

REVISTA TÓPICOS

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ANTIVIRAIS EXPERIMENTAIS NO TRATAMENTO DA DENGUE

DOI: 10.5281/zenodo.14268098

Clayton Hugo Benini¹
Bruna Marçal Guidoti Eleutério²
Priscila Fachin Nogarini³
Rosana Matsumi Kagesawa Motta⁴

RESUMO

O vírus da dengue infecta milhões de pessoas anualmente e constitui um desafio sanitário adicional devido à circulação de quatro sorotipos, o que complica o desenvolvimento de tratamentos para essa doença. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia de antivirais experimentais no tratamento da dengue. Esta revisão de literatura foi realizada através de buscas nas bases de dados do PubMed e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), utilizando os descritores “antivirais”, “terapêutica” e “dengue” no idioma inglês e limitando-se às publicações dos últimos dez anos. A literatura demonstra que até os dias atuais, não há antivirais disponíveis comercialmente para flavivírus, deixando o tratamento de suporte como a principal opção de tratamento da dengue. Alguns estudos realizados in vitro e in vivo demonstraram resultados eficazes em relação a ação antiviral, entretanto a introdução de estudos

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

clínicos deve ser realizada para comprovação da eficácia. Concluímos, que a literatura demonstra estudos promissores no desenvolvimento de antivirais para o flavivírus, entretanto, não houve a avaliação da eficácia desses estudos em seres humanos. Espera-se que nos próximos anos ocorra o desenvolvimento de medicamentos para o tratamento da dengue.

Palavras-chave: Antivirais. Terapêutica. Dengue. Flavivírus

ABSTRACT

The dengue virus infects millions of people annually and poses an additional health challenge due to the circulation of four serotypes, complicating the development of treatments for this disease. Thus, the aim of the present study was to evaluate the efficacy of experimental antivirals in treating dengue. This literature review was conducted through searches in the PubMed and Virtual Health Library (VHL) databases, using the descriptors “antivirals,” “therapy,” and “dengue” in English, and limiting the search to publications from the last ten years. The literature demonstrates that, to date, no antivirals are commercially available for flaviviruses, leaving supportive care as the primary treatment option for dengue. Some in vitro and in vivo studies have shown effective results regarding antiviral action; however, clinical trials are necessary to confirm their efficacy. In conclusion, the literature highlights promising studies in the development of antivirals for flaviviruses; however, the efficacy of these studies in humans has not yet been evaluated. It is expected that in the coming years, medications for the treatment of dengue will be developed.

Keywords: Antivirals. Therapy. Dengue. Flavivirus.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

1 INTRODUÇÃO

A dengue é causada pelo vírus da dengue, sendo a infecção arboviral mais prevalente e importante em todo o mundo. Estima-se que anualmente ocorram cerca de 390 milhões de infecções, das quais 96 milhões se manifestam clinicamente. Dos 390 milhões de casos, quinhentos mil a um milhão das infecções são casos graves, que levam a fatalidades. A endemicidade é observada em mais de cem países, incluindo África, Mediterrâneo Oriental, Américas, Sudeste Asiático e Pacífico Ocidental. Os três últimos são os mais severamente afetados e em relação aos países, a Filipinas, Vietnã, Índia, Colômbia e Brasil foram relatados como tendo os maiores casos de infecção pelo vírus da dengue (NORSHIDAH; VIGNESH; LAI, 2021; KOK et al., 2023).

A dengue pertence ao gênero Flaviviridae, que também compreende vários outros patógenos humanos clinicamente importantes, como os vírus da zika, encefalite japonesa, febre amarela e a febre do Nilo Ocidental, entre outros (KALA; JOHN; RATHORE, 2023). Os mosquitos *Aedes* infectados pelo vírus da dengue podem causar infecção humana através de picadas. O vírus da dengue pode crescer e replicar-se numa variedade de células e órgãos, incluindo rim, fígado, baço e gânglios linfáticos, mas os seus alvos principais são células dendríticas, monócitos e macrófagos. O seu ciclo de vida consiste em vários estágios, incluindo entrada, replicação, montagem e liberação viral (LEE; WU; POH, 2023). A dengue ocorre sobretudo em zonas tropicais e subtropicais. Fatores como chuvas fortes, inundações, a alta temperatura, a urbanização e a distribuição do *Aedes aegypti*, portador

REVISTA TÓPICOS

do vírus influenciam fortemente a sua variação espacial local na transmissão. A infecção com qualquer sorotipo resulta em doença assintomática ou causar um amplo espectro de infecções que vão desde febre ligeira a febre hemorrágica grave da dengue e síndrome do choque da dengue (SCD) (HASSAN et al, 2021).

O maior desafio no desenvolvimento de medicamentos antivirais eficazes é a capacidade dos vírus se multiplicarem nas células hospedeiras, libertando o seu próprio DNA ou RNA. No caso de infecção viral, o sistema imunológico do hospedeiro fica gravemente comprometido e a recaída é comum. Além disso, devido às complexidades associadas ao vírus, o tratamento é principalmente sintomático e a erradicação completa do vírus é improvável. Diferenciar e diagnosticar o tipo exato de doença viral é muito desafiador. Às vezes, os anticorpos virais presentes no hospedeiro podem ser ativados devido à exposição anterior, dificultando a detecção de infecções incidentais (CHAKRAVARTY, VORA, 2020).

