

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo
desta dissertação será
disponibilizado somente
a partir de 05/03/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

Suely da Silva

**Atividade antiviral de compostos naturais e sintéticos na
replicação do ZIKV *in vitro*.**

São José do Rio Preto

2018

Suely da Silva

**Atividade antiviral de compostos naturais e sintéticos na
replicação do ZIKV *in vitro*.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.
Financiadora: CAPES

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Ana Carolina
Gomes Jardim

Coorientadoras: Prof.^a Dr.^a. Cintia Bittar
Prof.^a. Dr.^a. Paula Rahal

São José do Rio Preto

2018

Silva, Suely da.

Atividade antiviral de compostos naturais e sintéticos na replicação do ZIKV *in vitro* / Suely da Silva. -- São José do Rio Preto, 2018
121 f. : il.

Orientador: Ana Carolina Gomes Jardim

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Microbiologia. 2. Agentes virais. 3. Vírus. 4. Virologia. 5. Vírus Zika. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 576.858

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Campus de São José do Rio Preto

Suely da Silva

**Atividade antiviral de compostos naturais e sintéticos na
replicação do ZIKV *in vitro*.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.
Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof.^a Dr.^a. Cíntia Bittar Oliva
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Coorientadora

Dr.^a. Ana Cláudia Silva Braga
Inpreha Biotecnologia- Jaboticabal/SP

Dr. Ricardo Barros Mariutti
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
05 de Março de 2018

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus avós maternos e à minha mãe. Obrigada pelo incentivo, apoio e preces a mim direcionadas. Obrigada por acreditar em meu potencial e estarem felizes por eu ter chegado até aqui.

Agradecimentos

A Deus, força que me guia e me faz viver, por todas as experiências que têm me permitido vivenciar até aqui. Por ser meu amigo e andar ao meu lado nesta jornada chamada vida.

À minha orientadora Profa. Dra. Ana Carolina Gomes Jardim, por ser uma grande incentivadora na superação dos meus limites. Obrigada pela confiança, oportunidade de trabalhar ao seu lado, pelas longas conversas, amizade, conselhos, dedicação e, sobretudo por todos os ensinamentos profissionais e condução deste trabalho.

À minha coorientadora Cíntia Bittar, pela dedicação e cuidado com este trabalho, principalmente neste finalzinho. Obrigada pela ajuda, explicações e por mostrar-se sempre disposta a me ajudar.

À minha coorientadora Paula Rahal pela oportunidade de fazer parte da equipe do Laboratório de estudos genômicos. Agradeço o acolhimento e cuidado durante minha estadia em São José do Rio Preto.

À minha aluna de coorientação Amanda Soares, por ter me dado à oportunidade de ensinar o pouco que eu sei. Obrigada pela paciência.

À Débora, Carina e Daniel, amigos que o mestrado me deu. Obrigada pelas conversas, risadas, compartilhamento de experiências profissionais e pessoais e por todos os momentos que passamos juntos. Amo vocês.

À Vick pelo sorriso doce logo de manhã. Obrigada pelas conversas na biblioteca que acalmava meu coração.

A todos os integrantes do "*Team Nilo*" pelos momentos que passamos juntos, os de bancada e os de comilanças, dos quais não me esquecerei.

À Thelma (mais conhecida como Thelmãe), por toda a paciência em ensinar os conhecimentos técnicos do laboratório. Obrigada pela presteza em solucionar tudo tão rapidamente.

Aos meus colegas do Laboratório de Estudos Genômicos–Unesp, em especial a Marilê, pela receptividade durante todas as vezes que fui a Rio Preto. Obrigada pelas conversas e toda a acolhida.

Aos biólogos mais lindos da minha vida, Mariane, Rodrigo e Luiz. Por estarem sempre comigo, nos momentos fáceis e difíceis e atenderem minha necessidade de conversar. Obrigada pelo companheirismo, amizade, experiências e por tudo que compartilhamos até aqui.

Aos meus sobrinhos Guilherme e Cecília, por existirem e fazer meus dias mais felizes!

Ao Darwin, por ter despertado em mim o amor pela ciência.

Ao meu amigo Leandro, por me abraçar à distância. Obrigada pela amizade, pelos longos áudios de ensinamento e me ensinar a enxergar o melhor da vida.

Aos alunos de Pós- graduação em Microbiologia pelos momentos e conhecimentos e experiências compartilhadas.

A todos os profissionais da Pós-Graduação em Microbiologia, professores, coordenadores equipe técnica. Pela disponibilidade, dedicação aos alunos e prontidão em esclarecer todas as dúvidas.

Ao Laboratório de Virologia da Universidade Federal de Uberlândia, pela infraestrutura de ensino e pesquisa, essenciais para a realização deste trabalho.

À CAPES pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

À toda minha família, Mãe, avó, irmãos, irmãs, tios, tias, primos e primas pelo carinho e apoio de toda hora.

Enfim, a todos os amigos, colegas e professores que não foram citados, mas que fizeram parte da minha formação e acreditaram em meu potencial . Muito obrigada!

Epígrafe

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcutá

Resumo

A febre Zika é uma arbovirose resultante da infecção pelo vírus Zika (ZIKV). Em 2016 o ZIKV foi considerado pela Organização Mundial da Saúde um grave problema da saúde pública, devido ao número de casos de má formação congênita e distúrbios neurológicos vinculados à infecção, como microcefalia e síndrome de Guillain-Barré. Não existe atualmente antiviral específico contra o ZIKV. Neste contexto, torna-se necessário a busca por um antiviral seguro e que trate a infecção. Compostos naturais e seus derivados sintéticos vêm contribuindo significativamente para desenvolvimento de novos fármacos e têm ganhado destaque como potenciais antivirais, tornando-se uma possibilidade para o tratamento de infecções causadas pelo ZIKV. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de compostos naturais e análogos sintéticos obtidos com base em estruturas químicas naturais no ciclo replicativo do ZIKV *in vitro*. Um total de 166 compostos dentre eles, flavonoides, alcaloides (naturais e sintéticos) e derivados do ácido antranílico foram analisados quanto à atividade antiviral pela infecção e tratamento de células Vero. Os dados obtidos mostraram que o composto sintético FAM E3, da classe diarilaminas derivadas do ácido antranílico (FAMs), inibiu um mínimo de 99.92% a etapa de replicação viral. Ensaio adicionais mostraram que o potencial de inibição é dose-dependente e este composto não apresenta ação antiviral na etapa de entrada do ciclo viral. Para elucidar o mecanismo de ação, investigamos a capacidade de FAM E3 em intercalar em dsRNA e inibir a polimerase viral. Os resultados mostraram que o composto não atua nessas vias. Ensaio de docking molecular sugerem que FAM E3 apresenta alta afinidade com a helicase NS3 e o complexo NS2B3-NS3, sugerindo estas proteínas como possíveis alvos do composto. Outras análises são necessárias para estabelecer o mecanismo de ação do FAM E3, contudo este composto apresenta potencial terapêutico para o tratamento da febre Zika.

Palavras-chave: *Flavivírus*; antivirais; compostos naturais; derivados sintéticos; vírus Zika; Diarilaminas derivadas do ácido antranílico.

ABSTRACT

Zika fever is an arboviruses resulting from infection cause by Zika virus (ZIKV). In 2016 the ZIKV was considered by the World Health Organization a serious public health problem due to the number of cases of congenital malformation and neurological disorders linked to infection, such as microcephaly and Guillain-Barré syndrome. There is no specific antiviral against infection ZIKV. In this context, it becomes necessary to search for a safe antiviral to treat this infection. Therefore molecules derived from natural sources and their synthetic analogues are a potential alternative for the investigation of active compounds to treat the infection. Natural compounds and their synthetic derivatives have contributed significantly to the development of new drugs and have been acquiring a high profile as potential antivirals, becoming a possibility for the treatment of infections caused by ZIKV. Thus, the present work had as objective to evaluate the effects of natural compounds and synthetic analogues obtained based on natural chemical structures in the replicative cycle of ZIKV in vitro. A total of 166 compounds among them, flavonoids, alkaloids (natural and synthetic) and anthranilic acid derivatives were analyzed for antiviral activity by infection and treatment of Vero cells. The data obtained showed that the synthetic compound FAM E3, from the class diarylamines derived from anthranilic acid (FAMs), inhibited a minimum of 99.92% of the viral infection. Additional assays have shown that the inhibition potential is dose-dependent and this compound does not present antiviral action at the entry stage of the viral cycle. To elucidate the mechanism of action, we investigated the ability of FAM E3 to intercalate into dsRNA and inhibit viral polymerase. The results showed that the compound does not act in these pathways. Molecular docking assay suggests that FAM E3 exhibits high affinity with the NS3 helicase and the NS2B3-NS3 complex, suggesting these proteins as possible targets of the compound. Other analyzes are needed to establish the mechanism of action of FAM E3, however this compound has therapeutic potential for the treatment of Zika fever.

