

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

**Avaliação de compostos potenciais para o tratamento da infecção
por Zika vírus**

Ana Luisa Colzi Lemos da Cunha

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo.

Orientadora: Profa. Dra. Jeanine
Giarolla Vargas

São Paulo
2018

SUMÁRIO

	Pág.
Lista de Abreviaturas	1
RESUMO	2
1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
5. CONCLUSÃO	21
6. BIBLIOGRAFIA	21
7. ANEXOS	

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ZIKV	<i>Zika vírus</i>
HCV	<i>Vírus da Hepatite C</i>
DENV	<i>Vírus da Dengue</i>

RESUMO

CUNHA, A. L. C. L. **Avaliação de compostos potenciais para o tratamento da infecção por Zika vírus.** Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Palavras-chave: ZIKA VÍRUS; MICROCEFALIA; REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS.

INTRODUÇÃO: A infecção por Zika vírus (ZIKV) é um grande problema de saúde pública no Brasil e no mundo, pois se trata de uma doença de disseminação rápida e implicações severas em grávidas e neonatos. Até o momento não há disponível terapia preventiva ou tratamento específico esta enfermidade. Neste cenário, o reposicionamento de fármacos como ferramenta de pesquisa por compostos para o tratamento de doenças como o ZIKV é de grande utilidade e aplicação, uma vez que pode resultar na descoberta de compostos potenciais para o tratamento desta doença.

OBJETIVO: Sabe-se que a infecção por ZIKV representa uma preocupação em saúde sem alternativa de tratamento. Este trabalho teve como objetivo, portanto, realizar uma revisão bibliográfica para buscar compostos promissores para o combate desta virose. Fez-se a pesquisa com base na estratégia de reposicionamento de fármacos, método tão interessante na descoberta de novas aplicações biológicas aos compostos ativos. Discutiu-se o mecanismo de ação ao nível molecular e, também, quando possível, a relação estrutura-atividade dos protótipos.

MATERIAIS E MÉTODOS: Realizou-se uma revisão bibliográfica sobre o tema ZIKV, a fim de investigar o estado da arte no quesito tratamento farmacológico *versus* reposicionamento de fármacos. Os bancos de dados utilizados estão disponíveis no Sistema Integrado de Bibliotecas da USP (SIBi), sendo eles o

PubMed, Web of Science e SCOPUS. Para realizar a revisão bibliográfica, não foi considerado um período de tempo, uma vez que se trata de um problema de saúde atual. Aplicaram-se as seguintes palavras-chave para busca: Zika vírus (ZIKV), *treatment of ZIKV*, *ZIKV and drug repositioning*, *ZIKV repurposed drugs*, *new therapeutic uses for existing molecules*, *microcephaly and ZIKV*, reposicionamento de fármacos, microcefalia e ZKV.

RESULTADOS E CONCLUSÃO: Dentre os candidatos encontrados, destacam-se o sofosbuvir, a cloroquina e a suramina, os quais apresentaram maiores dados experimentais e, conseqüentemente, tiveram mais informações para as discussões. Considerando-se que o tratamento atual é paliativo, este estudo é de suma importância na identificação de candidatos a fármacos úteis para o combate desta infecção. Ficou evidente a dificuldade em se conduzir os estudos com ZKIV e, por isso, pesquisas mais aprofundadas devem ser realizadas acerca do tema.

1 INTRODUÇÃO

O Zika vírus pertence à família *Flaviviridae*, do gênero *Flavivirus*, com característica icosaédrica, envelopado e dotado de genoma RNA fita simples positivo (ALAM et al., 2017). Na última década surgiu como uma potencial ameaça para saúde humana ao redor do mundo e, no Brasil, especialmente, o problema aconteceu em 2015. Desde este ano, o vírus tem-se disseminado geograficamente muito rápido, com um reporte de 67 países e predominância entre as Américas. Mais recentemente, verificou-se expansão pela África e Ásia (WHO, 2016). De acordo com Song e colaboradores (2017), somente no Brasil, havia entre 440.000 e 1.300.000 casos de suspeita de infecção espalhados em 14 estados. Nesse mesmo período, o número de recém-nascidos com microcefalia teve um aumento significativo nas áreas afetadas. A epidemiologia da doença tem apresentado um padrão semelhante ao do vírus da dengue (DENV), com predominância de casos na região Sudeste, seguida das regiões Nordeste e Centro-Oeste. Os números de notificações são estáveis dentro da América do Sul, sendo o Brasil responsável pelo maior número de reportes (WHO, 2017). O Brasil vem, então, enfrentado um grande desafio por causa da co-circulação com outros arbovírus de grande importância para a saúde pública: o vírus da dengue (o qual teve grande repercussão em epidemias severas nos últimos 30 anos) e Chikungunya (CHIKV). Esta co-circulação com o ZIKV merece atenção, pois a existe a sobreposição dos sinais e sintomas entre as três viroses, somados ao fato de que os testes diagnósticos validados para ZIKV, para distinguir entre uma doença aguda e uma exposição passada, ainda não estão disponíveis (BRASIL et al., 2016). A comparação entre a gravidade dos sintomas entre ZIKV, DENV e CHIKV pode ser vista na Tabela I.

Tabela I – Comparação da severidade dos sintomas entre ZIKV, DENV e CHKV (Alam et al., 2017)

Sintomas	ZIKV	Dengue	Chikungunya	Vírus do Nilo
Febre	✓	✓✓✓✓	✓✓✓✓	✓✓
Dor nas articulações (Artralgia)	✓✓	✓	✓✓✓✓	✓
Conjuntivite	✓✓✓	✓✓	✓	✓✓
Dor de cabeça	✓✓	✓✓✓	✓✓	✓
Dor muscular (mialgia)	✓✓	✓✓✓	✓✓	✓✓
Rash e prurido	✓✓✓✓	✓✓	✓✓	✓✓
Fadiga	✓	✓✓	✓✓✓	✓

Desde a descoberta do ZIKV, mais de 500 tipos do vírus foram encontrados ao redor do mundo, apesar de poucos serem totalmente sequenciados. Dessa amostra, pode-se classificar o ZIKV em dois grandes grupos genéticos: a linhagem genética africana e a asiática, sendo que todos os casos reportados durante a epidemia na América eram derivados da asiática. Apesar da descoberta desses dois grupos maiores, não se sabe o real impacto que essa diversidade genética pode causar com relação à patogenicidade da doença (SONG et al., 2017).

Yun e Lee (2017) relataram a importância em se conhecer sobre a replicação viral de outros *Flavivirus* para comparar com o ZIKV. Entretanto, pouco se sabe, ainda, sobre o que acontece ao nível molecular e como é o ciclo da replicação, dificultando o entendimento da patogenia da doença e a criação de métodos para impedir sua disseminação.