Devido à falta de medicamentos antivirais e vacinas eficazes, várias estratégias terapêuticas e de controle foram propostas. Com isso, o objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia de antivirais experimentais no tratamento da dengue.

2 METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de uma revisão de literatura sobre a eficácia de antivirais experimentais no tratamento contra a dengue. Para a sua elaboração, foram realizadas buscas nas bases de dados do

REVISTA TÓPICOS

Pubmed/Medline e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). A estratégia desenvolvida para identificar os artigos incluídos e avaliados baseou-se nos descritores “antivirais” “terapêutica” e “dengue” contidos na lista dos Descritores em Ciência da Saúde (DeCS) no idioma inglês, utilizando o operador booleano “AND”, resultando em achados bibliográficos diretos e indiretos acerca do tema abordado.

Como critério de inclusão, foram utilizados artigos publicados nos últimos dez anos, que estivessem disponíveis de forma completa na íntegra, no idioma inglês, que descrevessem de forma clara a metodologia utilizada, dos quais deveriam conter informações que respondessem à seguinte pergunta "Qual a eficácia dos antivirais experimentais no tratamento da dengue?". Os critérios de exclusão foram artigos que não estivessem no dentro da margem de tempo e idioma requeridos ou que fugissem do tema abordado nesse estudo. Após a leitura dos títulos e resumos, foram selecionados 54 artigos para a elaboração dessa revisão de literatura.

3 DESENVOLVIMENTO

Normalmente, a dengue se resolve sozinha, e na maioria das vezes apenas a reposição de fluidos, analgésicos como tratamento de suporte e repouso na cama é suficiente. O desenvolvimento de produtos contra a infecção da dengue tem sido dificultado pelas complexidades das interações vírus-hospedeiro. Não há nenhum medicamento conhecido que possa ser usado para tratar esta condição, no entanto, a febre pode ser tratada com paracetamol e nos casos de dengue grave é necessário o manejo cuidadoso (DALUGAMA, 2022). Para considerações de manejo flexíveis e cuidados

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

proativos de sangramento, a metilprednisolona foi demonstrada em dose única, mas não é recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), devido aos fatores de risco para o desenvolvimento de imunossupressão, hiperglicemia e sangramento gastrointestinal (BANDARA.; HERATH, 2018; MUHAMMAD BILAL, et al., 2023).

Ainda existe uma falta de medicamentos antivirais específicos para o vírus da dengue no status atual. Em alguns países os produtos naturais à base de ervas são usados para tratamentos de dengue. Alguns medicamentos naturais têm propriedades antivirais, larvicidas e mosquitocidas, bem como a capacidade de repelir mosquitos, o que os torna ativos contra *Aedes aegypti*, como a *Eupatorium perfoliatum*, frequentemente conhecido como boneset, é uma planta amplamente acessível que é crucial no tratamento da dengue, sendo que a melhor maneira de a consumir é como chá. A *Boesenbergia rotunda* (Temu kunci) possui raízes que são frequentemente moídas em uma pasta que é aplicada topicamente. Desconforto muscular e náusea, que são muito angustiantes para aqueles que têm essa doença, são diminuídos pelo uso da erva. *Kaempferia parviflora*, onde as folhas e o caule são usados como cura de vírus à base de ervas. Com a *Carica papaya* é feito um suco das folhas para aumentar os níveis de plaquetas. A *Solanum villosum* possui um extrato de baga, possui atividade larvicida. O extrato da casca do broto da *Combretum collinum* possui ação larvicida. Os extratos de folhas e sementes de *Delonix elata* exercem atividades larvicidas e ovicidas contra *Aedes aegypti* e *Anopheles stephensi* (CHOUDHARY, et al., 2022; MUHAMMAD BILAL, et al., 2023).

REVISTA TÓPICOS

Na ausência de tratamentos antivirais eficazes para a dengue, a terapia de reposição volêmica rápida e de suporte, especialmente em pacientes com dengue grave, é fundamental para prevenir doenças graves e até mesmo a morte. Vacinas e medicamentos antivirais são os dois principais métodos de controle de doenças virais (CHAKRAVARTY, VORA, 2020). O desenvolvimento de vacinas contra o vírus da dengue tem sido dificultado pela complexidade dos quatro sorotipos e pelo papel potencial do aumento dependente de anticorpos na dengue grave. Os flavivírus possuem certos antígenos que medeiam a fixação do complemento. Após a identificação destas proteínas em flavivírus, a proteína do envelope e a proteína não-estrutural 1 fixadora do complemento foram descritas como envolvidas na neutralização. A proteína E media o primeiro estágio da infecção, a fixação e internalização da partícula viral, a proteína E é tipicamente tratada como as estratégias primárias contra a infecção por Flavivirus, incluindo a dengue. Embora a proteína E possa ser uma boa candidata para a criação de vacinas, um efeito colateral grave causado por imunoglobulinas não específicas interagindo com a proteína e causando ampliação dependente de anticorpos foi demonstrado e algumas estratégias alternativas foram desenvolvidas (WANG W. et al., 2021; WILDER-SMITH, 2022).