Keywords: *Flavivirus*; antivirals; natural compounds; synthetic derivatives; diarylamines derived from anthranilic acid; Zika virus.

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO I: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</i>	12
1. Introdução	15
1.1. Histórico e Epidemiologia	15
1.2. Classificação	17
1.3. Transmissão	17
1.4. Patogênese e Implicações na Saúde Pública	18
1.5. Genoma viral	20
1.6. Proteínas virais	22
1.7. Ciclo reprodutivo do ZIKV	23
1.8. Compostos naturais no tratamento do ZIKV	25
2. Objetivos	28
2.1. Objetivos específicos	28
3. Referências Bibliográficas	29
<i>CAPÍTULO II: A REVIEW OF THE ONGOING RESEARCH ON ANTI-ZIKA TREATMENTS</i>	41
1. Introduction	44
2. The ZIKA virus	45
3. Therapeutical potential of anti-ZIKV molecules	46
4. Concluding Remarks	50
5. References	51
<i>CAPÍTULO III: DIARYLAMINE DERIVED FROM ANTHRANILIC ACID INHIBITS THE ZIKV REPLICATION</i>	69
1. Introduction	73
2. Material and Methods	74
2.1. Compounds	74
2.2. ZIKV construction	75
2.3. Cell Culture	76
2.4. Cell viability assay	76
2.5. Virus assays	76
2.6. Antiviral assays	77
2.7. Dose-dependent assay	77
2.8. ZIKV entry e/or replication assay	78
2.9. Pre-treatment assay	78
2.10. dsRNA Intercalation assay	78
2.11. Inhibition of SP6 polymerase transcription	79
2.12. Immunofluorescence assay	79
2.13. Molecular docking	79

2.14.	Statistical analysis.....	80
3.	Results	80
3.1.	Inhibitory effect of natural compounds and their synthetic analogues on ZIKV infection.....	80
3.2.	The antiviral activity of FAM E3 is not related to the entry step of ZIKV in the host cell	81
3.3.	FAM E3 inhibits the replication ZIKV step in Vero cells	82
3.4.	FAM E3 antiviral mechanisms.....	82
4.	Discussion	83
5.	References	87
	<i>CAPÍTULO IV: ARTIGOS PUBLICADOS</i>	120

Capítulo I: Fundamentação Teórica

1.Introdução

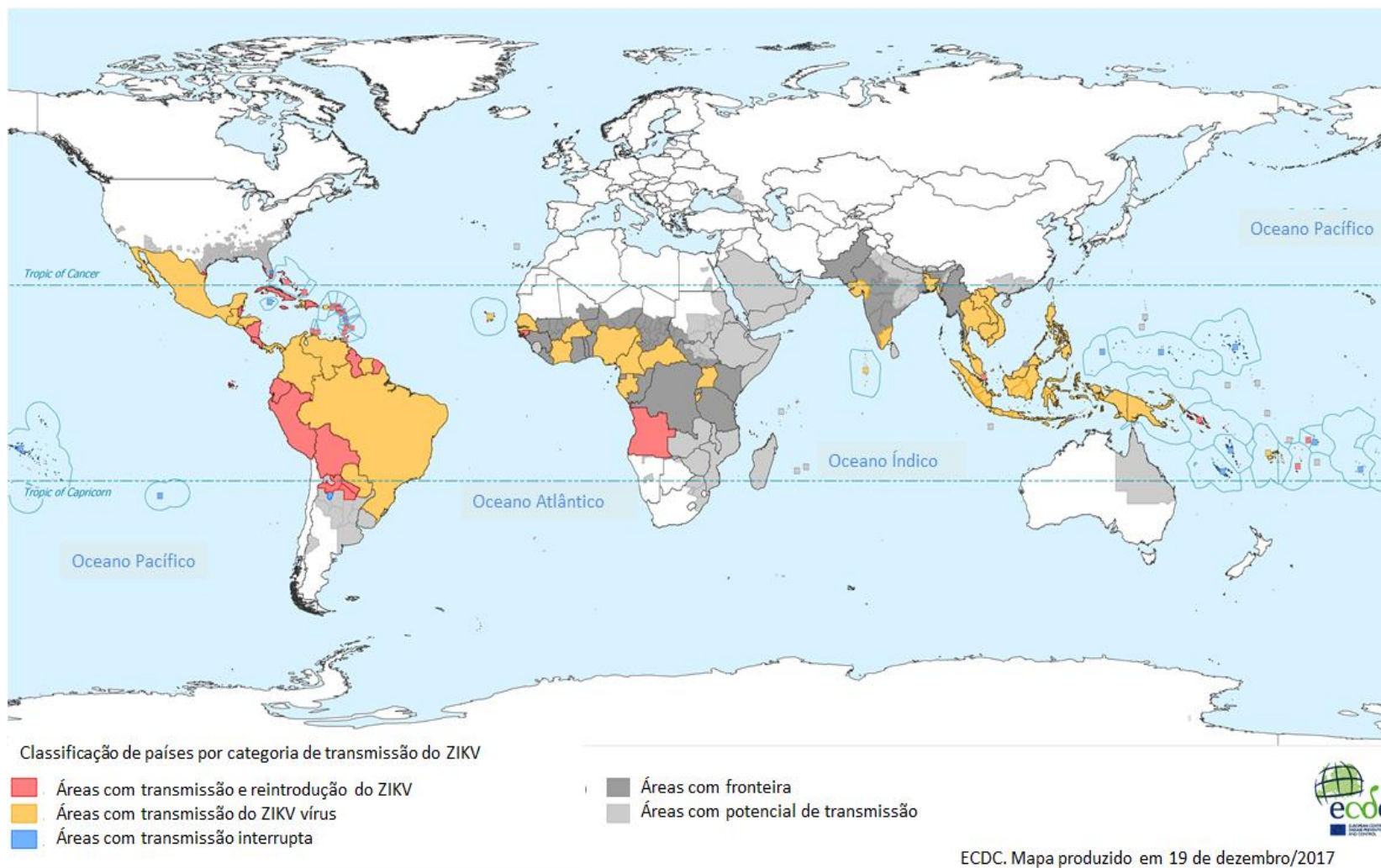
1.1. Histórico e Epidemiologia

A febre Zika é uma arbovirose transmitida aos seres humanos pela picada de mosquitos infectados com vírus Zika (ZIKV) (AUBRY et al., 2016). O ZIKV foi isolado pela primeira vez em 1947 na Floresta Zika na Uganda de um macaco *Rhesus* (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952; VINET; ZHEDANOV, 2010a). Posteriormente, o vírus foi relatado na mesma região em isolamento de um *pool* mosquito *Aedes Africanus* (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952; HADDOW et al., 2012; MARANO et al., 2015).

Por décadas o vírus permaneceu endêmico apenas na África e Ásia. Os primeiros casos de infecção em humanos foram descritos em 1954, primeiro em Uganda e depois na Nigéria, com o isolamento do vírus de pacientes infectados. Posteriormente casos esporádicos da infecção por ZIKV foram registrados em Uganda (SIMPSON, 1964a), Nigéria (FAGBAMI, 1979) e Indonésia (VINET; ZHEDANOV, 2010b). Somente em 2007 que pequenos surtos foram documentados em outras regiões (PINTO JUNIOR et al., 2015).

