empresas farmacêuticas, cosméticas, alimentícias, de insumos ativos, dentre outras, também se viram prejudicadas pela legislação, a maioria delas por desconhecer, ou mesmo

¹ Trabalho de co-autoria de: Ana Claudia Dias de Oliveira (ABIFINA); Marcelo Weksler (Museu Nacional).

por não compreender ou conseguir se adequar, terminaram sendo taxadas de biopiratas, conforme matéria publicada em 2012 em Jornal nacional de alta circulação, intitulada “O Cerco a Biopirataria” (FARIELLO, 2012). Contudo, esse fato se deu exclusivamente com empresas e produtos comercializados no Brasil, causando prejuízos à economia, geração de emprego e renda, bem como para as pesquisas biotecnológicas, conforme destaca Oliveira (2013) em que inúmeras Patentes internacionais continuaram a ser depositadas envolvendo espécies vegetais nativas do Brasil, mesmo após publicação da CDB.

Para minimizar tantos problemas, a Lei 13.123/2015 substituiu a MP possibilitando, na maioria dos casos, o ‘cadastro das pesquisas envolvendo PG em andamento’ sem a necessidade mais de ‘autorização prévia’, com exceção a ‘remessa de PG’ ao exterior e a ‘divulgação de resultados’ que se exigiam um cadastro prévio. Foi criado desta forma um limbo jurídico-burocrático, devido à falta de do sistema nacional de registro instituído pela Lei, fulcral à realização dos cadastros, o Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), foi disponibilizado apenas em novembro de 2017.

Embora o MMA entendesse que a “Nova Lei da Biodiversidade” (BRASIL, 2015) que passou a ser ágil, fácil, e com regras claras, além de incentivar e legalizar a pesquisa, diversas das limitações da Lei e do SisGen, não foi esse o entendimento para a Comunidade Acadêmica (ALVES, 2018). No caso do SisGen, o sistema trazia erros e lacunas que dificultavam o cadastro, principalmente de atividades de pesquisa envolvendo grande número de espécies, pesquisas com micro-organismos e metagenoma, no caso de ausência de identificação de local de obtenção da amostra ou espécimen, dentre tantos outros problemas, que novamente, diversas resoluções e orientações técnicas precisaram ser publicadas para auxiliar ao cumprimento da Lei e do Decreto, e na real efetuação dos cadastros. Apesar dessas novas publicações para disciplinar o atual marco legal, ainda há a necessidade de disponibilização de uma nova versão do SisGen, o tão esperado SisGen 2.0, prometido desde 2017.

Mas, a tão sonhada desburocratização de fato funcionou? Bem, vejamos que o conceito de acesso ao patrimônio genético é entendido como “‘pesquisa’ ou desenvolvimento tecnológico realizado sobre amostra de patrimônio genético”, e que o Conceito de Pesquisa envolve qualquer “atividade, experimental ou teórica, realizada ‘sobre’ o PG ou CTA, com objetivo de produzir novos conhecimentos, por meio de um processo sistemático de construção do conhecimento que gera e testa hipóteses e teorias, descreve e interpreta fenômenos e fatos observáveis”, a partir daí toda e qualquer pesquisa, que direta ou indiretamente, use dados ou informações oriundas de patrimônio genético e conhecimento tradicional associado, passam a estar sob a égide da Lei 13.123/15, inviabilizando a publicação de uma resolução de equivalência a Res. CGEN 21/06.

Ou seja, inúmeros pesquisadores que desenvolviam suas atividades na pesquisa com taxonomia, filogenia, epidemiologia molecular, ecologia molecular, utilização de informações de bancos de dados públicos de sequências genéticas (Ex: GenBank), se viram repentinamente no âmbito da legislação de acesso ao PG e ao CTA. Tal mudança, em geral, foi vista como algo desprovido de benefícios e justificativas, que não fosse apenas a própria burocratização, já que esses pesquisadores já fazem inúmeros cadastros para suas pesquisas, como SisBio, CEUA, CITES etc.

Para os micro-organismos, quaisquer bactérias, fungos ou vírus que sejam isolados em território nacional fazem parte do nosso patrimônio genético e, em caso de fins de pesquisa ou

desenvolvimento tecnológico, está no âmbito da Lei 13.123/15. Logo, no início de 2020, quando um turista chegou ao Brasil contaminado com o vírus sars-cov-2, essa mesma amostra ao ser isolada aqui, passou imediatamente a ser PG brasileiro, e para identificação no exterior, submetida a todos os trâmites de remessa, incluindo Termo de Transferência de Material (TTM).

Outro fato curioso é que, antes considerávamos válida a Orientação Técnica nº 09/13 que determinava que “parasitas, pragas e vetores de doenças para atividades biológicas não é acesso ao PG na MP 2.186-16/01”, mas com os novos conceitos de patrimônio genético, pesquisa e acesso ao patrimônio genético, todo o micro-organismo (ou organismo animal também) utilizado apenas como alvo terapêutico, passa a ser considerado acesso ao PG pela Lei 13.123/15. Mas, quantos pesquisadores conseguiram tomar consciência disso no Brasil? Quais foram as ações nacionais de conscientização e esclarecimento dessas mudanças? No estudo de caso realizado por Vieira (2020), cerca de 50% dos micro-organismos utilizados em pesquisas realizadas em dissertação e teses de 2 programas de pós-graduação passava a partir de 17 de novembro de 2015, início da vigência da Lei 13.123/15, a estar no âmbito da Lei. Ou seja, um grande número de pesquisas e pesquisadores que possivelmente estão irregulares ou ilegais.

Não obstante disso, outro problema se agrava relacionado com o Conhecimento Tradicional Associado, pois não estava claro na MP 2.186/01 o acesso ao CTA a partir de fontes secundárias. Contudo, na legislação atual tudo mudou, com o conceito de Acesso ao CTA relacionado à “Pesquisa ou desenvolvimento tecnológico sobre conhecimento tradicional que possibilite ou facilite o acesso ao patrimônio genético, ainda que o CTA tenha sido obtido por uma fonte secundária (ex.: feira, publicação, inventário, filme, artigo científico etc.)”. A partir daí, qualquer pesquisa realizada de acordo com saberes populares (ou conhecimentos tradicionais amplamente difundidos), precisaria de consentimento prévio e informado? Por exemplo, uma instituição do Rio de Janeiro que irá pesquisar o guaco (*Mikania glomerata Spreng.*), planta de conhecimento tradicional difuso, amplamente conhecida e utilizada, neste caso, qual seria a melhor estratégia? Realizar um consentimento prévio e informado em um mercado popular no Rio de Janeiro, ou buscar dar rastreabilidade às comunidades tradicionais que poderíamos primeiramente identificar o uso da planta como expectorante na literatura? Essa pergunta é importante, pois muito se vislumbra de que grande parte das pesquisas básicas ou aplicadas resultarão em desenvolvimento tecnológico e produtos, mas isso nem sempre acontece. Aliás, na maioria das vezes não acontece. Portanto, é necessário pensar em maior rastreabilidade no que tange a legislação, do que uma visão irreal e ingênua, bucólica e inócua da biodiversidade nacional, que impede o avanço das pesquisas e do desenvolvimento tecnológico com a biodiversidade local.

Logo, já se deixa a pergunta, será necessário mais quantas anistias para que se pense em uma legislação focada de fato nas diretrizes da CDB e no Protocolo de Nagoya, bem como na Constituição federal, sem que se prejudique o país, submetendo-o a lógica colonialista de sempre? Ao trabalhar essa questão com seriedade, podemos migrar aos poucos de um protagonismo no fornecimento de commodities para fornecimento de produtos biotecnológicos. Mas, o atual arcabouço legal não deve comprometer as atividades de coleções biológicas e a cooperação internacional em pesquisa básica em biodiversidade. No mínimo, as autoridades brasileiras devem isentar a pesquisa sem fins econômicos de encargos burocráticos desnecessários.

Palavras-Chave: Patrimônio Genético, Burocracia, Pesquisadores, Cadastro, SisGen.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. J. V. et al. Brazilian legislation on genetic heritage harms Biodiversity Convention goals and threatens basic biology research and education. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 90, p. 1279–1284, 2018

BRASIL. *LEI Nº 13.123, de 20 de maio de 2015*. Institui o Código Civil. Diário Oficial da União: Brasília, DF, 20 maio 2015.

FARIELLO, D. Cerco à biopirataria. *O Globo*, 22 jul. 2012.

OLIVEIRA, D. R. et al. Autorização de acesso ao conhecimento tradicional associado com fins de bioprospecção: o caso da UFRJ e da Associação de Comunidades Quilombolas de Oriximiná – ARQMO. *Revista Fitos*, v. 5, n. 01, p. 59-76, 2013.

SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. *Nagoya Protocol on Access to Genetic Resources and the Fair and Equitable Sharing of Benefits Arising from their Utilization to the Convention on Biological Diversity*. Montreal: Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2011.

VIEIRA, Valéria; OLIVEIRA, Danilo; CABRAL, Lucio. Análise dos trabalhos acadêmicos de pós-graduação de uma unidade acadêmica da UFRJ no âmbito da nova Lei de Biodiversidade brasileira – Lei nº 13.123/2015. *Práticas em Gestão Pública Universitária*, v. 4, n. 2, p. 178-204, 2020.

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=mKI-WZjohM4

**Gisele Picolo**

Doutora em Farmacologia pela Universidade de São Paulo (USP). Formada em Biologia pela Universidade Presbiteriana Mackenzie, atualmente é pesquisador científico do Instituto Butantan e Diretora do Laboratório Especial de Dor e Sinalização. Atua, ainda, como pesquisadora principal do Centro de toxinas, resposta-imune e sinalização celular da FAPESP, e como pesquisadora colaboradora do Centro de excelência na descoberta de novos alvos moleculares (CENTD), uma parceria entre o Instituto Butantan, a FAPESP e a Farmacêutica GlaxoSmithKline.

E-mail de contato: gisele.picolo@butantan.gov.br

Uso de compostos obtidos de venenos de serpentes como perspectiva terapêutica para o controle da Encefalomielite Autoimune Experimental: Propriedades imunomoduladoras potencializadas pela sílica Sba-15¹

Gisele Picolo

Introdução: A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória, autoimune e desmielinizante do sistema nervoso central (SNC), que acarreta diversas alterações sensoriais, cognitivas e motoras. Os sintomas mais comuns incluem fadiga, déficit visual e sensorial, fraqueza, disfunções urinárias, espasticidade, problemas de coordenação motora, entre outros (PETZOLD, 2002). Dentre as alterações sensoriais, a dor está presente em grande parte dos indivíduos (EHDE, 2006). É uma das doenças neurológicas mais comuns diagnosticada em jovens adultos que desenvolvem doença autoimune neuroinflamatória, e não tem cura, sendo que as terapias disponíveis são capazes apenas de estabilizar o quadro clínico e atrasar a progressão dos sintomas motores. Sabe-se que células do sistema imune participam ativamente na patogênese e progressão desta doença pelo ataque à bainha de mielina e neuroinflamação, acarretando dano tecidual, desmielinização e morte neuronal (EL-BEHI; ROSTAMI; CIRIC, 2010). Assim, faz-se necessário o estudo de novas drogas para o tratamento desta doença. Venenos e toxinas animais têm sido considerados uma rica fonte na busca de candidatos a fármacos, uma vez que esses componentes em geral podem exibir seletividade e afinidade para uma grande variedade de alvos em sistemas fisiológicos (LEWIS; GARCIA, 2003). Nesse sentido, estudos utilizando compostos isolados de venenos crotálicos, particularmente crotoxina (CTX) e crotalina (CRO), indicaram suas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, imunomoduladoras e antitumorais (MACHADO, 2014. SAMPAIO, 2010). Contudo, a utilização de peptídeos e toxinas animais ainda apresenta restrições ligadas à toxicidade e baixa biodisponibilidade, entre outros. Compostos nanoestruturados mesoporosos ordenados são de grande interesse para as ciências e tecnologias, uma vez que, dentre outras propriedades, quando utilizados como veículo protetor de biomoléculas podem diminuir a toxicidade e favorecer a resposta imunológica de diversos imunógenos (YANG; COOMBS; OZIN, 1997).

Objetivos: Portanto, nossos objetivos foram avaliar os efeitos da CRO e da CTX na encefalomielite autoimune experimental (EAE) induzida por MOG35–55, um modelo animal de EM, quanto à dor, comprometimento motor e alguns parâmetros neuroinflamatórios envolvidos nessa doença, bem como avaliar o papel da sílica SBA-15 em diminuir o efeito tóxico da CTX e potencializar seu efeito antinociceptivo e imunomodulador.

Métodos: A EAE foi induzida por imunização de camundongos fêmeas C57BL/6 com adjuvante incompleto de Freund contendo 4 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis* e 200 µg de MOG35–55. Imediatamente após e 48 horas depois da imunização, os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de toxina pertussis (300 ng). Os animais foram acompanhados diariamente quanto ao desenvolvimento dos sinais clínicos de acordo com o seguinte escore:

¹ Trabalho de co-autoria de: Morena Brazil Sant'Anna (Instituto Butantan), Aline Carolina Giardini ((Instituto Butantan), Nathalia Bernardes Teixeira ((Instituto Butantan), Flavia Souza Ribeiro Lopes (Instituto Butantan), Louise Faggionato Kimura (Instituto Butantan), Marucia Chacur (Universidade de São Paulo), Rosana de Lima Pagano (Hospital Sírio-Libanês), Vanessa Olzon Zambelli (Instituto Butantan), Osvaldo Augusto Sant'Anna (Instituto Butantan).

0, ausência de sintomas; 1, perda do tônus da cauda; 2, paralisia parcial dos membros posteriores; 3, paralisia total de membros posteriores; 4, paralisia total dos membros posteriores e parcial dos anteriores; 5, diminuição da responsividade ou morte (eutanásia). O limiar nociceptivo foi determinado pelo modelo de von Frey eletrônico. A proliferação e diferenciação de células T CD4⁺ foram analisadas por citometria de fluxo. A atividade neuronal (usando anticorpo anti-Egr1), a ativação da microglia (anticorpo anti-Iba1) e de astrócitos (anticorpo anti-GFAP) foram avaliadas na medula espinal por imunohistoquímica; o nível de expressão dos genes ou a liberação das citocinas foram avaliados por PCR em tempo real ou por ensaios imunoenzimático; o infiltrado inflamatório foi avaliado por coloração com hematoxilina e eosina. A espessura da mielina no nervo ciático foi investigada usando microscopia eletrônica de transmissão. A função muscular foi determinada através da força de contração do músculo. Resultados: A crotalina acarretou reversão parcial da hiperalgesia induzida pela EAE e diminuiu a intensidade dos sinais clínicos em comparação com animais controles. A CRO reduziu, na medula espinhal, a imunorreatividade a Egr-1 (marcador de atividade neuronal), CD11-b (marcador de microglia / macrófagos) e GFAP (marcadores de astrócitos) induzida por EAE. Além disso, aumentou a IL-6 e reduziu a expressão do TNF- α e o infiltrado inflamatório na medula espinal. O tratamento foi capaz, ainda, de prevenir a redução na espessura da bainha de mielina no nervo periférico observada no grupo não tratado. Em relação a CTX, esta foi capaz de reduzir a proliferação de células T CD4⁺, de diminuir a diferenciação dessas células em Th1 e Th17 e aumentar a diferenciação em Treg, *in vitro*. A crotoxina inibiu a liberação de IL-17A e IFN- γ no plasma de animais portadores de EAE e também inibiu a atividade da microglia no SNC dos animais após a imunização. Quando complexada à sílica nanoestruturada SBA-15, a toxicidade da crotoxina diminuiu enquanto seus efeitos imunomoduladores foram potenciados. Ainda, o complexo CTX:SBA-15, mas não CTX, evitou a atrofia induzida por EAE e a perda da função muscular.

Conclusões: Esses resultados reforçam o efeito imunomodulador da crotoxina e da crotalina, confirmando o efeito de ambos em um modelo de doença neurodegenerativa. Esses dados elucidam parte dos mecanismos envolvidos na melhora observada no quadro clínico dos animais, pela atenuação da neuroinflamação induzida pela EAE, apontando estes compostos como agentes promissores para o controle da MS. Os resultados reforçam ainda a utilização da sílica nanoestruturada SBA-15 como veículo protetor para compostos biológicos.

Palavras-chave: Encefalomielite Autoimune Experimental, Neuroinflamação, Crotalina. Crotoxina, Sílica SBA-15

Apoio Financeiro: FAPESP (2011/17974-2, 2013/07467-1, 2015/01254-1, 2017/17844-8), CNPQ (467211/2014-0) and CAPES (Finance Code 001).

REFERÊNCIAS

EHDE, D. M. et al. The scope and nature of pain in persons with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, v. 12, n. 5, p. 629-638, 2006.

EL-BEHI, Mohamed; ROSTAMI, Abdolmohamad; CIRIC, Bogoljub. Current views on the roles of Th1 and Th17 cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, v. 5, n. 2, p. 189-197, 2010.

LEWIS, Richard J.; GARCIA, Maria L. Therapeutic potential of venom peptides. *Nature reviews drug discovery*, v. 2, n. 10, p. 790-802, 2003.

MACHADO, F. C. et al. Peripheral interactions between cannabinoid and opioid systems contribute to the antinociceptive effect of crotalphine. *British journal of pharmacology*, v. 171, n. 4, p. 961-972, 2014.

PETZOLD, A. et al. Markers for different glial cell responses in multiple sclerosis: clinical and pathological correlations. *Brain*, v. 125, n. 7, p. 1462-1473, 2002.

SAMPAIO, Sandra C. et al. Crotoxin: novel activities for a classic β -neurotoxin. *Toxicon*, v. 55, n. 6, p. 1045-1060, 2010.

YANG, Hong; COOMBS, Neil; OZIN, Geoffrey A. Morphogenesis of shapes and surface patterns in mesoporous silica. *Nature*, v. 386, n. 6626, p. 692-695, 1997.

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=9qIEkevfWXw



Jerson Lima Silva

Doutor em Biofísica pelo Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Professor Titular do Instituto de Bioquímica Médica da UFRJ desde 1997, é pesquisador bolsista 1A do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), membro da Academia Brasileira de Ciências, da *The World Academy of Sciences* e da Academia Nacional de Medicina. Desde janeiro de 2019 é presidente da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

Um Soro Anticovid-19 para Imunização Passiva Terapêutica desenvolvido contra a Proteína S Trimérica

Jerson Lima Silva

A pandemia de COVID-19 tem resultado no colapso dos sistemas de saúde pública, tendo levado ao óbito de mais de 380 mil brasileiros até abril de 2020. Mesmo com o uso de vacinas de eficiência comprovada, ainda há necessidade de alternativas terapêuticas, especialmente para os pacientes que necessitam de internação. Na busca por terapias eficazes em combater os efeitos mais graves desta doença, diversos tratamentos de imunização passiva têm sido testados, incluindo o uso de plasma de convalescente de COVID-19 e de anticorpos monoclonais. De modo semelhante ao que se propõe com a utilização do plasma de indivíduos convalescentes, as globulinas hiperimunes equinas têm potencial capacidade de conferir imunidade passiva para indivíduos expostos ao SARS-CoV-2. Estas imunoglobulinas podem ser obtidas a partir da imunização de animais, sendo os equinos os mais utilizados, e são direcionadas ao tratamento de diferentes doenças, como a neutralização de venenos ofídicos, e na profilaxia pós-exposição de doenças infecciosas como o vírus da raiva. Recentemente, através da parceria da UFRJ com o Instituto Vital Brazil, FIOCRUZ e IDOR, desenvolvemos um produto à base de globulina hiperimune anti-SARS-CoV-2 a partir da imunização de equinos contra a proteína S trimérica viral, responsável pelo reconhecimento e ligação do vírus com os receptores das células hospedeiras. As análises demonstraram que este produto possui uma capacidade de neutralização viral 150 vezes mais potente do que o plasma convalescente de doadores. Para prevenir eventuais efeitos colaterais, a imunoglobulina IgG foi digerida com pepsina e purificada por precipitação fracionada para eliminar fragmentos Fc, um processo que é usado industrialmente para a produção de imunização passiva com concentrados de F(ab')₂ contra raiva, tétano e venenos de cobra. O lote clínico de F(ab')₂ produzido sob Boas Práticas de Fabricação (GMP) na planta industrial do IVB demonstrou alto título neutralizante. Quando inoculados em camundongos, a atividade de neutralização do F(ab')₂ foi detectada mesmo três dias após a injeção, indicando uma meia-vida apropriada para intervenção terapêutica. Essa preparação de imunoglobulina hiperimune também teve efeito neutralizante nas variantes P1 e P2, que preocupam pela alta prevalência no Brasil. Estes resultados dão suporte a um ensaio clínico (código ClinicalTrials.gov: NCT04573855) para avaliar a segurança e eficácia desta preparação F(ab')₂ de cavalos em pacientes hospitalizados. O objetivo do ensaio clínico de fase I/II é avaliar a segurança e potencial eficácia da utilização deste produto no tratamento de pacientes com COVID-19 internados em fase inicial da doença, que não precisem de suporte ventilatório invasivo.

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=VVbjR-Oqn2U



Luís Eduardo Ribeiro da Cunha

Doutor em Medicina Tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ. Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Fluminense (UFF), é membro da Academia de Medicina Veterinária do Estado do Rio de Janeiro e da Comissão Estadual de Ética, Bioética e Bem Estar Animal. Atualmente, é pesquisador do Instituto Vital Brazil.

Desenvolvimento de soro anti SARS-CoV-2 {F(ab')₂ de IgG}, a partir de plasma de equinos hiperimunizados, como estratégia terapêutica contra o COVID-19.

Luís Eduardo Ribeiro da Cunha

Resumo: O Instituto Vital Brazil, uma Instituição de Ciência e Tecnologia subordinada à Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro, tem como missão realizar e promover estudos e pesquisas nos campos farmacêutico, biológico, econômico e social, visa melhorar as condições da produção, do controle de doenças e da organização e utilização dos serviços de saúde. Com isso e, em meio ao novo cenário pandêmico mundial, os pesquisadores desta instituição propuseram pesquisar e desenvolver um novo soro heterólogo que pudesse auxiliar na terapêutica anti-covid 19, reduzindo as taxas de transmissão viral e o número de óbitos. O Instituto possui *know how* em produção de soros hiperimunes a partir de plasma de cavalos imunizados. Desde que seu fundador desenvolveu método específico para tratamento dos acidentes ofídicos, as etapas de pesquisa e desenvolvimento avançaram muito na produção de outros soros para acidentes com aranhas, escorpiões e abelhas, bem como para raiva e tétano, etc. Com isso iniciou a pesquisa e o desenvolvimento do soro anti-Covid 19, utilizando como antígeno uma fração do vírus SARS-CoV-2, a proteína S, produzido pelo LPPM/UFRJ, parceira como entidade de pesquisa em universidades. Foi desenvolvido um antígeno viral potente antigenicamente que, quando inoculado em cavalos, foi capaz de gerar anticorpos neutralizantes específicos. Ao processarmos o plasma obtidos desses equinos, nos mesmos moldes de fabricação dos demais soros hiperimunes do IVB, foi obtido um concentrado de imunoglobulinas purificado (IFA) com capacidade neutralizante superior ao plasma humano convalescente em até 150 vezes.

Abstract: The Vital Brazil Institute, a Science and Technology Institution under the State Health Secretariat of Rio de Janeiro, has the mission of carrying out and promoting studies and research in the pharmaceutical, biological, economic and social fields, aiming to improve the conditions of production, control disease and the organization and use of health services. With this in mind, and in the midst of the new worldwide pandemic scenario, the researchers at this institution proposed to research and develop a new heterologous serum that could assist in anti-covert therapy 19, to evaluate the rates of viral transmission and the number of deaths. The Institute has expertise in the production of hyperimmune sera from the plasma of immunized horses. Since its founder, specific method for treating snakebites, as research and development steps have advanced a lot in the production of other serums for accidents with spiders, scorpions and bees, as well as for rabies and tetanus, etc. development of anti-Covid 19 serum, using as antigen a fraction of the SARS-CoV-2 virus, protein S, produced by LPPM / UFRJ, a partner as a research entity in universities. An antigenically potent viral antigen was developed that, when inoculated in horses, was able to generate specific neutralizers. When processing the plasma chosen from these horses, in the same molds as the other IVB hyperimmune sera, a purified immunoglobulin concentrate (IFA) with neutralizing capacity superior to convalescent human plasma was found up to 150 times.