A transmissão é, também, um tema de grande preocupação. Primariamente, a doença é transmitida através da picada de mosquitos do gênero *Aedes* infectados. Por outro lado, pode, também, acontecer: **(1)** verticalmente, durante a gravidez e amamentação; e **(2)** horizontalmente, através de relações

sexuais, transfusão sanguínea e, menos comumente, em casos de pacientes com alta titularidade viral, através de secreções entre pele e membranas mucosas. Essas diversas formas de transmissão, somadas à falta do completo entendimento da patogenicidade da doença, bem como sobre o ciclo de replicação, acabam tornando ainda mais difícil o desenvolvimento de estratégias para combater o vírus (SONG et al., 2017) (Figura 1).

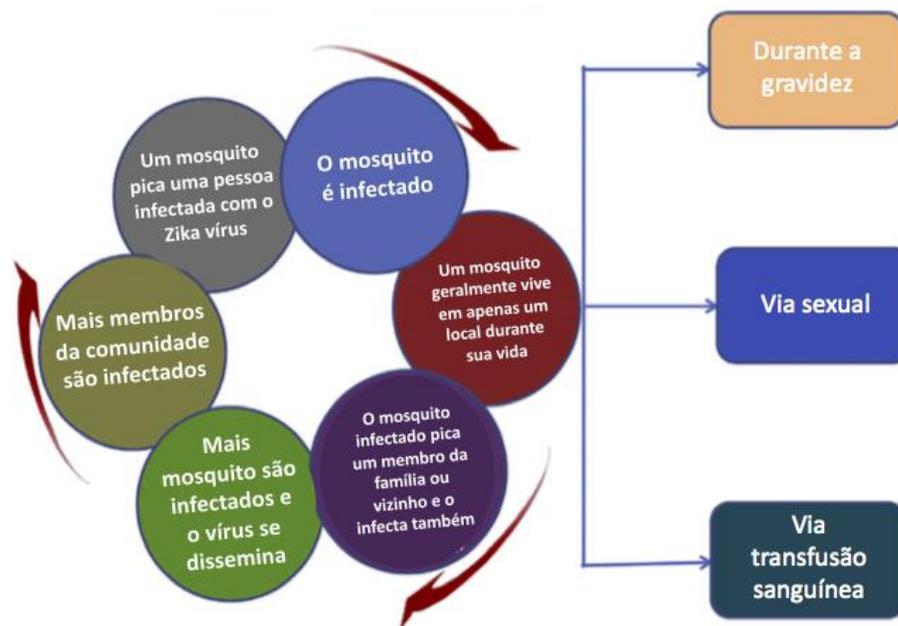


Figura 1 – Representação do ciclo de transmissão do Zika vírus (Alam et al., 2017).

A fisiopatologia da doença ainda não é completamente elucidada. Assim, as informações disponíveis são baseadas em estudos realizados *in vitro* e *in vivo*, em modelos animais ou material humano *post mortem*. Desses estudos, se observou a suscetibilidade e a permissividade de três tipos celulares: fibroblastos dérmicos, queratinócitos epidérmicos e células dentríticas. Verificou-se, também, a ativação de resposta celular inata em células fibroblásticas, bem como a destruição de células tronco humanas diferenciadas em neuroesferas, o que contribuiu para a associação entre fetos infectados por ZIKV e o desenvolvimento de microcefalia.

A maioria dos casos de infecção é assintomático, apenas 20-25% são sintomáticos, os quais desenvolvem uma branda e limitada doença, com um

período de incubação de 4 a 10 dias. Outros sintomas comuns não são específicos e remetem a um quadro de gripe, com uma febre transiente, dores de cabeça, artrite ou artralgia, *rash* maculopapular e conjuntivite não purulenta (LOEFFELHOLZ; RELICH, 2017). É de grande atenção, entretanto, a infecção de mulheres durante a gravidez, uma vez que as formas de transmissão mãe-filho não são muito bem conhecidas e está ligada a diversas anomalias congênitas neurológicas, principalmente a microcefalia (FANG-HOOVER et al., 2016). Análises *post mortem* de fetos infectados por ZIKV revelaram implicações essenciais na neuro teratogênese. Mostraram-se, em exames histopatológicos de placenta e tecidos do sistema nervoso de fetos infectados, antígenos e partículas virais de ZIKV (LOEFFELHOLZ; RELICH, 2017).

Apesar das grandes implicações, até o momento não existe nenhum tratamento ou terapia preventiva para infecções por ZIKV. Muitos estudos têm sido realizados em torno de alguns reposicionamentos de fármacos, como, por exemplo, o sofosbuvir, utilizado para o tratamento da Hepatite C, que demonstrou inibir eficientemente a replicação de diversas cepas de ZIKV em culturas de células (FERREIRA et al., 2017). A descoberta de antivirais pode ser complexa e levar muito tempo. Além disso, a eficácia terapêutica pode ser limitada por conta do surgimento de resistências virais e eventos adversos graves. O reposicionamento de fármacos consiste em desenvolver novas aplicações para fármacos potencias ou já utilizados em outras doenças. Essa é uma estratégia muito interessante, pois algumas das fases do desenvolvimento de medicamentos podem ser minimizadas ou, mesmo, ultrapassadas, uma vez que esses compostos já possuem informações com relação ao seu perfil de segurança e farmacocinético disponíveis (CHARLTON et al., 2017). Em situações como essa, de doenças com rápida disseminação e, especialmente no caso de ZIKV, de grande impacto em grávidas e neonatos, a busca por reposicionamento de fármacos já aprovados é muito útil (CHENG et al., 2016).

2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

Como o Zika vírus se trata de um problema de saúde pública, não somente no Brasil, mas no mundo, acarretando em complicações graves como a microcefalia e outras anomalias neurológicas em neonatos e a síndrome de Guillain-Barré em adultos, este trabalho realizou uma revisão bibliográfica de compostos promissores para o tratamento desta virose, com base na estratégia de reposicionamento de fármacos. Procurou-se avaliar o mecanismo de ação ao nível molecular dos candidatos e, quando possível, determinar a relação estrutura-atividade desses compostos potenciais para o tratamento da doença.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Fez-se uma revisão bibliográfica utilizando artigos publicados relacionados ao assunto Zika vírus, em busca dos avanços no tratamento da infecção. Os bancos de dados utilizados estão disponíveis no Sistema Integrado de Bibliotecas da USP (SIBi), sendo eles o PubMed, Web of Science e SCOPUS. Os artigos foram lidos e avaliados, e aqueles que se encaixaram no presente trabalho, foram utilizados como fonte de conhecimento, devidamente referenciados. Em um primeiro momento, utilizaram-se as seguintes palavras-chave: Zika vírus (ZIKV), *treatment of ZIKV*, *ZIKV and drug repositioning*, *ZIKV repurposed drugs*, *new therapeutic uses for existing molecules*, *microcephaly and ZKV*, reposicionamento de fármacos, microcefalia e ZKV. Por se tratar de um problema de saúde recente, não foi considerado um período de tempo para o levantamento bibliográfico.