O primeiro registro do ZIKV fora do continente Africano e Asiático ocorreu em YAP, uma ilha da Federação dos Estados da Micronésia (DUFFY et al., 2009; LANCIOTTI et al., 2008; SONG et al., 2017). Em 2007 o vírus alcançou o leste da Polinésia e outras regiões do pacífico entre 2013/2014, chegando ao continente Americano em fevereiro de 2015 (AUBRY et al., 2016). Em maio de 2015 a transmissão autóctone do vírus foi reportada no Brasil, principalmente na região Nordeste, a partir de casos suspeitos de infecção por vírus da dengue (DENV) (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; ZAMMARCHI et al., 2015; ZANLUCA et al., 2015). Nesta época no estado de Pernambuco houve um aumento abrupto do número de casos de recém-nascidos com microcefalia. Ao investigar o período gestacional das mães dessas crianças foi constatado que a maioria delas apresentou sintomas típicos de infecção causada pelo ZIKV no primeiro trimestre da gravidez. Posteriormente os casos de microcefalia na região e em outros estados brasileiros puderam ser relacionados à infecção causada por vírus Zika (TEIXEIRA et al., 2016). A Organização Mundial da Saúde declarou em fevereiro de 2016 a epidemia causada pelo ZIKV como um grave problema de saúde pública, devido às infecções com ZIKV estarem relacionadas aos casos de má formação congênita (W.H.O, 2016). Embora medidas de controle e prevenção venham sendo tomadas, a situação geral do risco global não alterou. O ZIKV continua a se espalhar geograficamente em regiões com grande predominância do inseto vetor (W.H.O, 2017)(**Figura 1**).

Figura 1. Países e territórios com casos de transmissão do ZIKV.



Fonte: Centro europeu de prevenção e controle de doenças, estado da transmissão de ZIKV no mundo em dezembro de 2017.

1.2. Classificação

O ZIKV pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, sendo filogeneticamente relacionado aos vírus da Dengue (DENV), vírus do Nilo Ocidental (WNV), vírus da Febre Amarela (YFV), vírus da Encefalite Japonesa (JEV) e vírus da Encefalite transmitida por carrapatos (TBEV) (SUMMERS et al., 2015).

Análises filogenéticas do genoma viral revelaram que o ZIKV se originou na África e desde então divergiu em duas linhagens principais, a Africana, representada pela estirpe viral MR 766 isolada na África Ocidental em 1947 (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952), e Asiática/ Americana, representada pela estirpe viral P6740 isolada da Malásia em 1966 (SMITH-BINDMAN, 2010). A irradiação do protótipo Asiático para o Ocidente fez com que este sofresse uma adaptação natural ao novo ambiente, possibilitando o aparecimento da linhagem Americana e, dentro desta, o surgimento de alguns subgrupos como a estirpe brasileira (MLAKAR et al., 2016), Porto Rico (THOMAS et al., 2016), Haiti, Guatemala e Suriname (ENFISSI et al., 2016).

1.3. Transmissão

Arbovírus como o vírus Zika geralmente apresentam dois ciclos de transmissão distintos, o ciclo silvestre e o urbano. No ciclo silvestre o vírus é mantido entre primatas não humanos e o vetor artrópode em florestas. O ciclo urbano envolve a transmissão viral entre os insetos vetores e humanos na cidade (WEAVER; BARRETT, 2004).

A transmissão do ZIKV se dá principalmente pela picada da fêmea de mosquitos do gênero *Aedes*, que incluem *Aedes aegypti*, *A. albopictus*, *A. africanus*, *A. luteocephalus*, *A. vitattus*, *A. furcifer*, *A. hensilii* e *A. apicoargenteus* (VINET; ZHEDANOV, 2010a). No ciclo urbano as espécies que mais se destacam são o *A. aegypti* e *A. albopictus*, ambas distribuídas amplamente em zonas tropicais e subtropicais, destacando a capacidade de adaptação do *A. albopictus* a zonas mais frias (KRAEMER et al., 2015). Além do gênero *Aedes*, o ZIKV foi isolado de outros mosquitos vetores como *Anopheles coustani*, *Culex perfuscus* e *Mansonia uniformis* (DIALLO et al., 2014; FAYE et al., 2013; VASILAKIS; WEAVER, 2017).

Os primatas selvagens são os principais reservatórios não humanos, no entanto anticorpos contra ZIKV foram detectados em morcegos (ANDRAL et al., 1968), cabras

(DARWISH et al., 1983), roedores (DARWISH et al., 1983) e ovelhas (DARWISH et al., 1983). Embora os anticorpos anti-ZIKV foram confirmados em outras espécies, não há nenhuma evidência conclusiva para a existência de um reservatório não primata (VINET; ZHEDANOV, 2010a). Além do mosquito, outros veículos de transmissão devem ser considerados como a transfusão sanguínea (MUSSO et al., 2014), transmissão sexual (MCCARTHY, 2016) e transmissão perinatal (VENTURA *et al.*, 2016).

1.4. Patogênese e Implicações na Saúde Pública

Em 2016 a Organização Mundial da Saúde declarou o surto do ZIKV como emergência de saúde pública, principalmente por estar relacionado ao número de casos de malformações congênitas (microcefalia) vinculadas às gestantes infectadas pelo vírus (W.H.O, 2016). No Brasil, em 2016 foram registrados 215.319 casos suspeitos de infecção pelo ZIKV, sendo 60,7% destes confirmados para a doença. Além disso, 8 óbitos foram registrados distribuídos entre os estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Maranhão e Paraíba (BRASIL, 2017a). Em 2017 embora o número de casos suspeitos tenha reduzido para 17.321, metade destes foram confirmados para a infecção sendo o Centro-Oeste e Norte do Brasil os estados mais afetados com registro de óbito em Rondônia e no estado de São Paulo (BRASIL, 2017b).

Por ser um vírus emergente e negligenciado, a patogênese do ZIKV ainda não está bem elucidada. (HAMEL et al., 2015). Sabe-se que as células da pele humana (epiderme e derme) são os alvos primários dados a capacidade de o mosquito transmitir o vírus por meio da picada. Desta forma foi mostrado por Hamlet et al., a capacidade que o ZIKV de infectar fibroblastos, queratinócitos e células dendríticas mediada pelos receptores de entrada TAM (AXL ou Tyro3), DC-SIGN, TIM-1, TIM-4, (HAMEL et al., 2015). O receptor AXL é altamente expressado em células da glia radiais sustentando a hipótese de que células neurais são mais permissíveis ao ZIKV o que propicia o desenvolvimento da microcefalia (NOWAKOWSKI et al., 2016).

O vírus Zika também tem tropismo pelas células progenitoras neurais humanas (CPNHs) infectando e replicando com grande eficiência, sendo os neurônios menos suscetíveis à infecção. A infecção por ZIKV em células neuronais desencadeia a apoptose celular, desregula o ciclo celular, bem como impede a diferenciação celular das CPNHs,

efeitos esses que também contribuem o desenvolvimento de microcefalia (LI et al., 2016; TANG, 2016).

A microcefalia é uma desordem neural em que a criança nasce com a circunferência do crânio e cérebro muito reduzidos. Esta condição leva à incapacidade motora, sensorial e cognitiva do portador (TANG, 2016; WOODS; BOND; ENARD, 2005). Vários estudos tem relacionado o período da emergência do vírus no Brasil com o número de crianças que tem nascido com o distúrbio desde então (BRASIL et al., 2016; CAUCHEMEZ et al., 2016; MAGALHÃES-BARBOSA et al., 2016; SCHULER-FACCINI et al., 2016). A microcefalia causada pelo ZIKV ocorre pela transmissão vertical do vírus que pode acontecer até o primeiro trimestre de gestação, sendo os macrofágos transplacentários e citotrofoblastos alvos primários da infecção viral na placenta (QUICKE et al., 2016). A presença de anticorpos contra o ZIKV em amostras coletadas de neonatos com microcefalia e tecido de placenta de mulheres infectadas pelo vírus já foram confirmadas (BAYER et al., 2016; DE ARAÚJO et al., 2016). Recentemente foi mostrado que uma mutação no aminoácido de posição 139 da proteína estrutural prM aumentou o tropismo do ZIKV por células neurais (YUAN et al., 2017a).