Introdução: Em dezembro de 2019, na província de Wuhan, na China, emergiu uma nova variante de vírus SARS-CoV, chamado de vírus da síndrome respiratória severa aguda

coronavírus (SARS-CoV-2), causador da doença do novo coronavírus 2019 (COVID-19), que está assolando o mundo por conta da eficiência de propagação sem precedentes. Apresenta altíssimo número de casos de óbitos, podendo chegar a 50% quando se considera pacientes graves que necessitam de unidade de tratamento intensivo (UTI). A epidemia por SARS-CoV-2 passou a ser considerada uma pandemia, uma vez que mais de 180 países reportaram casos de COVID-19. O SARS-CoV-2 já é responsável por mais mortes do que a soma total do SARS e MERS-CoV, com mais causalidades diárias que continuam a aumentar. Segundo a Organização Mundial de Saúde, até o dia 18 de março de 2021, mais de 130 milhões de casos foram confirmados, com 2.842.135 milhão de mortes decorrentes da COVID-19 no mundo (<https://covid19.who.int/>). No Brasil, até março de 2021, foram confirmados mais de 13.000.000 casos sendo 330.000 óbitos decorrentes da COVID-19 (letalidade média 2,4%) (<https://covid.saude.gov.br/>).

Diversos grupos de pesquisa têm estudado diferentes estratégias de vacinação e tratamento contra SARS-CoV-2, entretanto, ainda não há um tratamento clínico completamente eficaz e seguro. As vacinas que já passaram por todos os estágios de ensaios clínicos e aprovadas pelas agências sanitárias contra a COVID-19, tanto com registro especial ou definitivos, para prevenção são eficazes contra o coronavírus, sendo uma necessidade para que a população seja protegida contra essa infecção.

SARS-CoV-2 é um vírus da família *Coronaviridae*, cujo material genético é representado por uma fita simples de RNA. Aproximadamente 29 tipos de proteínas virais já foram identificadas, sendo as proteínas “S” e “N” de maior relevância. A proteína “S” é a responsável pela ligação do vírus na célula hospedeira, por meio da interação do seu domínio de ligação com o receptor viral (RBD) com o receptor da enzima conversora II de angiotensina (ACE2) de células humana.

Além de seu papel crucial na ligação ao receptor e entrada viral, a glicoproteína “S” tem papel importante na indução tanto de resposta humoral quanto celular contra o SARS-CoV. No caso do SARS-CoV, o principal epítipo imunodominante foi mapeado para a região SD1 (aminoácidos 528-635) da porção S1 da glicoproteína S. Já no caso do SARS-CoV-2, estes epítipos ainda não foram mapeados. Apesar da glicoproteína S do SARS-CoV-2 apresentar alta similaridade (76%) com a mesma proteína do SARS-CoV, já foi demonstrado que soros de fase de convalescência de pacientes SARS e COVID-19 possuem neutralização cruzada limitada. Além disso, os principais monoclonais que se ligam ao RBD e neutralizam o vírus SARS-CoV falharam em neutralizar SARS-CoV-2.

Estes resultados demonstram que apenas alguns epítipos, cujo reconhecimento leva a neutralização, são comuns as duas proteínas, ressaltando assim a importância de se reconhecer os principais domínios alvos de neutralização da glicoproteína “S” do vírus SARS-CoV-2.

Justificativa: A COVID-19 é uma doença causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, que apresenta um quadro clínico que varia de infecções assintomáticas a quadros respiratórios graves. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a maioria dos pacientes com COVID-19 (cerca de 80%) podem ser assintomáticos e cerca de 20% dos casos podem requerer atendimento hospitalar por apresentarem dificuldade respiratória e desses casos aproximadamente 5% podem necessitar de suporte ventilatório para o tratamento de insuficiência respiratória.

O Instituto Vital Brazil (IVB) fundado em 1919, pelo médico e cientista Vital Brazil Mineiro da Campanha, na cidade de Niterói (RJ), desde então, mantém sua tradição como ator

importante, nas esferas federal e estadual, em questões relativas à Saúde Pública. O IVB é uma Instituição de Ciência e Tecnologia subordinada à Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro e cumpre papel estratégico no desenvolvimento tecnológico e na assistência farmacêutica no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Entre seus principais objetivos, destacam-se a produção de medicamentos essenciais, entre eles os imunobiológicos (pp soros) e a produção de medicamentos estratégicos, de alta complexidade, para programas do Ministério da Saúde.

O Instituto Vital Brazil é um dos três laboratórios oficiais de produção de soros hiperimunes do Brasil e um dos 46 produtores mundiais, contribuindo para a potencialidade de produção de soros hiperimunes na região das Américas. Possui como uma de suas missões a pesquisa, o desenvolvimento, a produção e a inovação, relacionados a soros hiperimunes.

O IVB possui o registro junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dos soros Anticrotático, Antibotrópico, Antibotrópico/Crotático, Antibotrópico/Laquético, Antiescorpiônico, Antitetânico, Antirrábico e desenvolve o soro Antiapílico, atualmente em Estudo Clínico de Fase I/II.

É neste contexto que o IVB adentra ao novo cenário mundial de pandemia de COVID-19, na tentativa de corroborar com o desenvolvimento de um novo soro hiperimune específico, seguro e eficaz.

Objetivos: Trabalhar em ações emergenciais para o desenvolvimento de estratégias de imunização ativa contra a COVID-19, através de abordagens terapêuticas com soroterapia, por meio da obtenção de soro/imunoglobulina anti-SARS-CoV-2 de forma heteróloga em cavalo. Realizar ensaios clínicos, entendendo que é necessária uma ação tanto preventiva como terapêutica, combinando imunoterapia com compostos antivirais.

Método: Foram utilizadas metodologias de POPE modificado para produção de soros e métodos de pré-clínicos “*in vitro*” e “*in vivo*”, que fazem parte da expertise das equipes integrantes desse desenvolvimento (IVB; UFRJ; FIOCRUZ e IDOr). Técnicas e protocolos de: Imunização de cavalos; avaliação da produção de IgG anti-SARS-CoV-2 em cavalos por testes de ELISA e de neutralização PRNT90 e 50; testes de desafio em modelos de animal (Hamster *gold*), estudo da estrutura de agregados e estudos clínicos fase I/II.

Considerações sobre o novo soro: Trata-se do uso da mesma plataforma de produção de vários soros, que consistem na obtenção e purificação dos fragmentos F(ab')₂ de IgG equina. Após formulação e envase do IFA, são usados como medicamento em humanos; tipos: soros antirrábico; antitetânico; antibotrópico; anticrotático; antibotrópico-laquétrico; antilatrofético; antiescorpiônico; antiapílico.

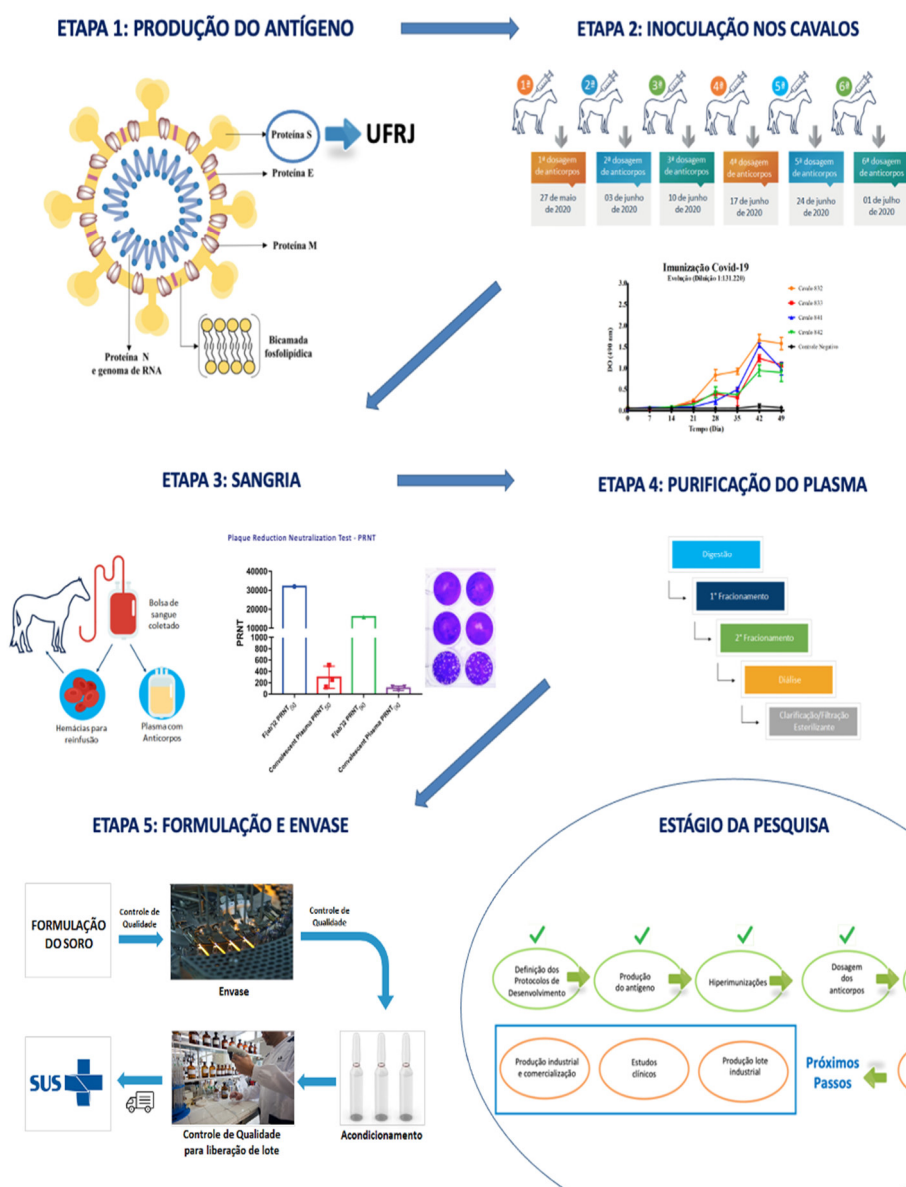
Com relação à essa plataforma de produção de soros baseados em fragmentos F(ab')₂ de IgG equina do IVB, ressaltamos que tem um histórico de mais de quatro décadas de uso seguro e eficaz, sem registro de reações adversas graves. Estimamos em cerca de dois milhões de tratamentos, com os diversos soros, fornecidos ao SUS/MS, de forma segura e eficaz.

Impactos esperados: Este desenvolvimento é inovador e de vanguarda na busca de um medicamento contra o vírus SARS-CoV-2. Outra característica marcante é a atuação em ambientes multidisciplinar e multistitucional, que torna factível a sua execução. O projeto está articulando pesquisadores de áreas distintas do conhecimento científico, de diversas

instituições públicas e privada de pesquisa brasileiras. Objetivamos, sempre, alcançar resultados de aplicação imediata no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS).

As principais relevâncias do produto desenvolvido, nos campos científico, social e econômico são, respectivamente: proporcionar um medicamento 100% nacional que permita auxiliar na recuperação de pacientes acometidos pela COVID-19, sendo uma opção terapêutica em casos de contaminação por vírus SARS-CoV-2, em pacientes que apresentem sintomas moderados ou graves.

CONFIRA AS ETAPAS DE DESENVOLVIMENTO DO SORO:



REFERÊNCIAS

ASSETTA, Benedetta et al. 5-HT₂ receptors facilitate JC polyomavirus entry. *Journal of Virology*, v. 87, n. 24, p. 13490-13498, 2013.

BAIG, Abdul Mannan et al. Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: tissue distribution, host-virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms. *ACS Chemical Neuroscience*, v. 11, n. 7, p. 995-998, 2020.

BAO, Linlin et al. Reinfection could not occur in SARS-CoV-2 infected rhesus macaques. *BioRxiv*, 2020.

BLOCH, Evan M. et al. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 130, n. 6, p. 2757-2765, 2020.

CAO, Bin et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 2020.

CARTER, Darrick; REED, Steven G. Role of adjuvants in modeling the immune response. *Current Opinion in HIV and AIDS*, v. 5, n. 5, p. 409, 2010.

DE CLERCQ, Erik; LI, Guangdi. Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 29, n. 3, p. 695-747, 2016.

CHUTAPUTTI, Anuchit. Adverse effects and other safety aspects of the hepatitis C antivirals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, v. 15, p. E156-63, 2000.

DONG, Ensheng; DU, Hongru; GARDNER, Lauren. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 20, n. 5, p. 533-534, 2020.

FERREIRA, André C. et al. Beyond members of the Flaviviridae family, sofosbuvir also inhibits chikungunya virus replication. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 63, n. 2, p. e01389-18, 2019.

FIGUEIREDO-MELLO, Claudia et al. Efficacy of sofosbuvir as treatment for yellow fever: protocol for a randomised controlled trial in Brazil (SOFFA study). *BMJ Open*, v. 9, n. 11, p. e027207, 2019.

FREITAS, Caroline S. et al. Yellow fever virus is susceptible to sofosbuvir both in vitro and in vivo. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 13, n. 1, p. e0007072, 2019.

GAUTRET, Philippe et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 56, n. 1, p. 105949, 2020.

GIBERT, Cynthia Livingstone. Treatment guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents: an update. *Federal Practitioner*, v. 33, n. Suppl 3, p. 31S, 2016.

GOMES, Andre MO et al. Pressure-induced fusogenic conformation of vesicular stomatitis virus glycoprotein. *Biochemistry*, v. 42, n. 18, p. 5540-5546, 2003.

GUO, Li et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases*, v. 71, n. 15, p. 778-785, 2020.

HARRISON, Charlotte. Coronavirus puts drug repurposing on the fast track. *Nature Biotechnology*, v. 38, n. 4, p. 379-381, 2020.

HENRIKSEN, M. Anti-il6 Treatment of Serious COVID-19 Disease With Threatening Respiratory Failure (TOCIVID). *Retrieved April*, v. 2, 2020.

HOFFMANN, Markus et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, v. 181, n. 2, p. 271-280. e8, 2020.

HUANG, Chaolin et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

JIN, Ying-Hui et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Military Medical Research*, v. 7, n. 1, p. 1-23, 2020.

LAN, Jun et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, v. 581, n. 7807, p. 215-220, 2020.

LECHIEN, Jerome R. et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, v. 277, n. 8, p. 2251-2261, 2020.

LI, Yan-Chao; BAI, Wan-Zhu; HASHIKAWA, Tsutomu. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology*, v. 92, n. 6, p. 552-555, 2020.

MORAES, Adolfo H. et al. Antibody binding modulates conformational exchange in domain III of dengue virus E protein. *Journal of Virology*, v. 90, n. 4, p. 1802-1811, 2016.

MORANDO, Maria A. et al. Dynamics of Zika virus capsid protein in solution: the properties and exposure of the hydrophobic cleft are controlled by the α -helix 1 sequence. *Biochemistry*, v. 58, n. 20, p. 2488-2498, 2019.

NETEA, Mihai G. et al. Trained immunity: a program of innate immune memory in health and disease. *Science*, v. 352, n. 6284, 2016.

PAYNE, Daniel C. et al. Persistence of antibodies against Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Emerging Infectious Diseases*, v. 22, n. 10, p. 1824, 2016.

QU, Di et al. Intranasal immunization with inactivated SARS-CoV (SARS-associated coronavirus) induced local and serum antibodies in mice. *Vaccine*, v. 23, n. 7, p. 924-931, 2005.

SACRAMENTO, Carolina Q. et al. The clinically approved antiviral drug sofosbuvir inhibits Zika virus replication. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2017.

SHEAHAN, Timothy P. et al. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nature Communications*, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2020.

SMITH, Trevor RF et al. *Rapid Development of a Synthetic DNA Vaccine for COVID-19*. 2020.

SNIJDER, E. J.; DECROLY, E.; ZIEBUHR, J. The nonstructural proteins directing coronavirus RNA synthesis and processing. *Advances in Virus Research*, v. 96, p. 59-126, 2016.

STANLEY, Takara L. et al. Effects of switching from lopinavir/ritonavir to atazanavir/ritonavir on muscle glucose uptake and visceral fat in HIV infected patients. *AIDS*, v. 23, n. 11, p. 1349, 2009.

TOURET, Franck; DE LAMBALLERIE, Xavier. Of chloroquine and COVID-19. *Antiviral Research*, v. 177, p. 104762, 2020.

UN health chief announces global 'solidarity trial' to jumpstart search for COVID-19 treatment. *UN News*, 18 mar. 2020.

VANKADARI, Naveen; WILCE, Jacqueline A. Emerging COVID-19 coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. *Emerging Microbes & Infections*, v. 9, n. 1, p. 601-604, 2020.

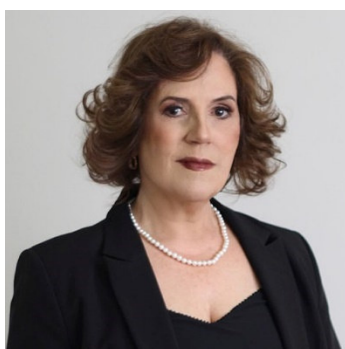
WANG, Ke et al. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *BioRxiv*, 2020.

WANG, Manli et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Research*, v. 30, n. 3, p. 269-271, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO R&D Blueprint: informal consultation on prioritization of candidate therapeutic agents for use in novel coronavirus 2019 infection*. Geneva: who, 2020.

ZHANG, Jian-San et al. A serological survey on neutralizing antibody titer of SARS convalescent sera. *Journal of medical virology*, v. 77, n. 2, p. 147-150, 2005.

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=VVbjR-Oqn2U



Maria Elena de Lima Perez Garcia

Doutora em Neurociências pela *Université D'Aix Marseille II*. Tem experiência na área de Farmacologia, com ênfase em Farmacologia Bioquímica e Molecular, atuando principalmente nos temas venenos de artrópodes, com ênfase em peptídeos com atividade anti-microbiana, com possíveis aplicações em saúde e biotecnologia. Atualmente, é membro do Conselho da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular e professora e pesquisadora do Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte.

E-mail de contato: mariaelena@faculdadesantacasabh.edu.br; lima.mariaelena@gmail.com

Peptídeos Naturais e Sintéticos Derivados de Peçonhas de Aracnídeos, como Fontes de Novos Fármacos¹

Maria Elena de Lima

O Brasil abriga uma das maiores biodiversidades do mundo, correspondendo cerca de 20- 22% da biodiversidade mundial (Swart et al., 2011). Nesse contexto, diversos produtos podem estar contidos nessa imensa riqueza, dentre eles potenciais novos fármacos. O mercado mundial global de fármacos movimenta anualmente em torno de 1,1 trilhões de dólares americanos, com aproximadamente 35% destes obtidos direta ou indiretamente de recursos naturais como: plantas (25%), microrganismos (13%) e animais (3%) (Calixto, 2019).

No grupo dos animais, os peçonhentos são bastante estudados durante a história da humanidade e suas peçonhas² (coquetéis de diferentes substâncias, incluindo sais, aminoácidos, proteínas, peptídeos, aminas, dentre outros) são ricas fontes de moléculas promissoras para a obtenção de novos fármacos. Como exemplo, a descoberta de peptídeos hipotensores presentes na peçonha da serpente jararaca (*Bothrops jararaca*) por Sérgio Henrique Ferreira (1934-2016) na Universidade de São Paulo, em Ribeirão Preto, SP, foi de grande relevância. Estes peptídeos inibem a enzima de conversão da angiotensina (ECA), o que leva a redução do efeito vasopressor da angiotensina (Ferreira, 1965). Estes estudos serviram de base para o desenvolvimento do medicamento anti-hipertensivo captopril pela multinacional Squibb. Outros exemplos temos Exenatide® e Ziconotide®. O Exenatide® (Byetta) é a versão sintética do exendine-4, um peptídeo de 39 resíduos de aminoácidos, encontrado na saliva do lagarto monstro de Gila (*Heloderma suspectum*), isolado por John Eng in 1992. Exenatide® foi aprovado em 2005 nos Estados Unidos e é usado para tratar diabetes tipo 2. Ziconotide® é um análogo sintético do peptídeo de 25 resíduos de aminoácidos w-conotoxina MVIIA, isolado do veneno do molusco marinho *Conus magus*, nos anos 80, por Michael McIntosh do grupo de Baldomero Olivera na Universidade de Utah, USA. Esse peptídeo é um potente analgésico e bloqueia canais de cálcio do tipo N (Cav2.2) e foi aprovado pelo FDA em 2004 para uso na clínica no tratamento da dor.

¹ Trabalho de co-autoria de: Júlio César M. de Brito (Fundação Ezequiel Dias), Carolina Nunes da Silva (Faculdade de Farmácia - UFMG), Pablo Victor M. dos Reis (Instituto de Ciências Biológicas – UFMG; Instituto de Química - USP), Leonardo Fuscaldi Silva (Faculdade de Farmácia - UFMG), Joaquim Teixeira de Avelar Jr (Instituto de Ciências Biológicas – UFMG), Daniel Moreira dos Santos (Instituto de Ciências Biológicas – UFMG; Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - Universidade Federal de São João Del-Rei), Marcella N. Melo-Braga (Instituto de Ciências Biológicas – UFMG), Lays Fernanda N. Dourado (Faculdade de Farmácia - UFMG), Daine Boff (Instituto de Ciências Biológicas – UFMG), Elaine Maria Souza-Fagundes (Departamento de Fisiologia e Biofísica – ICB/UFMG), Jarbas Magalhães Resende (Instituto de Ciências Exatas, UFMG), Vera Lúcia dos Santos ((Instituto de Ciências Biológicas – UFMG), Flávio Almeida Amaral (Instituto de Ciências Biológicas – UFMG), Rodrigo Verly (Departamento de Química, FACET, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri), Adriano M.C. Pimenta ((Instituto de Ciências Biológicas – UFMG), Valbert N. Cardoso (Faculdade de Farmácia – UFMG), Armando da Silva Cunha-Jr (Faculdade de Farmácia – UFMG), Simone Odília A. Fernandes (Faculdade de Farmácia – UFMG).

² O termo peçonha é utilizado para as substâncias (“venenos”) que são liberadas/injetadas por aparato especializado do animal, ex. telson nos escorpiões, presas nas serpentes, arpão no *Conus*, dentre outros. É frequente o uso do termo “veneno” como sinônimo, embora esta diferença deva ser entendida adequadamente.

Nosso grupo vem estudando vários peptídeos derivados de diferentes peçonhas, com foco em aracnídeos e o seu potencial biotecnológico. Como exemplo, os principais peptídeos estudados incluem aqueles com atividade antimicrobiana (para revisão ver Melo-Braga et al., 2021, Santos et al., 2010, Reis et al., 2018, Fuscaldi et al., 2021), analgésica (Freitas et al, 2016, Emerich et al., 2016, Pacheco et al., 2016) anticâncer (Abdel-Salam et al., 2018), potencializadora da função erétil (Silva et al., 2015, 2019), anti-glaucoma (Silva et al., 2020), dentre outras atividades. Esses peptídeos são nativos ou derivados das peçonhas de duas aranhas, *Lycosa erythrognatha* e *Phoneutria nigriventer* (Fig.1)



Figura 01: Aranhas, cujas peçonhas geraram peptídeos utilizados neste trabalho. (Fotos: Daniel Santos).

Os objetivos gerais de nossos estudos envolvem o isolamento, a caracterização, e o estudo do modo de ação de peptídeos naturais de peçonhas de aracnídeos, bem como de derivados sintéticos modificados ou não, com potencial terapêutico. Nessa apresentação daremos foco aos peptídeos antimicrobianos e a um peptídeo com potencial para tratamento do glaucoma.