3.1 Estratégias de pesquisa

Ao acessar os bancos de dados especificados, as seguintes palavras chaves foram utilizadas: Zika vírus (ZIKV), *treatment of ZIKV*, *ZIKV and drug repositioning*, *ZIKV repurposed drugs*, *new therapeutic uses for existing molecules*, *microcephaly and ZKV*, reposicionamento de fármacos, microcefalia e ZKV.

3.2 Critérios de inclusão

Utilizaram-se os artigos que mais se adequaram ao tema, relacionando aos avanços na terapêutica para o tratamento de Zika vírus. Devido a grande quantidade de publicações relacionadas ao reposicionamento de fármacos, selecionaram-se os estudos com maior nível de detalhamento. Outro critério de inclusão foram os artigos que dispunham de informações com relação ao mecanismo de ação e/ou a relação estrutura-atividade da molécula investigada. Verificaram-se, também, artigos que descreveram os mecanismos e outros tipos de avanços encontrados sobre o tratamento.

3.3 Critérios de exclusão

Não se utilizaram artigos científicos não relacionados com o tema ZIKV e perspectivas de tratamento. Não se consideraram, também, artigos com informações insuficientes para a compreensão da relação infecção *versus* bloqueio da replicação viral.

3.4 Coleta e análise dos dados

Após a busca e coleta dos artigos científicos, seguiu-se para a etapa de estudo e leitura dos mesmos, para a posterior discussão e avaliação dos resultados obtidos.

3.5 Análises estatísticas

Não se realizou análise estatística devido ao modelo de revisão escolhido, no qual o propósito é discutir, apenas, os avanços encontrados para o tratamento da infecção por Zika vírus.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento não há nenhuma alternativa terapêutica aprovada para a cura ou prevenção de infecção por ZIKV. Entretanto, devido à severidade do tema, principalmente relacionada com complicações de grande impacto, por exemplo, a microcefalia, síndrome de Guillain-Barré, entre outros danos neurológicos, esforços têm sido feitos para encontrar um tratamento eficiente para esta doença.

O presente trabalho buscou, então, apresentar um compilado de informações sobre os avanços no combate desta enfermidade classificada como negligenciada. Assim, os tópicos a seguir mostrarão alguns dos compostos que veem sendo reposicionados com este propósito, destacando, quando possível, o mecanismo de ação ao nível molecular, além da relação estrutura-atividade.

4.1 Sofosbuvir

Sofosbuvir é um agente antiviral utilizado para o tratamento de infecções por Hepatite C (Figura 2). Sua atividade se dá através da inibição da RNA polimerase dependente de RNA do HCV impedindo, assim, a replicação viral (FDA, 2018).

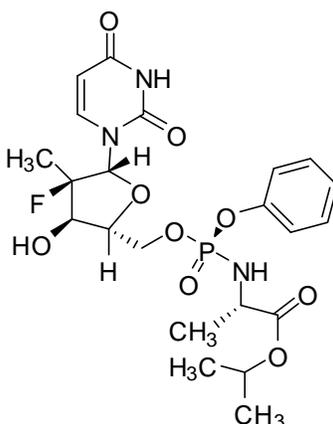


Figura 2 – Estrutura química do sofosbuvir

Sacramento e colaboradores (2017), considerando a necessidade urgente de se encontrar um tratamento contra o ZIKV, desenvolveram um estudo para avaliar a possibilidade do uso de sofosbuvir como antiviral. Este composto, diferentemente de outros que podem ser nocivos às grávidas, está classificado como Categoria B pelo FDA (*Food and Drug Administration*), isto é, em experimentos em animais não demonstraram risco para os fetos (CHEMM, 2017). Neste trabalho, realizaram-se ensaios para avaliar como o sofosbuvir atuaria sob a RNA polimerase do ZIKV (RNAP ZIKV), e como se daria a inibição viral. Quanto ao mecanismo de ação, os autores verificaram em um modelo estrutural presumido que o fármaco, semelhantemente ao que ocorre na estrutura enzimática do HCV,

se encaixaria à RNAP ZIKV ao se relacionar com os resíduos de aminoácidos conservados. Essa região é crítica para a atividade da RNAP ZIKV, sendo conservada entre as diferentes espécies virais da família *Flaviviridae*. Verifica-se, na Figura 3, que interações denominadas como atrativa e ligações hidrogênio foram importantes para a inter-relação fármaco-alvo. Os aminoácidos Arg539, Lys458, Gly538, Trp539 e Lys691, por exemplo, participaram desta interação. Baseado nesse modelo estrutural, notou-se que o sofosbuvir trifosfato, o composto bioativo, teria a capacidade de inibir a atividade da RNAP ZIKV. Ademais, os resultados indicaram que as células tratadas com o fármaco apresentaram um aumento na taxa de mutações no genoma viral, contribuindo, portanto, para a redução da infectividade viral, uma vez que essas mutações geram produtos incapazes de infectar novas células e serem patogênicos. Além desses achados, observou-se, também, que células neurais humanas derivadas de células-tronco, quando tratadas com sofosbuvir, apresentaram uma diminuição significativa na replicação viral. Este resultado contribuiu para diminuição da morte celular resultante da neuropatogênese induzida pela infecção de ZIKV, exercendo, assim, uma atividade neuroprotetora.

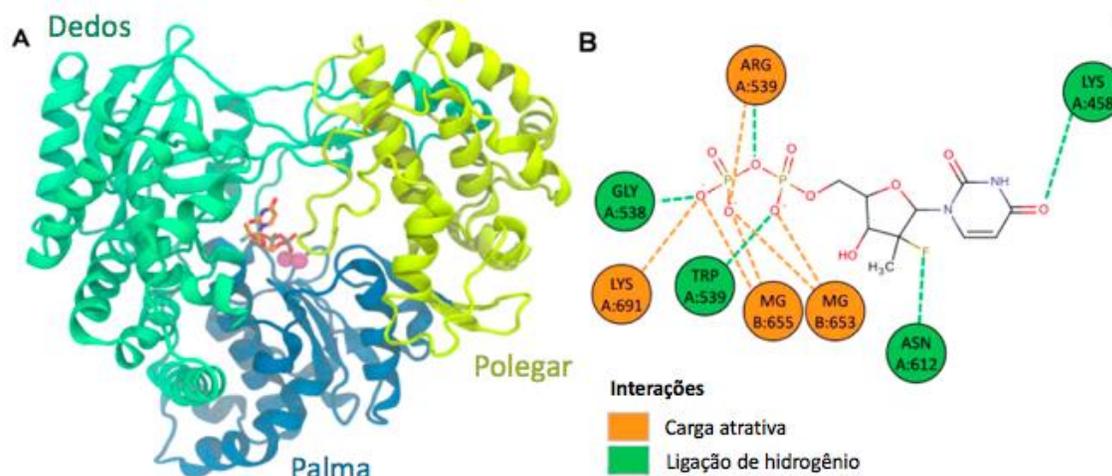


Figura 3 – Esquema de encaixe entre sofosbuvir e a RNAP ZIKV (Sacramento et al., 2017).