O desenvolvimento de produtos contra a infecção pelo vírus da dengue tem sido dificultado pelas complexidades das interações vírus-hospedeiro. Novas estratégias para o desenvolvimento de vacinas foram propostas utilizando diferentes antígenos virais ou candidatos virais recombinantes para induzir respostas imunes, visando principalmente proteínas NS1, pré-membrana e envelope. As vacinas direcionadas à proteína E incluem

REVISTA TÓPICOS

vacinas vivas atenuadas (CYD-TDV), vacinas de subunidades (V180, cED III), vacinas inativadas (PIV), vacinas de DNA (TV DV) e vacinas de vetor viral (CA dVax-Den). Todas estas ainda estão sendo estudados e avaliados em ensaios clínicos. As vacinas atualmente disponíveis comercialmente, Dengvaxia® (Sanofi-Pasteur) e Qdenga® (Takeda Pharma), não fornecem proteção equilibrada contra todos os quatro sorotipos de dengue (RIVERA et al., 2021), e Dengvaxia® é recomendada apenas para pacientes com dengue anterior devido ao risco de induzir realce dependente de anticorpos, onde a infecção anterior com um sorotipo da dengue heterotípico produz anticorpos subneutralizantes que podem reconhecer um novo sorotipo do vírus da dengue (HALSTEAD, 2017) e em vez de neutralizar o vírus, eles facilitam a infecção de monócitos, levando a uma infecção aumentada e a uma probabilidade elevada de desenvolver doença grave (BIFANI et al. 2023). Sendo assim, a vacina é indicada apenas para indivíduos com infecção prévia por dengue confirmada laboratorialmente.

Uma forma de complementar os esforços de vacinação é apoiar o desenvolvimento de novos medicamentos antivirais para prevenção e tratamento de flavivírus. Os flavivírus compartilham características físicas e genômicas comuns, como partículas virais tipicamente em torno de 50 nm de diâmetro consistindo em um envelope de bicamada lipídica derivado do hospedeiro e um genoma de RNA de fita simples de sentido positiva que codifica uma poliproteína flanqueada por regiões não traduzidas 5' e 3' do RNA. Uma vez traduzido o genoma, a poliproteína é clivada por proteases virais e do hospedeiro para produzir dez proteínas. As partículas virais são compostas por três proteínas estruturais: capsídeo, membrana precursora e

REVISTA TÓPICOS

envelope, e sete proteínas não estruturais (NS) (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) (BIFANI et al. 2023).

A descoberta de medicamentos para flavivírus pode ser realizada usando uma classe de compostos chamados antivirais de ação direta (AADs), que funcionam visando o vírus (TROOST; SMIT, 2020). O risco de efeitos fora do alvo e eventos adversos durante a terapia medicamentosa com AAD é diminuído, pois as pequenas moléculas não têm como alvo o hospedeiro. Entretanto, atingir o vírus diretamente pode rapidamente promover a resistência antiviral. O ideal seria a resistência ser contornada usando uma combinação de AADs congruentemente, pois mutações simultâneas resistentes a múltiplos compostos têm menos probabilidade de surgir (BIFANI et al. 2023). Os AADs são frequentemente descobertos em triagens baseadas em alvos, incluindo ensaios bioquímicos, biofísicos ou in silico. No caso dos flavivírus, a maioria dessas campanhas de triagem de AADs é focada nas proteínas virais com atividades enzimáticas conhecidas, como a protease NS2B-NS3 e a RNA-polimerase dependente de RNA proteína não estrutural 5. Esses ensaios se concentram em enzimas virais em um sistema isolado e por isso os AADs principais geralmente lutam com a permeabilidade celular e exigem otimização para aumentar a eficácia in vitro e in vivo. Alternativamente, ensaios baseados em células que envolvem bibliotecas de triagem de compostos que inibem a infecção viral ou a replicação dentro de uma célula hospedeira pode ser empregados, mas como há vários outros fatores do hospedeiro presentes do que proteínas virais, a probabilidade de tropeçar em um antiviral direcionado ao hospedeiro é maior do que em um AAD. No entanto, inibidores potentes

REVISTA TÓPICOS

do pan-sorotipo NS4B do vírus da dengue, JNJ-A07 (KAPTEIN et al., 2021) e NITD-688 (MOQUIN et al., 2021) foram descobertos por meio de triagens baseadas em células. Finalmente, a reutilização de AADs clinicamente aprovados existentes é uma abordagem alternativa que reduz o número de etapas necessárias para transformar um candidato a medicamento em um tratamento comercialmente disponível para flavivírus (BIFANI et al. 2023). A entrada viral pode ser inibida ao direcionar as proteínas estruturais capsídeo, membrana precursora e envelope. Até o presente momento, descobriu-se que um número limitado de AADs exerce atividade antiviral contra a proteína C. O VGTI-A3-03 interage com a proteína C e é incorporado ao vírion da dengue, diminuindo significativamente a infectividade das partículas virais secretadas (SMITH et al., 2018).