As metodologias utilizadas podem ser encontradas nos trabalhos citados ao longo desse texto e envolvem a purificação de peptídeos antimicrobianos da peçonha da aranha *Lycosa erythrognatha* (Fig.1) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), sequenciamento de aminoácidos por técnicas de espectrometria de massa (MALDI-ToF), a síntese química em fase sólida (FMOC), a caracterização estrutural por dicroísmo circular (CD) e ressonância magnética nuclear (RMN), o alinhamento com outros peptídeos listados em bancos de dados verificando-se possíveis identidades e, finalmente, o estudo da atividade e toxicidade em modelos in vitro e in vivo (ver Santos et al., 2010, Reis et al, 2018, Fuscaldi et al., 2021). Estudos de formulação e modificação como uso de ciclodextrinas, encurtamento, acetilação, substituição de aminoácidos, retirada de aminoácidos e PEGuilação foram feitos em alguns desses peptídeos com o propósito de melhorar sua seletividade (Brito et al, 2020, Fuscaldi et al., 2021, Reis et al, 2018).

As metodologias utilizadas podem ser encontradas nos trabalhos citados ao longo desse texto e envolvem a purificação de peptídeos antimicrobianos da peçonha da aranha *Lycosa erythrognatha* (Fig.1) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), sequenciamento de

aminoácidos por técnicas de espectrometria de massa (MALDI-ToF), a síntese química em fase sólida (FMOC), a caracterização estrutural por dicroísmo circular (CD) e ressonância magnética nuclear (RMN), o alinhamento com outros peptídeos listados em bancos de dados verificando-se possíveis identidades e, finalmente, o estudo da atividade e toxicidade em modelos *in vitro* e *in vivo* (ver Santos et al., 2010, Reis et al, 2018, Fuscaldi et al., 2021). Estudos de formulação e modificação como uso de ciclodextrinas, encurtamento, acetilação, substituição de aminoácidos, retirada de aminoácidos e PEGuilação foram feitos em alguns desses peptídeos com o propósito de melhorar sua seletividade (Brito et al, 2020, Fuscaldi et al., 2021, Reis et al, 2018). O peptídeo denominado PnPP-19 (*Phoneutria nigriventer potentiator peptide*, 19 aa) é um derivado minimizado, que foi obtido baseando-se na estrutura da toxina PnTx2-6 da “aranha armadeira”, *Phoneutria nigriventer*, foi sintetizado por fase sólida e sua estrutura secundária foi caracterizada por CD. Esse peptídeo foi testado *in vivo* (ratos) em modelo de glaucoma e quanto à toxicidade, em membranas corioalantóides de galinhas, e se mostrou promissor para essa aplicação clínica (Silva et al., 2020).

As sequências de aminoácidos dos principais peptídeos discutidos nesse trabalho, são apresentadas na tabela a seguir:

Tabela 1 - Peptídeos derivados das peçonhas das aranhas *L. erythrogatha* (1,2,3, 4) e *Phoneutria nigriventer* (5)

Peptídeo	Estrutura primária	Massa (Da)	No. aa
1. LyeTx I	H-IWLTALKFLGKNLGKHLAKQQLAKL-NH ₂	2.831,9	25
2. LyeTxI-b	Ac-IWLTALKFLGKNLGKLAKQQLAKL-NH ₂	2.759,39	24
3. LyeTxI-bPEG	Ac-IWLTALKFLGKNLGKLAKQQLAKL-NH ₂ PEG	~ 4.726,0	24
4. LyeTxI mnΔK	H-IWLTALKFLGKNLGK-NH ₂	1.828,13	16
5. PnPP-19	Ac-GERRQYFWIAWYKLANSKK-NH ₂	2.485,6	19

*Os grupos destacados correspondem às modificações feitas nos peptídeos.

Os resultados foram divididos quanto a aplicação clínica e são mostrados nos seguintes tópicos:

1. Peptídeos antimicrobianos: O primeiro peptídeo com atividade antimicrobiana obtido por nosso grupo foi purificado do veneno da aranha *Lycosa erythrogatha* (Santos et al., 2010) e denominado LyeTxI (massa molecular = 2831,9 Da). Este peptídeo foi sequenciado, sintetizado e sua estrutura secundária foi caracterizada como um alfa-hélice por dicroísmo circular e por RMN. O peptídeo apresentou atividade antimicrobiana significativa sobre algumas espécies de bactérias Gram positiva (*Staphylococcus aureus*, MIC = 3,79 µM) e Gram negativa (*Escherichia coli* = MIC 7,81 µM) e em fungos (*Candida krusei*, MIC = 26,30 µM e *Cryptococcus neoformans*, MIC = 13,20 µM). LyeTxI alterou a permeabilidade de lipossomos (*L*-alfa-phosphatidylcholine, POPC) de maneira dose-dependente. Nos lipossomos POPC contendo também colesterol ou ergosterol, a permeabilidade devida à ação do peptídeo, decresceu cerca de cinco vezes ou não alterou, respectivamente. A estruturação do peptídeo em alfa hélice foi menor na presença de colesterol, o que indica menor interação do mesmo com membranas contendo este composto. Estes resultados sugeriram que as membranas bacterianas, que são desprovidas de colesterol, são alvos preferenciais para o peptídeo. Por outro lado, em presença de ergosterol, o estero presente nos fungos, a permeabilidade não alterou, o que é

importante para a interação com estes micro-organismos. LyeTxI apresentou atividade hemolítica, mas em mais alta concentração ($ED_{50} = 1,39 \cdot 10^{-4} \text{ M}$), que as observadas para atividade antimicrobiana (na ordem de micromolar).

Em estudos posteriores trabalhamos também com derivados modificados de LyeTxI (ver tabela). O derivado LyeTx I-b difere do peptídeo original pela deleção de um resíduo de histidina e pela acetilação no seu N-terminal (tabela 1) e apresenta uma leve curvatura em sua estrutura de alfa-hélice. Este derivado mostrou significativa atividade em bactérias planctônicas, Gram negativas e Gram positivas, sendo 10 vezes mais ativo que LyeTxI em *E. coli* ($MIC = 0,71 \mu\text{mol/L}$ versus $7,81 \mu\text{mol/L}$ para LyeTxI) (Reis et al., 2018), sendo que em *S. aureus* os MICs foram comparáveis para os dois peptídeos. LyeTxI-b foi testado também in vivo e comparado ao antibiótico clindamicina, num modelo de artrite séptica em camundongos. Tanto o peptídeo como a clindamicina, reduziram sensivelmente o pool de bactérias (*S. aureus*) na cavidade interarticular do joelho do animal, a migração de células imunes, o nível de IL-1b e de CXCL1. Entretanto, a concentração terapêutica do peptídeo ($0,03 \text{ nmol}$) foi cerca de 200 vezes 5 inferior à do antibiótico (7 nmol), indicando sua maior potência. Em um teste de nocicepção (Von Frei) em camundongos, LyeTxI- aumentou o limiar, sugerindo efeito antinociceptivo nos animais infectados. O peptídeo também preveniu o dano da cartilagem, diminuindo a perda de proteoglicanos. Portanto, LyeTxI-b mostrou ser um modelo potencial para o desenvolvimento de novos antibióticos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Em outro estudo, LyeTxI-b foi formulada como colírio (LyeTxI-b 28.9 mol/L + 0.5% carboxi metil celulose, em 0.9% NaCl), para tratar ceratites induzida em olhos de coelhos fêmeas (New Zealand), com *S. aureus* resistente, isolada de olho humano infectado (Silva et al., 2019). Uma gota da solução foi instilada 4 vezes ao dia, em cada olho, durante uma semana. A ceratites microbiana caracteriza-se por defeito no epitélio da córnea, com inflamação do estroma. A doença aguda causa dor e risco de perda ou redução da visão, o que requer rápido diagnóstico e tratamento. LyeTxI-b foi muito eficaz no tratamento de ceratites, com nenhum sinal de toxicidade ocular, avaliada em membranas corioalantóicas de ovo de galinha e pelo teste de Draize, e por estudos histopatológicos da córnea e de infiltrado celular (análise de mieloperoxidase e N-acetilglicosaminidase). LyeTxI-b mostrou-se potente e não tóxico, para o tratamento de ceratites bacteriana resistente, com eficácia antimicrobiana e anti-inflamatória.

LyeTxI-b mostrou ainda, atividade contra várias espécies resistentes de bactérias, mas apresentou considerável atividade hemolítica e citotoxicidade.

Em outra abordagem, visando-se contornar estas limitações (hemólise e citotoxicidade), mostradas pelo derivado LyeTxI-b, propusemos PEGuilar este peptídeo, visando-se obter uma molécula menos tóxica e com maior viabilidade sistêmica, para uso in vivo (Brito et al., 2016). A molécula PEGuilada (LyeTxI-bPEG), foi testada in vitro e in vivo em modelo de pneumonia causada por *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos (CRAB). A PEGuilação do peptídeo levou a uma pequena redução de sua atividade in vitro nos testes de MIC nos CRABs com a preservação da atividade em biofilme maduro, efeito sinérgico com antibióticos comerciais e principalmente, preservou a atividade in vitro em presença de proteases e plasma e evitou a dessensibilização de CRAB por 21 dias. LyeTxI-bPEG foi testado in vivo (camundongos) em modelo de pneumonia por CRAB pela via endovenosa e mostrou-se eficaz por reduzir significativamente, a carga bacteriana no pulmão dos animais. Além disso, a PEGuilação de LyeTxI-b reduziu em 12 vezes sua atividade hemolítica, em 2 vezes a citotoxicidade em células HEK-293, 10 vezes em células 6 Vero e 4 vezes a toxicidade aguda em

modelo in vivo (camundongos). Nesse contexto, esses resultados apontam LyeTxI-bPEG como antimicrobiano promissor para o tratamento de pneumonia causada por CRAB.

LyeTx I passou por estudo da minimização com a retirada de resíduos de aminoácidos de sua porção C-terminal (Fuscaldi et al., 2021). Desse estudo, foram obtidos três derivados estudados, LyeTxI mn-K (peptídeo de 16 resíduos de aminoácidos e com uma Lys a mais na posição 5, vide tabela 1) estruturou-se em alfa-hélice e apresentou vantagens sobre outros dois derivados minimizados (não mostrados), com menor hemólise e menor citotoxicidade. O peptídeo foi testado no modelo de artrite séptica causada por *S. aureus*. Para análise quantitativa, ceftizoxime (CFT) foi marcado com ⁹⁹Tc (tecnécio) e injetado intravenosamente nos animais, o que é captado pelo foco infeccioso. As imagens cintigráficas dos animais que tiveram um dos joelhos tratados e outro que recebeu apenas o veículo, mostraram claramente a atividade antimicrobiana do peptídeo in vivo, comparado com clindamicina (controle positivo). A dose do peptídeo LyeTxI mn-K que promoveu o efeito antimicrobiano foi cerca de 90 x menor que a da clindamicina, sugerindo seu alto potencial antimicrobiano. O tratamento também não alterou a migração celular e aumentou o limiar nociceptivo dos animais.

2. Peptídeo anti-glaucoma – PnPP-19 (*Phoneutria nigriventer peptide*, 19 resíduos de aminoácidos) é um peptídeo sintético, desenhado a partir da estrutura da toxina PnTx2-6 (48 aa) purificada da peçonha da aranha *P. nigriventer*. Previamente mostramos que PnPP-19 potência a função erétil em ratos e camundongos, e restaura esta função em animais diabéticos e hipertensos (Silva et al. 2015, 2019)³. Esta potencialização é mediada pela liberação de óxido nítrico (ON). Substâncias que liberam ON têm surgido recentemente como novos fármacos potenciais para o tratamento do glaucoma, pela diminuição da pressão intraocular (PIO). Glaucoma é uma doença crônica ocular que causa progressivo dano ao nervo óptico. A doença resulta na perda do campo visual e cegueira irreversível, tendo etiologia multifatorial. Calcula-se que em 2020 79,6 milhões de pessoas tiveram glaucoma e que este número deverá atingir 112 milhões em 2040.

O peptídeo PnPP-19 foi seguro para aplicação ocular, não mostrando toxicidade. A redução da PIO foi alcançada com a instilação de uma única gota da solução do peptídeo. Os resultados sugerem que PnPP-19 como um indutor da liberação de NO, possa aumentar o fluxo de humor aquoso (HA), evitando assim a progressão da degeneração do nervo óptico. Portanto, o peptídeo é um potencial fármaco promissor para o tratamento da hipertensão ocular⁴.

Conclusão: Peptídeos naturais e sintéticos derivados de venenos animais, constituem fonte quase inesgotável de matéria prima para o desenho de novos fármacos para o tratamento de diferentes doenças. Nesta apresentação destacamos alguns peptídeos antimicrobianos derivados do veneno da aranha *Lycosa erithrognata* que emergem como potentes antibióticos contra espécies resistentes de bactérias, uma necessidade premente frente ao aumento desses micro-organismos, o que tem sido alertado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que podem vir a causar novas epidemias intratáveis, se novos antibióticos não forem desenvolvidos (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>). Por outro lado, o peptídeo sintético, PnPP-19, desenhado a partir de uma toxina da aranha *P. nigriventer*, que já mostramos ativar a função erétil via liberação de ON, também mostrou excelente resultado para possível tratamento do glaucoma. Esta é uma pequena amostra de

³ Este trabalho foi patenteado e transferido para a empresa Biozeus e deverá ser submetido aos testes clínicos.

⁴ Este trabalho foi patenteado e transferido para a empresa Biozeus e deverá ser submetido aos testes clínicos.

pesquisas tendo como foco elementos de nossa biodiversidade, uma riqueza imensa a ser explorada. Entretanto, a possível viabilidade de aplicação destes e de outros produtos como fármacos, envolve investimento e maior agilidade no nosso sistema de patentes.

Palavras chaves: peptídeos antimicrobianos, *Lycosa erythrognatha*, *Phoneutria nigriventer*, Peptídeo antiglaucoma, PnPP-19.

Apoio: FAPEMIG, CNPq e CAPES.

REFERÊNCIAS

ABDEL-SALAM, Mostafa et al. The synthetic peptide LyeTxI-b derived from *Lycosa erythrognatha* spider venom is cytotoxic to U-87 MG glioblastoma cells. *Amino Acids*, v. 51, n. 3, p. 433-449, 2019.

BRITO, J. C.M. et al. *Composição farmacêutica com atividade contra pneumonia bacteriana e usos*. BR10202001684. Depósito: 19 ago. 2020.

CALIXTO, João B. The role of natural products in modern drug discovery. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, 2019.

EMERICH, Bruna Luiza et al. δ -Ctenitoxin-Pn1a, a peptide from *Phoneutria nigriventer* spider venom, shows antinociceptive effect involving opioid and cannabinoid systems, in rats. *Toxins*, v. 8, n. 4, p. 106, 2016.

FREITAS, A. C. N. et al. PnPP-19, a spider toxin peptide, induces peripheral antinociception through opioid and cannabinoid receptors and inhibition of neutral endopeptidase. *British journal of pharmacology*, v. 173, n. 9, p. 1491-1501, 2016.

FERREIRA, S. H. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. *British journal of pharmacology and chemotherapy*, v. 24, n. 1, p. 163-169, 1965.

FUSCALDI, Leonardo Lima et al. Shortened derivatives from native antimicrobial peptide LyeTx I: In vitro and in vivo biological activity assessment. *Experimental Biology and Medicine*, v. 246, n. 4, p. 414-425, 2021.

MELO-BRAGA, Marcella N. et al. Antimicrobial peptides from lycosidae (Sundevall, 1833) Spiders. *Current Protein and Peptide Science*, v. 21, n. 5, p. 527-541, 2020.

PACHECO, Daniela da Fonseca et al. A spider derived peptide, PnPP-19, induces central antinociception mediated by opioid and cannabinoid systems. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v. 22, 2017.

REIS, Pablo VM et al. LyeTxI-b, a synthetic peptide derived from *Lycosa erythrognatha* spider venom, shows potent antibiotic activity in vitro and in vivo. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 667, 2018.

SANTOS, D. M. et al. LyeTx I, a potent antimicrobial peptide from the venom of the spider *Lycosa erythrognatha*. *Amino Acids*, v. 39, n. 1, p. 135-144, 2010.

SILVA, Carolina Nunes da et al. A new topical eye drop containing LyeTxI-b, a synthetic peptide designed from a *lycosa erithrognata* venom toxin, was effective to treat resistant bacterial keratitis. *Toxins*, v. 11, n. 4, p. 203, 2019.

SILVA, Carolina Nunes et al. PnPP-19 peptide as a novel drug candidate for topical glaucoma therapy through nitric oxide release. *Translational Vision Science & Technology*, v. 9, n. 8, p. 33, 2020.

SILVA, Carolina Nunes et al. PnPP-19 peptide restores erectile function in hypertensive and diabetic animals through intravenous and topical administration. *The Journal of Sexual Medicine*, v. 16, n. 3, p. 365-374, 2019.

SILVA, Carolina Nunes et al. PnPP-19, a synthetic and nontoxic peptide designed from a *Phoneutria nigriventer* toxin, potentiates erectile function via NO/cGMP. *The Journal of Urology*, v. 194, n. 5, p. 1481-1490, 2015.

SWART, J. W. et al. (Coord.). *Ciência, Tecnologia e Inovação para um Brasil Competitivo*: estudo encomendado pela CAPES e executado pela SBPC. São Paulo: SBPC, 2011.

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=3rkfvjNg4GE



Paulo de Assis Melo

Doutor em Ciências Biológicas pela UFRJ. Médico formado pela Faculdade de Medicina de Campos, atualmente é professor titular da UFRJ-Campus Macaé, atuando com pesquisas em desenvolvimento de novas substâncias e de modelos experimentais e farmacologia de peçonhas (Toxinologia), estudo de antagonistas de toxinas de animais e plantas e uso de Policationtes citotóxicos naturais de peçonhas no desenvolvimento de fármacos e novas substâncias planejadas anticitotóxicas.

A Synthetic Metalloproteinase Inhibitor Derivative From Natural Naphthoquinones

(Habilidade de um derivado de quinonas em inibir metaloproteases de peçonhas de serpentes do gênero *Bothrops*)

Paulo A. Melo

Estudamos a inibição de substâncias naturais e sintéticas nos efeitos induzidos por peçonhas de serpentes viperídeas. Na lesão tecidual tem especial atenção os efeitos de venenos de serpentes do gênero *Bothrops*. Estas peçonhas contêm enzimas com atividades fosfolipase, proteolítica, collagenase e hialuronidase que inoculada nos tecidos, induzem, intensa hemorragia edema e mionecrose. Investigamos usando protocolos in vitro e in vivo, em camundongos, os efeitos de venenos brutos de serpentes do gênero *Bothrops*, e suas atividades na presença de quinonas sintéticas, análogos do lapachol. Entre estes análogos teve um destaque ou derivado sintético do lapachol (quinona - LQB166) que apresentou seletivamente atividade antiproteolítica, anticollagenase e não inibiu fosfolipase A2, in vitro, do veneno de *B. atrox*. Nos testes in vivo, antagonizou o edema, a hemorragia induzida pelos venenos de *B. jararaca* e *B. atrox*, sem no entanto, proteger da miotoxicidade induzida pelos venenos de *B. atrox* ou *B. jararacussu*. Esta seletividade marcante de inibição destes efeitos contra estes venenos brutos nos chamou a atenção para este grupo especial de quinonas. Estes dados indicam que venenos de serpentes e suas toxinas são ferramentas que nos permitem buscar inibidores enzimáticos com atividades seletivas.

Palavras chaves: Peçonhas de serpentes; Quinonas sintéticas; Lapachol; Atividade de metaloproteases

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=jhD3Ot3tg-E

**Marco Antonio Stephano**

Doutor em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica pela Universidade de São Paulo (USP). Formado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), foi Pesquisador Científico do Instituto Butantan, desenvolvendo trabalhos de cunho tecnológico para o desenvolvimento de soros e vacinas. Atualmente, é professor do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, com foco em pesquisas no desenvolvimento de processos em soros e vacinas, validação de processos biotecnológicos e de controle de qualidade de produtos biológicos, entre outros.

Produção de vacina para COVID-19 por Spray Nasal

Marco Antonio Stephano
Jorge Elias Kalil Filho¹

Em 31 de dezembro de 2019, a OMS (Organização Mundial da Saúde) foi informada de um conjunto de casos de pneumonia de causa desconhecida detectados na cidade de Wuhan, província de Hubei, na China. Estas pneumonias seriam causadas por um novo coronavírus denominado SARS-COV-2. A vacinação tem sido uma das abordagens mais eficazes de prevenção de doenças e é o modo mais econômico de prevenir a morbidade, a mortalidade e as perdas econômicas causadas por doenças infecciosas. Mais de 600 milhões de formulações de vacina são agora administradas por injeções subcutâneas ou intramusculares, de acordo com registros da OMS. Questões de segurança, no entanto, como efeitos adversos locais e sistêmicos e possível recombinação de um organismo enfraquecido em uma espécie virulenta aumentaram o interesse em vacinas de subunidades ou inativadas. WEINBERGER e colaboradores (1978) viram que a relação de IgG/Albumina era muito baixa nos lavados brônquios alveolares, e aumentam apenas quando da existência de uma lesão ou inflamação pulmonar. Por este motivo, acredita-se que vacinas por via parenteral ou oral não tenham a eficiência desejada, ou seja, evitar a infecção e a transmissão do SARS-COV-2, o seu objetivo será diminuir as internações hospitalares e até mesmo a morte. O objetivo deste estudo é desenvolver um sistema estável de entrega de antígeno para imunização nasal usando nanopartículas cerâmicas associadas a biopolímeros muco penetrantes com parte da proteína S recombinante do vírus SARS-CoV-2 como antígeno, uma vez que a imunização de mucosa leva a produção de anticorpos da classe sIgA (imunoglobulina A secretora). A prova de conceito já foi desenvolvida, porém ainda existe a necessidade do desenvolvimento de ensaios pré-clínicos (toxicológicos), de acordo com as recomendações do ICH S6(R1); e o estudo clínico em participantes humanos, de acordo com diretrizes ICH E6, RDC 55/2010, Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466/2012 e recomendações da OMS, para desenvolvimento de candidatos a vacina para COVID-19.

Introdução

A vacinação tem sido uma das abordagens mais eficazes de prevenção de doenças e a forma mais econômica de prevenir a morbidade, a mortalidade e as perdas econômicas causadas por doenças infecciosas, bem como a única forma de restaurar as relações afetivas perdidas pelo COVID-19. Mais de 174 formulações de vacina são agora administradas por injeções subcutâneas ou intramusculares, de acordo com registros da OMS. Questões de segurança, no entanto, como efeitos adversos locais e sistêmicos e possível recombinação de um organismo enfraquecido em uma espécie virulenta aumentaram o interesse em vacinas de subunidades ou inativadas. Por outro lado, uma redução drástica na eficácia dessas vacinas é causada pela falta de fatores de virulência, gerando respostas imunológicas ruins em geral, apesar de sua segurança e melhor definição farmacêutica. Portanto, a formulação da vacina pode ser fundamental para o sucesso da vacinação.

¹ INCOR/Faculdade de Medicina da USP.

O sistema imunológico pode ser dividido anatomicamente e funcionalmente em dois compartimentos: o compartimento sistêmico, incluindo ossos, medula óssea, baço e gânglios linfáticos; e o compartimento de mucosa, que compreende tecido linfoide, associado às superfícies de mucosa (MALT- *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*), e glândulas externas secretoras (Staats et al., 1994). Uso de vacinas por via mucosa traz muitas vantagens (Takahashi et al., 2009); por exemplo: possibilidade de neutralização dos patógenos na sua porta de entrada; praticidade no momento da administração, exigindo menor qualificação de pessoas para administração da vacina; maior aceitação dos pacientes, pois não se trata de método invasivo (Van der Lubben et al., 2001); maior facilidade e rapidez na administração, principalmente se for necessária a vacinação em massa; diminuição dos riscos de injúrias e contaminação cruzada (Pratelli et al., 2001), e muito importante: indução de resposta imune de mucosa, assim como sistêmica – no entanto, a expressão da resposta imune de mucosa vai depender do tipo de via a administrar a vacina (Negri et al., 2010) (Figura 1).