Bullard-Feibelman e colaboradores (2017) avaliaram, também, a ação do sofosbuvir contra a infecção do ZIKV. Os resultados foram semelhantes, ressaltando o alto índice de seletividade do composto, resultando em uma diferença significativa entre a dose terapêutica e tóxica.

4.2 Cloroquina e derivados

A cloroquina é um antimalárico aprovado pelo FDA (Figura 4). O mecanismo de ação envolve o DNA, interferindo na síntese de proteínas, além da inibição da DNA e RNA polimerase (FDA, 2018).

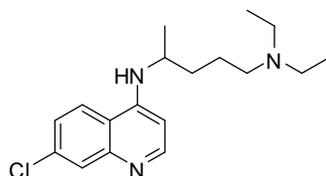


Figura 4 – Estrutura química da cloroquina.

Shiryayev e colaboradores (2017) observaram uma redução da infecção de ZIKV em células progenitoras neuronais de fetos humanos originárias de células-tronco pluripotentes tratadas com cloroquina. As culturas de células, em presença deste fármaco, conseguiram inibir 90% daquelas que estavam infectadas. Dentro desse mesmo estudo, verificaram-se, também, o efeito da cloroquina sob a transmissão vertical. Infectaram-se camundongos fêmeas grávidas com concentração viral alta suficiente para causarem doença severa. O esquema de tratamento aconteceu com doses de 30 mg/kg ao dia, valores mais baixos que os usuais, selecionadas para proteger as fêmeas dos possíveis efeitos colaterais do fármaco. Posteriormente, coletaram-se amostras de sangue materno e cerebral dos fetos para análise. Os resultados mostraram uma diminuição de, aproximadamente, vinte vezes na titularidade viral, tanto em sangue materno, como nos cérebros fetais. Adicionalmente, embriões foram imunologicamente marcados com anticorpos contra proteína do envelope viral de ZIKV e avaliados para comparação entre fetos dos quais as mães receberam o tratamento com cloroquina e mães que não o receberam. O resultado da comparação, assim como a análise das amostras de sangue e cérebro avaliadas, demonstrou uma

diminuição significativa da intensidade dos marcadores entre os fetos de mães tratadas e mães que não receberam o composto. Em outro trabalho, exploraram-se as atividades antivirais da cloroquina e amodiaquina. Esta última molécula contém estrutura semelhante, a 7-cloroquinolina. Planejaram-se, assim, derivados através de modificações moleculares a fim de se obter um composto mais promissor (Barbosa-Lima et al., 2017) (Figura 5).

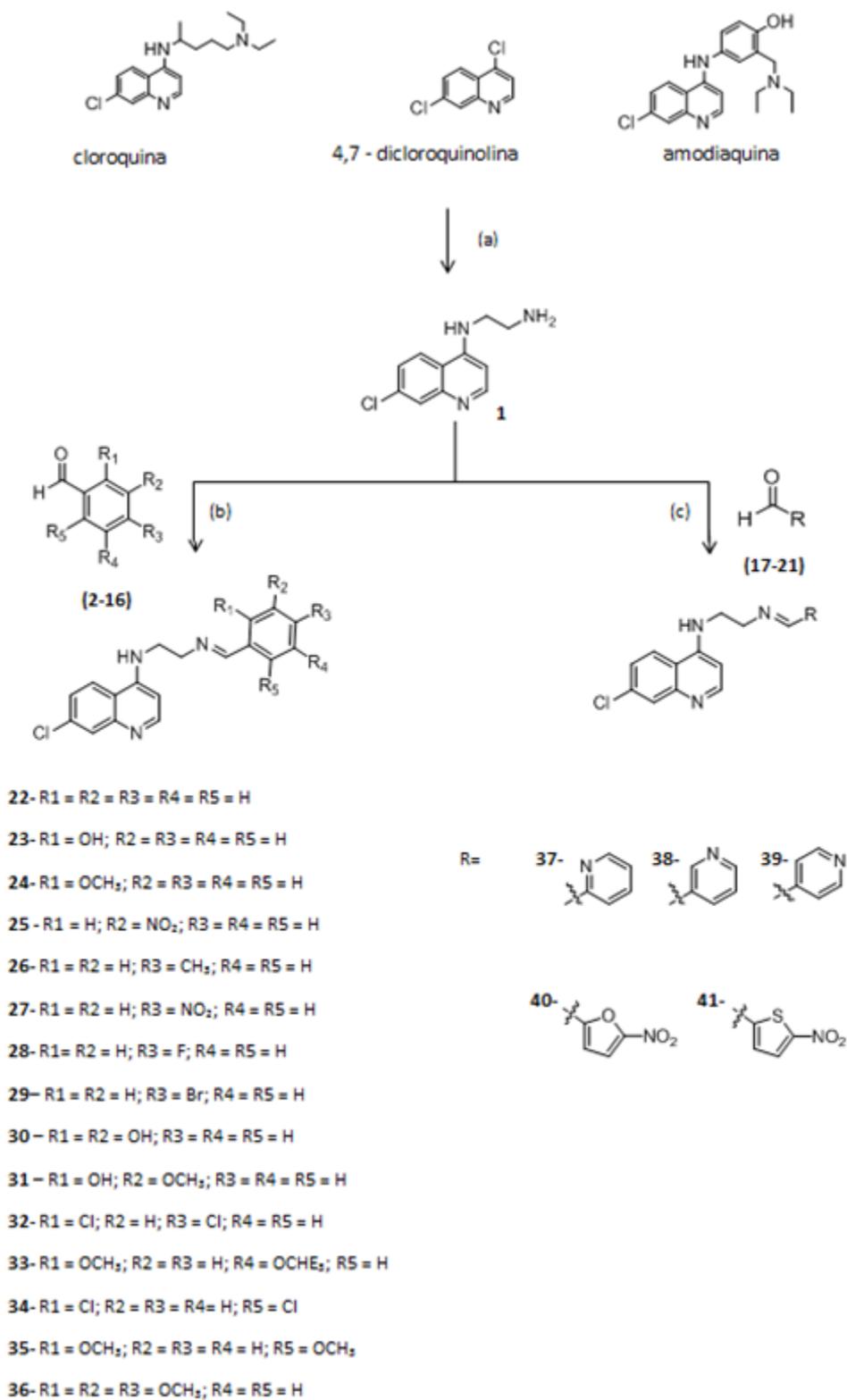


Figura 5 – Planejamento de derivados de cloroquina e amodiaquina (Barbosa-Lima et al., 2017).