O ZIKV também pode estar relacionado à síndrome de Guillain-Barré (GBS), distúrbio neurológico que afeta principalmente adultos acima de 30 anos. A GBS é uma doença autoimune caracterizada por desordem motora e, algumas vezes, perda sensorial dos músculos faciais e respiratórios (CRÉANGE, 2016; GOODFELLOW; WILLISON, 2016). É um distúrbio que também pode ser desencadeado por outros vírus como DENV (CAROD-ARTAL et al., 2013; RALAPANAWA; KULARATNE; JAYALATH, 2015) e CHIKV. (AGARWAL et al., 2017). A primeira relação entre GBS e ZIKV surgiu em 2013, durante o surto viral na Polinésia Francesa, quando exames sorológicos de 42 pacientes com GBS demonstraram infecção por ZIKV (MUSSO; NILLES; CAO-LORMEAU, 2014). Uma nova relação dos casos da síndrome pôde ser feita com o crescente número de casos de pacientes infectados com ZIKV, quando o vírus se espalhou no continente Americano de 2015 à 2016 (BROUTET et al., 2016; THOMAS et al., 2016). Outras investigações sugerem a associação do ZIKV com outras desordens neurológicas como meningo-encefalite (CARTEAUX et al., 2016) e mielite aguda (MÉCHARLES et al., 2016).

1.5. Genoma viral

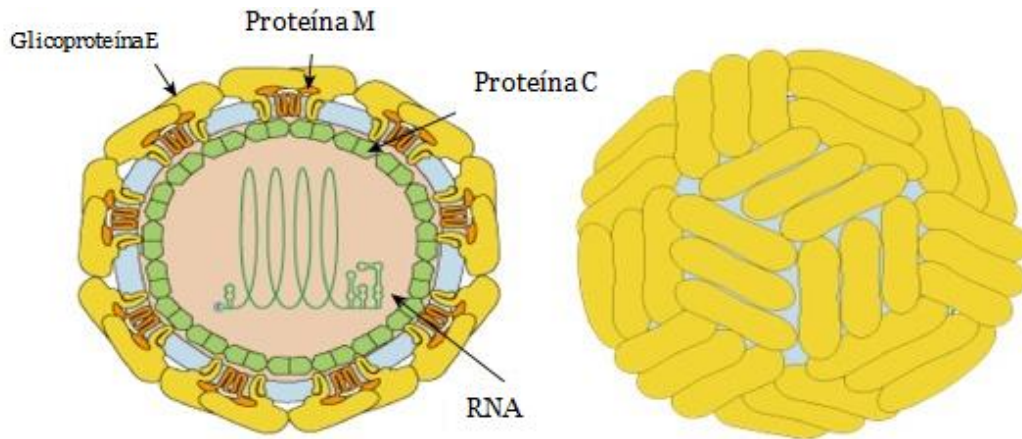
A partícula viral é formada por um nucleocapsídeo icosaédrico, uma bicamada lipídica (envelope) derivada de membranas do hospedeiro onde estão inseridas duas glicoproteínas virais (proteínas E e M). (SHANKAR; PATIL; SKARIYACHAN, 2017). No interior da partícula encontra-se o genoma viral constituído de RNA de fita simples de polaridade positiva de aproximadamente 11 Kb de comprimento (HAYES, 2009).

O genoma do ZIKV possui única região aberta de leitura ("*open reading frame*"-ORF) que é traduzida em uma poliproteína de aproximadamente 3200 aminoácidos (aa) na sequência C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5. Após ser sintetizada esta poliproteína, é clivada por proteases virais e celulares em 7 proteínas não estruturais (NS), relacionadas à etapa de replicação viral (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) e 3 proteínas estruturais capsídeo (C), pré-membrana (prM) e de envelope (E) que farão parte das novas partículas virais (HADDOW et al., 2012; FAYE et al., 2014) (**Figura 2A**).

A ORF se encontra flanqueada por regiões não traduzidas (*Untranslated Region - UTR*), altamente conservadas: 5'-UTR (107 nts) e 3'-UTR (429 nts) de grande importância para a replicação viral. No início da região 5'UTR existe uma estrutura Cap 1 formada por uma guanosina conectada ao primeiro nucleotídeo do RNA por intermédio de uma ligação trifosfato, de grande importância para o processo de tradução do genoma viral. (GÖERTZ et al., 2017; ZHU et al., 2016). Assim como em outros *Flavivirus* as regiões 5' e 3' do genoma do ZIKV se dobram em estruturas secundárias de RNA (*Stem-loop*) que codificam regiões de grande importância para a fase inicial de replicação. Além de se ligarem as proteínas específicas das células hospedeiras estas estruturas atuam na síntese de RNA de polaridade negativa realizada pela polimerase viral NS5 e auxiliam a tradução dependente de Cap (ZHU et al., 2016). (**Figura 2B**)

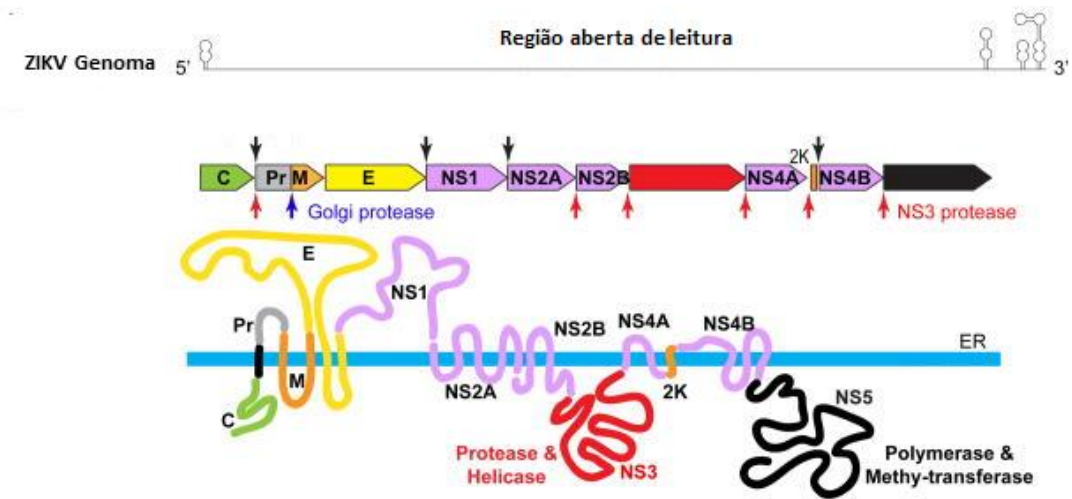
Figura 2. (A) Representação esquemática da partícula viral, demonstrando as proteínas do Core (C), do envelope (E), proteína de membrana (M) e RNA viral. (B). Estrutura geral da poliproteína viral codificada pelo ZIKV, demonstrando as proteínas estruturais e não estruturais.

A)



Fonte: Adaptado de Kaushik et al, 2016

B)



Fonte: Adaptado de Ming et al., 2016

1.6. Proteínas virais

A proteína do Core (C) é um dímero que se mantém associado ao genoma formando o nucleocapsídeo viral. A proteína E e proteína prM/M estão diretamente relacionadas com a etapa da entrada viral (SIROHI; KUHN, 2017). Além de mediar a interação vírus/célula hospedeira, a proteína E está envolvida em outras etapas do ciclo replicativo como processo de fusão, penetração e tropismo celular (CHÁVEZ et al., 2010) (**Figura 3**).

NS1 é a primeira glicoproteína não estrutural apresentando aproximadamente 46–55 kDa e 342aa NS1 pode ser encontrada em vários compartimentos celulares, sendo que a forma intracelular é essencial para a manutenção do complexo replicativo enquanto a NS1 extracelular está envolvida com a resposta imune da célula hospedeira (MACKENZIE; JONES; YOUNG, 1996; PRYOR; WRIGHT, 1994).