A grande maioria dos antivirais que têm como alvo as proteínas estruturais do flavivírus concentra-se na proteína E. Foi descoberto que o estolato de eritromicina inibe o zika vírus ao interromper a integridade da proteína E de maneira dose-dependente in vitro e foi eficaz na proteção de um modelo de camundongo in vivo contra infecção letal (WANG et al., 2019). Além disso, o JBJ-01-162-04 inibe a fusão de membrana mediada por E com um valor de IC50 de 1,4 μ M e diminui a carga do vírus da zika em camundongos (LI et al., 2019). O composto BP34610 inibiu todos os quatro sorotipos de vírus da dengue e vírus da encefalite japonesa in vitro por meio de sua interação com um resíduo na haste N-terminal da proteína E (YANG et al., 2019), enquanto o composto 3-110-22 foi descoberto como tendo como alvo um bolso dentro da proteína E necessário para a fusão em

REVISTA TÓPICOS

múltiplos flavivírus, o vírus da encefalite japonesa e o zika vírus (WISPELAERE et al., 2018). Entretanto, é importante notar que os vírions de flavivírus existem como uma mistura de partículas imaturas e maduras, onde a porção pr do prM é clivada no último, levando a uma formação de vírions maduros mais compactos. Essas diferentes conformações podem impactar a eficácia dos antivirais de flavivírus que têm como alvo a proteína E, conforme demonstrado pelo inibidor de vírus da encefalite transmitida por carrapatos, ésteres adamantis metílicos do ácido 5-aminoisoxazol-3-carboxílico, que reduzir a eficácia antiviral contra partículas imaturas (TUCHYNSKAYA et al., 2021).

O desenvolvimento anterior do AAD de flavivírus se concentrou em proteínas com atividade enzimática (BIFANI et al. 2023). Vários medicamentos que visam proteínas não enzimáticas, interação proteína-proteína do vírus e interações proteína-RNA do vírus aumentaram em popularidade recentemente (MOQUIN et al., 2021; SWARBRICK et al., 2021). Uma proteína não estrutural que atraiu muito interesse é a NS1, ela foi implicada na replicação do vírus, montagem do vírion, mediação de interações vírus-hospedeiro e patogênese da doença (CHOY et al., 2020). O NS1 foi proposto como um alvo adequado para a descoberta de medicamentos antivirais (DE SILVA et al., 2018), pois estudos mostraram que anticorpos monoclonais direcionados à proteína NS1 oferecem proteção contra a infecção por zika (BIERING et al., 2021; MODHIRAN et al., 2021). A desoxicalixina-A foi identificada com base em uma triagem de encaixe molecular in silico como um candidato potencial para atingir o

REVISTA TÓPICOS

NS1 do vírus da dengue (RAZA et al., 2020), embora estudos adicionais sejam necessários para confirmar sua eficácia.

A função de outras proteínas não estruturais não enzimáticas, NS2A e NS4A, permanece mais elusiva. Embora nenhum AAD direcionado a NS2A tenha sido publicado nos últimos anos, foi demonstrado que NS2A média a montagem do vírion da dengue e da zika (XIE et al., 2019; ZHANG et al., 2019), sugerindo que seria um alvo interessante para a descoberta de medicamentos. Em contraste, duas pequenas moléculas direcionadas a NS4A estão sendo exploradas (RIVA et al., 2021), incluindo o composto-B, que demonstrou ser ativo in vitro contra todos os quatro sorotipos da dengue. Mutantes de escape localizados no NS4A, sugerindo que o composto-B interage com o NS4A (NOBORI et al., 2018). O composto SBI0090799 inibe a replicação do vírus da zika interagindo com o NS4A e prevenindo o envolvimento do NS4A na formação do complexo de replicação no retículo endoplasmático (RIVA et al., 2021).

Enquanto isso, várias moléculas pequenas que têm como alvo NS4B foram identificadas, particularmente aquelas com atividade antidengue. NS4B é frequentemente identificado como o alvo em triagens fenotípicas baseadas em células, no entanto, o papel exato de NS4B permanece obscuro. NS4B está envolvido na replicação e pode funcionar para amortecer a resposta antiviral do hospedeiro (WANG X. et al., 2021). Foi descoberto que o composto JNJ-1A tem atividade pan-dengue na faixa micromolar em uma triagem de pequenas moléculas previamente projetadas para atingir o vírus da hepatite C (HERNANDEZ-MORALES et al., 2017). Com base em

REVISTA TÓPICOS

experimentos de resistência *in vitro*, o mecanismo de ação aponta para NS4B. Notavelmente, JNJ-A07, tem como alvo NS4B ao prevenir a interação com NS3, foi eficaz contra uma coleção de cepas de dengue representando todos os quatro sorotipos *in vitro* (KAPTEIN et al., 2021). JNJ-1802, um composto do mesmo espaço químico que JNJ-A07, avançou para ensaios clínicos. Além disso, o inibidor NS4B pan-dengue, NITD-688, não apenas reduziu a viremia em camundongos, mas também foi bem tolerado em ratos e cães em termos de toxicidade e biodisponibilidade, destacando o potencial do NITD-688 como um candidato clínico (MOQUIN et al., 2021). Além disso, a pequena molécula JMX0254 inibiu a replicação do vírus da dengue sorotipos 1-3 *in vitro* (EC 50 0,035–0,78 μ M) e reduziu a carga viral em um modelo de camundongo *in vivo*. Foi descoberto que JMX0254 interagiu com NS4B com base em mutantes de escape, bem como em experimentos de pull-down (XU et al., 2019). Além disso, descobriu-se que o composto tinha como alvo o NS4B do vírus da febre amarela, inibindo a formação do complexo de replicação e expondo o RNA viral ao sistema imunológico do hospedeiro, desencadeando uma resposta imune inata robusta que atenua a infecção pelo vírus da febre amarela *in vitro* e *in vivo*. Essa estratégia de supressão do vírus da febre amarela por meio da cooperação com o sistema imunológico do hospedeiro é interessante, pois a dosagem do medicamento administrado pode ser potencialmente menor em comparação a se o mecanismo de inibição viral dependesse inteiramente da atividade de um composto (GAO et al., 2022).