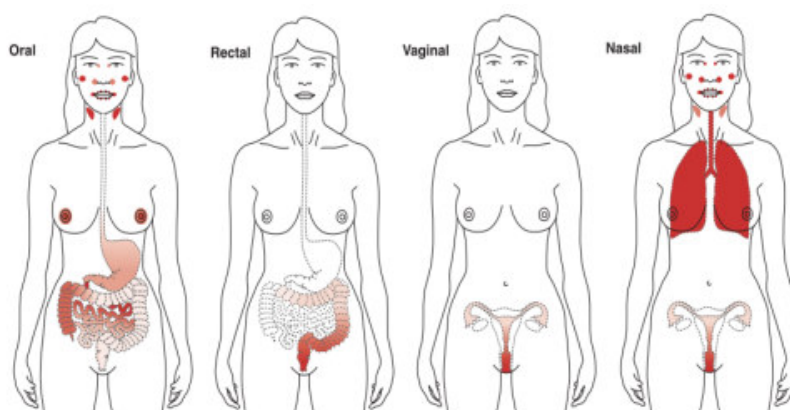


Figura 01. Produção de sIgA (IgA secretora dependente da via de administração do antígeno.
Fonte: <https://doi.org/10.1038/nm1213>

Dentro de todas as imunizações em mucosas, a imunização intranasal é uma das mais promissoras; tem reduzida atividade enzimática, em comparação com outras vias possíveis de administração, como, por exemplo, a via oral; o epitélio nasal é moderadamente permeável e há elevada disponibilidade de locais imunorreativos (Csaba, Garcia-Fuentes, Alonso, 2009) (Figura 2).

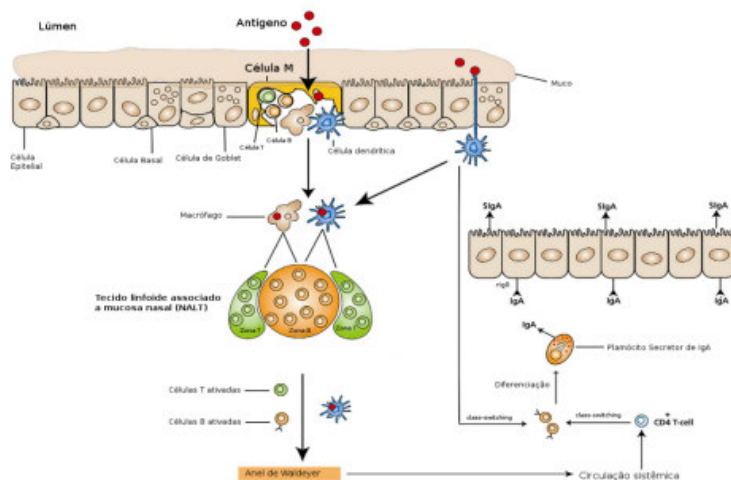


Figura 02: Mecanismos imunológicos da administração de antígeno pela via nasal.
Fonte: doi:10.1016/j.addr.2009.11.009, modificado por Yoshida, J.Y 2012

O objetivo deste projeto é desenvolver uma vacina para o SARS-CoV-2, coronavírus responsável pelo COVID-19, através da produção do antígeno recombinante conjugada a nanomaterial cerâmico, encapsulado em nanopartícula utilizando polímeros biodegradáveis e biocompatíveis com tecido humano para aplicação nasal.

Atualmente o antígeno desenvolvido por nossa equipe, consiste na produção das RBDs (*Receptor-Binding-Domain*) das três novas variantes (Reino Unido, África do Sul e Amazonas) além da RBD da primeira variante circulante no Brasil. Além das RBDs, o antígeno é composto de 18 streamings (transportador) para células B e T. (Figura 3 e 4).

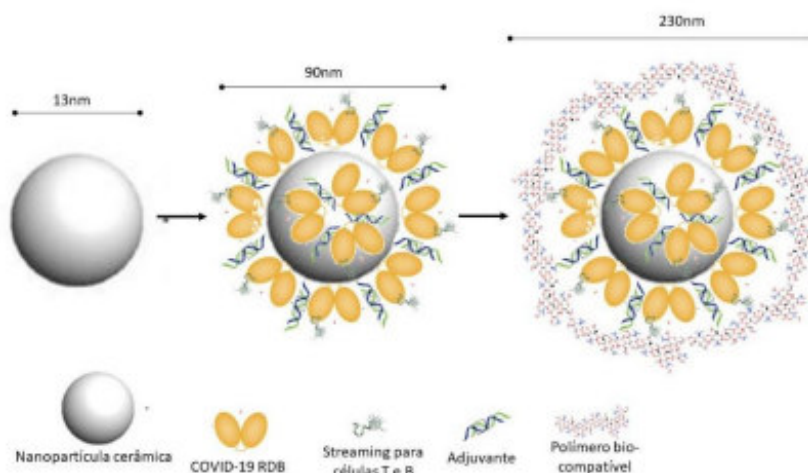


Figura 03: Esquema de preparação das nanopartículas para imunização nasal.
Fonte: Incor/FCF/IQ/ – USP/UNIFESP/UNICAMP, 2021 (não publicado).

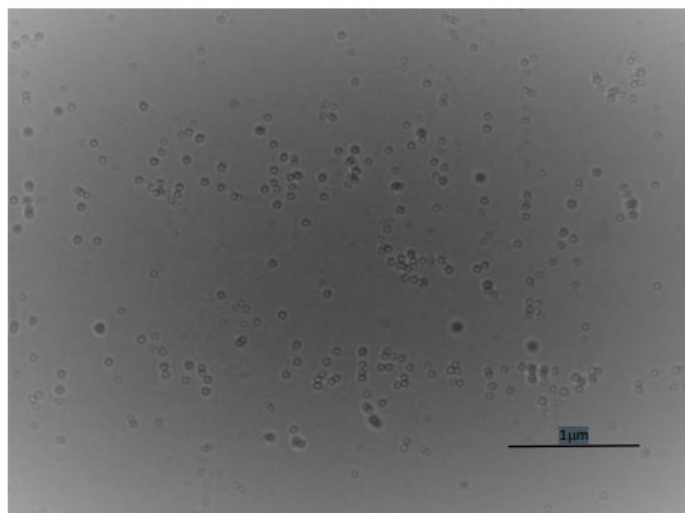
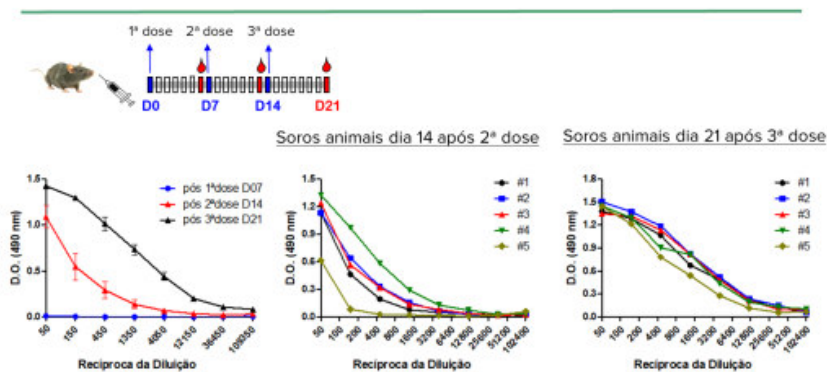


Figura 04: Microscopia ótica (1000X) das nanopartículas antigênicas para imunização nasal para o SARS-COV-2

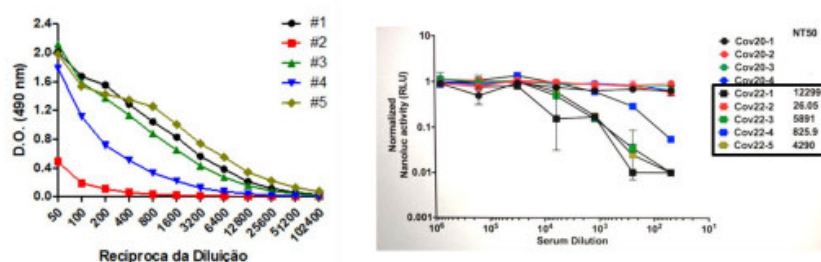
Fonte: Incor/FCF/IQ/ – USP/UNIFESP/UNICAMP, 2021 (não publicado)

O presente projeto se encontra na fase final da prova de conceito ou primeira fase dos ensaios pré-clínicos, onde foi definida a melhor formulação e número ideal de doses em animais, de modo a produzir anticorpos neutralizantes para o SARS-CoV-2. Como resultados iniciais desta etapa obtivemos uma formulação adequada para imunização nasal que gera anticorpos neutralizantes em duas ou três doses com intervalos de 14 dias.

Resultados obtidos até o momento.



● Ensaio neutralização com pseudovírus dia 42 após 3ª dose



Em breve será dado início a segunda fase dos ensaios pré-clínicos, neste caso são os ensaios toxicológicos que deverão ser realizados em laboratórios com certificação com BPL (Boas Práticas de Laboratório). Estes ensaios determinarão se a formulação do produto não terá efeitos tóxicos sobre fetos e animais adultos, não induzirá ao câncer e nem a mutação gênica de pelo menos duas espécies de animais, sendo uma não roedora.

Palavras-Chave: vacina, mucosa, nasal, nanopartícula, resposta imune

Financiamento: FAPESP nº 2020/05256-7; FINEP01.20.000900-MCTI nº CEUA FM/USP: prot nº 1510/202

Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=nzdEJdJnqiU

**Túlio Lima**

Formado em Engenharia de Bioprocessos e possui especialização em Biotecnologia Farmacêutica pela COPPE/UFRJ. Atualmente é doutorando do programa Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos da UFRJ.

E-mail de contato: tml@peq.coppe.ufrj.br

Produção e Purificação da Proteína S de SARS-COV-2 para desenvolvimento de medicamentos, vacinas e ferramentas de diagnóstico para COVID-19¹

Túlio Macedo Lima

O presente trabalho apresenta os esforços do Laboratório de Engenharia de Cultivos Celulares da COPPE/UFRJ junto com colaboradores no combate à pandemia do novo coronavírus. Em fevereiro de 2020, iniciou-se o desenvolvimento do processo de produção e purificação da proteína S (do inglês "Spike") do SARS-CoV-2 para desenvolvimento de kits para diagnóstico sorológicos do tipo ELISA (Alvim et al.; doi: 10.1101/2020.07.13.20152884, 2020). Após o estabelecimento do processo de produção e purificação da proteína S, a mesma foi aplicada para o desenvolvimento de um soro anti-SARS-CoV-2 em parceria com o Instituto Vital Brasil e, mais recentemente, para uma vacina candidata utilizando a proteína S recombinante.

Inicialmente células HEK 293 foram utilizadas para desenvolver uma linhagem de células capaz de expressar de forma estável o ectodomínio solúvel da proteína S através da transfecção da construção gênica proposta por Wrapp et al. (doi: 10.1126/science.abb2507, 2020), seguida do cultivo em meio contendo agente de seleção até a criopreservação para geração do banco de células. O cultivo foi otimizado em frascos agitados e escalonado para biorreatores de bancada e em seguida para biorreatores de 50 litros utilizando bolsas descartáveis.

Paralelamente foi desenvolvido o processo de purificação da proteína S, onde foram testadas diversas etapas cromatográficas e de separação por membranas. O processo final obtido é baseado principalmente em uma etapa de cromatografia de afinidade, onde é possível obter a proteína com elevada pureza. Foram estudadas também a estrutura da proteína S após a produção e purificação e a estabilidade por até 6 meses em diferentes condições de armazenamento.

O teste de diagnóstico desenvolvido sorológico para IgG apresentou sensibilidade superior a 90% após 10 dias do surgimento dos sintomas e especificidade de 98,4%, validado contra mais mil amostras clínicas bem caracterizadas. No desenvolvimento da vacina candidata, foram realizados diversos estudos em animais utilizando diferentes adjuvantes, dosagens e vias de administração, onde foi possível observar a formação de anticorpos neutralizantes em títulos elevados.

Palavras Chave: Proteína recombinante, Teste sorológico, ELISA, imunizante

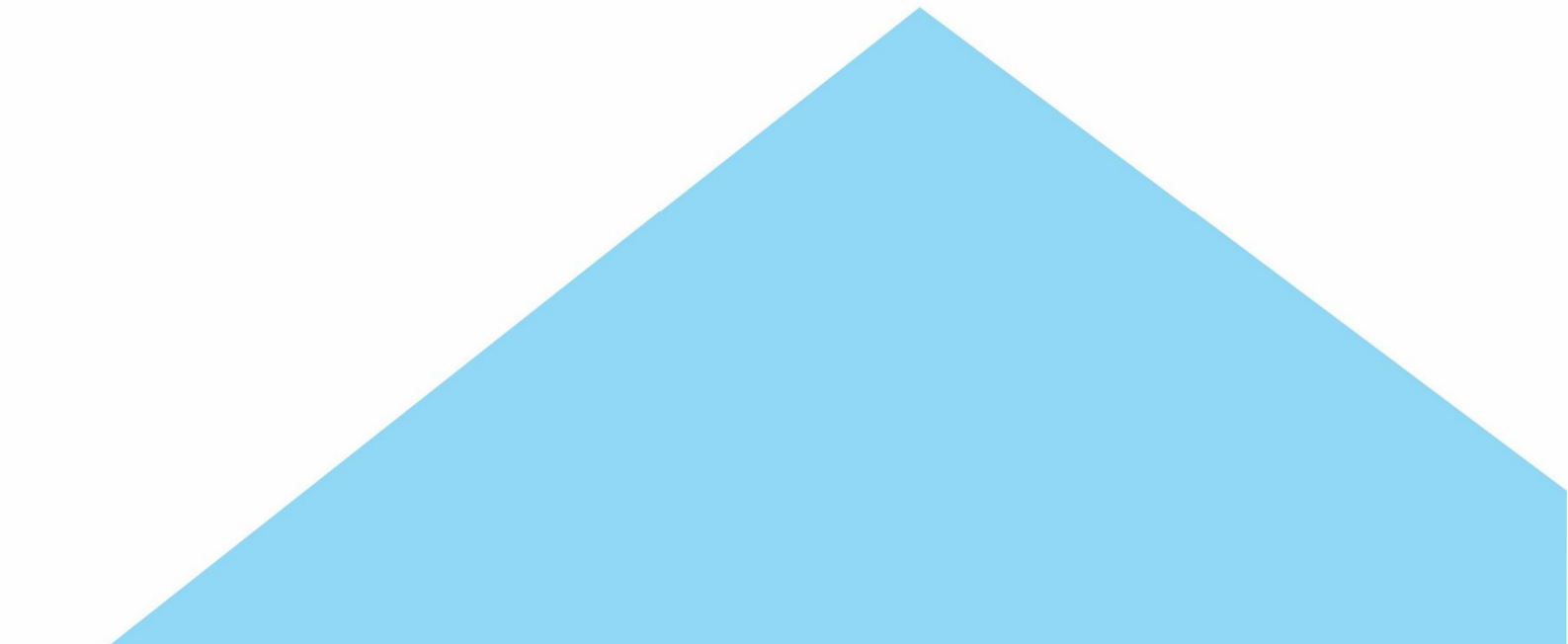
Assista à palestra inteira em www.youtube.com/watch?v=VVbjR-Oqn2U

¹ Trabalho de co-autoria de: Daniel Paiva Barros de Abreu, Federico Francisco Marsili, Renata Guimarães Ferreira Alvim, Leda dos Reis Castilho; vinculados ao Laboratório de Engenharia de Cultivos Celulares – Universidade Federal do Rio de Janeiro (LECC/UFRJ).

A large, dark blue geometric shape that starts as a horizontal bar at the top and tapers downwards to a point, forming a large downward-pointing triangle.

TRABALHOS CIENTÍFICOS

Os trabalhos premiados foram divulgados no Youtube do Instituto Vital Brazil em forma de vídeo-pôsteres.

A large, light blue geometric shape that starts as a horizontal bar at the bottom and tapers upwards to a point, forming a large upward-pointing triangle.

Avaliação farmacológica de dois derivados da Artemisinina como agentes terapêuticos e sondas fluorescentes para o estudo e tratamento da malária

Adrielle S. de Moraes¹, Mariana da Cruz B. Silva¹, Svetlana B. Tsogoeva², Lars Herrmann², Christina Mai², Diogo R. M. Moreira¹

¹Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia, Instituto Gonçalo Moniz, FIOCRUZ, BA, Brasil. ²Organic Chemistry Chair I and Interdisciplinary Center for Molecular Materials (ICMM), Friedrich-Alexander University of Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Germany

INTRODUÇÃO: A malária é uma das principais causas de morte decorrentes de doenças infecciosas, com impactos significativos no mundo, particularmente na África, América do Sul e Ásia. A resistência aos antimaláricos disponíveis agravou o cenário mundial do tratamento da doença, tornando necessário o desenvolvimento de novos agentes com atividade antiparasitária. Compostos fluorescentes emergem como potencial para estudo da doença.

OBJETIVO: Avaliar o potencial antimalárico de compostos fluorescentes derivados da artemisinina, AC11 e AC98, através de modelo experimental murino de supressão de parasitemia e compreender mecanismo de incorporação e localização da artemisinina no plasmódio. **MÉTODOS:** Em uma placa escura de fundo opaco os compostos foram adicionados (500µM e 100µM) com os diluentes: PBS1X ou BSA1% ou Hb1%. A placa foi lida no fluorímetro nos tempos de 10min e 24h. Para avaliar a incorporação dos compostos pelo plasmódio, foi realizado um ensaio utilizando citometria de fluxo. Uma solução foi preparada contendo sangue infectado (1:1) (cepa PbNK65) e o composto solubilizado nas concentrações de 12, 3 e 0,75µM. Após lavagens, foi adicionado o corante de DNA SYTO-61, e a leitura foi feita no citômetro (canais Pacific Blue e APC). Por fim, para a eficácia dos compostos, foi utilizado o modelo de supressão de parasitemia (teste de Peters), no qual camundongos Swiss Webster infectados com a cepa GFP do *P. berghei* foram tratados 3h pós-infecção com o AC11 ou AC98 (65 µmol/kg), por 4 dias consecutivos. Controles: Artesunato (positivo) e veículo (negativo).

RESULTADOS: Este trabalho permitiu caracterizar a fluorescência do AC11 e AC98 pela primeira vez, e estes se apresentaram estáveis nas soluções testadas e a fluorescência foi detectada nos dois intervalos de tempo, mostrando que a mesma não é perdida ao longo do tempo. Foi padronizado o experimento de incorporação do composto pelo plasmódio, constatando que a 12µM os compostos são incorporados por hemácias infectadas e não infectadas. Já em 0,75µM, há uma incorporação seletiva pelas hemácias infectadas. Neste ensaio, o AC98 demonstrou ter uma captação duas vezes maior pelas hemácias. Nos testes in vivo, o AC11 em 65 µmol/kg por via subcutânea foi eficaz em suprimir a parasitemia e reduziu a mortalidade em 100%, evidenciando um potencial curativo, em comparação aos grupos controles. **CONCLUSÃO:** Em suma, os compostos AC11 e AC98 se mostraram ativos frente ao *Plasmodium berghei*, forneceram atividade de sonda fluorescente, suscitando a realização de novos estudos que possam averiguar os mecanismos de ação envolvidos na sua atividade.

Palavras-chave: antiparasitário, fluorescência, plasmodium.

Financiadores: FAPESB

Veja o vídeo-pôster em https://www.youtube.com/watch?v=MRIVncjbkQs&list=PLvdAV-MmnvsxVMDgveAvMGn_ZqDfC7ER3&index=3

Potencial Biotecnológico da Planta *Clusia fluminensis* Planch. & Triana contra algumas atividades tóxicas dos venenos do gênero *Bothrops*

Aldo Rodrigues da Silva^a, Maria Carolina Anholeti^b, Marcia Pietroluongo^c, Eladio Flores Sanchez^d, Alessandra Leda Valverde^e, Selma Ribeiro de Paiva^f, Maria Raquel Figueiredo^c, Maria Auxiliadora Coelho Kaplan^g, André Lopes Fuly^a

^aDepartamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil;

^bFaculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil; ^cFundação Oswaldo Cruz, RJ, FarManguinhos, Brasil, RJ; ^dCentro de Pesquisa e Desenvolvimento, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG, Brasil; ^eDepartamento de Química Orgânica, Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil; ^fDepartamento de Biologia Geral, Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil; ^gInstituto de Pesquisa em Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Desde a antiguidade o homem sofre com envenenamentos causados por animais peçonhentos, os quais são um grave problema de saúde pública devido a sua ocorrência, gravidade e sequelas. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, 420 mil acidentes ocorrem com serpentes peçonhentas, dentre os quais 20 mil resultam em óbito por ano. Porém, devido à subnotificação, estima-se que mais de 2,5 milhões de acidentes e 100 mil mortes ocorram todos os anos. Os locais de maior incidência desses acidentes são regiões tropicais e subtropicais, países em desenvolvimento, áreas rurais e regiões pobres. No Brasil, o gênero *Bothrops* é responsável por 87 % dos acidentes ofídicos, e tais acidentes são caracterizados por efeitos sistêmicos (hemorragia, distúrbios de coagulação, insuficiência renal e cardíaca) e locais (dor, edema, sangramento, dermonecrose e mionecrose). O tratamento preconizado pelo Ministério da Saúde é a administração endovenosa de soro antiofídico (soroterapia). Apesar da soroterapia reverter com eficácia os efeitos sistêmicos do veneno no organismo da vítima, conseguindo evitar por muitas vezes o óbito, ela apresenta algumas desvantagens, como: efeitos colaterais e a ineficiência no combate aos efeitos locais do veneno. Com isso, ocorre o desenvolvimento de sequelas, e que pode evoluir para amputação do membro atingido. Nesse contexto, são necessárias terapias mais específicas e eficientes. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antiveneno de extratos aquosos da folha, caule e fruto de *Clusia fluminensis*, espécie vegetal presente em áreas de restinga, contra alguns efeitos tóxicos do veneno das serpentes *Bothrops jararaca* e *B. jararacussu*. Os extratos foram incubados durante 30 minutos a 25 °C com cada um dos venenos, e em seguida as atividades in vitro (coagulação e proteolítica) e in vivo (hemorrágica e edematogênica) foram realizadas. Os resultados mostraram que todos os extratos inibiram as atividades dos venenos de *B. jararaca* e *B. jararacussu*, mas com diferentes potências; sendo o extrato do fruto o mais potente. Além disso, a neutralização da atividade hemorrágica e edematogênica dos venenos foi igualmente alcançada quando o extrato do fruto foi administrado (seja por via oral, intravenosa ou subcutânea) injetado antes ou depois da injeção do veneno. Estes resultados sugerem que os extratos de *C. fluminensis* podem ser eficazes contra os efeitos tóxicos dos venenos de *B. jararaca* e *B. jararacussu*, proporcionando assim uma ferramenta promissora para o tratamento dos acidentes provocados por tais serpentes.

Palavras-chave: Antiveneno, *Bothrops jararaca*, *Bothrops jararacussu*, *Clusia fluminensis*

Veja o vídeo-pôster em https://www.youtube.com/watch?v=wGudKRxOhQ4&list=PLvdAV-MmnvsvXVMDgveAvMGn_ZqDfC7ER3&index=4

Study of aqueous fraction composition obtained by slow pyrolysis of Licuri residues: potential insecticide in the control of stored grain pest *Rhizopertha dominica*

Alexander Ventura^{1,3}; Camila Mattos^{1,3}; Juliana Andrade^{1,3}; Lucca Correa³; Pamella Christina Ortega de Oliveira^{2,4}; Marcia C. C. Veloso⁴; Gilberto A. Romeiro^{2,4}; Evelize Folly das Chagas^{1,3,5*}

¹Postgraduate Program in Science and Biotechnology, Institute of Biology (IB), Federal Fluminense University (UFF), Brazil. ²Postgraduate Program in Chemistry, Institute of Chemistry (IC), Federal Fluminense University (UFF), Brazil. ³Laboratory of Pest and Parasite Studies (LEPP), UFF, IB, Department of Cellular and Molecular Biology, Niterói, RJ, Brazil. ⁴Laboratory of Synthesis, Chromatography and Environment (SINCROMA), UFF, IC, Department of Organic Chemistry, Niterói, RJ, Brazil. ⁵National Institute of Science and Technology – Molecular Entomology (INCT-EM), Brazil.