As proteínas NS2 são proteínas hidrofóbicas que estão relacionadas com o complexo de replicação viral. NS2A participa na síntese de RNA e montagem viral, além de estar envolvida em processos importantes como na evasão do vírus à resposta ao sistema imunológico, rearranjo da membrana e processamento da proteína NS1 (FAJARDO-SÁNCHEZ; GALIANO; VILLALÁIN, 2017; XIE et al., 2013). Já a proteína NS2B atua no processamento da poliproteína viral (MILLER; SPARACIO; BARTENSCHLAGER, 2006).

A protease de *Flavivirus* NS3 é uma preteínase responsável pelo processamento da poliproteína em vários sítios dentro da região não-estrutural do genoma (LEUNG et al., 2001). Em sua forma basal, a NS3 é inativa, e a sua forma ativa requer a fusão de sua região N-Terminal (~180aa) com a região C-terminal (~40aa) do cofator NS2b, formando o complexo NS2B/NS3 que dará início ao processo proteolítico (LEUNG et al., 2001; LI et al., 2015; ZHANG et al., 2016).

As proteínas NS4A e NS4B são codificadas pela região NS4. NS4A se destaca tanto na replicação e pós-tradução da poliproteína viral como na clivagem de NS4B e NS5A. Também funciona como um cofator para protease NS3 (BUTKIEWICZ et al., 1996; TANJI et al., 1995). NS4B está envolvida na formação dos constituintes de membrana que forma o complexo de replicação viral (BUCKLEY; GOULD, 1988).

A proteína NS5 é uma metil-transferase (MTase) N-terminal e uma RNA polimerase dependente de RNA C-terminal (RdRp), sendo fundamental para a replicação de novas partículas virais. A metil-transferase facilita a tradução do genoma introduzindo o Cap1 no mRNA viral da região 5' (DAFFIS et al., 2010; ISSUR et al., 2009; ZHAO et al., 2017;

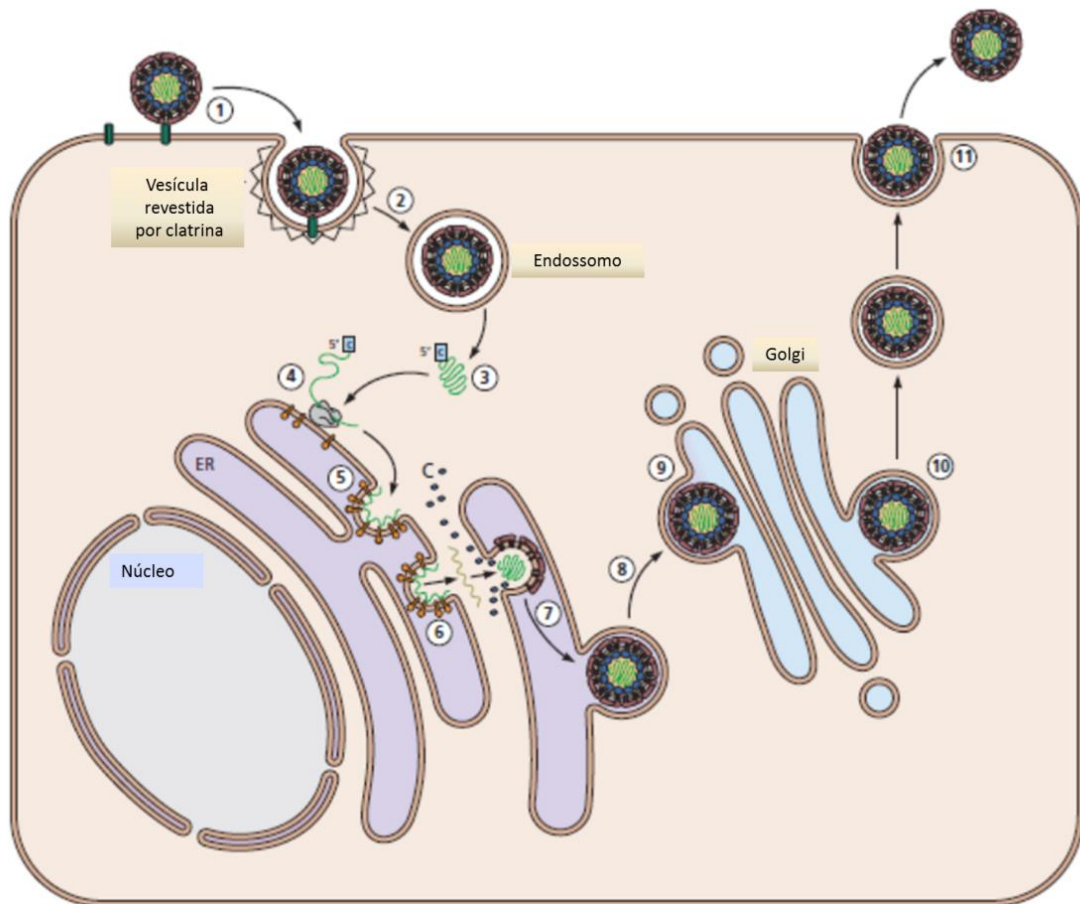
ZHENG et al., 2013), enquanto a RdRp é responsável por iniciar a síntese de novas fitas de RNA.

1.7. Ciclo reprodutivo do ZIKV

Diferentes tipos de células e diferentes espécies são suscetíveis à infecção por ZIKV como células progenitoras neurais, da glia radial e da epiderme (GUO, 2016; HAMEL et al., 2015; LI et al., 2012; MEERTENS et al., 2017; SAIZ; MARTÍN-ACEBES, 2017a; TANG et al., 2016). A primeira etapa para a infecção é a interação da glicoproteína E do envelope viral com receptores específicos do hospedeiro como AXL (LIU et al., 2016; MEERTENS et al., 2017; NOWAKOWSKI et al., 2016; SAVIDIS et al., 2016) , DC-SIGN, TYOR3 e TIM 1 (HAMEL et al., 2015). A entrada do ZIKV na célula ocorre por fusão do envelope viral com o endossomo derivado da membrana da célula hospedeira, processo este mediado pela proteína clatrina(SAIZ et al., 2016)

A célula hospedeira oferece um ambiente com pH adequado para que, após a entrada da partícula viral, ocorra o desnudamento do genoma (SAIZ et al., 2016). Uma vez que ocorre a liberação do material genético no citoplasma, a ORF é traduzida em uma poliproteína viral que é processada dando origem às proteínas virais. O ZIKV assim como outros *Flavivirus* induz a formação de vesículas derivadas do retículo endoplasmático rugoso onde ocorre a replicação do genoma. As proteínas não-estruturais se organizam nessas vesículas para formar o complexo replicativo onde sintetizam RNAs de polaridade negativa, usando como molde o genoma viral que foi liberado após o desnudamento. Novos RNAs de polaridade positiva são produzidos a partir do molde de fita negativa e são utilizados para a tradução de proteínas e para compor novas partículas virais. Após a montagem e maturação das novas partículas virais, estas são transportadas por vesículas do complexo de *Golgi* e pela via secretora para fora da célula (BYLER; OGUNGBE; SETZER, 2016; SAIZ et al., 2016; SHANKAR; PATIL; SKARIYACHAN, 2017). **(Figura 3).**

Figura 3. Ciclo reprodutivo do ZIKV. (1) Ligação da partícula viral ao receptor de superfície celular. (2) Endocitose viral. (3) Fusão das membranas virais e celulares (4) Tradução da poliproteína viral (5) Sítio de replicação (6) Multiplicação do genoma viral (7) Sítio de montagem (8) Transporte das partículas virais imaturas pela via secretora. (9) Marturação da partícula viral (10) vírus maduro. (11) Liberação da partícula viral.



Fonte: Adaptado de Flint, 2015.