Mediu-se, então, a capacidade destes 36 derivados (apresentados na Figura 5) em diminuir os níveis de RNA viral, em comparação com o valor da metade do efeito máximo da cloroquina (EC_{50} igual a $12 \pm 3.2 \mu\text{M}$). Extraíram-se, em seguida, quais moléculas apresentaram uma taxa de inibição de replicação viral maior que 75% para aprofundar as análises de desempenho farmacológico e tentar, também, compreender a relação estrutura-atividade (REA) desses derivados. Os resultados indicaram que oito compostos tiveram uma potência inibitória cerca de dez vezes maior que o fármaco protótipo. Entretanto, dentre todas, o derivado *N*-(2-((5-nitrofurano-2-il)metilimino)etil)-7-cloroquinolina-4-amina foi o que apresentou a melhor atividade, por reduzir a replicação viral de ZIKV com uma potência 15 vezes maior que a cloroquina, além de EC_{50} de $0,8 \pm 0,07 \mu\text{M}$.

Em relação à estrutura-atividade (REA) desta série de compostos, notou-se que os melhores resultados apresentavam o grupo imino, sendo este classificado, então, como muito importante para a atividade biológica (Figura 6). Quanto aos substituintes, o número, o tipo e a posição dos mesmos também foram críticos para a ação. As moléculas, ao serem comparadas, demonstraram que anéis aromáticos substituídos em *para* com flúor ou nitro tiveram melhor resultados que os equivalentes com bromo. Já em relação aos heterocíclicos, a posição do heteroátomo também foi relevante, sendo o anel furano o mais promissor da série.

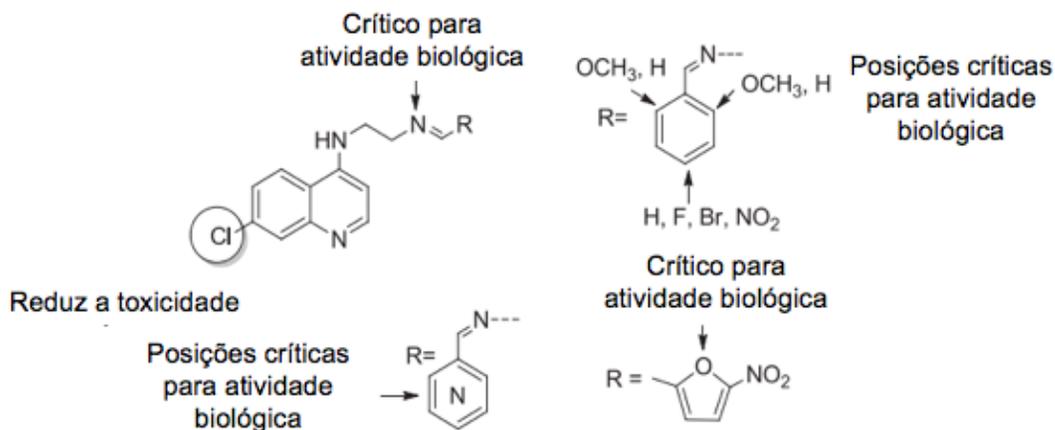


Figura 6 – Relação estrutura-atividade dos derivados da cloroquina (Barbosa-Lima et al., 2017).

4.3 Suramina

A suramina é fármaco anti-helmíntico polissulfonado aprovado para o tratamento de tripanossomíases pelo FDA, podendo ser usado, também, no tratamento de alguns tipos de vírus, como por exemplo, na infecção por HCV (Ho, et al., 2015).

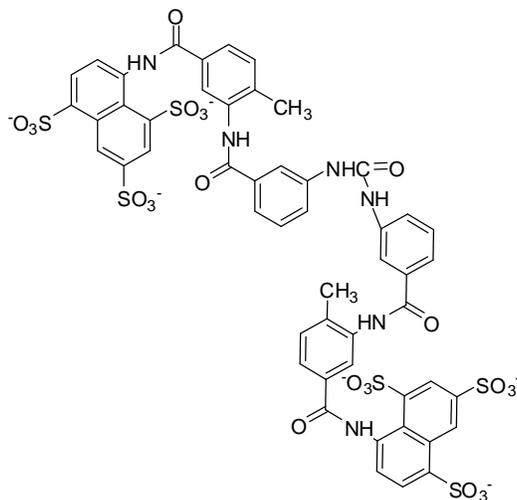


Figura 7 – Estrutura química da suramina

Poliglicanos e sulfato de heparano presentes nas superfícies celulares apresentam diversas funções biológicas, por exemplo, mobilidade celular, bem

como atuam como receptores de fatores de adesão celular (SARRAZIN; LAMANNA; ESKO, 2011) (ver Figura 8). Podem servir, também, como instrumento de adesão ou entrada para diversos patógenos, tais como o DENV, Chikungunya e ZIKV. Assim, diante destas evidências científicas, avaliaram-se o efeito de diversos glicosaminoglicanos contra a infecção estudada neste trabalho (TAN et al., 2017).