*This work presents the study of the slow pyrolysis process applied to the licuri shell (*Syagrus coronata*) to obtain aqueous fractions aiming the use of these products as a fumigant in the control of stored grain pests, which represents a serious problem for Brazilian agriculture. The thermal decomposition in the absence of oxygen (pyrolysis), widely used to obtain energy, had no destination for the aqueous fraction obtained during the process, ending up being discarded. The aqueous fractions were collected in 5 different fractions. The evaluation of the biological activity consisted in the observation of the fumigant activity. The method used filter paper of 2 cm diameter attached to the lid of 40 ml containers, impregnated with 25 µL of aqueous solution. Then, 20 insects were added, thus constituting the experimental unit. Mortality was observed every 24 hours for 4 days. The tests were conducted using a total of n = 120 insects for each treatment. Preliminary results of the liquid fractions obtained under conditions of slow pyrolysis of licuri bark show a promising insecticidal activity against the stored grain pest *Rhizopertha dominica*, reaching values close to 75% mortality in 24H after treatment and higher than 80% mortality after 96 hours of treatment, thus suggesting a low residual power. To investigate the chemical composition of the samples, the aqueous fractions were treated by fractional distillation, liquid-liquid extraction, lyophilization and headspace. The samples were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GCMS) to study the chemical composition and its correlation with the observed biological activity. The high concentration of acetic acid plays a very effective role in the synergistic process. The furan derivatives and L-alanine ethylamide (S), in combination with other minorities in aqueous solution at acidic pH, should have an effective participation in the activity effect observed in each fraction studied. The activity observed against *Rhizopertha dominica* does not come from phenolic substances, as these are predominantly in the liquid, not in the volatiles. The hydrocarbons that appear in aqueous fractions probably do not contribute to the observed activity. Volatile substances that may contribute to the activity are included in the furan derivatives, ketones/aldehydes and carboxylic acids/esters. However, further studies will be required for this confirmation.*

Keywords: *Licuri, slow pyrolysis, stored-grain pests, *Rhizopertha dominica*, fumigation*

This article was supported by Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia (INCT-Entomologia Molecular), Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Ensaio clínico de fase I/II para tratar envenenamentos por abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) usando o novo soro Antiapílico

Alexandre Naime Barbosa¹(†), Rui Seabra Ferreira Junior^{1,2,3,11}(†)(*), Francilene Capel Tavares de Carvalho^{2,3}, Fabiana Schuelter-Trevisol^{4,5}(†), Mônica Bannwart Mendes¹, Bruna Cavecci Mendonça^{2,3}, José Nixon Batista⁴, Daisson José Trevisol^{4,5}, Leslie Boyer⁶, Jean-Philippe Chippaux^{7,8}, Natália Bronzatto Medolago⁹, Claudia Vilalva Cassaro^{2,3}, Márcia Tonin Rigotto Carneiro⁹, Ana Paola Piloto de Oliveira⁹, Daniel Carvalho Pimenta^{2,10}, Luís Eduardo Ribeiro da Cunha¹¹, Lucilene Delazari dos Santos^{1,2,3,12}(†), Benedito Barraviera^{1,2,3,12}(†)

¹Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, SP, Brasil; ²Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, SP, Brasil; ³Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, SP, Brasil; ⁴Centro de Pesquisas Clínicas do Hospital Nossa Senhora da Conceição, Tubarão, SC, Brasil; ⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC, Brasil; ⁶VIPER Institute, University of Arizona College of Medicine, Tucson, AZ, EUA; ⁷MERIT, IRD, Université Paris 5, Sorbonne Paris Cité, Paris, 75006, França; ⁸CRT, Institut Pasteur, Paris 75015, França; ⁹Unidade de Pesquisa Clínica (UPECLIN), Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, SP, Brasil; ¹⁰Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil; ¹¹Instituto Vital Brazil, Niterói, RJ, Brasil; ¹²Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica, Centro para o Estudo de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, SP, Brasil.

(†) Esses autores contribuíram igualmente para este trabalho e compartilham a primeira autoria (*) rui.seabra@unesp.br

RESUMO A segurança, a dose mínima ideal e a eficácia preliminar de uma nova geração de antiveneno Antiapílico (AAP) para tratar envenenamentos por abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) foram avaliadas. Foi conduzido um ensaio clínico de fase I/II, multicêntrico, não randomizado, de braço único, envolvendo 20 participantes apresentando múltiplas picadas. Os participantes receberam 2 a 10 frascos de AAP com base no número de picadas, juntamente com um esquema de tratamento adjuvante, sintomático e complementar predefinido. O parâmetro de avaliação de segurança primário foi a presença de reações adversas precoces nas primeiras 24 horas após o tratamento. A eficácia preliminar através da evolução clínica, incluindo testes laboratoriais, foi avaliada no início do estudo e nas quatro semanas seguintes. Os ensaios ELISA e a espectrometria de massa estimaram a farmacocinética do veneno antes, durante e após o tratamento. Vinte participantes adultos, 13 (65%) homens e 7 (35%) mulheres, com idade mediana de 44 anos e superfície corporal média de 1,92 m² (mediana = 1,93 m²) foram recrutados. O número médio de picadas foi de 52,5, variando de 7 a mais de 2.000. A gravidade do envenenamento foi classificada como 80% leve, 15% moderada e 5% grave. De acordo com o protocolo, 16 (80%) participantes receberam dois frascos de AAP, 3 (15%) seis frascos e um (5%) 10 frascos. Não houve interrupção do tratamento devido a eventos adversos agudos e não ocorreram reações adversas tardias. Dois pacientes

apresentaram eventos adversos leves, apenas com coceira transitória na pele e eritrodermia. Todos os participantes completaram a infusão em duas horas e não houve perda de seguimento após a alta. Os ensaios ELISA mostraram concentrações de veneno variando entre 0,25 ng/mL e 1,479 ng/mL antes do tratamento. Os níveis de veneno diminuíram em todos os casos durante o período de hospitalização. Surpreendentemente, em nove casos (45%), apesar da recuperação clínica e sem sintomas, os níveis de veneno aumentaram novamente durante o atendimento ambulatorial 10 dias após a alta. A espectrometria de massas mostrou a presença de melitina em oito participantes 30 dias após o tratamento. Considerando os resultados de segurança promissores do produto experimental para o tratamento de ataques massivos de abelhas africanizadas, somados à eficácia na melhora clínica e diminuição imediata do nível de veneno no sangue, o novo soro Antiapílico demonstrou ser seguro para uso humano.

Registro do trial: Número de teste universal (UTN): U1111-1160-7011.

Número de registro: RBR-3fthf8 (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-3fthf8/>).

Palavras-chave: Antiveneno, *Apis mellifera* africanizada, ensaio clínico, avaliação de segurança, ELISA - *Enzyme-linked immunosorbent assay*

Caracterização do perfil de anticorpos de indivíduos cronicamente infectados (CI) e com resistência induzida por droga (RID) de uma área endêmica para Esquistossomose

Autores: Almiro Pires da Silva Neto¹, Fernanda Maria Lessa Carvalho¹, Leonardo Paiva Farias¹

¹Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia, Instituto Gonçalo Moniz, FIOCRUZ, BA, Brasil

Resumo: INTRODUÇÃO: As infecções parasitárias, em especial a esquistossomose e a ancilostomose, figuram entre os problemas de saúde mais importantes nos países em desenvolvimento. O desenvolvimento de vacinas para essas infecções poderia reduzir substancialmente a morbidade global associada a estas helmintíases. Infelizmente durante as últimas décadas, pouco progresso foi alcançado com os candidatos vacinais testados até agora, e novas abordagens são necessárias para selecionar e testar novos alvos. Estudos realizados em áreas endêmicas sugerem que existem alguns tipos diferentes de resistência associados à infecção. Dentre eles destacam-se a resistência relacionada à idade, resistência à reinfecção após terapia medicamentosa (RID) e a resistência natural (NR) à infecção independente de idade ou quimioterapia. **OBJETIVO:** Selecionar indivíduos cronicamente infectados (CI) e com resistência induzida por droga (RID) de uma área endêmica para Esquistossomose. E em seguida caracterizar o perfil de anticorpos dos mesmos frente a preparações antigênicas (SWAP e proteína recombinante TSP-2). **MÉTODOS:** O presente trabalho caracterizou por ELISA o perfil de imunoglobulinas (IgG1 e IgG4) de indivíduos infectados de uma área endêmica para *S. mansoni* da Bahia contra preparações de antígenos solúveis (SWAP) e Membranas do Tegumento (SmTeg), que após o tratamento com PZQ (18 meses) apresentaram dois desfechos: i) indivíduos que não se reinfectaram, classificados como Resistentes Induzidos por Droga (RID); e indivíduos que se reinfectaram, classificados como Cronicamente Infectados (CI). **RESULTADOS E CONCLUSÕES:** Com os resultados obtidos com os ensaios ELISA, foi possível identificar uma assinatura maior do nível de IgG1 anti-extrato de tegumento no grupo DIR. Os soros desses indivíduos dos dois grupos identificados, serão utilizados para a parte final do projeto, no qual pretendemos mapear os epítomos de proteínas do verme que reagem a esses soros, utilizando a mesma estratégia do estudo com os modelos animais, a fim de comparar as similaridades e diferenças entre as respostas de humanos.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*, Imunologia, Saúde Pública.

Financiadores: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB

O Cenário do Desenvolvimento de Vacinas de Vírus Atenuado contra Zika em Fase de Ensaios Clínicos

Antonio Wanderson Vieira Gois¹ (antoniowandersongois@gmail.com); Raphael dos Santos Cerqueira¹ (rapha_new@hotmail.com); Elvis Paim Ferreira¹ (elvispaim23@gmail.com); Angela Machado Rocha² (anmach@gmail.com)

¹Faculdade de Medicina da Bahia (FMB/UFBA); ²Programa de Pós-Graduação em Propriedade Intelectual e Transferência Tecnológica para Inovação/Núcleo de Inovação Tecnológica (ProfNIT)/(NIT) Instituto de Ciências da Saúde (ICS)/Universidade Federal da Bahia (UFBA).

A Zika é causada pelo ZIKV, vírus transmitido por diversas vias, sobretudo pelo mosquito *Aedes aegypti*. A Zika é uma enfermidade tropical capaz de gerar complicações leves a severas de diversas formas, principalmente em fetos em gestação. Seus efeitos são tão graves que a Síndrome Congênita da Zika foi a maior causa da elevação da mortalidade infantil no Brasil em 2016¹. Nesse aspecto, a sociedade tem buscado desenvolver vacinas para prevenir essa patologia e, assim, uma das formas mais robustas de imunização é através das vacinas atenuadas, que possuem diversas vantagens sobre as demais. A presente pesquisa é um mapeamento das candidatas a vacinas atenuadas contra ZIKV em fase de ensaios clínicos, em humanos. Para tal, foi realizada uma pesquisa, na base de dados ClinicalTrials.gov², dos termos “Zika” e “vaccine”, em 15/03/2021. Foram encontrados 29 registros, dos quais somente 2 correspondiam ao objeto de estudo. Nesse viés, as vacinas encontradas estão em fase de averiguação de segurança e imunogenicidade, sendo que uma delas é baseada na droga rZIKV/D4-30-713, que se trata do ZIKV replicativo e recombinante com parte de genoma de vírus da Dengue e, então, possui potencial para proteger contra ambas as doenças³, sendo, portanto, do tipo heteróloga. E isso pode aumentar a imunidade contra a Zika, porque estudos apontam que infecção por Dengue é capaz de reduzir os impactos de uma posterior infecção de ZIKV⁴, e vice-versa também⁵, o que é muito importante, pois essas enfermidades são essencialmente vetorizadas pelo mesmo mosquito, o *Aedes aegypti*. Já a segunda vacina baseia-se no ZIKV recombinante vetorizado pelo vírus do sarampo (MV-ZIKA) atenuado, ou seja, o vírus do sarampo atenuado geneticamente modificado com genes que codificam proteínas de membrana prM e E do ZIKV, que proporciona excelente imunização em ensaios in vitro e em animais e é considerada uma estratégia segura e bastante promissora^{6,7}. Ademais, a confiança nas vacinas atenuadas contra Zika é bastante discutível, por não ser recomendada sua administração em gestantes⁸, justamente os grupos que mais precisam dessa profilaxia, devido ao risco de reversão a virulência. Entretanto, isso pode ser contornado por aplicação em mulheres não gestantes em idade reprodutiva. Em suma, apesar dos problemas, as vacinas atenuadas ainda assim são uma alternativa muito válida e promissora que oferece boas perspectivas para o enfrentamento à Zika, sobretudo a inovadora rZIKV/D4-30-713, que pode proteger simultaneamente contra as doenças tropicais Dengue e Zika.

Palavras-chave: ZIKV, Vacinas replicativas, Testes clínicos, *Aedes aegypti*, Doenças tropicais

Financiadores: Universidade Federal da Bahia (UFBA) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências:

¹BRASIL. Ministério da Saúde. Saúde Brasil 2015/2016: Uma análise da situação de saúde e da epidemia pelo vírus Zika e por outras doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

²CLINICALTRIALS.GOV [Base de dados – Internet], 2021. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov>. Acesso em: 19 mar. 2021.

³WHITEHEAD, S. S. et al. Live Attenuated Zika virus. Univ. Johns Hopkins [US]; US Health [US]. WO2017156511. 11 mar. 2016, 14 set. 2017. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/WO2017156511A1/fr>. Acesso em: 17 mar. 2021.

⁴RODRIGUEZ-BARRAQUER, I. et al. Impact of preexisting dengue immunity on Zika virus emergence in a dengue endemic region. *Science*, v. 363, p. 607-610. 08 fev. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aav6618>. Acesso em: 13 mar. 2021.

⁵RIBEIRO, G. S. Does immunity after Zika virus infection cross-protect against dengue? *The Lancet*, v. 6. 01 fev. 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30496-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30496-5). Acesso em: 13 mar. 2021.

⁶NÜRNBERGER, C. et al. A Measles Virus-Based Vaccine Candidate Mediates Protection against Zika Virus in an Allogeneic Mouse Pregnancy Model. *Journal of Virology*, v. 93, 2019. Disponível em: <http://jvi.asm.org/content/93/3/e01485-18>. Acesso em: 17 mar. 2021.

⁷SCHRAUF, S. et al. Live-recombinant measles virus vaccine to prevent zika virus infection. In: 21st world congress and exhibition on vaccines, vaccination & immunization. 2017. Vienna. *Virol Res J.* v. 4, nº. 1, Vienna: Allied Academies, 2017. Disponível em: <https://www.alliedacademies.org/conference-abstracts-files/liverecombinant-measles-virus-vaccine-to-prevent-zika-virus.pdf>. Acesso em: 16 mar. 2021.

⁸KIM, I. et al. Pre-Clinical Pregnancy Models for Evaluating Zika Vaccines. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 7. abr. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2414-6366/4/2/58>. Acesso em: 16 mar. 2021

Utilização de Testes Sorológicos como Ferramenta de Rastreio e Monitoramento Epidemiológico do Sars-Cov-2 em um Grupo de Voluntários da UFF

Bernardo Freitas Paula¹; Juliana Eymara F.Barbosa^{1,2}; Leonardo dos Santos Corrêa Amorim¹; Vitor Won-Held Rabelo¹; Luciene Soares Silva¹; Maria Leoniza Sanchez Nunes¹; Claudio Cesar Cirne-Santos¹; Izabel Paixão¹.

¹Departamento de Biologia Celular e Molecular, Laboratório de Virologia Molecular e Biotecnologia Marinha -Universidade Federal Fluminense (UFF); ²Hospital Universitário Gafrée Guinle- EBSERH HUGG UNIRIO

Introdução: A primeira pandemia viral do século XXI causada por um novo vírus da família *Coronaviridae* até então desconhecido, denominado SARSCOV-2 causador da COVID-19, disseminou de forma rápida pelo mundo e estima-se até o presente momento com 113.784.735 casos no mundo, no Brasil o registro 10.517.232 casos confirmados e 254.221 mortes. Apesar de estarmos em pleno século XXI e possuímos tecnologias avançadas de combate a infecções, algumas viroses emergentes acometeram a população mundial ao longo dos últimos séculos. O diagnóstico laboratorial representa um papel fundamental para o monitoramento do SARS-COV-2, seja pela detecção direta do vírus através de métodos moleculares e indiretamente por métodos sorológicos. **Objetivo:** Investigar a detecção de anticorpos das classes IgM e IgG de SARS-COV-2 em amostras provenientes de docentes, discentes e colaboradores do Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense (UFF), bem como realizar levantamento epidemiológico da COVID-19 baseado em respostas coletada por formulário online. **Resultados:** O presente estudo transversal, prospectivo foi conduzido no Laboratório de Virologia Molecular da UFF, entre os meses de outubro de 2020 a março de 2021. Foram analisadas 166 amostras de sangue total, obtidas da polpa digital utilizando o teste imunocromatográfico da marca Medtest[®] para SARS-COV-2. Um total de 130(78,31%) amostras, foram não reagente 36 (21,69%) reagente, sendo que destas,18(10,84%) reagente para IgG,13(7,83%) reagente para IgM e 5 (3,02%) reagente para IgM e IgG. Em relação aos dados epidemiológicos coletados utilizando o sistema de Formulários Google (Google Forms)51,7% foram do gênero masculino e 48,3% feminino, com a faixa etária variando entre 67 a 21 anos. Em relação aos voluntários que aderiram ao formulário 46,6% foram discentes, 10,3% docente e 34,4% colaboradores, sendo o grau de escolaridade apresentado pela maioria dos voluntários de pós graduação nível strictu sensu doutorado (33,9%). Em relação à doença, foi relatado que a maioria (44,8%) apresentou sintomas entre 3 a 7 dias. Cabe ressaltar que os voluntários testados como reagente para SARS-COV-2, 46,6% foram assintomáticos e 53,4% apresentaram sintomas leves como febre (54,8%), perda de olfato e paladar (54,8%), dor de garganta (51,6%) e mialgia (48,4%). **Conclusões:** No contexto de saúde pública, a busca por testes sorológicos, para rastreio de pacientes acometidos pelo SARS-COV-2, configuram como de grande relevância neste contexto de pandemia. Além disso, aliar diagnóstico e monitoramento as estratégias preventivas para identificação de pacientes sintomáticos e assintomáticos são essenciais para evitar a disseminação do SARS-COV-2 na população.

Palavras-chave: SARS-COV-2, COVID-19, teste imunocromatográfico, anticorpos IgM e IgG,UFF.

Agências de Fomento: CNPQ, Capes, FAPERJ, Proppi,Fundação Euclides da Cunha (FEC) e FINEP.

Efeito de derivados sintéticos contra ações tóxicas causadas pelo veneno de *Bothrops jararaca* e *B. neuwiedi*

Brenda Bairral Queiroz Ornellas^{1*}, Eduardo Coriolano de Oliveira¹, Eladio Flores Sanchez², Danielle Pagliaminuto Portella³, Vítor Francisco Ferreira³, Fernando de Carvalho da Silva³, André Lopes Fuly¹

¹Laboratório de Venenos e Toxinas de Animais e Avaliação de Inibidores (LAVENOTOXI), Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; ²Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Belo Horizonte, MG; ³Laboratório de Síntese de Glicoderivados e Naftoquinonas, Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

[*brendabairral@gmail.com](mailto:brendabairral@gmail.com)

Os acidentes ofídicos representam um grave problema à sociedade devido a alta taxa de mortalidade e morbidade. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, os acidentes ofídicos são considerados doenças negligenciadas e estima-se que, no mundo, cerca de 2,5 milhões de acidentes ocorram com 130 mil óbitos por ano. No Brasil, aproximadamente 30.000 de acidentes são notificados. Os acidentes provocam diversos efeitos locais, como dor, edema, mionecrose, inflamação, e sistêmicos como neurotoxicidade, efeitos no sistema cardiovascular, hemorragia, e com agravamento a morte. O tratamento recomendado pelo Ministério da Saúde é a administração do soro heterólogo (antiveneno), que apresenta algumas desvantagens como alto custo de produção e distribuição, necessidade de refrigeração para estocagem, reações alérgicas em alguns pacientes (febre e choque anafilático) e, principalmente, pouca eficácia na neutralização dos efeitos locais. Esta ineficácia pode permitir o desenvolvimento da mionecrose, que pode levar a amputação e/ou deformidade do membro acometido pela picada, elevando assim, o índice de morbidade dos acidentes ofídicos. Por isso, a busca por tratamentos alternativos e/ou complementares é de extrema importância. Na literatura existem vários trabalhos relatando o uso de plantas como antiveneno, contudo poucos trabalhos relatam a ação de compostos obtidos por síntese orgânica. Sendo assim, objetivo deste projeto foi avaliar a capacidade de seis compostos sintéticos derivados de triazol (designados de DP01 a DP06) na inibição das atividades proteolítica, coagulante e hemolítica induzidos pelos venenos de *Bothrops jararaca* e *B. neuwiedi*. Além da avaliação de toxicidade dos sintéticos, *in silico*, através da plataforma “OSIRIS Property Explorer”. Os resultados demonstraram que os compostos triazóis não foram tóxicos e que os compostos DP02, DP03, DP05 e DP06 inibiram a atividade coagulante induzida pelo veneno de *B. jararaca* e os compostos DP03, DP04 e DP06 pelo veneno de *B. neuwiedi*. Os derivados DP03, DP04 e DP05 inibiram a atividade proteolítica causada por ambos os venenos. Por fim, todos os derivados inibiram a atividade hemolítica dos dois venenos, destacando um maior percentual de inibição para os compostos DP02 e DP05 para *B. jararaca* e DP02 para *B. neuwiedi*. Desta forma, podemos perceber que os derivados agem distintamente na inibição das atividades induzidas pelos venenos devido a complexidade e as possíveis variações interespecíficas destes venenos, mostrando que cada derivado tem um potencial singular dependendo do veneno, e que a formulação de um coquetel seja mais promissor na inibição completa das atividades tóxicas de venenos de serpentes para uso complementar à soroterapia.

Palavras-chave: Ofidismo, Acidente Botrópico, Antiveneno, Triazóis, neutralização

Financiadores: FAPERJ, CNPq, CAPES, PROPUFF, IFS

Reticulação do poli (ácido aspártico) para uso em Medicina Regenerativa

Bruna Carolina Dorm¹, Eliane Trovatti¹

¹Universidade de Araraquara, Araraquara-SP.

Endereço para correspondência: bdorm@uniara.edu.br

Embora existam uma grande quantidade de produtos disponíveis no mercado, ainda há uma grande demanda por materiais com propriedades adequadas para uso em medicina regenerativa. Os biomateriais podem ser usados, por exemplo, para substituição permanente ou temporária de um tecido ou órgão. Quando a substituição é temporária os biomateriais são denominados suportes ou *scaffolds* e dentre esses tipos de materiais destacam-se os biomateriais poliméricos, por diversas características como: maior biocompatibilidade, maiores taxas de biodegradação, baixa ou nenhuma toxicidade, entre outras. A proposta desse trabalho é, principalmente, o desenvolvimento de novos biomateriais poliméricos e o estudo das suas principais características para uso em medicina regenerativa. Esses materiais serão baseados especificamente em reações de Diels Alder devido à sua alta eficiência, rapidez e por serem livres de subprodutos de reação, o que para a finalidade de uso em medicina regenerativa é muito importante. Além disso, há o propósito de desenvolvimento de novos materiais com propriedades adequadas ao uso em condição fisiológica. Nesse sentido, um polímero de grande interesse é o poli (ácido aspártico), sintetizado a partir do aminoácido ácido aspártico e que exibe biodegradabilidade e solubilidade em água, tendo sido estudado seu uso alternativo nas indústrias como detergentes e em tratamento de água. Por essas características também vem sendo estudado para uso biomédico, em crescimento de tecidos e liberação controlada de drogas. Portanto, em um primeiro momento, foi sintetizado o poli (ácido aspártico) a partir do aminoácido ácido L-aspártico (C₄H₂NO₄). A síntese ocorreu por meio de polimerização térmica em massa do ácido aspártico por catálise ácida, com produto intermediário poli (succinimida)(PSI), tratado seguidamente por meio de hidrólise alcalina. A caracterização da síntese foi feita a partir de análises de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e cromatografia por exclusão de tamanho, que mostraram que a síntese foi bem sucedida. O poli (ácido aspártico) obtido será modificado quimicamente na próxima etapa experimental, por meio de reações de Diels Alder envolvendo o par furano-maleimida. Essas modificações serão realizadas para que o polímero seja passível de estudos quanto à aplicação desses biomateriais em medicina regenerativa.