1.8. Compostos naturais no tratamento do ZIKV

Atualmente, não existe tratamento específico para a infecção causada por ZIKV, (W.H.O, 2016). Sendo assim a busca por moléculas ativas para o tratamento da infecção tem sido constante (ALAM et al., 2017; SAIZ; MARTÍN-ACEBES, 2017b). O uso de plantas para fins medicinais é uma prática antiga e um dos aspectos importantes da investigação de moléculas naturais com propriedades terapêuticas ativas é que estas servem de modelos para síntese de moléculas análogas, mantendo ou aprimorando as propriedades ativas, como já vêm sendo realizado ao longo dos anos pelas indústrias farmacêuticas (BALUNAS; KINGHORN, 2005). Tais conhecimentos vêm sendo utilizado na composição de vários fármacos importantes como a salicina, extraída da *Salix alba* e popularmente conhecido como aspirina, e a morfina e a codeína, extraídas do *Papaver somniferum* (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2000). Muitos compostos naturais são descritos com enorme potencial terapêutico, apresentando diversas atividades como anticâncer, antimaláricas (VAN AGTMAEL, 1999), antidepressivas (CÍCERO BEZERRA FELIPE et al., 2007) e antivirais (JARDIM et al., 2015; MULLER et al., 2014; SERKEDJIEVA; NIKOLOVA; KIRILOV, 2010). Com isso, compostos naturais se apresentam como uma alternativa em potencial (COSTA-LOTUFO et al., 2010) para o tratamento do ZIKV. Adicionalmente, compostos naturais e seus derivados são moléculas facilmente metabolizadas pelo corpo humano, o que pode vir a apresentar efeitos colaterais reduzidos aos pacientes em tratamento (KITAZATO; WANG; KOBAYASHI, 2007).

Dentre as moléculas naturais existe a classe dos compostos flavonoides, estes são metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino vegetal. Atuam como agentes antioxidantes, protegendo o tecido vegetal e contribuindo para sua pigmentação (DI CARLO et al., 1999). São encontrados em uma variedade de alimentos e têm ganhado destaque por desempenhar atividades como anti-inflamatória, antialérgica, antioxidante, anticancerígena dentre outras (MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000). Alguns flavonoides naturais demonstraram atividade antiviral como o galato-3-epigalocatequina (EGCG) (CALLAND et al., 2012a; CIESEK et al., 2011; ZHAO et al., 2017), a quecertina (GONZALEZ et al., 2009), a narigerina (NAHMIAS et al., 2008), a curcumina ((KUTLUAY et al., 2008) e a luteolina/apigenina (CALLAND et al., 2012b; LIU et al., 2012). O flavonoide curcumina teve suas propriedades antivirais descritas para o ZIKV e CHIKV *in vitro* inibindo a etapa de replicação viral. Adicionalmente dois análogos sintéticos da curcumina: demethoxycurcumina e bisdemethoxycurcumina, apresentaram mecanismo de ação e

toxicidade semelhante à curcumina natural (MOUNCE et al., 2017). O EGCG é outro flavonoide natural, isolado do extrato do chá verde com propriedades antivirais já descritas na entrada do HCV na célula hospedeira (CALLAND et al., 2012a) e que também mostrou ser eficiente na infecção do ZIKV impedindo a entrada do vírus na célula (CARNEIRO et al., 2016).

Os alcaloides são outra classe de moléculas naturais, obtidos também a partir do metabolismo secundário de planta, sendo moléculas heterocíclicas nitrogenadas, fisiologicamente ativas em mamíferos, incluindo humanos (CHOWAŃSKI et al., 2016). O alcaloide Piridoacridina e seus análogos têm mostrado múltiplas atividades biológicas, destacando ação anticancerígena antiparasitária e antimicrobiana (PLODEK; BRACHER, 2016). Em estudo realizado com os alcaloides Matrine e Oxymatrine presentes em raízes de plantas *Sophora*, a atividade antiviral destes compostos foi demonstrada no tratamento de pacientes portadores de HCV (AZZAM et al., 2007). O alcaloide Miriberina A, isolado de *Myrioneuron faberi*, também demonstrou inibir o ciclo replicativo do HCV (HUANG et al., 2007). As acridonas são uma subclasse de alcaloides que vêm ganhando destaque na literatura por atuar inibindo o ciclo replicativo de diferentes tipos de vírus como: Vírus da Herpes tipo 1 (HSV-1) (AKANITAPICHAT; LOWDEN; BASTOW, 2000), Vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) (FUJIWARA et al., 1999), vírus da febre hemorrágica (HFV)(SEPÚLVEDA et al., 2013), Vírus da Dengue (MAZZUCCO et al., 2015) e o vírus da Hepatite C (CAMPOS et al., 2017; STANKIEWICZ-DROGON et al., 2008; STANKIEWICZ-DROGOŃ et al., 2010).

Além disso, a literatura tem mostrado a atuação de derivados de ácidos naturais e sintéticos como antivirais para diferentes tipos de vírus, por exemplo, o ácido rosmarínico que reduziu a mortalidade de cobaias infectadas com o vírus da Encefalite Japonesa (SWARUP et al., 2007). Os ácidos 1-metoxioxalil-3,5-dicaffeoilquinico e 3,5-dicofiroilquinico e seu análogo sintético L-chicórfico atuam como inibidores da integrase do HIV *in vitro* (ROBINSON et al., 1996). Merino-Ramos e colaboradores descreveram as propriedades antivirais do ácido Nordihydroguaiarético e seu derivado Tetra-O-Metil Nordihydroguaiarético no ciclo replicativo do WNV e ZIKV (MERINO-RAMOS et al., 2017). Em estudos anteriores, o ácido Nordihydroguaiarético também mostrou atividade na replicação viral do DENV e HCV (SOTO-ACOSTA et al., 2014; SYED; SIDDIQUI, 2011).

No atual contexto, o desenvolvimento de novos fármacos antivirais pela síntese de moléculas com base em estruturas naturais ativas se apresenta de forma vantajosa para a produção em escala comercial. As moléculas sintéticas podem ser manipuladas para

potencializar suas atividades terapêuticas de acordo com cada necessidade, o que as tornam inéditas e passíveis de patente. Além disso, tais moléculas têm apresentado várias vantagens químicas, baixa toxicidade, na maioria dos casos, o que são condições favoráveis para o desenvolvimento de uma terapêutica futura.

5. References

- ADIGA, R. Phylogenetic analysis of the NS5 gene of Zika virus. **Journal of medical virology**, v. 88, n. 10, p. 1821–6, out. 2016.
- AGARWAL, A. et al. Guillain-Barre syndrome complicating chikungunya virus infection. **Journal of NeuroVirology**, v. 23, n. 3, p. 504–507, 2017.
- AKANITAPICHAT, P.; LOWDEN, C. .; BASTOW, K. . 1,3-Dihydroxyacridone derivatives as inhibitors of herpes virus replication. **Antiviral Research**, v. 45, n. 2, p. 123–134, 2000.
- ALAM, A. et al. Recent trends in ZikV research: A step away from cure. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 91, p. 1152–1159, jul. 2017.
- ANDRAL, L. et al. Studies on yellow fever in Ethiopia. 3. Serological and virological studies of the woodland fauna. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 38, n. 6, p. 855–61, 1968.
- ASIF, G. et al. Pharmacokinetics of the anti-human immunodeficiency virus agent 1-(beta-D-dioxolane)thymine in rhesus monkeys. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 51, n. 7, p. 2424–2429, 2007.
- ATIF, M. et al. Zika virus disease: a current review of the literature. **Infection**, v. 44, n. 6, p. 695–705, 2016.
- AUBRY, M. et al. Inactivation of Zika virus in plasma with amotosalen and ultraviolet A illumination. **Transfusion**, v. 56, n. 1, p. 33–40, jan. 2016.
- AZZAM, H. S. et al. Natural products and chronic hepatitis C virus. **Liver international**, v. 27, n. 1, p. 17–25, 2007.
- BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, n. 5, p. 431–441, dez. 2005.
- BANKS, J. L. et al. Integrated Modeling Program, Applied Chemical Theory (IMPACT). **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1752–1780, dez. 2005.
- BARROWS, N. J. et al. A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection. **Cell Host & Microbe**, v. 20, n. 2, p. 259–270, ago. 2016.
- BAYER, A. et al. Type III Interferons Produced by Human Placental Trophoblasts Confer Protection against Zika Virus Infection. **Cell Host and Microbe**, v. 19, n. 5, p. 705–712, 2016.
- BEADLE, J. R. et al. Synthesis and antiviral evaluation of alkoxyalkyl derivatives of 9-(S)-(3-hydroxy-2-phosphonomethoxypropyl)adenine against cytomegalovirus and orthopoxviruses. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2010–2015, 2006.
- BOLLATI, M. et al. Structure and functionality in flavivirus NS-proteins: Perspectives for drug design. **Antiviral Research**, v. 87, n. 2, p. 125–148, ago. 2010.