A maioria das pesquisas sobre flavivírus AAD se concentrou em proteínas virais com função enzimática, como a proteína NS3 e seu cofator NS2B. A

REVISTA TÓPICOS

proteína NS3 tem dois domínios enzimáticos; o domínio helicase/ATPase responsável por desenrolar o RNA, e o domínio protease que, em conjunto com NS2B como um cofator, opera como uma protease para clivar a poliproteína do flavivírus em unidades funcionais discretas (BIFANI et al. 2023). Uma infinidade de inibidores de NS2B-NS3 foi apresentada no desenvolvimento de medicamentos para flavivírus, alguns até mesmo com atividade pan-flavivírus (LI et al., 2018; BIFANI et al. 2023). No entanto, nenhum progrediu por meio de ensaios clínicos. Notavelmente, a temoporfina demonstrou ter atividade pan-flavivírus in vitro e mitigar a infecção no modelo de camundongo. Mecanicamente, o encaixe molecular insinua que a temoporfina se ancora em um bolso na proteína NS3, bloqueando sua interação com NS2B (LI et al., 2017). O composto SYC-1307 inibiu alostericamente vários flavivírus (YAO et al., 2019). No entanto, a colocação do composto no sítio alostérico na estrutura cristalina relatada foi questionada (BEHNAM; KLEIN, 2020). Curiosamente, descobriu-se que o bortezomibe inibiu indiretamente a infecção por zika vírus e dengue aumentando a ubiquitinação e a degradação de NS3 (CI et al., 2022).

A proteína não-estrutural 5 a maior proteína do flavivírus, abriga a RNA-polimerase dependente de RNA (RdRp) responsável pela replicação do genoma, bem como uma metiltransferase (MTase) que adiciona o 5'cap ao RNA nascente. A proteína não-estrutural 5 tem uma longa história como alvo antiviral do flavivírus devido às suas funções enzimáticas duplas. Os compostos que têm como alvo a proteína não-estrutural 5 podem ser classificados como inibidores da MTase, inibidores de análogos de

REVISTA TÓPICOS

nucleosídeos da polimerase e inibidores de análogos não nucleosídeos (BIFANI et al. 2023). Numerosos análogos de nucleosídeos foram identificados a partir de triagens ou reaproveitados de trabalhos publicados anteriormente e demonstraram atividade antiviral in vitro, bem como in vivo contra múltiplos flavivírus (DRAGONI et al., 2020; STEFANIK et al., 2020). De fato, dois análogos de adenosina originalmente destinados ao tratamento da hepatite C, Galidesivir e Balapiravir, foram usados em ensaios clínicos de Fase I contra a febre amarela e a dengue, respectivamente. Infelizmente, o balapiravir falhou em tratar a dengue em humanos devido ao processamento inadequado do pró-fármaco para sua forma ativa em células sanguíneas periféricas infectadas pelo vírus da dengue. Um análogo de nucleosídeo de guanosina, AT-752, demonstrou reduzir a carga viral da febre amarela em hamsters infectados (LIN et al., 2022) e do vírus da dengue sorotipo 2 em camundongos (GOOD et al., 2021).

Em comparação com os inibidores de nucleosídeos, menos inibidores não nucleosídeos de proteína não-estrutural 5 foram identificados nos últimos anos. Vale ressaltar que NITD-434 e NITD-640 têm como alvo o túnel de RNA da polimerase proteína não-estrutural 5 e têm atividade pan-flavivírus com valores de IC₅₀ na faixa de 6–17 µM e 0,9–13 µM, respectivamente (ARORA et al., 2020). Efavirenz, que é originalmente usado para o tratamento do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), foi identificado em uma triagem in silico baseada em alvo e posteriormente validado in vitro para ter eficácia contra zika vírus, vírus da encefalite transmitida por carrapatos e o vírus do Nilo Ocidental embora com valores elevados de EC

REVISTA TÓPICOS

50 na faixa de 15,87–30,71 μM (STEFANIK et al., 2020). Trabalhos anteriores identificaram o NITD-29, um inibidor alostérico de NS5 de vírus da dengue pan-sorotipo com valores de IC 50 variando de 0,048 a 0,17 μM que dificultou a replicação de RNA de novo ao se ligar ao bolso N do NS5 (BIFANI et al. 2023).