Palavras chave: Diels Alder, polímeros, *scaffolds*, biopolímeros

Financiador: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP. Processo FAPESP 2020/09059-1

Produção de soros hiperimunes no Instituto Vital Brazil: Desenvolvimento estratégico de um processo *upstream* como ferramenta para inovação

Camila B. P. da Costa^{1,2}, Tania S. da Silva^{1,4}, Vanessa R. de Carvalho^{1,3}, Jorge L.C. Mattos¹, Marcia de S. Antunes¹, Rafael Cisne², Helena C. Castro²

¹Instituto Vital Brazil, Brasil; ²Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, IB, UFF, Brasil; ³Faculdade de Farmácia, UFF, Brasil; ⁴Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária, INCQS, Brasil

Autor correspondente: Camila B.P. da Costa (milabpereiracosta@gmail.com)

O Instituto Vital Brazil (IVB), criado pelo médico Vital Brazil Mineiro da Campanha, tem como uma de suas missões principais, contribuir para a promoção da saúde por meio da pesquisa e da produção de medicamentos, incluindo soros hiperimunes. As soluções de imunoglobulinas estéreis e heterólogas têm como fase intermediária de produção a purificação do plasma de equinos imunizados com o antígeno de interesse produtivo. Utilizada há mais de 100 anos, existe atualmente a necessidade de melhoria das condições de produção desses soros hiperimunes, com busca por inovações tecnológicas e inserção de novas etapas de desenvolvimento produtivo. Com o conceito de que a qualidade e segurança de um produto devem ser inseridos desde a etapa de P&D, este trabalho objetiva mostrar como o IVB desenvolveu o *upstream* de seu processo produtivo. Para isso, foi estruturada uma área de desenvolvimento com sistemas produtivos que permitissem que os mesmos processos industriais pudessem ser reproduzidos em pequena escala de trabalho. Foram produzidos 3 lotes experimentais de imunoglobulinas antibotrópicas, com volume inicial de 30 litros, seguindo a mesma ordem de produção para o lote industrial de 400L, ajustando-se as matérias-primas para o novo volume. Segundo a Organização Mundial de Saúde, o rendimento de um processo produtivo de imunoglobulinas heterólogas que utiliza digestão com pepsina e fracionamento com sulfato de amônia é em torno de 30 a 40%. Todos os três novos lotes produzidos apresentaram taxa de recuperação satisfatória, com rendimento médio de 40,8%, com os respectivos testes de controle de qualidade apresentando resultados analíticos conforme especificado. Esses dados trouxeram uma maior confiabilidade na execução da etapa *upstream* de purificação das imunoglobulinas, que se mostrou robusta e representativa. Esse estudo trouxe para o IVB um importante desenvolvimento científico, posto que as pesquisas e inovações de processos são necessárias à modernização da produção de soros hiperimunes, que antes eram impossibilitadas de serem testadas por só possuir uma área produtiva fabril. Hoje essas produções são executadas na nova área de P&D, com a segurança de que os resultados obtidos nos estudos de desenvolvimento terão grandes chances de serem bem sucedidos quando implementados no *downstream* dos processos produtivos. Além disso, o presente estudo possibilita a incorporação de novas tecnologias industriais e desenvolvimento de processos mais rentáveis e eficientes, o que faz com que a instituição se torne mais competitiva, abrindo portas para a busca de mercado consumidor externo.

Palavras Chaves: Pesquisa e Desenvolvimento, *upstream*, inovação tecnológica, medicamento biológico, promoção da saúde

Financiamento: não se aplica.

Design and analysis of Pharmacokinetic, Pharmacodynamics and Toxicological properties of Cannabidiol analogs using in silico Tools

Carlos Roberto Mendes Júnior¹, Eduardo Damasceno Costa²

¹Departamento de Farmácia, Faculdade Ciências da Vida (FCV), Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil, Discente do curso de Farmácia da Faculdade Ciências da Vida, Sete Lagoas-MG. E-mail: carlosipms@hotmail.com; ²Orientador e docente da Faculdade Ciências da Vida, Sete Lagoas-MG. Email: damascenomg@yahoo.com.br

Cannabidiol (CBD), a non-psychoactive phytocannabinoid from Cannabis Sativa, have received increasing attention in recent years because of their potential therapeutic benefits, including neuroprotective, antiepileptic, anxiolytic, antipsychotic, anti-cancer and anti-inflammatory properties. Therefore, the CBD scaffold has become an interesting option for medicinal chemists in the development of new drug candidates. In this scenario, the aim of this study was the design, quantitative analysis of physicochemical properties, pharmacodynamics and pharmacokinetic of CBD analogues. The 16 analogs proposed were designed using the PubChem Sketcher V. 2.4® software. Then, CBD analogs were subjected to different in silico tools: Molinspiration®; SwissADME®; SwissTargetPrediction® and OSIRIS Property Explorer®. The physical-chemical data obtained showed that only analogs 4, 5, 7 and 8 did not violate Lipinski's rule. Pharmacokinetic data showed that compounds 10 and 11 had low oral absorption and that structures 5, 10-13 and 16 were not permeable to the blood-brain barrier. Structures 4-9 and 11 did not inhibit the CYP3A4 isoform and structures 1-3, 5-7, 10, 11 and 13-16 did not inhibit CYP2D6. The data also show that only molecules 9, 11 and 16 have a selective profile for interactions with CB1/CB2 receptors. In silico toxicity data showed that compounds 10, 11 and 14 are at risk of toxic event in humans. The screening of CBD analogs carried out in this study shows that compounds 9 and 16 would have a better profile as drug candidates to be tested later in vitro and in vivo models. It follows that the computational methods employed in this study allowed the elucidation of pharmacokinetic properties, pharmacodynamics and toxicological analogs of cannabidiol. Additionally, we found that compounds in the screening performed 9 and 16 were as shown most promising for further preclinical testing.

Keywords: Cannabidiol, In silico tools, Cannabis Sativa, ADMET.

Veja o vídeo-pôster em https://www.youtube.com/watch?v=ivDVslAVRzU&list=PLvdAV-MmnvsxVMDgveAvMGn_ZqDfC7ER3&index=5

Estudo preliminar de novos triazóis contra *Trypanosoma cruzi* e como inibidores do receptor P2X7

Caroline de Souza Ferreira Pereira^{1,2*}, Robson Xavier Faria², Raíssa Maria dos Santos Galvão¹

¹Universidade Federal Fluminense – Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, Instituto de Biologia, Campus Valonguinho, Niterói, RJ, Brasil; ²Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365, CEP 21040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *E-mail: carolineferreirapereira@hotmail.com

Introdução: A Doença de Chagas (CD) é uma doença negligenciada causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e afeta milhões de pessoas, com aproximadamente 6 milhões de pessoas infectadas no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Atualmente, no Brasil, apenas o benzonidazol está disponível para o tratamento dessa doença. Contudo, esse tratamento causa efeitos adversos, como por exemplo, descamação da pele e rash cutânea, que induzem a interrupção do tratamento desses pacientes. Consequentemente, é necessária a busca de uma nova estratégia terapêutica que tenha menor toxicidade e maior eficácia do que o tratamento atual. Em CD, a sinalização purinérgica (ATP e adenosina) ativa uma resposta inflamatória. O triptofato de adenosina (ATP) é encontrado no meio extracelular, em níveis milimolares, por causa da ruptura de células infectadas pelo parasita. Esses níveis elevados estimulam a formação de poros mediados por receptores purinérgicos, especialmente o receptor P2X7 que está relacionado com ativação e liberação de citocinas inflamatórias, danos celulares e morte celular. Existem vários antagonistas seletivos para este receptor, porém, eles não foram eficazes em ensaios clínicos, o que justifica a busca por novos fármacos. **Objetivos:** 1. Estudar novos protótipos de triazóis com ação contra *T. cruzi* com testes *in vitro*; 2. Avaliar uma nova série de derivados de triazóis com atividade antagonista do receptor P2X7 com testes *in vitro*; 3. Investigar a possível relação entre Doença de Chagas e o receptor P2X7. **Métodos:** A citotoxicidade celular *in vitro* foi testada utilizando macrófagos peritoneais de camundongos *Swiss Webster*, que foram plaqueados em placas transparentes de 96 poços e mantidos 24 horas a 37 °C com atmosfera de CO₂ de 5%. As células foram incubadas com derivados de triazóis de 100 µM, e os poços somente com células foram mantidos como controle. Após 24 horas, foi realizado o ensaio colorimétrico de resazurina e a citotoxicidade foi expressa em percentual, com o auxílio do programa GraphPad Prism 5. O experimento foi realizado em triplicata em três dias diferentes. **Resultados:** Os compostos TD6, TD8, TD9 e TD12 reduziram, respectivamente, 5%, 7%, 10% e 6% da atividade metabólica das células. Entretanto, os outros compostos não interferiram no metabolismo de macrófagos peritoneais, mesmo em sua concentração máxima, indicando que esses compostos apresentam baixa toxicidade. **Conclusões:** Os derivados de triazóis apresentaram baixa toxicidade em células de mamíferos. No entanto, novos testes sobre toxicidade serão realizados em células de mamíferos e contra *Trypanosoma cruzi*.

Palavras-chave: Doença de Chagas, Receptores Purinérgicos, Triazóis.

Financiadores: CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

Avaliação in silico das características ADMET do flavonol Canferol-3-O-rutinoside

¹Gabriela Marinho Gonçalves Franco – UECE – marinho.franco@aluno.uece.br; ²Lucas Soares Frota – UECE – lucassfrota@gmail.com; ³Daniela Ribeiro Alves – UECE – alves.danielaribeiro@gmail.com; ⁴Vania Carla de Sousa – UECE – engenheiravania@gmail.com; ⁵Emmanuel Sousa Marinho – UECE – emmanuel.marinho@uece.br; ⁶Selene Maia de Moraes – UECE – selene.morais@uece.br

INTRODUÇÃO. Canferol-3-O-rutinosidio (C3R) é um flavonol glicosilado que apresenta muitas propriedades biológicas como: antioxidante, inibidor de α -glicosidase e antinociceptivo. O conjunto de características absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) *in vivo* é utilizado para mensurar o potencial farmacológico de uma substância, porém, demanda maior tempo de análise e alto custo para a realização. Desta forma, pode-se prever os resultados através de ensaios *in silico*. Existem servidores que utilizam metodologias diferentes para obter os resultados de forma prática e simples, sendo utilizado neste estudo o pkCSM. **OBJETIVO.** Avaliar as características ADMET do canferol-3-O-rutinosidio. **METODOLOGIA.** As propriedades ADMET foram calculadas utilizando o servidor pKCSM, que prevê propriedades farmacocinéticas de pequenas moléculas, trabalhando em assinaturas estruturais baseadas em gráficos. A plataforma trabalha com representações matemáticas intuitivas através de certezas, construindo quadros de possibilidades com finalidade de comparar resultados com os existentes na literatura, assim, são selecionados os que mais se aproximam de outros métodos. **RESULTADOS.** O C3R atua como substrato de glicoproteína P e não possui atividade inibitória da glicoproteína PI e II, indicando menos eficácia, já que o bloqueio da gp-P causa melhoria da eficiência anti-neoplásica; Propriedades de distribuição: VDss (1,71 log L/kg), atuando como fármaco básico por possuir volume maior que o corpo todo. Não é capaz de atuar como substrato das CYP2D6 e CYP3A4 ou como inibidor das CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4; Sua liberação total do organismo prevista é -0,16 log ml/min/kg. Quanto à toxicidade, a máxima dose tolerada por humanos é 3,02 mg/kg/dia, não sendo hepatotóxico, nem sensibilizando a pele. Não demonstrando toxicidade crônica em ratos, contudo apresentando toxicidade aguda com dose letal média. atua como inibidor do hErg II, apresentando toxicidade a *T. pyriformis* (0,285 log ug/L) e toxicidade em peixes (6,252 log mM). **CONCLUSÃO.** A partir dos resultados deste estudo pode-se deduzir que a substância não possui hepatotoxicidade, tem baixa absorção intestinal, sem toxicidade crônica em ratos, e com dose máxima em humanos de 3,02 mg/kg/dia. Demonstrando ainda que o uso farmacológico intravenoso com dose ajustada para que seja inferior a dose toxica encontrada deve ser verificada em avaliações *in vivo* futuras.

The use of metformin as adjuvant to reverse allantoin-reduced cytotoxicity of cisplatin in vitro

Grazielle Silva Paz¹; Gisele Cardoso de Amorim¹; Janaina Fernandes¹

¹NUMPEX-BIO, Campus Duque de Caxias, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Correspondence to: Grazielle Silva Paz grazisilvapaz@gmail.com Rio de Janeiro, Brazil

Introduction and objective: Tumor Lysis Syndrome (TLS) is a metabolic disorder that mainly affects malignant hematological neoplasms patients, and its development is frequently related to uric acid accumulation (hyperuricemia) due to high DNA degradation during chemotherapy. Rasburicase® is a recombinant urate oxidase enzyme applied to treat and avoid TLS, converting urate in allantoin, a compound easily eliminated by the kidneys. However, in a recent study, our group showed in vitro, that high allantoin concentration, as observed in oncological patients under rasburicase treatment, reduces cisplatin cytotoxicity in non-small cell lung cancer cell line (H460). Thus, understanding the importance of maintaining the concomitant use of cisplatin and rasburicase for oncological patients, mainly for CML patients due the higher incidence of TLS among these patients, look for adjuvant agents that can restore cisplatin cytotoxicity it is of great interest. Among these, metformin stands out for its effectiveness, safety, in addition to others pharmacological parameters already established. Metformin is a biguanide drug used as first line treatment for type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients, due to its anti-hyperglycemic effect. Beyond the use of metformin to treat T2DM patients, many studies had already demonstrated the antitumoral effects of metformin either as monotherapy or as adjuvant with other drugs. We have evaluated metformin's capacity in restore allantoin-reduced cisplatin cytotoxicity in the chronic myeloid leukemia cell line (K562) in vitro. **Materials and methods:** The cells were maintained in RPMI 1640 medium supplemented with 10% FBS and 0.5% PS under 37°C and 5% CO₂. For the experiments the cells were treated with metformin (0.1, 0.25, 0.5, 0.6025, 2, 2.5 and 3mM), cisplatin (15, 16.5, 20, 30 and 33µM), allantoin (100 and 200µg/ml) and their combinations under low glucose availability (0.5mM) for 48h. Cell viability, cell cycle, morphology analysis and NMR spectroscopy were performed. **Results and conclusion:** Our results showed that allantoin reduces cisplatin cytotoxicity in K562 cell line; metformin synergistically increased cisplatin's cell death; metformin was capable to restore cisplatin cytotoxicity before reduced by allantoin. We also observed the absence of interaction between metformin and cisplatin and a possible interaction between metformin and allantoin. Through the obtained results, we can conclude that metformin exerts its adjuvant effect in restore cisplatin efficacy reduced by allantoin.

Keywords: Metformin, Cisplatin, Allantoin.

Supported by: FAPERJ and CNPq.

Receptor P2X7 como ferramenta na permeabilidade de fármacos carregados

Guilherme Pegas Teixeira^{1,2*}, Robson Xavier Faria¹

¹Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Avenida Brasil 4365, CEP, Rio de Janeiro Fiocruz 21040-900, Brasil

*E-mail: Guilherme Pegas Teixeira – gpegas67@gmail.com

Introdução: O receptor P2X7 é um canal iônico pertencente ao sistema purinérgico. Tem como seu principal ativador o ATP extracelular e está envolvido em diversos processos do organismo, tais como inflamação. Em decorrência de altos níveis de ATP extracelular, o receptor P2X7 é capaz de induzir a formação de um poro de alta condutância na membrana plasmática. Este poro desencadeia um aumento na permeabilidade da membrana para moléculas de até 900 Da para o meio intracelular, característica marcante deste receptor. Muitas moléculas não permeiam espontaneamente a membrana devido a sua carga e tamanho molecular, como por exemplo alguns corantes fluorescentes. Estudos comprovaram que além do peso molecular, este poro é permeável a moléculas de diferentes cargas (+/-) em sua estrutura. Adicionalmente, alguns fármacos partilham destas características, vindo a ter sua ação diminuída no que concerne atravessar espontaneamente a membrana plasmática. Temos como exemplo a droga anticâncer, doxorrubicina. **Objetivo:** Avaliar a permeabilidade do fármaco doxorrubicina mediante a influência do poro associado ao receptor P2X7. **Método:** Utilizamos o ensaio de avaliação de viabilidade por liberação de LDH. Para avaliação funcional do receptor P2X7 e subsequente identificação e quantificação da doxorrubicina no citoplasma, utilizamos um leitor de placas com filtros para fluorescência. Realizamos uma curva de fluorescência da doxorrubicina sozinha, na presença do Triton X-100 e na presença do ATP. **Resultados:** A doxorrubicina obteve um valor de concentração citotóxica que afeta 50% da população dos macrófagos peritoneais de camundongos (CC50) de $59 \pm 8 \mu\text{M}$ após 24 h de tratamento. A maior concentração testada da doxorrubicina não teve efeito tóxico após 1 h de tratamento. Realizamos uma curva de calibração da fluorescência emitida pela doxorrubicina no citoplasma celular. Para tal, tratamos os macrófagos com o detergente Triton X-100 (0.5%) por 2 minutos na presença de concentrações crescentes da doxorrubicina. Em seguida, realizamos um ensaio funcional do receptor P2X7. Adicionamos o ATP por 20 minutos nos macrófagos, na presença do corante fluorescente de 639 Da, o iodeto de propídeo. Assim, asseguramos que nosso modelo estava funcionando adequadamente. Posteriormente, tratamos as células com ATP na presença de diferentes concentrações da doxorrubicina. Observamos um aumento dose-dependente da quantidade intracelular da doxorrubicina. **Conclusões:** Nossos dados mostram que através da estimulação do poro associado ao P2X7, os níveis de doxorrubicina intracelular foram aumentados. Desta forma, o receptor P2X7 pode ser promissor no auxílio de drogas carregadas, reduzindo a quantidade administrada e melhorando seu efeito ao organismo.

Palavras-chave: Poro associado ao P2X7, doxorrubicina, permeabilidade de membrana.

Financiadores: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro)

Aplicação de soluções aquosas de solvente eutéticos profundos para novas formulações de minoxidil sulfato

Gustavo Branzani Lino¹, Filipe Hobi Bordon Sosa^{2,3}, Carlota de Oliveira Rangel-Yagui¹, João Henrique Picado Madalena Santos¹

¹Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil; ²Departamento de Desenvolvimento de Processos e Produtos, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil; ³Instituto de Materiais de Aveiro - CICECO, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, Aveiro, Portugal.

O minoxidil sulfato é um fármaco relativamente hidrofóbico, usado para tratamento de calvície, disponível comercialmente em formulações tópicas hidroalcoólicas ou com propilenoglicol causadoras de efeitos adversos como prurido e irritação local em cerca de 6% dos usuários. Diante disso, pretendeu-se estudar uma nova alternativa para a administração do fármaco com maiores estabilidade e biodisponibilidade e menos efeitos adversos, mediante o uso de solventes eutéticos profundos (DES), uma nova classe de solventes — cuja biocompatibilidade e menor citotoxicidade epidérmica têm sido destacadas pela literatura — que se define como uma mistura em proporções específicas entre um doador (HBD) e um aceptor (HBA) de ligações de hidrogênio, na qual ocorre uma depressão significativa da temperatura do ponto eutético real. Neste trabalho, prepararam-se soluções aquosas de DES (75, 62,5, 50 e 25 % m/m), utilizando-se como HBA o cloreto de colina (ChCl) e, como HBD, ácido láctico (AL), ácido acético (AA) e ureia (U) em proporções molares de 1:2 e 1:3, como formulações alternativas para o minoxidil. Com dados de FTIR, pôde-se observar que os espectros das soluções de DES preparadas apresentaram bandas coexistentes com as dos seus materiais de partida e de intensidade congruente à proporção de HBD utilizada. Realizaram-se também análises das propriedades físico-químicas das soluções, verificando-se que as soluções de DES apresentaram densidade, condutividade e IR próximos ao da água (1 a 1,16 g/cm³; 9 a 16 mS/cm; 1,35 a 1,46) e, exceto para as soluções de ChCl:U, caráter ácido (pH de 0,7 a 2). Para testar o potencial das soluções como solventes, foram realizados ensaios de solubilização com o método shake-flash, a 37°C, agitação constante e umidade controlada por 24 horas. Os ensaios revelaram que todas as soluções de DES apresentaram capacidade de solubilizar o minoxidil sulfato, seguindo a sequência: ChCl:U(1:2) < ChCl:U(1:3) < ChCl:AL(1:2) < ChCl:AA(1:2) < ChCl:AA(1:3) < ChCl:AL(1:3). No geral, a solubilidade decaiu conforme a adição de água, evidenciando um comportamento de competição de ligações dos DES entre a água e o soluto. Os dados também sugerem que a maior solubilidade do minoxidil está relacionada à presença de mais grupos hidroxila no HBD utilizado, corroborando para a hipótese de que a solubilização é governada pela formação de ligações de hidrogênio entre o minoxidil e o DES. Diante dos resultados obtidos, as soluções aquosas de DES mostraram-se um importante agente hidrótrofo para a solubilização do minoxidil, representando um importante avanço na aplicação desses solventes alternativos em formulações farmacêuticas.

Palavras-Chave: Solvente eutético profundo, minoxidil sulfato, hidrotropia, formulações aquosas, farmacotécnica.

Agradecimentos: Ao apoio técnico e financeiro fornecido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq [100351/2021-2]. À farmácia de manipulação Almofariz pelo fornecimento do minoxidil sulfato para realização dos experimentos; e ao Laboratório de Nanobiotecnologia Farmacêutica (Nanobio Lab USP), pelo suporte técnico.