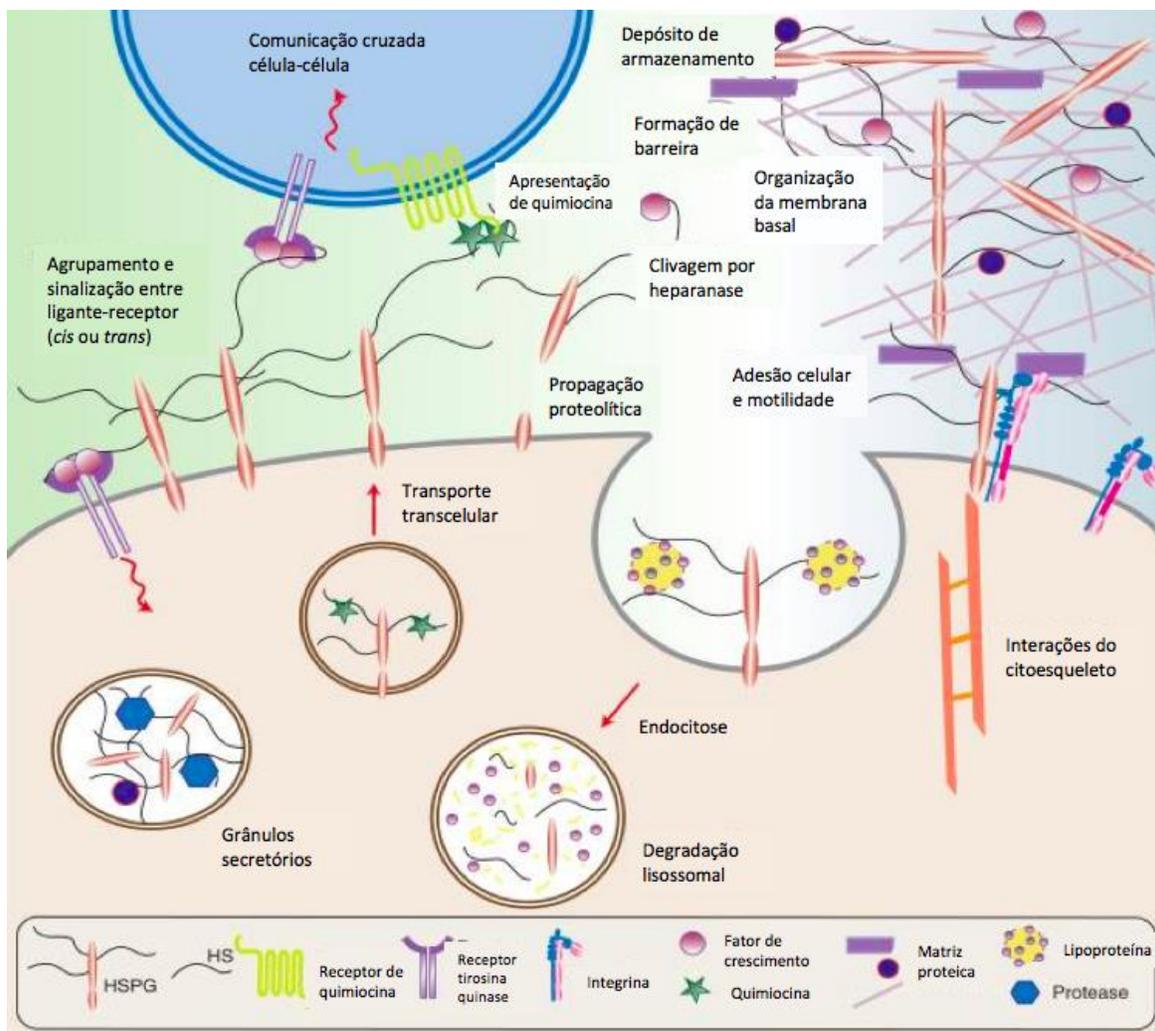


Figura 8 – Esquema de funções celulares de sulfato de heparano (HSPG) (SARRAZIN; LAMANNA; ESKO, 2011).

Dentre as glicosaminoglicanas testadas, observou-se que a suramina apresentou a melhor inibição contra o Zika vírus. Nos experimentos realizados,

verificou-se que, não somente a suramina apresentava um potencial de inibição maior ($98,1\% \pm 1,0$ com concentrações de $\leq 50 \mu\text{g/mL}$), como também que derivados menos sulfatados não são capazes de impedir a infecção. Os ensaios revelaram, ainda, a capacidade desta suramina em inibir a doença em diferentes estágios da replicação viral. Assim, testou-se a molécula em diferentes estágios. Os achados mostraram atividades mais significativas na pós-infecção e na entrada do vírus na célula hospedeira. Possivelmente, o mecanismo de ação se dá pelo bloqueio da adsorção viral nestas duas etapas. Presumiu-se, portanto, que esta ação inibitória aconteça em dois sítios polares e hidrofóbicos da RNA helicase NS3 do ZIKAV, uma proteína não-estrutural pertencente ao *Flavivirus* (JAIN et al., 2016). As ligações de hidrogênio entre a molécula e a NS3 helicase (C) e o envelope viral (F) podem ser observadas em verde na Figura 9. As principais interações se dão através de diversos aminoácidos como Arg190, Hid426, Ser188, Val189, Ile407, Lys251 dentre outros.

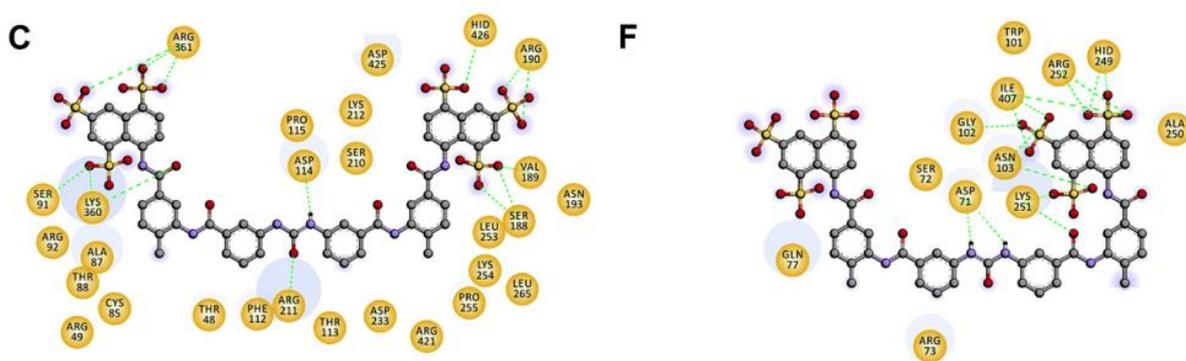


Figura 9 – Simulações da interação (ligações hidrogênio) entre a NS3 helicase e o envelope viral do ZIKV (Tan et al., 2017).

Outro trabalho desenvolvido por Albulescu e colaboradores (2017) corrobora com os resultados descritos anteriormente. O teste de tempo-de-adição e teste de ligação com marcadores de ZIKV radioativos exibiram a capacidade da suramina em interferir em diferentes etapas da replicação viral, por exemplo, na adesão do vírus à célula, diminuindo, assim, a quantidade de genomas virais liberados, além da infectividade.

4.4 Niclosamida

A niclosamida é um anti-helmíntico aprovado pelo FDA e indicado para o tratamento de infecções por tênia (FDA, 2018).