BRASIL, M. DA S. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2016 Introdução**, 2017a. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/images/pdf/2017/dezembro/26/2017-044.pdf>>

BRASIL, M. DA S. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 49, 2017. v. 48, n. Tabela 2, p. 1–13, 2017b.

BRASIL, P. et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 24, p. 2321–2334, 15 dez. 2016.

BROUTET, N. et al. Zika Virus as a Cause of Neurologic Disorders. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 16, p. 1506–1509, 21 abr. 2016.

BUATHONG, R. et al. Detection of zika virus infection in Thailand, 2012-2014. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, n. 2, p. 380–383, 2015.

BUCKLEY, A.; GOULD, E. A. Detection of virus-specific antigen in the nuclei or nucleoli of cells infected with Zika or Langkat virus. **Journal of General Virology**, v. 69, n. 8, p. 1913–1920, 1988.

BUTKIEWICZ, N. J. et al. Enhancement of hepatitis C virus NS3 proteinase activity by association with NS4A-Specific synthetic peptides: Identification of sequence and critical residues of NS4A for the cofactor activity. **Virology**, v. 225, n. 2, p. 328–338, 1996.

BUTLER, M. S. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. **Natural Product Reports**, v. 25, n. 3, p. 475, 2008.

BYLER, K. G.; OGUNGBE, I. V.; SETZER, W. N. In-silico screening for anti-Zika virus phytochemicals. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 69, p. 78–91, set. 2016.

CALLAND, N. et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate is a new inhibitor of hepatitis C virus entry. **Hepatology**, v. 55, n. 3, p. 720–729, 2012a.

CALLAND, N. et al. Hepatitis C virus and natural compounds: **A new antiviral approach?** **Viruses**, 2012b.

CALVEZ, E. et al. Genetic Diversity and Phylogeny of *Aedes aegypti*, the Main Arbovirus Vector in the Pacific. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 1, p. e0004374, 2016.

CAMPOS, G. R. F. et al. Hepatitis C virus in vitro replication is efficiently inhibited by acridone Fac4. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 7, p. 1693–1701, 2017.

CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 10, p. 1885–1886, 2015.

CAO-LORMEAU, V.-M. Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 11, p. 1960–1960, nov. 2014.

CARNEIRO, B. M. et al. The green tea molecule EGCG inhibits Zika virus entry. **Virology**, v. 496, p. 215–218, set. 2016.

CAROD-ARTAL, F. J. et al. Neurological complications of dengue virus infection. **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 9, p. 906–919, set. 2013.

CARROLL, S. S. et al. Inhibition of hepatitis C virus RNA replication by 2'-modified nucleoside analogs. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 14, p. 11979–11984, 2003.

CARTEAUX, G. et al. Zika Virus Associated with Meningoencephalitis. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 16, p. 1595–1596, 21 abr. 2016.

CAUCHEMEZ, S. et al. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013-15: A retrospective study. **The Lancet**, v. 387, n. 10033, p. 2125–2132, 2016.

CDC. Zika: The Basics of the Virus and How To Protect Against It. **Central Diseases Control**, 2016.

CHAMBERS, T. J. et al. Flavivirus genome organization, expression, and replication. **Annual review of microbiology**, v. 44, p. 649–688, 1990.

CHAN, J. F. W. et al. Zika fever and congenital Zika syndrome: An unexpected emerging arboviral disease. **Journal of Infection**, v. 72, n. 5, p. 507–524, maio 2016.

CHAN, J. F. W. et al. Novel antiviral activity and mechanism of bromocriptine as a Zika virus NS2B-NS3 protease inhibitor. **Antiviral Research**, v. 141, p. 29–37, 2017.

CHÁVEZ, J. H. et al. Domain III peptides from flavivirus envelope protein are useful antigens for serologic diagnosis and targets for immunization. **Biologicals**, v. 38, n. 6, p. 613–618, nov. 2010.

CHEN, H. et al. Pharmacokinetics of (X)-¹⁴C-D-2-Aminopurine Dioxolane and (X)-¹⁴C-D-2-Amino-6-Chloropurine Dioxolane and Their Antiviral Metabolite (X)-¹⁴C-D-Dioxolane Guanine in Rhesus Monkeys. **Antimicrobial Agentes and Chemotherapy**, v. 40, n. 10, p. 2332–2336, 1996.

CHOWAŃSKI, S. et al. A Review of Bioinsecticidal Activity of Solanaceae Alkaloids. **Toxins**, v. 8, n. 3, p. 60, 1 mar. 2016.

CÍCERO BEZERRA FELIPE, F. et al. Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomedicine**, v. 14, n. 9, p. 605–612, 2007.

CIESEK, S. et al. The green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate, inhibits hepatitis C virus entry. **Hepatology**, v. 54, n. 6, p. 1947–1955, 2011.

COSTA-LOTUFO, L. V. et al. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47–58, 2010.

CRÉANGE, A. Guillain-Barré syndrome: 100 years on. **Revue Neurologique**, v. 172, n. 12,

p. 770–774, dez. 2016.

CUGOLA, F. R. et al. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. **Nature**, v. 534, n. 7606, p. 267–271, 9 jun. 2016.

DA SILVA-JÚNIOR, E. F. et al. The medicinal chemistry of Chikungunya virus. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 16, p. 4219–4244, 2017.

DAFFIS, S. et al. 2'-O methylation of the viral mRNA cap evades host restriction by IFIT family members. **Nature**, v. 468, n. 7322, p. 452–6, 2010.

DARWISH, M. A. et al. A sero-epidemiological survey for certain arboviruses (Togaviridae) in Pakistan. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 4, p. 442–445, jan. 1983.

DAS, K. et al. Roles of Conformational and Positional Adaptability in Structure-Based Design of TMC125-R165335 (Etravirine) and Related Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors That Are Highly Potent and Effective against Wild-Type and Drug-Resistant HIV-1 Varian. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 2550–2560, maio 2004.

DE ARAÚJO, T. V. B. et al. Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, p. 1356–1363, dez. 2016.

DE CLERCQ, E. Guanosine analogues as anti-herpesvirus agents. **Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids**, v. 19, n. 10–12, p. 1531–1541, 2000.

DELVECCHIO, R. et al. Chloroquine, an Endocytosis Blocking Agent, Inhibits Zika Virus Infection in Different Cell Models. **Viruses**, v. 8, n. 12, p. 322, 2016.

DI CARLO, G. et al. Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p. 337–353, jun. 1999.

DIALLO, D. et al. Zika Virus Emergence in Mosquitoes in Southeastern Senegal, 2011. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. e109442, 13 out. 2014.

DICK, G. W. . Zika virus (II). Pathogenicity and physical properties. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.46,n.5,p.521-534, set, 1952.

DICK, G. W. .; KITCHEN, S. .; HADDOW, A. . Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509–520, set. 1952.

DUFFY, M. R. et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536–2543, 11 jun. 2009.

ENFISSI, A. et al. Zika virus genome from the Americas. **The Lancet**, v. 387, n. 10015, p. 227–228, jan. 2016.

EYER, L. et al. Nucleoside inhibitors of Zika virus. **The Journal of infectious diseases**, v.

214, n. 5, p. 1–26, 2016.

FAGBAMI, A. H. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. **The Journal of hygiene**, v. 83, p. 213–219, 1979.