A Biotecnologia, a Pós-graduação e a Surdez: Desafios de acessibilidade e inclusão ainda a se superar

Helena C. Castro^{1*}, Fabíola Saudan¹, Cristina Delou¹, Jaqueline Oliveira¹, Jaderson Vasconcelos¹, Mariana Cunha^{1*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, IB, UFF, Niterói, RJ, Brasil;

Autores correspondentes: Mariana Cunha (mcunha@id.uff.br) e Helena Carla Castro (hcastro@id.uff.br)

A Biotecnologia permite o desenvolvimento de soluções sustentáveis para problemas importantes existentes em diferentes contextos como o da saúde (ex: imunobiológicos na pandemia COVID-19). Nesse cenário, mestrandos e doutorandos formados em programas de pós-graduação que tem como tema a Biotecnologia tem a oportunidade de adquirir conhecimentos sobre técnicas de ponta, experiências em plataformas tecnológicas e análise de big data no contexto da saúde humana. Desses profissionais, dentre os vários perfis correlatos existentes espera-se, por exemplo, a competência necessária para o desenvolvimento de diagnósticos e ferramentas de prevenção de doenças (Biotecnologia Vermelha - Saúde) e/ou de divulgar os conteúdos da área (Biotecnologia Laranja – Educacional). Infelizmente esse universo de formação parece ainda não contemplar acessibilidade suficiente para as pessoas com necessidades educacionais especiais como a comunidade surda. Vivendo em um universo onde a Língua Brasileira de Sinais (Libras) é a primeira língua de comunicação e que não apresenta os sinais referentes a todo o vocabulário pertinente a compreensão da área biotecnológica, este trabalho vem apontar limitações através da sugestão de propostas que possam aumentar a acessibilidade de mestrandos e doutorandos surdos, melhorando a qualidade de seu atendimento e formação na área de Biotecnologia. Para construção dessas propostas foi realizado um breve estudo de caso envolvendo um doutorando surdo de um programa de pós-graduação brasileiro da área de Biotecnologia com a participação de dois intérpretes, um ex-coordenador de pós da área e um professor de libras, envolvidos e/ou interessados no processo de acessibilidade da comunidade surda. A análise permitiu diversas observações, indicando ser necessário: a) a criação de sinais para a área, b) o investimento na qualificação de intérpretes especializados na tradução dessa temática, c) a interação prévia e integrada de professores e intérpretes, d) a capacitação dos gestores das pós para compreensão das características da comunidade surda (ex: surdo sinalizante x surdo oralizado), dentre outros. Considerando-se que a literatura internacional aponta que a diversidade dos pesquisadores (ex: gênero ou surdez) contribui para o aumento da inovação dos projetos e para o surgimento de novas ideias, o presente trabalho reforça não só a importância da troca entre ouvintes e surdos na perspectiva da área da Biotecnologia, mas também a necessidade do desenvolvimento de linhas de pesquisa na subárea da Biotecnologia Laranja, relacionada à área educacional, que tratem especificamente da inclusão de pessoas com necessidades educacionais especiais incluindo a comunidade surda, bem como outros indivíduos como os aqueles com altas habilidades e superdotação.

Palavras Chaves: Biotecnologia, pós-graduação, surdez, acessibilidade e doutoramento
Financiamento: não se aplica

Potencial biotecnológico da planta *Schwartzia brasiliensis* na neutralização das atividades tóxicas dos venenos das serpentes *Bothrops jararaca* e *Bothrops jararacussu*

Jenifer Frouche de Souza^{1*}, Eduardo Coriolano de Oliveira¹, Ana Cláudia Rodrigues da Silva¹, Vagner Pereira da Silva², Maria Auxiliadora Coelho Kaplan³, Maria Raquel Figueiredo², Eladio Flores Sanchez⁴, André Lopes Fuly¹.

¹Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro; ²Laboratório de Química de Produtos Naturais, Instituto Tecnológico de Fármacos, Fiocruz, Rio de Janeiro; ³Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro; ⁴Laboratório de Bioquímica de Proteínas de Venenos Animais, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Minas Gerais.

* e-mail de correspondência: jenifer.frouche@gmail.com

O acidente ofídico é um problema de saúde pública em todo mundo, principalmente nos países tropicais, subtropicais e em desenvolvimento. No Brasil, cerca de 87% dos acidentes ofídicos são causados por serpentes do gênero *Bothrops*. O veneno das serpentes é composto por uma mistura de proteínas com muitas propriedades tóxico-farmacológicas, como: hemorragia, distúrbios de coagulação, necrose e edema. O tratamento recomendado pelo Ministério da Saúde é a soroterapia, que apresenta desvantagens, como efeitos colaterais (reações alérgicas e anafilaxia) e, principalmente, não previne efeitos locais, que por sua vez podem levar a amputação, morbidades ou deformidades do membro acometido. Na literatura científica, diversos trabalhos demonstraram o potencial biotecnológico, farmacológico e antiveneno de plantas. Com base nas suas características químicas e biológicas, a espécie *Schwartzia brasiliensis* é rica em flavonóides e terpenos, com propriedades anti-inflamatória, analgésica e antimicrobiana. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade do extrato aquoso da planta *S. brasiliensis* em inibir algumas atividades tóxicas in vitro (coagulante, proteolítica e hemolítica) e in vivo (edema e hemorragia) do veneno das serpentes *Bothrops jararaca* e *B. jararacussu*. O extrato da planta foi incubado com os venenos por 30 minutos a 25°C (protocolo de incubação), e em seguida, as atividades in vivo e in vitro foram realizadas. Os resultados demonstraram que o extrato da planta foi capaz de inibir totalmente a atividade coagulante, cerca de 70 % a atividade proteolítica dos venenos de *B. jararaca* e *B. jararacussu* e cerca de 40%, a atividade hemolítica o veneno de *B. jararaca*. Para as atividades in vivo, o extrato da planta inibiu cerca de 50 e 70% o edema causado pelos venenos de *B. jararaca* e *B. jararacussu*, respectivamente. E, para a atividade hemorrágica, o extrato inibiu 100% a hemorragia causada pelo veneno de *B. jararaca* e 77 % pelo veneno de *B. jararacussu*. Além disso, no protocolo designado de tratamento, os animais receberam primeiramente a injeção de veneno, e 30 minutos depois, o extrato da planta foi administrado nos animais por via intravenosa, subcutânea ou oral. Neste protocolo, o extrato da planta foi capaz de inibir a hemorragia causada pelos venenos entre 10 e 70 %. Sendo assim, conclui-se, que o extrato aquoso da planta *S. brasiliensis* possui potencial para o desenvolvimento de uma terapia antiveneno no tratamento de acidentes ofídicos causados por serpentes das espécies *B. jararaca* e *B. jararacussu*.

Palavras-chave: extrato de planta, soroterapia, acidente ofídico, *Bothrops*, antiveneno.

Apoio financeiro: UFF-PROPPi, CAPES, CNPq, FAPERJ, IFS

O estudo da carragenina como base para síntese de novos fármacos com maior seletividade para o receptor P2X7

Julianne Soares Pereira^{1,2*}, Robson Xavier Faria^{1,2}.

¹Universidade Federal Fluminense – Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, Instituto de Biologia, Campus Valonguinho, Niterói, RJ, Brasil; ²Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Avenida Brasil 4365, CEP 21040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Autor de correspondência: juliannepereira@id.uff.br

Desde quando a carragenina foi descoberta no início do século XIX ela vem sendo amplamente utilizada tanto na indústria farmacêutica quanto na alimentícia. Ela é encontrada dentro da membrana celular das algas marinhas vermelhas e na matriz intercelular entre as fibras celulósicas. Desde a última metade do século XX ela vem sendo estudada com caráter inflamatório. Como já descrito na literatura, a carragenina ativa macrófagos peritoneais para produzirem citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β . Como o receptor purinérgico ativado pelo ATP, o receptor P2X7 (P2X7R), também pode ativar estes eventos, sugerimos um possível papel desse receptor na resposta inflamatória induzida pela carragenina. Neste cenário, nosso objetivo foi estudar a ação da carragenina sobre a funcionalidade do P2X7R no modelo de peritonite. Realizamos ensaios de peritonite com um antagonista do P2X7R, o BBG, e a carragenina para estudo desse receptor in vivo. Para simular o modelo de peritonite, administramos a substância indutora de inflamação, a carragenina, na cavidade peritoneal. Usamos cinco camundongos *Swiss Webster* machos com 4 a 5 semanas de idade. Administramos PBS 1X no grupo de controle. A carragenina (10 mg/kg) e o BBG (25 mg / kg), foram injetados por via i.p. e observados por 3 horas. Após a eutanásia com xilazina e cetamina, 10 mL de PBS 1X contendo EDTA 10 mM foram injetados no peritônio e, em seguida, coletamos 1,5 mL do líquido da lavagem peritoneal para contagem diferencial de leucócitos. Esses experimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética sob o número L043 / 2018. O tratamento com solução salina exibiu uma média de 15% de células segmentadas, a inflamação induzida por carragenina aumentou a quantidade de células para 62% e grupo pré-tratado com BBG teve uma redução na contagem diferencial para 10%, após 3 horas de tratamento em ambos os grupos. Levando em consideração esses aspectos, podemos sugerir que o aumento de células segmentadas no grupo carragenina possa ser indicativo de um processo inflamatório mediado via ativação do receptor P2X7, mas sendo necessários mais estudos. Esta pesquisa seria um suporte para se entender melhor o mecanismo de ação da carragenina no P2X7R visando entender melhor in vivo a atuação deste receptor na peritonite, para que deste modo através de ensaios in sílico possamos averiguar a possível ação da carragenina no receptor P2X7 e propor novos protótipos com ação agonista neste receptor.

Palavras-chave: Receptores purinérgicos, P2X7, Carragenina. Suporte Financeiro: IOC, FIOCRUZ, Capes

Prospecção farmacocinética do biflavonóide amentoflavona: Um estudo *in silico*

¹Leonardo Soares Freitas – UECE – leonardo.soares@aluno.uece.br ; ²Lucas Soares Frota – UECE – lucassfrota@gmail.com; ³Daniela Ribeiro Alves – UECE – alves.danielaribeiro@gmail.com; ⁴Vania Carla de Sousa – UECE – engenheiravania@gmail.com; ⁵Emmanuel Sousa Marinho – UECE – emmanuel.marinho@uece.br; ⁶Selene Maia de Moraes – UECE – selene.morais@uece.br

DEFINIÇÃO. Os estudos farmacocinéticos acerca da biodisponibilidade e das interações do composto no corpo humano da amentoflavona, permitem construir modelos apropriados para interpretar a cinética dessa substância quando proposta como um fármaco, bem como avaliar a sua eficácia e toxicidade. A importância deste biflavonóide, deriva do seu vasto potencial biológico como anti-inflamatório, antimicrobiano, anticolinesterásico, etc. Desta forma será importante avaliar parâmetros físico-químicos relacionados a sua absorção no organismo. **OBJETIVO.** Analisar a farmacocinética da amentoflavona em relação ao seu potencial farmacológico. **METODOLOGIA.** As propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) foram calculadas usando o servidor pkCSM. **RESULTADOS.** Nos ensaios de predição, em relação a absorção, a amentoflavona é absorvida pela glicoproteína P, uma proteína importante que atua como barreira fisiológica das células, pois esta expulsa toxinas e xenobióticos para o exterior das células, mostrando que a amentoflavona, caracterizando o seu caráter benéfico às células. Possui também uma absorção de 84% no intestino, mostrando uma boa absorção e podendo ser indicada como fármaco via oral. Possui bons resultados de distribuição em permeabilidade na barreira hematoencefálica e permeabilidade no sistema nervoso central, com 1,653 e 3,2 respectivamente, com potencial terapêutico de doenças como mal de Alzheimer, mal de Parkinson, entre outras doenças do sistema nervoso central. A amentoflavona é metabolizada como substrato da CYP3A4, enzima muito importante nos mamíferos na metabolização de fármacos, corroborando com o potencial da mesma. Possui um valor de liberação total pelo organismo de 0,484. A dose máxima tolerada é de 438 mg por dia, tornando-o de baixa toxicidade. Também é capaz de inibir o gene hERG II que auxilia na produção da proteína responsável por mediar os batimentos cardíacos, evidenciando que seu uso pode levar a problemas cardíacos. Porém, não apresentou toxicidades hepática e epitelial, o que pode direcionar possíveis utilizações. **CONCLUSÃO.** A amentoflavona tem características farmacocinéticas relevantes para o seu uso como medicamento, mesmo demonstrando alguns poucos pontos negativos, revela potencial para estudos mais aprofundados, visando sua futura utilização.

Palavras Chaves: Fármacos, toxicidade, ADMET, amentoflavona.

Produção de Polihidroxialcanoato (PHA) por bactérias bioprospectadas da broca-da-andiroba (*Hypsipyla* spp.)

Letícia Cristina Fernandes da Costa¹, Diana Gomes Gradíssimo¹, Luciana Pereira Xavier¹

¹Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém-PA.

Com os crescentes problemas ambientais causados pelo uso e exploração de plásticos petroquímicos convencionais, alternativas com propriedades físico-químicas semelhantes se fazem necessárias. Os bioplásticos veem suprir esta demanda, em especial os polihidroxialcanoatos (PHA), lipídeos neutros produzidos por diferentes micro-organismos como estoque de energia, entre eles bactérias, permitindo a obtenção de polímeros para embalagens e até para o setor médico, de forma limpa e sustentável. Neste cenário o presente objetiva detectar e quantificar a produção de PHA pela microbiota do intestino da broca-da-andiroba em estágio larval (*Hypsipyla* spp.). Foi realizado screening com 14 amostras isoladas do intestino da larva, sendo 8 amostras bacterianas, já identificadas por sequências da região ITS e D1\D2, e as restantes leveduras (registro no SISGEN nº A5B286D). A prospecção inicial se baseou em teste de fluorescência com Nile Red em placas de ágar. A fim de se aumentar a produção de biomassa e de PHA realizou-se cultivo das amostras mais promissoras em meio TSB suplementado com E2 mineral, medindo-se a biomassa pela absorbância a 500 nm por 48 horas e quantificação de PHA por fluorescência com Nile Red (Spiekermann et al. 1999). Analisou-se o genoma das linhagens utilizadas no estudo, disponíveis no NCBI, para verificação da presença de genes da biossíntese de PHA de acordo com anotação no RAST. Todas as amostras bacterianas apresentaram fluorescência em placa, indicando a presença de lipídios neutros corados pelo Nile Red. Como visto na literatura nenhuma das amostras de levedura se mostrou apta à produção de PHA. Quanto à quantificação de biomassa, o meio suplementado aumentou o crescimento de quatro das 5 amostras testadas, com a amostra U4 apresentando crescimento maior em TSB, o que diverge do encontrado em U5, outra amostra de *Klebsiella Oxytoca*. Até o momento foi quantificada a produção de lipídeos neutros em U5, U6 e U7, duas espécies de *Enterococcus* sp., todas cultivadas em meio TSB suplementado. Nesta avaliação as três amostras apresentaram fluorescência relativa similar, média de $31,49 \pm 1,35$. O genoma de *Klebsiella Oxytoca* apresenta 52 sequências codificantes (CDS) do metabolismo de ácidos graxos, lipídios e isoprenóis, sendo 14 destas atribuídas ao metabolismo de polihidroxibutirato, indício que a fluorescência observada nesta amostra trate-se de um PHA. O presente trabalho faz uso do patrimônio genético brasileiro em potencial aplicação biotecnológica, os resultados iniciais indicam a produção de PHA por bactérias amazônicas sendo as próximas etapas a otimização da produção e posterior caracterização do biomaterial.

Palavras-chave: Bioprospecção, Bioplástico, Biopolímero, Protease, Microbiota Financiamento: PIBIC-AF/UFGA

Avaliação *in silico* do potencial de similaridade a fármacos de flavonoides bioprospectados por plantas do nordeste

¹Liz Roberta Silva Lima – UECE – liz.lima@aluno.uece.br; ²Daniela Ribeiro Alves – UECE – alves.danielaribeiro@gmail.com; ³Vania Carla de Sousa – UECE – engenheiravania@gmail.com; ⁴Lucas Soares Frota – UECE – lucassfrota@gmail.com; ⁵Gabriela Marinho Gonçalves Franco – UECE – marinho.franco@aluno.uece.br; ⁶Emmanuel Silva Marinho – UECE – emmanuel.marinho@uece.br; ⁷Selene Maia de Moraes – UECE – selene.morais@uece.br

Introdução: Plantas da região Nordeste possuem grande potencial de produção de flavonoides devido às condições ambientais as quais estão inseridos. Os flavonoides são uma classe de compostos bioativos que possuem várias propriedades terapêuticas que tem ganhado bastante destaque, tais como: antivirais, antibacterianos, anti-inflamatórios, cardioprotetores, antidiabéticos, anticâncer, antienvelhecimentos e antioxidante. Neste contexto, a investigação de flavonoides como novos agentes terapêuticos potencialmente mais seguros e mais eficientes se faz necessária. **Objetivos:** Com este estudo objetivou-se avaliar flavonoides encontrados em plantas da região Nordeste, quanto às suas propriedades físico-químicas e potenciais bioatividades. As substâncias avaliadas foram: isoquercitrina, nicotiflorina, quercetina e rutina. **Métodos:** As estruturas foram obtidas no repositório PubChem, propriedades físico-químicas foram calculadas utilizando MarvinSketch e avaliadas segundo os critérios da “regra dos cinco” (RO5) de Lipinski. Resultados: Os resultados obtidos foram: isoquercitrina com massa molecular (MM) 464,379, doadores de hidrogênio (DH) 7, aceptores de hidrogênio(AH) 12 e log P -0,14; nicotiflorina com MM 594,522, DH 8, AH 15 e log P -0,57; quercetina com MM 302,238, DH 4, AH 7 e log P 2,16; por fim, rutina com MM 610,521, DH 10, AH 16 e log P -0,87. Compostos semelhantes a fármacos são definidos como aqueles que possuem propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas adequadas para se tornarem um medicamento, utilizando descritores moleculares como expressões numéricas para características químicas. Para tanto, a RO5 possui os seguintes descritores: >5 DH, >10 AH, massa molecular >500 daltons e log P >5. Valores para MM indicam o potencial molecular de ser absorvida pelas membranas celulares, Log P e DH e AH indicam suas possíveis interações intermoleculares, determinando, por exemplo a lipofilicidade ou o potencial antioxidante do composto. Seguindo estas interpretações, a quercetina apresentou os melhores resultados nas interações polares e hidrofílicas, exibindo potenciais efeitos quimioprotetores, bem como sua solubilidade em água foi compatível com a especificação encontrada na literatura, com bom potencial de biodisponibilidade de trânsito entre membranas celulares. A rutina apresentou menor potencial de biodisponibilidade permeabilidade e integridade para atravessar paredes biológicas. A nicotiflorina apresentou potencial permeável baixo, mas ainda superior a rutina, enquanto ambas exibiram potencial atividade antioxidante menor que entre as moléculas analisadas. A isoquercitrina tem potencial biodisponibilidade semelhante a quercetina. **Conclusão:** Todas as substâncias analisadas podem ser utilizadas em formulações farmacêuticas, devendo ser investigadas em novas avaliações mais especializadas. A partir dos resultados obtidos observa-se a importância do estudo de compostos bioativos no desenvolvimento de inovação de fármacos.

Palavra-chave: Compostos bioativos, Flavonóides, Fármacos naturais.

Veja o vídeo-pôster em https://www.youtube.com/watch?v=Ti2Hz320akw&list=PLvdAV-MmnvsxVMDgveAvMGn_ZqDfC7ER3&index=1

Ensaio clínico de fase I/II do tratamento de úlceras venosas crônicas com Selante de Fibrina Heterólogo derivado de veneno de cascavel

Luciana P. F. Abbade^{1,2,3,*†}, Silvia Regina Catharino Sartori Barraviera^{1,4}, Maria Regina Cavariani Silveiras¹, Ana Beatriz B. de C. O. Lima¹, Gabriela R. Haddad¹, Marcia A. N. Gatti⁵, Natalia Bronzatto Medolago⁶, Marcia Tonin Rigotto Carneiro⁶, Lucilene Delazari dos Santos^{3,4,7}, Rui Seabra Ferreira Jr^{3,4,7,*†} and Benedito Barraviera^{1,3,4,7,*†}

¹Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, Brasil; ²Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, Brasil; ³Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica, da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) e do CEVAP, Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, Brasil; ⁴Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, Brasil; ⁵Escola de Enfermagem da Universidade do Sagrado Coração (UNISAGRADO), Bauru, Brasil; ⁶Unidade de Pesquisa Clínica (UPECLIN), Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, Brasil; ⁷Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), Universidade Estadual Paulista (UNESP - Univ Estadual Paulista), Botucatu, Brasil.

† Esses autores contribuíram igualmente para este trabalho

* rui.seabra@unesp.br

O Selante de Fibrina Heterólogo (SFH) consiste em um crioprecipitado rico em fibrinogênio extraído do sangue de búfalo *Bubalus bubalis* e uma enzima semelhante à trombina purificada do veneno da serpente *Crotalus durissus terrificus*. Este estudo avaliou a segurança e imunogenicidade do SFH, estimou a melhor dose e avaliou sua eficácia preliminar no tratamento de úlceras venosas crônicas (UCV). Um ensaio clínico de fase I/II não randomizado, de braço único foi realizado em 31 participantes, representando um total de 69 UCVs ativas. Todas as úlceras foram tratadas com SFH, ácido graxo essencial e bota de Unna por 12 semanas. Os desfechos avaliados foram: (1) segurança primária, análises de imunogenicidade e confirmação da menor dose segura; (2) eficácia promissora secundária, analisando o processo de cicatrização. A imunogenicidade foi avaliada usando as técnicas de anticorpos séricos neutralizantes (IgM e IgG) e não neutralizantes (IgA e IgE) contra o produto. A imuno-deteção de anticorpos da classe IgE foi avaliada usando o ensaio Dot-Blot antes e no final do tratamento. As amostras positivas nos ensaios de Dot-Blot foram subsequentemente analisadas por western blotting para verificar os resultados. Não foram observados eventos adversos sistêmicos graves relacionados ao uso de SHF. Os eventos adversos locais potencialmente relacionados ao tratamento incluem dor de úlcera (52%), maceração peri-úlcera (16%), prurido peri-úlcera (12%), colonização crítica (8%), eczema peri-úlcera (4%), a abertura de novas úlceras (4%) e aumento da área ulcerada (4%). Os anticorpos neutralizantes e não neutralizantes não apresentaram desvios significativos em nenhum dos momentos avaliados. Os ensaios de Blot mostraram que todos os pacientes apresentaram reações imunológicas negativas, antes ou após o tratamento, com o componente da enzima trombina-like. Além disso, dois participantes apresentaram reação imunológica positiva ao componente crioprecipitado, enquanto outros dois foram positivos antes e durante o tratamento. Em

relação aos desfechos secundários de eficácia preliminar, observou-se cicatrização total e redução significativa da área em 47,5 e 22%, respectivamente. Uma melhoria qualitativa foi observada nos leitos das feridas de úlceras não cicatrizadas. O bioproduto investigacional SHF mostrou-se seguro e não imunogênico com boa eficácia preliminar para o tratamento da UVC, de acordo com o protocolo e as doses propostas. Um ensaio clínico multicêntrico de fase III será necessário para validar esses achados a fim de registrar o produto junto à ANVISA.

Palavras-chave: úlcera varicosa, curativos biológicos, adesivo para tecido de fibrina, cola de fibrina, selante de fibrina

Boas práticas de manejo de serpentes peçonhentas em cativeiro para a produção de medicamentos biológico à base de veneno: alcançando replicabilidade e contribuindo para a indústria farmacêutica

Lucilene Santos^{a'b'c}, Cristiano Oliveira^b, Barbara Marques Vasconcelos^a, Daniela Vilela^{a'b}, Leonardo Melo^{b'c}, Lívia Ambrósio^a, Amanda da Silva^a, Leticia Murback^b, Jacqueline Kurissio^a, Joeliton Cavalcante^b, Claudia Vilalva Cassaro^b, Luciana Barros^a, Benedito Barraviera^{a'b'c} and Rui Seabra Ferreira Junior^{a'b'c*}

^aCentro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, Brasil; ^bPrograma de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, Brasil; ^cPrograma de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) e CEVAP, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, Brasil.

* rui.seabra@unesp.br

Um dos fatores responsáveis pela falta de reprodutibilidade dos achados pode ser atribuído à matéria-prima utilizada. Até o momento, não há estudos aparentes examinando a reprodutibilidade usando venenos para o desenvolvimento de novos medicamentos à base de toxinas no que diz respeito às políticas das agências reguladoras. Por isso, foram implantados protocolos para a produção de toxinas animais com qualidade, rastreabilidade e estrito cumprimento das Boas Práticas de Fabricação. Isso exigiu a validação da cadeia produtiva desde a chegada do animal ao biotério, seguida do manejo, alojamento, bem como o cumprimento dos protocolos de extração, liofilização e, por fim, de armazenamento, visando à geração de compostos para servir como moléculas candidatas aplicáveis em ensaios clínicos. Atualmente, para produzir venenos de serpentes de qualidade para subsidiar estudos reprodutivos, o Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, Brasil, possui 449 serpentes microchipadas por meio de procedimentos operacionais rígidos e padronizados de segurança, saúde e bem-estar dos animais. As serpentes são frequentemente submetidas a exame clínico veterinário, tratamento anti-helmíntico e antiparasitário. O veneno é extraído individualmente de cada presa e coletado de cada animal em microtubos plásticos individuais para evitar contaminação e para rastreabilidade. Além disso, os venenos são submetidos a análises microbiológicas e bioquímicas toxicológicas. Vale ressaltar que os investigadores são responsáveis por cuidar, manter e manipular as serpentes e garantir sua saúde em cativeiro. Este trabalho contribuirá para a indústria farmacêutica com a prática experimental de toda a cadeia produtiva do veneno de serpentes necessária para a geração de produtos terapêuticos de qualidade.