A proteína não-estrutural 5 MTase também tem sido um alvo para o desenvolvimento de inibidores anti-flavivírus. Mais recentemente, um inibidor do zika vírus MTase com um valor de EC 50 de 8,19 μM foi identificado em uma triagem baseada em alvo contra o NS5 usando uma biblioteca de produtos naturais (SONG et al., 2021). De fato, as triagens in silico cresceram em popularidade com alguns candidatos anti-MTase potencialmente promissores (PATTNAIK et al., 2018).

Os alvos virais se concentram em porções específicas do proteoma viral. No entanto, proteínas virais e RNA viral interagem extensivamente entre si durante a replicação, insinuando que direcionar essas interações também pode servir como alvos antivirais promissores. A interação entre NS2B-NS3 foi explorada extensivamente como um alvo antiviral. Direcionar novas interações proteína-proteína do vírus pode ser outra abordagem promissora. Nesse contexto, descobriu-se que um derivado de piridobenzotiazolonas inibe a replicação viral ao bloquear a interação de NS3-NS5 durante a síntese de RNA (CANNALIRE et al., 2020). Além disso, a demonstração recente da interação específica entre o loop 3'stem do RNA e NS5 que é crítica para o início independente do primer da replicação do flavivírus (WANG S. et al., 2021) abriu um novo caminho na

REVISTA TÓPICOS

estratégia antiviral. De fato, a introdução de fragmentos variáveis de cadeia única que reagem com resíduos-chave no NS5, dificultando assim a ligação do RNA viral ao NS5, demonstrou ser eficaz na diminuição da replicação viral (TUNGHIRUN et al., 2020), destacando as interações RNA-proteína viral como um potencial alvo antiviral.

Como a maioria das pesquisas biomédicas, a descoberta de medicamentos contra flavivírus enfrenta a possibilidade de que os dados *in vitro* nem sempre se transponham à eficácia clínica. Um desenvolvimento interessante no campo da biologia da dengue é a introdução de estudos de desafio humano, nos quais cepas atenuadas do vírus da dengue são administradas a voluntários humanos. Esta abordagem fornece uma nova forma promissora de avaliar a eficácia e segurança de medicamentos antivirais contra os flavivírus humanos. Até o momento, um vírus da dengue sorotipo 1 atenuado entrou em ensaios clínicos, produziu viremia na grande maioria dos indivíduos e foi bem tolerado, sem eventos adversos ou preocupações de segurança a longo prazo (ENDY et al., 2021), que foi expandido para outro ensaio clínico alternativo, conduzido para caracterizar a resposta inicial do hospedeiro à infecção pelo vírus da dengue, que revelou expressão temporal diferencial do genoma e imunidade humoral associada a diferentes estágios da infecção (WAICKMAN et al., 2022). Estes dados refletem a realidade desafiadora por trás do desenvolvimento de antivirais para a dengue.

4 CONCLUSÃO

REVISTA TÓPICOS

Diante do que foi exposto, concluímos que não foi possível avaliar a eficácia dos antivirais experimentais em seres humanos, embora diversos estudos *in vitro* e *in vivo* tenham demonstraram resultados significativos. Com o surgimento de novas ferramentas, a compreensão da estrutura e biologia dos flavivírus se expandiu muito e essa nova percepção abre caminho para avanços empolgantes e promissores no desenvolvimento de antivirais eficientes para a dengue nos próximos anos. A expansão das ferramentas disponíveis para combater esse grupo de vírus se mostra de grande importância, já que os flavivírus continuarão a ter um forte impacto na saúde global.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARORA, R. et al. Two RNA Tunnel Inhibitors Bind in Highly Conserved Sites in Dengue Virus NS5 Polymerase: Structural and Functional Studies. *Journal of Virology*, v. 94, n. 24, 9 set. 2020.

BANDARA, S. M. R.; HERATH, H. M. M. T. B. Effectiveness of corticosteroid in the treatment of dengue – A systemic review. *Heliyon*, v. 4, n. 9, p. e00816, set. 2018.

BAILEY, M. J. et al. Human antibodies targeting Zika virus NS1 provide protection against disease in a mouse model. *Nature communications*, v. 9, n. 1, p. 4560, 2018.

BEHNAM, M. A. M.; KLEIN, C. D. P. Conformational selection in the flaviviral NS2B-NS3 protease. *Biochimie*, v. 174, p. 117–125, jul. 2020.

REVISTA TÓPICOS

BIERING, S. B. et al. Structural basis for antibody inhibition of flavivirus NS1-triggered endothelial dysfunction. *Science*, v. 371, n. 6525, p. 194–200, 8 jan. 2021.

BIFANI, A. M. et al. Therapeutics for flaviviral infections. *Antiviral Research*, v. 210, p. 105517, 1 fev. 2023.

CANNALIRE, R. et al. Pyridobenzothiazolones Exert Potent Anti-Dengue Activity by Hampering Multiple Functions of NS5 Polymerase. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, v. 11, n. 5, p. 773–782, 19 mar. 2020.

CI, Y. et al. Bortezomib inhibits ZIKV/DENV by interfering with viral polyprotein cleavage via the ERAD pathway. *Cell Chemical Biology*, nov. 2022.

CHAKRAVARTY, M.; VORA, A. Nanotechnology-based antiviral therapeutics. *Drug Delivery and Translational Research*, v 31, n 5, p. 7-19, 3 ago. 2020.