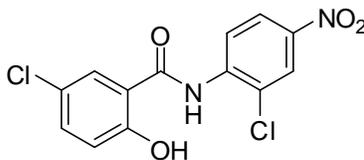


Figura 10 – Estrutura química da niclosamida

Li e colaboradores (2018) verificaram que vírus pertencentes ao gênero *Flavivirus* mantém um complexo protease NS2B-NS3 conservado, sendo o NS2B o cofator essencial para a função protease da enzima NS3, importante para o processamento de poliproteínas virais. Esse complexo, NS2B-NS3, caracteriza, portanto, um alvo farmacológico atrativo para ser inibido. Sabendo-se disso, testes *in vitro* mostraram que a niclosamida diminuiu a expressão e a replicação viral em células epiteliais placentárias humanas (células fisiologicamente relevantes para o desenvolvimento fetal), como, também, reduziu a titularidade viral em células tronco humanas e células humanas neuroprogenitoras. Notou-se, ainda, que o fármaco apresentou uma potente inibição para o ZIKV em fases mais tardias da replicação viral (24 horas após a infecção). Estes achados sugerem o mecanismo de ação pós-entrada viral, inibindo as interações entre a NS3 e seu cofator, o NS2B, ocasionando, conseqüentemente, uma inativação da protease seguida da inibição do processamento da proteína viral, impossibilitando a replicação.

Em outro estudo realizado por Cairns e colaboradores (2018) investigou-se, também, em modelo *in vivo*, os efeitos da niclosamida sob a infecção do ZIKV. Submeteram-se células-tronco humanas induzidas infectadas com Zika vírus ao tratamento com o fármaco e demonstraram redução da produção viral e de processos celulares apoptóticos.

4.5 Outros estudos de antivirais promissores

O crescimento no número de casos de infecção por ZIKV culminou em uma epidemia no Brasil entre os anos de 2015 e 2016. Nessa época, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a doença como um problema de saúde mundial emergencial (CHENG et al., 2016). Paralelamente, aumentou-se o número de publicações relacionadas a esse tema, em especial à busca de novos compostos promissores.

Pascoalino e colaboradores (2016) desenvolveram um estudo *in vitro* de *screening* de moléculas antivirais para identificar fármacos promissores já aprovados pelo FDA. De 725 compostos, 4% apresentaram atividade inibitória e cinco candidatos apresentaram-se como mais interessantes: lovastatina, fluoruracila, 6-azauridina, palonosetrona e kitasamicina. Em abordagem semelhante (Xu et al., 2016) realizou-se um *screening* de aproximadamente 6000 compostos aprovados e em pesquisa clínica para diferentes finalidades. Identificaram-se duas classes de compostos com capacidade de proteger células neuronais da morte induzida pelo ZIKV: uma composta de antivirais (inibem a replicação viral), como o PHA-690509, e outra de neuroprotetores, elucidada pelo emricasan. Saiz e Martín-Acebes (2017) buscaram *in vitro* antivirais potenciais. Esta avaliação pontuou compostos já citados anteriormente como o sofosbuvir, a cloroquina e a niclosamida, como também a PHA-690509, a lovastatina, a sertralina e o bortzetomibe.

5 CONCLUSÃO

A análise dos artigos encontrados sobre o tema mostrou que apesar de há muito tempo identificado o vírus do ZIKV, somente após o reconhecimento da doença como um problema de saúde mundial iniciou-se uma investigação maior, resultando que ainda há muitas oportunidades de exploração sobre o tema.

Existem ainda muitas barreiras que dificultam o estabelecimento de um tratamento para esta doença, como mais estudos com abordagens distintas da já encontradas, elucidação da fisiopatologia da doença e ensaios *in vivo*, pois são necessários testes clínicos em humanos específicos para o ZIKV para que seja

aprovada a utilização desses compostos para o tratamento da doença. Porém, a parte disso, os resultados encontrados são muito promissores, ainda que não todas as drogas avaliadas nos estudos dos artigos encontrados tenham apresentado dados satisfatórios, uma quantidade interessante de compostos, por outro lado, apresentou conclusões positivas, exibindo-se como potenciais para o desenvolvimento de terapias para a infecção de Zika vírus.

6 BIBLIOGRAFIA

ALAM, A.; IMAM, N.; FAROOQUI, A.; ALI, S.; MALIK, M. Recent trends in ZikV research: A step away from cure. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v.91, p.1152-1159, 2017.

ALBULESCU, I.C.; KOVACIKOVA, K.; TAS, A.; SNIJDER, E.J.; HEMERT, M.J.V. Suramin inhibits Zika virus replication by interfering with virus attachment and release of infectious particles. *Antiviral Research*, v.143, p.230-236, 2017.

BARBOSA-LIMA, G.; PINTO, L.S.S.; KAISER, C.R.; WARDELL, J.L.; FREITAS, C. S.; VIEIRA, Y.R.; MARTTORELLI, A.; NETO, J.C.; BOZZA, P.T.; WARDELL, S. M.S.V; SOUZA, M.V.N.; SOUZA, T.M.L. *N*-(2-(arylmethylimino)ethyl)-7-chloroquinolin-4-amine derivatives, synthesized by thermal and ultrasonic means, are endowed with anti-Zika virus activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.127, p.434-441, 2017.

BRASIL, P.; CALVET, G.A.; SIQUEIRA, A.M.; WAKIMOTO, M.; DE SEQUEIRA, P.C.; NOBRE, A.; QUINTANA, M. DE S.; MENDONÇA, M.C.; LUPI, O.; DE SOUZA R.V.; ROMERO, C.; ZOGBI, H.1; BRESSAN, C.D.A.S.; ALVES, S.S.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; NOGUEIRA, R.M.; CARVALHO, M.S.; DE FILIPPIS, A.M.; JAENISCH, T. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: clinical characterization, epidemiological and virological aspects. *Neglected Tropical Diseases*, v.10, n. p., 2016.

BULLARD-FEIBELMAN, K.M.; DIAMOND, M.S.; GEISS B.J.; GOVERO, J.; SALAZAR, V.; VESELINOVIC, M.; ZHU, Z. The FDA-approved drug sofosbuvir inhibits Zika virus infection. *Antiviral Research*, v.137, p.134-140, 2017.

CAIRNS, D.N.; BOORGU, D.S.S.K.; LEVIN, M.; KAPLAN, D.L. Niclosamide rescues microcephaly in a humanized *in vivo* model of Zika infection using human induced neural stem cells. *Biology Open*, v.7, p.1-11, 2018.

CHARLTON, R.L.; DENNY, P.W.; ROSSI-BERGAMANN, B.; STEEL, P.G. Repurposing as a strategy for the discovery of new anti-leishmanials: the-state-of-the-art. *Parasitology*, v.145, p. 219-236, 2017.