Palavras-chave: Serpentes; cativeiro; gestão sanitária; procedimentos operacionais padrão; venenos

Uso de produtos sintéticos na inibição das atividades tóxicas causadas por veneno de serpentes brasileiras

Matheus Azevedo Cunha^a, Aldo Rodrigues da Silva^a, Eladio Flores Sanchez^b, Sabrina Baptista Ferreira^c, André Lopes Fuly^a

^aDepartamento de Biologia Molecular e Celular, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, 24020-141, Niterói, RJ, Brasil; ^bDepartamento de Química Orgânica e Prospecção Biológica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; ^cCentro de Pesquisa e Desenvolvimento, Fundação Ezequiel Dias, 30510-010, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Os acidentes ofídicos são um problema de saúde pública em todo mundo, principalmente em regiões socioeconomicamente menos desenvolvidas, e no Brasil, o acidente Bothrópico tem grande relevância epidemiológica. Os venenos de serpentes são formados por uma parte proteica, principalmente enzimas (metaloproteases, serino proteases, fosfolipases A2, e L-amino ácido oxidase) e uma parte não proteica. A parte proteica é responsável por causar quadros na vítima como sangramentos, danos cardíacos, necrose, inflamação e ocasionalmente o óbito. O tratamento preconizado atualmente para os acidentes ofídicos é a soroterapia que busca inibir os efeitos sistêmicos e impedir o óbito da vítima. Entretanto, esse soro necessita de condições específicas para ser fabricado e armazenado dificultando o acesso ao tratamento, além de não ser eficaz em neutralizar os efeitos locais da peçonha. Esses efeitos locais podem provocar sequelas, como deformações ou amputação do membro acometido na vítima. Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de alternativas terapêuticas que supram a problemática da terapia antiofídica. Os triazóis são moléculas amplamente utilizadas na medicina como fármaco e/ou com potencial na geração de fármacos pela sua estrutura química. Além disso, potencial antiveneno já fora relatado para os triazóis. O objetivo desse estudo foi avaliar a capacidade dos compostos triazólicos (TRI-30, TRI-31, TRI-32 e TRI-33) em neutralizar as atividades coagulante e proteolítica do veneno da *Bothrops jararaca*. A toxicidade in vitro desses compostos triazólicos também foi avaliada através do teste de hemocompatibilidade. O veneno de *B. jararaca* foi incubado com os compostos triazólicos por 30 min a 37°C, e em seguida as atividades coagulante e proteolítica foram avaliadas. No teste de hemocompatibilidade, os compostos triazólicos foram incubados com uma suspensão de hemácias e o grau de lise eritrocitária (13%) foi avaliada através da mensuração da hemoglobina liberada no meio reacional. Os resultados in vitro foram bastante satisfatórios visto que os compostos TRI-30 e TRI-31 foram capazes de inibir a coagulação do plasma causada pelo veneno de *B. jararaca*. Na atividade proteolítica do veneno, todos os compostos foram capazes de inibir esta atividade em até 85 %. Quanto ao ensaio de hemocompatibilidade, nenhuma das moléculas apresentou toxicidade nesse ensaio. Esse projeto demonstra a importância na busca por novos compostos capazes de neutralizar os efeitos tóxicos causados pelo envenenamento pela serpente *B. jararaca*.

Palavras Chaves: *Bothrops jararaca*, envenenamento, triazóis, neutralização

Financiadores: CNPq, CAPES, UFF-PROPPi, FAPERJ

PEGylation of L-Asparaginase in Microfluid Systems

Mileyde Araujo¹; Ariel P. Lima², Marta L. M. Bejarano², Mario R. Gongora-Rubio², Carlota O. Rangel-Yagui¹, João H. P. M. Santos^{1,2}

¹Department of Biochemical and Pharmaceutical Technology, University of São Paulo, São Paulo 05508-000, Brazil; ²Institute for Technological Research, São Paulo 05508-901, Brazil

The enzyme L-asparaginase is responsible for converting the amino acid L-asparagine into L-aspartic acid and ammonia. This enzyme has important applications, especially in the pharmaceutical industry, where it is employed as an antileukemic biopharmaceutical for the treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL). In order to improve the performance of biopharmaceuticals, in recent years, techniques have been developed to improve biopharmaceuticals by bioconjugation, within these techniques PEGylation stands out. This technique allows the reduction of immunogenicity, increased solubility and half-life time in plasma, and greater protection against proteolytic attack. Despite the advantages of PEGylated biopharmaceuticals, also called biobetters, some limitations associated with PEGylation reactions need to be addressed, such as: the reduced conversion of the bioconjugation reaction, a result of the hydrolysis of the reactive PEG, and the reduced selectivity, resulting in a heterogeneity of PEGylated species formed by parallel reactions between the reactive PEG and the functional amino acids of the proteins. Both the extent of conversion and the selectivity of the PEGylation reaction of protein biopharmaceuticals are highly sensitive to the experimental parameters of the process (such as: reaction time, PEG:protein molar ratio, stirring and pH). Thus, this innovative study aims to optimize the bioconjugation reactions of L-asparaginase by applying passive continuous-flow microreactors in two geometries (i.e crossing-channels with a reduced and high number of sections), aiming at increasing the PEGylation yield and selectivity of the reaction (monoPEGylation). The reactive PEG to be used is methoxy-polyethylene glycol carboxymethyl N-hydroxysuccinimidyl ester (mPEG-NHS) of three molecular masses (10, 20 and 40 kDa). It is intended to compare the yield of reactions obtained in microfluidics by passive micromixers with those obtained in batch processes by magnetic stirring in glass vials. The PEGylation reaction in microfluidics, was conducted in a crossing-channel geometry of the micromixer, in which the inlets will be fed with syringes, injecting the reactive PEG solution (mPEG-NHS) of different sizes and the solution of L-asparaginase in 100 mM phosphate buffer (pH = 7.5), in a constant flow rate (20-200 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$), so that it results in a more specific residence time and provides a mixture of the reaction between the reactive PEG and the L-asparaginase in a laminar flow with chaotic advection. The technology developed in this work by PEGylation in microreactors intends to be transposable to other biopharmaceuticals an alternative to conventional batch processes with low yield and selectivity.

Keywords: L-asparaginase, microreactors, PEGylation.

Acknowledgments: The authors are grateful for the financial support of the São Paulo Research Foundation of the State of São Paulo-FAPESP (2020/14308-0 and 2018/25994-2)

Mapeamento das Tecnologias Envolvidas nas Vacinas Inativadas contra Zikv em fase de Testes Clínicos

Raphael dos Santos Cerqueira¹ – rapha_new@hotmail.com; Antonio Wanderson Vieira Gois¹ – antoniowandersongois@gmail.com; Elvis Paim Ferreira¹ – elvispaim23@gmail.com; Angela Machado Rocha² – anmach@gmail.com

¹Faculdade de Medicina da Bahia (FMB)/Universidade Federal da Bahia (UFBA); ²Programa de Pós-Graduação em Propriedade Intelectual e Transferência Tecnológica para Inovação/Núcleo de Inovação Tecnológica (ProfNIT)/(NIT) Instituto de Ciências da Saúde (ICS)/Universidade Federal da Bahia (UFBA)

O ZIKV é o patógeno transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*, causando a Zika, virose associada a diversas consequências graves, como malformações congênicas. A Zika, declarada emergência mundial em 2016 pela Organização Mundial da Saúde, impulsionou o desenvolvimento de imunizantes para impedir sua disseminação, como as vacinas inativadas. Esse tipo de vacina, amplamente utilizado, é baseado no vírus impossibilitado de se replicar e, portanto, muito seguro e passível de ser administrado em gestantes, crianças e idosos, que são os grupos de risco para essa patologia. Esse estudo é uma prospecção acerca das tecnologias envolvidas na produção das vacinas inativadas contra ZIKV em fase de testes clínicos, realizados em humanos, encontradas na base de dados ClinicalTrials.gov¹. A busca foi realizada em 15/03/2021, através dos termos “Zika” e “vaccine”, resultando em 29 registros, dos quais, 7 tratavam-se do presente objeto de estudo. Sob esse prisma, todas as vacinas encontradas estão na fase 1, que avalia segurança e imunogenicidade, são administradas via intramuscular e baseiam-se no mesmo método de inativação, pelo composto formalina, variando somente nas dosagens. Apesar de tornar a vacina mais segura, a formalina destrói epítopos, a menor porção de antígeno com potencial de gerar a resposta imune, diminuindo a imunogenicidade². Para contornar essa situação, todas as vacinas utilizaram-se do método do vírus inativo e purificado da Zika (ZPIV), que seleciona os vírus que melhor preservarem sua proteína E, principal alvo para memória imunológica^{2,3,4}. Ademais, todas as vacinas baseadas em ZPIV contaram com a adição de hidróxido de alumínio como adjuvante. Nessa metodologia, os sais de alumínio interagem por adsorção dos antígenos e formam uma emulsão, liberando-os mais lentamente e apresentando-os às células dendríticas, o que potencializa a resposta de anticorpos⁵. Por fim, em comparação aos outros tipos de vacinas, as inativadas ainda continuam sendo as preferidas a serem desenvolvidas para emergências, como em epidemias do ZIKV, por possuírem bases seguras, amplamente conhecidas na ciência e possuírem menor custo de investimento, o que viabiliza a adoção desta estratégia de imunização em massa. Nesse aspecto, observa-se a necessidade de mais estudos comparativos de imunogenicidade da formalina com métodos mais atuais de inativação do vírus, a fim de determinar a técnica mais imunogênica de inativação e reduzir os custos de produção, uma vez que a formalina pode desnaturar epítopos, o que diminui a diversidade de anticorpos produzidos e, conseqüentemente, a amplitude da proteção contra possíveis variações do ZIKV.

Palavras-chave: Zika, Vacinas antivirais, Arboviroses, *Aedes aegypti*, Doenças tropicais

Agradecimentos: Universidade Federal da Bahia (UFBA) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Referências:

1. CLINICALTRIALS.GOV [Base de dados – Internet], 2021. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov>. Acesso em: 19 mar. 2021.
2. AUSTIN, A. L. et al. Inactivation of Zika Virus by Photoactive Iodonaphthyl Azide Preserves Immunogenic Potential of the Virus. *Pathogens*, v. 8, 12 out. 2019. Disponível em: www.mdpi.com/2076-0817/8/4/188/htm. Acesso em: 17 mar. 2021.
3. BALDWIN, W. R. et al. Purified inactivated zika vaccine candidates afford protection against lethal challenge in mice. *Nature. Scientific Reports*. v. 8. 2018. Disponível em: <https://DOI.org/10.1038/s41598-018-34735-7>. Acesso em: 15 mar. 2021.
4. ROEHRIG, J. T. Antigenic Structure of Flavivirus Proteins. *Advances in Virus Research*, v. 59, p. 141-175, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(03\)59005-4](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(03)59005-4). Acesso em: 17 mar. 2021.
5. DIAS, P. C. G. Avaliação da resposta imune induzida por diferentes adjuvantes e sua aplicação no desenvolvimento de uma vacina de subunidade contra leptospirose.

Orientador: Marco Alberto Medeiros. 2016. 87 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

Avaliação das Atividades Anti-Inflamatória e Imunomoduladora do Extrato Bruto das Sementes de *Pouteria Caimito* (Ruiz E Pav.) Radlk em Camundongos

Renata de Almeida¹, Lusinalva Leonardo da Silva², Maurício Afonso Vericimo³

¹Universidade Federal Fluminense, Programa de Pós Graduação em Patologia Geral, UFF, Brasil. realmeida@id.uff.br; ²Universidade Federal Fluminense, Programa de Pós Graduação em Ciências e Biotecnologia, UFF, Brasil. lusinalvaleonardo@id.uff.br; ³Universidade Federal Fluminense, Programa de Pós Graduação em Patologia Geral e Programa de Pós Graduação em Ciências e Biotecnologia, UFF, Brasil. mavericimo@id.uff.br

Pouteria caimito (Sapotaceae), conhecida como abiu é utilizada na medicina popular para tratar disenteria, infecções pulmonares e malária. Avaliou-se a atividade anti-inflamatória do extrato bruto de *Pouteria camito* (EBPC) no modelo de hiperplasia cutânea induzida pelo óleo de cróton e a atividade imunomoduladora anti-ovoalbumina de galinha. Nos experimentos *in vivo* e *ex vivo* foram utilizados camundongos BALB/c. Nos estudos *ex vivo*, células da medula óssea (MO) de animais não manipulados foram cultivadas na presença de diferentes concentrações (EBPC) e avaliados quanto a expressão de marcadores de superfície de progenitores hematopoieticos. Foi utilizado o modelo de dermatite não alérgica com administração de óleo de cróton (OC) no pavilhão auricular. Nos estudos *in vivo*, os animais receberam diferentes concentrações (EBPC). Para a avaliação da ação imunomoduladora, grupos de camundongos receberam ovoalbumina de galinha (OVA) somente ou associada a diferentes concentrações (EBPC). Os níveis de anticorpos anti-OVA foram avaliados. A imunidade celular foi avaliada através da reação de hipersensibilidade retardada com a injeção intradérmica de OVA no pavilhão auricular. A concentração encontrada (EBPC) *in vitro* capaz de matar 50% das células foi de 260,2ug/ml. Foi avaliado o efeito (EBPC) (2500ug/Kg) no número de células do sangue periférico (SP), baço e medula óssea (MO). Houve diminuição transitória no número de células da MO. Utilizando EBPC (1000ug/Kg) houve uma queda no número das células do SP. Houve uma diminuição acentuada nas células do baço. Houve aumento das células da MO. Na imunização primária (IP) resultou em um pequeno aumento dos níveis de anticorpos IgG. Após a imunização secundária (IS), os animais apenas com OVA apresentaram elevação dos níveis de anticorpos e também os sensibilizados com (OVA+EBPC na IP e OVA na IS). A reação de hipersensibilidade tardia realizada em todos os grupos (com e sem alternância de imunização) no 60^o dia revelou uma discreta e transitória elevação da espessura do pavilhão auricular. Os resultados obtidos até o presente momento mostram que o EBPC na concentração de 2500ug/Kg apresenta redução transitória do número de células da medula óssea e altera o parâmetro de tamanho x granulosidade da população da população celular em questão. Nos ensaios realizados com EBPC na concentração de 1000ug/Kg, estes apresentaram uma redução transitória no número de células da medula óssea, baço e fêmur. A associação do EBPC com OVA reduz moderadamente a resposta humoral secundária anti-OVA. O conjunto desses dados é bastante sugestivo de que (EBPC) apresenta uma importante atividade imunossupressora.

Palavras chave: gênero *Pouteria*, atividade terapêutica, imunomodulação.

Fonte de financiamento: CAPES, CNPQ, FAPERJ

Atividades antioxidante e anticolinesterásica *in vitro* do óleo de *Rosa rubiginosa*

¹Vania Carla de Sousa – UECE – engenheiravania@gmail.com; ²Daniela Ribeiro Alves – UECE – alves.danielaribeiro@gmail.com; ³Liz Roberta Silva Lima – UECE – liz.lima@aluno.uece.br; ⁴Lucas Soares Frota – UECE – lucassfrota@gmail.com; ⁵Leonardo Soares Freitas – UECE – leonardo.soares@aluno.uece.br; ⁶Selene Maia de Moraes – UECE – selene.morais@uece.br

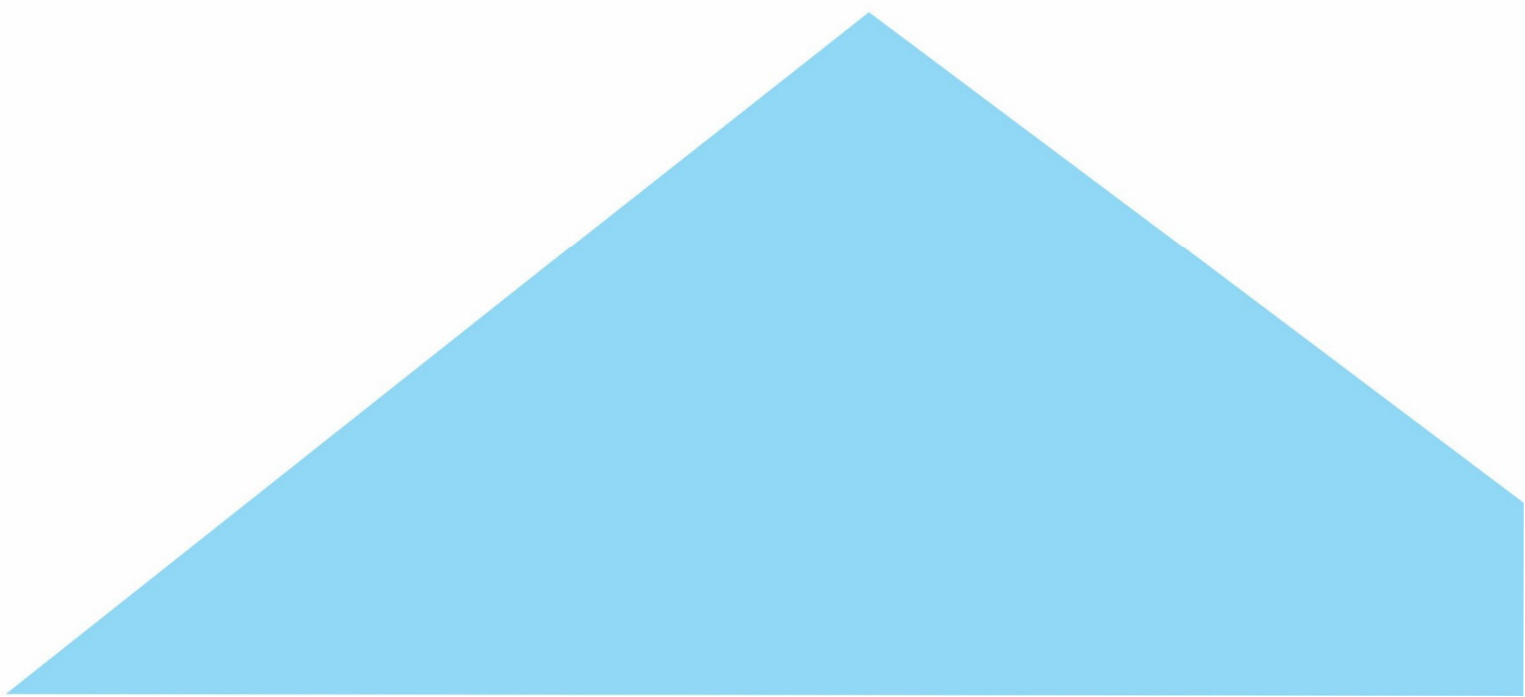
Introdução: Os produtos naturais são fontes promissoras na descoberta de agentes farmacológicos para o tratamento da Doença de Alzheimer (DA). Uma das formas para o tratamento consiste em utilizar inibidores da enzima acetilcolinesterase, aumentando com isto os níveis de acetilcolina. Dentre os produtos naturais, os óleos são importantes fontes de compostos que inibem a acetilcolinesterase. Rosa mosqueta (*Rosa rubiginosa*) é um arbusto selvagem que cresce em algumas áreas específicas da Europa Central, Ásia Ocidental e região andina do Chile. Um dos subprodutos derivados de suas sementes, o óleo, é caracterizado por uma alta concentração do ácido graxo (FA) ácido alinolênico e uma boa fonte de α - e γ -tocoferóis. O α -tocoferol é um inibidor eficaz da reação em cadeia dos radicais livres da peroxidação lipídica, aumentando os níveis de GSH, e também atua como inibidor da proteína quinase C. O óleo fixo de rosa mosqueta teve uso relatado como aditivo antioxidante, possuindo elevada concentração de vitaminas A, C, B1, B2, E e K, carotenóides, minerais como K, Ca, Na, Fe, Mg, P, compostos fenólicos e flavonoides. **OBJETIVO:** Analisar atividades biológicas do óleo fixo de *R. rubiginosa*, avaliando sua capacidade antioxidante e de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE). **Metodologia:** As atividades inibitórias da AChE e antioxidante contra o radical DPPH* foram aferidas utilizando a leitora Elisa BIOTEK, modelo ELX 800, software Gen5 V2.04.11. **Resultados e discussão:** O óleo fixo de *R. rubiginosa* mostrou ótimos resultados referentes a atividade inibitória frente a AChE ($CI_{50} = 17,23 \pm 0,63 \mu\text{g/mL}$) quando comparado ao padrão Galantamina ($CI_{50} = 1,05 \pm 0,15 \mu\text{g/mL}$) e excelente atividade antioxidante ($CI_{50} = 18,84 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$) quando comparado ao padrão Quercetina ($CI_{50} = 1,20 \pm 0,15 \mu\text{g/mL}$), indicando a necessidade de ensaios *in vivo* para determinar sua ação frente a Doença de Alzheimer. O óleo fixo de *R. rubiginosa* apresenta ácidos graxos insaturados essenciais, que são fundamentais na síntese de membrana celular nervosa, na regulação do colesterol, de neurotransmissores e na atividade enzimática. Entre os benefícios à saúde atribuídos aos ácidos graxos, destacam-se: anticarcinogênese, antiaterosclerose, alteração na composição e no metabolismo do tecido adiposo, imunomodulação, ação antibacteriana e antidiabética. **Conclusão:** A composição do óleo de *R. rubiginosa* avaliado é potencialmente rica em componentes protetores contra radicais livres como α - e γ -tocoferóis, devendo ser investigada para determinar dentre sua composição as atividades antiacetilcolinesterásica e antioxidante dos seus isolados.

Palavras-chave: Óleo fixo, DPPH, Alzheimer, Farmacologia.

Veja o vídeo-pôster em https://www.youtube.com/watch?v=3idtIMHVTdk&list=PLvdAV-MmnvsxVMDgveAvMGn_ZqDfC7ER3&index=2

A large, dark blue geometric shape that starts as a horizontal line at the top and tapers to a point, forming a large downward-pointing triangle.

CRÉDITOS

A large, light blue geometric shape that starts as a horizontal line at the bottom and tapers to a point, forming a large upward-pointing triangle.

Realização

Instituto Vital Brazil

Apoio financeiro

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj)

Projeto “Simpósio de Ciência, Tecnologia e Inovação em Biotecnologia”, vencedor do edital Edital Faperj nº 16/2019 – Programa de Apoio à Organização de Eventos Científicos, Tecnológicos e de Inovação no estado do Rio de Janeiro – 2019.02

Proponente do projeto

Marcelo Abrahão Strauch

Comissão organizadora do evento

Carlos Guilherme de Sousa Martins

Claudio Machado

Hugo Chaves Gomes

Livia Nascente

Luana Oliveira da Silva

Marcelo Abrahão Strauch

Marcelo Moreira

Maria Gorete Carvalho da Silva Teixeira

Roseli de Almeida Santana

Thais Marini

Comitê Editorial do evento

Breno Hamdan de Souza

Leide Lene Coelho Ferreira

Leonora Brazil Más

Luis Eduardo Ribeiro da Cunha

Marcelo Abrahão Strauch

Site do evento

Conteúdo – Luana Oliveira, Marcelo Moreira e Thaís Marini

Layout - Ana Paula Vieira



Realização do e-book

Edição - Thaís Marini

Revisão – Thaís Marini, Marcelo Moreira, Roseli Santana e Livia Nascente

Diagramação - Ana Paula Vieira