CHOUDHARY, N. L. et al. Dengue and natural remedies for its prevention and control: A review. *International Journal of Mosquito Research*, v. 9, n. 6, p. 107–115, 1 nov. 2022.

CHOY, M. M. et al. A Non-structural 1 Protein G53D Substitution Attenuates a Clinically Tested Live Dengue Vaccine. *Cell Reports*, v. 31, n. 6, p. 107617–107617, 12 maio 2020.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

DE SILVA, A. M. et al. Viral Entry and NS1 as Potential Antiviral Drug Targets. *Advances in experimental medicine and biology*, v. 1062, p. 107–113, 2018.

DRAGONI, F. et al. Evaluation of sofosbuvir activity and resistance profile against West Nile virus in vitro. *Antiviral Research*, v. 175, p. 104708, mar. 2020.

ENDY, T. P. et al. A Phase 1, Open-Label Assessment of a Dengue Virus-1 Live Virus Human Challenge Strain. *The Journal of infectious diseases*, v. 223, n. 2, p. 258–267, mar. 2021.

GAO, Z. et al. A yellow fever virus NS4B inhibitor not only suppresses viral replication, but also enhances the virus activation of RIG-I-like receptor-mediated innate immune response. *PLoS Pathogens*, v. 18, n. 1, p. e1010271, 21 jan. 2022.

GOOD, S. S. et al. Evaluation of AT-752, a Double Prodrug of a Guanosine Nucleotide Analog with In Vitro and In Vivo Activity against Dengue and Other Flaviviruses. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 65, n. 11, p. e0098821, 2021.

HALSTEAD, S. B. Dengvaxia sensitizes seronegatives to vaccine enhanced disease regardless of age. *Vaccine*, v. 35, n. 47, p. 6355–6358, nov. 2017.

HASSAN, M. et al. Dengue Vaccines: Ongoing Challenges and Current Status in the Advancement of Different Candidates. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, v. 31, n. 5, p. 7–19, 2021.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

HERNANDEZ-MORALES, I et al. Characterization of a dengue NS4B inhibitor originating from an HCV small molecule library. *Antiviral Research*, v. 147, p. 149–158, 1 nov. 2017.

KALA M. P.; JOHN, A. L. ST; RATHORE, S. Dengue: Update on Clinically Relevant Therapeutic Strategies and Vaccines. *Dengue: Update on Clinically Relevant Therapeutic Strategies and Vaccines*, v. 15, n. 2, p. 27–52, 18 abr. 2023.

KAPTEIN, S. J. F. et al. A pan-serotype dengue virus inhibitor targeting the NS3–NS4B interaction. *Nature*, v. 598, n. 7881, p. 504–509, 1 out. 2021.

KOK, B. H. et al. Dengue virus infection – a review of pathogenesis, vaccines, diagnosis and therapy. *Virus Research*, v. 324, n. 324, p. 199018, jan. 2023.

KULARATNE, S. A.; DALUGAMA, C. Dengue infection: Global importance, immunopathology and management. *Clinical Medicine*, v. 22, n. 1, p. 9–13, jan. 2022.

LEE, M F; WU, Y. S.; POH, C. L. Molecular Mechanisms of Antiviral Agents against Dengue Virus. *Viruses*, v. 15, n. 3, p. 705–705, 8 mar. 2023.

LI, P. C. et al. Small Molecules Targeting the Flavivirus E Protein with Broad-Spectrum Activity and Antiviral Efficacy in Vivo. *ACS Infectious Diseases*, v. 5, n. 3, p. 460–472, 4 jan. 2019.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

LIM , S. P. et al. Potent Allosteric Dengue Virus NS5 Polymerase Inhibitors: Mechanism of Action and Resistance Profiling. *PLOS Pathogens*, v. 12, n. 8, p. e1005737–e1005737, 8 ago. 2016.

MALIK, S. et al. Tracing down the Updates on Dengue Virus—Molecular Biology, Antivirals, and Vaccine Strategies. *Vaccines*, v. 11, n. 8, p. 1328, 1 ago. 2023.

MODHIRAN, N. et al. A broadly protective antibody that targets the flavivirus NS1 protein. *Science*, v. 371, n. 6525, p. 190–194, 8 jan. 2021.

MOQUIN, S. A. et al. NITD-688, a pan-serotype inhibitor of the dengue virus NS4B protein, shows favorable pharmacokinetics and efficacy in preclinical animal models. *Science Translational Medicine*, v. 13, n. 579, 3 fev. 2021.

MUHAMMAD BILAL, K. et al. Dengue Overview: An Updated Systemic Review. *Journal of Infection and Public Health*, v. 16, n. 10, 1 ago. 2023.

NOBORI, H. et al. Identification of Compound-B, a novel anti-dengue virus agent targeting the non-structural protein 4A. *Antiviral Res.* v. 155, p. 60–66, 1 jul. 2018.

NORSHIDAH, H.; VIGNESH, R.; LAI, N. S. Updates on Dengue Vaccine and Antiviral: Where Are We Heading? *Molecules*, v. 26, n. 22, p. 6768, 9 nov. 2021.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

PATTNAIK, A. et al. Discovery of a non-nucleoside RNA polymerase inhibitor for blocking Zika virus replication through in silico screening. *Antiviral Research*, v. 151, p. 78–86, mar. 2018.