CHEMM. Chemical Hazards Emergency Medical Management. FDA PREGNANCY CATEGORIES. Disponível em: <<https://chemm.nlm.nih.gov/pregnancycategories.htm>>. Acesso em: 14/01/2018.

CHENG, F.; MURRAY, J.L.; RUBIN, D.H. Drug repurposing: New treatments for Zika virus infection? *Trends in Molecular medicine*, v.22, p.919-921, 2016.

DEVILLERS, J. Repurposing drugs for use against zika virus infection. *SAR and QSAR in Environmental Research*, v.29, p.1-13, 2018.

FANG-HOOVER, J.; HARRIS, E.; PEREIRA, L.; PETITT, M.; PUERTA-GUARDO, H.; TABATA, T. Zika Virus targets different primary human placental cells, suggesting two routes for vertical transmission. *Cell Host & Microbe*, v.10, p.155-166, 2016.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>> Acesso em: 09/04/2018.

FERREIRA, A.C.; VALLE, C.Z.; REIS, P.A.; BARBOSA-LIMA, G.; VIEIRA, Y.R.; MATTOS, M.; SILVA, P.P.; SACRAMENTO, C.; NETO, H. C.C.F.; CAMPANATI, L.; TANURI, A.; BRUNING, K.; BOZZA, F.A.; BOZZA, P.T.; SOUZA, T.M.L. Sofosbuvir protects Zika virus-infected mice from mortality, preventing short- and long-term sequela. *Scientific Reports*, v.7, p.1-29, 2017.

HO, Y.; WANG, Y.; WU, T.; LIN, L.; KUO, S.; LIN, C. Suramin inhibits Chikungunya Virus entry and transmission. *PLoS ONE*, v.10, p.1-18, 2015.

JAIN, R.; COLOMA, J.; GARCIA-SASTRE, A.; AGGARWAL, A. K. Structure of NS3 helicase from Zika virus. *Nature Structural and Molecular Biology*, v.23, p.752-754, 2016.

LEE, Y.; YUN, S. Zika virus: an emerging *flavivirus*. *Journal of Microbiology*, v.55, p.204-219, 2017.

LI, Z.; BRECHER, M.; DENG, Y.; ZHANG, J.; SAKAMURU, S.; LIU, B.; HUANG, R.; KOETZNER, C.A.; ALLEN, C. A.; JONES, S.A.; CHEN, H.; ZHANG, N.; TIAN, M.; GAO, F.; LIN, Q.; BANAVALI, N.; ZHOU, J.; BOLES, N.; XIA, M.; KRAMER, L. D.; QIN, C.; LI, H., Existing drugs as broad-spectrum and potent inhibitors for Zika virus by targeting NS2B-NS3 interaction. *Cell Research*, v.8, p.1046-1064, 2017.

LOEFFELHOLZ, M.; RELICH, R.F., Zika virus, *Clinics in Laboratory Medicine*, v.37, p.253-267, 2017.

PAHO. Organização Pan-Americana da Saúde. ZIKA-ATUALIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA-9 DE FEVEREIRO DE 2017. Disponível em: <<http://www.paho.org/bra/images/stories/SalaZika/atualizacao%20033.pdf?ua=1>>. Acesso em 30/03/2018.

PASCOALINO, B.S.; COUTERMANCHE, G.; CORDEIRO, M.T.; GIL, L.H.V.G.; FREITAS-JUNIOR, L., Zika antiviral chemotherapy: identification of drugs and promising starting points for drug Discovery from an FDA-approved library, *F1000Research*, v.5, p.1-17, 2016.

SACRAMENTO, C.Q.; MELO, G.R.; FREITAS, C.S.; ROCHA, N.; HOELZ, L.V.B.; MIRANDA, M.; FINTELMAN-RODRIGUES, N.; MARTTORELLI, A.; FERREIRA, A. C.; BARBOSA-LIMA, G.; ABRANTES, J.L.; VIEIRA, Y.R.; BASTOS, M.M.; VOLOTÃO, E.M.; NUNES, E.P.; TSCHOEKE, D.A.; LEOMIL, L.; LOIOLA, E.C.; TRINDADE, P.; REHEN, S.K.; BOZZA, F.A.; BOZZA, P.T.; BOECHAT, N.; THOMPSON, F.L.; FILIPPIS, A.M.B.; BRUNING, K.; SOUZA, T.M.L., The clinically approved antiviral drug sofosbuvir inhibits Zika virus replication, *Scientific Reports*, v.7, 2017.

SAIZ, J.; MARTIN-ACEBES, M.A., Zika virus: a race in search for antiviral, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.61, p.1-25, 2017.

SARRAZIN, S.; LAMANNA, W.C.; ESKO, J.D., Heparan Sulfate Proteoglycans, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v.3, n.p., 2011.

SHIRYAEV, S.A.; MESCI, P.; PINTO, A.; FERNANDES, I.; SHEETS, N.; SHRESTA, S.; FARHY, C.; HUANG, C.; STRONGIN, A.; MUOTRI, A.; TERSKIKH, A.V., Repurposing of the anti-malaria drug chloroquine for Zika Virus treatment and prophylaxis, *Scientific Reports*, v.7, n.p., 2017.

SIGMA-ALDRICH. Suramin sodium salt. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/s2671?lang=pt®ion=BR>> . Acesso em 14/01/2018.

SONG, B.; LEE, Y.; WOOLLEY, M.; YUN S. Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation. *Journal of Neuroimmunology*, v.308, p.50-64, 2017.

TAN, C.W.; SAM, I.; CHONG, W.L.; LEE, V.S.; CHAN, Y.F. Polysulfonate suramin inhibits Zika virus infection, *Antiviral Research*, v.143, p.186-194, 2017.

WHO. World Health Organization. ZIKA STRATEGIC RESPONSE PLAN QUARTELY UPDATE. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250626/1/WHO-ZIKV-SRF-16.4-eng.pdf?ua=1>>. Acesso em 16/12/2017.

XU, M.; LEE, M.E.; WEN, Z.; CHENG, Y.; HUANG, W.; QIAN, X.; TCW, J.; KOUZNETSOVA, J.; OGDEN, S. C.; HAMMACK, C.; JACOB, F.; NGUYEN, H. N.; ITKIN, M.; HANNA, C.; SHINN, P.; ALLEN, C.; MICHAEL, S. G.; SIMEONOV, A.; HUANG, W.; CHRISTIAN, K. M.; GOATE, A.; BRENNAND, K. J.; HUANG, R.; XIA, M.; MING, G.; ZHENG, H.; TANG, H. Identification of small-molecule inhibitors of Zika virus infection and induced neural cell death via a drug repurposing screen, *Nature Medicine*, v.22, p.1101-1109.



Data e assinatura do aluno(a)



Data e assinatura do orientador(a)