RAZA, S.; ABBAS, G.; SYED SIKANDER AZAM. Screening Pipeline for Flavivirus Based Inhibitors for Zika Virus NS1. *ACM Trans Comput Biol Bioinform.* v. 17, n. 5, p. 1751–1761, 1 set. 2020.

RIVA, L. et al. The Compound SBI-0090799 Inhibits Zika Virus Infection by Blocking De Novo Formation of the Membranous Replication Compartment. *Journal of Virology*, v. 95, n. 22, 27 out. 2021.

RIVERA, L. et al. Three-year Efficacy and Safety of Takeda's Dengue Vaccine Candidate (TAK-003). *Clinical Infectious Diseases*, v. 75, n. 1, p. 107–117, 4 out. 2021.

SMITH, J. L. et al. Characterization and structure-activity relationship analysis of a class of antiviral compounds that directly bind dengue virus capsid protein and are incorporated into virions. *Antiviral Research*, v. 155, p. 12–19, 1 jul. 2018.

SONG, W. et al. Identification and Characterization of Zika Virus NS5 Methyltransferase Inhibitors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 11, 7 abr. 2021.

STEFANIK, M. et al. FDA-Approved Drugs Efavirenz, Tipranavir, and Dasabuvir Inhibit Replication of Multiple Flaviviruses in Vero Cells. *Microorganisms*, v. 8, n. 4, p. 599, 20 abr. 2020.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

SWARBRICK, C. et al. Amidoxime prodrugs convert to potent cell-active multimodal inhibitors of the dengue virus protease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 224, p. 113695, 15 nov. 2021.

TROOST, B.; SMIT, J. M. Recent advances in antiviral drug development towards dengue virus. *Current Opinion in Virology*, v. 43, p. 9–21, ago. 2020.

TUCHYNSKAYA, K. K. et al. Effect of immature tick-borne encephalitis virus particles on antiviral activity of 5-aminoisoxazole-3-carboxylic acid adamantylmethyl esters. *The Journal of general virology*, v. 102, n. 9, p. 10.1099/jgv.0.001658, set. 2021.

TUNGHIRUN, C. et al. Interference of dengue replication by blocking the access of 3' SL RNA to the viral RNA-dependent RNA polymerase. *Antiviral Research*, p. 104921, ago. 2020.

WAICKMAN, A. T. et al. Evolution of inflammation and immunity in a dengue virus 1 human infection model. *Science Translational Medicine*, v. 14, n. 668, 26 out. 2022.

WANG, S. et al. A conserved arginine in NS5 binds genomic 3' stem-loop RNA for primer-independent initiation of flavivirus RNA replication. *RNA*, v. 28, n. 2, p. 177–193, 10 nov. 2021.

WANG, W. H. et al. Targets and strategies for vaccine development against dengue viruses. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 144, p. 112304, dez. 2021.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

WANG, X. et al. Erythromycin Estolate Inhibits Zika Virus Infection by Blocking Viral Entry as a Viral Inactivator. *Viruses*, v. 11, n. 11, p. 1064, 15 nov. 2019.

WILDER-SMITH, A. Dengue vaccine development: challenges and prospects. *Current Opinion in Infectious Diseases*, v. 35, n. 5, p. 390–396, out. 2022.

WISPELAERE M. et al. Inhibition of Flaviviruses by Targeting a Conserved Pocket on the Viral Envelope Protein. *Cell Chem Biol.* v. 25, n. 8, p. 1006-1016.e8, 16 ago. 2018.

XIE, X. et al. Dengue NS2A Protein Orchestrates Virus Assembly. *Cell Host & Microbe*, v. 26, n. 5, p. 606-622.e8, nov. 2019.

XU, J. et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Substituted 4,6-Dihydrospiro[[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridine-7,3'-indoline]-2',5(3H)-dione Analogues as Potent NS4B Inhibitors for the Treatment of Dengue Virus Infection. *Journal of medicinal chemistry*, v. 62, n. 17, p. 7941–7960, dez. 2019.

YANG, C.-C. et al. A novel flavivirus entry inhibitor, BP34610, discovered through high-throughput screening with dengue reporter viruses. *Antiviral Research*, v. 172, p. 104636, dez. 2019.

YAO, Y. et al. Discovery, X-ray Crystallography and Antiviral Activity of Allosteric Inhibitors of Flavivirus NS2B-NS3 Protease. *Journal of the American Chemical Society*, v. 141, n. 17, p. 6832–6836, 23 abr. 2019.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

ZHANG, X. et al. Zika Virus NS2A-Mediated Virion Assembly. *mBio*, v. 10, n. 5, p. e02375-19, 29 out. 2019.

¹ Discente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis, SP. e-mail: hugobenini10@hotmail.com

² Docente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis, SP. Mestrando em em Ciências Ambientais (UB). e-mail: bruna.eleuterio@ub.edu.br

³ Docente do Curso de Farmácia da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis, SP. Mestranda em Ciências Ambientais (UB). e-mail: pnogarini@hotmail.com

⁴ Docente do Curso de Farmácia da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis, SP. Mestre em Ciências Ambientais (UB). rosana.k.motta@hotmail.com