FAJARDO-SÁNCHEZ, E.; GALIANO, V.; VILLALAÍN, J. Spontaneous membrane insertion of a dengue virus NS2A peptide. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 627, p. 56–66, 2017.

FAYE, O. et al. Quantitative real-time PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught mosquitoes. **Virology journal**, v. 10, n. 1, p. 311, 2013.

FRIESNER, R. A. et al. Extra precision glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 21, p. 6177–6196, 2006.

FUJIWARA, M. et al. Acridone derivatives are selective inhibitors of HIV-1 replication in chronically infected cells. **Antiviral research**, v. 43, n. 3, p. 189–99, 1999.

GASPERI, G. et al. A new threat looming over the Mediterranean basin: emergence of viral diseases transmitted by *Aedes albopictus* mosquitoes. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 9, p. e1836, 27 jan. 2012.

GHEZZI, S. et al. Heparin prevents Zika virus induced-cytopathic effects in human neural progenitor cells. **Antiviral Research**, n. 2017, 2017.

GNIAZDOWSKI, M. et al. Effects of anticancer drugs on transcription factor–DNA interactions. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 9, n. 3, p. 471–489, 10 jun. 2005.

GÖERTZ, G. P. et al. Functional RNA during Zika virus infection. **Virus Research**, 2017.

GONZALEZ, O. et al. The heat shock protein inhibitor quercetin attenuates hepatitis C virus production. **Hepatology**, v. 50, n. 6, p. 1756–1764, 2009.

GOODFELLOW, J. A.; WILLISON, H. J. Guillain–Barré syndrome: a century of progress. **Nature Reviews Neurology**, v. 12, n. 12, p. 723–731, 18 nov. 2016.

GREENWOOD, J. R. et al. Towards the comprehensive, rapid, and accurate prediction of the favorable tautomeric states of drug-like molecules in aqueous solution. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 24, n. 6–7, p. 591–604, jun. 2010.

GUO, J. Studies using IPS cells support a possible link between ZIKA and microcephaly. **Cell & Bioscience**, v. 6, n. 1, p. 28, 2016.

HADDOW, A. D. et al. Genetic Characterization of Zika Virus Strains: Geographic Expansion of the Asian Lineage. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 2, p. e1477, 28 fev. 2012.

HALGREN, T. A. et al. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 2. Enrichment Factors in Database Screening. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 7, p.

1750–1759, 2004.

HAMEL, R. et al. Biology of Zika Virus Infection in Human Skin Cells. **Journal of Virology**, v. 89, n. 17, p. 8880–8896, 2015.

HEATON, N. S. et al. Dengue virus nonstructural protein 3 redistributes fatty acid synthase to sites of viral replication and increases cellular fatty acid synthesis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 107, n. 40, p. 17345–17350, 2010.

HERATH, H. M. T. B.; MÜLLER, K.; DIYABALANAGE, H. V. K. Synthesis of acrimarins from 1,3,5-trioxygenated-9-acridone derivatives. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 23–28, 2004.

HERNANDEZ-SANTIAGO, B. I. et al. Pharmacology and pharmacokinetics of the antiviral agent beta-D-2',3'-dideoxy-3'-oxa-5-fluorocytidine in cells and rhesus monkeys. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 49, n. 7, p. 2589–2597, 2005.

HOU, W. et al. Molecular cloning and characterization of the genes encoding the proteins of Zika virus. **Gene**, v. 628, p. 117–128, set. 2017.

HUANG, H. et al. Hepatitis C virus production by human hepatocytes dependent on assembly and secretion of very low-density lipoproteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 14, p. 5848–5853, 3 abr. 2007.

ISSUR, M. et al. The flavivirus NS5 protein is a true RNA guanylyltransferase that catalyzes a two-step reaction to form the RNA cap structure. **RNA**, v. 15, n. 12, p. 2340–2350, 1 dez. 2009.

JARDIM, A. C. G. et al. Natural compounds isolated from Brazilian plants are potent inhibitors of hepatitis C virus replication in vitro. **Antiviral Research**, v. 115, p. 39–47, mar. 2015.

KAUSHIK, A. et al. Electrochemical Biosensors for Early Stage Zika Diagnostics. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 4, p. 308–317, abr. 2017.

KITAZATO, K.; WANG, Y.; KOBAYASHI, N. Viral infectious disease and natural products with antiviral activity. **Drug discoveries & therapeutics**, v. 1, n. 1, p. 14–22, 2007.

KRAEMER, M. U. G. et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **eLife**, v. 4, n. JUNE2015, 30 jun. 2015.

KRAWCZYK, M. et al. Amidinoanthracyclines - A new group of potential anti-hepatitis C virus compounds. **Biological Chemistry**, v. 390, n. 4, p. 351–360, 2009.

KUIVANEN, S. et al. Obatoclax, saliphenylhalamide and gemcitabine inhibit Zika virus infection in vitro and differentially affect cellular signaling, transcription and metabolism. **Antiviral Research**, v. 139, p. 117–128, 2016.

KUNO, G. et al. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. **Journal of virology**, v. 72, n. 1, p. 73–83, 1998.

KUTLUAY, S. B. et al. Curcumin inhibits herpes simplex virus immediate-early gene expression by a mechanism independent of p300/CBP histone acetyltransferase activity. **Virology**, v. 373, n. 2, p. 239–247, 2008.

LANCIOTTI, R. S. et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 8, p. 1232–1239, ago. 2008.

LEUNG, D. et al. Activity of recombinant dengue 2 virus NS3 protease in the presence of a truncated NS2B co-factor, small peptide substrates, and inhibitors. **The Journal of biological chemistry**, v. 276, n. 49, p. 45762–71, 2001.

LI, C. et al. Zika Virus Disrupts Neural Progenitor Development and Leads to Microcephaly in Mice Cell Stem Cell Zika Virus Disrupts Neural Progenitor Development and Leads to Microcephaly in Mice. **Cell Stem Cell**, v. 19, p. 120–126, 2016.

LI, J. W.-H.; VEDERAS, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? **Science**, v. 325, n. 5937, p. 161–165, 2009.

LI, M. I. et al. Oral Susceptibility of Singapore *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) to Zika Virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, p. e1792, 28 ago. 2012.

LI, Y. et al. Membrane topology of NS2B of dengue virus revealed by NMR spectroscopy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1848, n. 10, p. 2244–2252, out. 2015.

LIM, H. JUNG et al. Inhibitory effect of flavonoids against NS2B-NS3 protease of ZIKA virus and their structure activity relationship. **Biotechnology Letters**, v. 39, n. 3, p. 415–421, 2017.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Molecular biology of flavivirus. **Adv Virus Res**, v. 59, p. 23–61, 2003.

LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B.W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 3–25, 1997.

LIU, M. M. et al. Discovery of flavonoid derivatives as anti-HCV agents via pharmacophore search combining molecular docking strategy. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 33–43, 2012.

LIU, S. et al. AXL-Mediated Productive Infection of Human Endothelial Cells by Zika Virus. **Circulation Research**, v. 119, n. 11, p. 1183–1189, 2016.

MACDONALD, A. et al. The hepatitis C virus non-structural NS5A protein inhibits activating protein-1 function by perturbing Ras-ERK pathway signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 20, p. 17775–17784, 2003.

MACKENZIE, J. M.; JONES, M. K.; YOUNG, P. R. Immunolocalization of the dengue virus nonstructural glycoprotein NS1 suggests a role in viral RNA replication. **Virology**, v. 220, n. 1, p. 232–240, 1996.

MADHAVI SASTRY, G. et al. Protein and ligand preparation: Parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 27, n. 3, p. 221–234, 2013.

MAGALHÃES-BARBOSA, M. C. DE et al. Trends of the microcephaly and Zika virus outbreak in Brazil, January–July 2016. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 14, n. 5, p. 458–463, 2016.

MAO, S. et al. Synthesis of enantiomerically pure D-FDOC, an anti-HIV agent. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 19, p. 4991–4994, 2004.

MARANO, G. et al. Zika virus and the never-ending story of emerging pathogens and transfusion medicine. **Blood transfusion**, v. 14, n. 2, p. 95–100, 2015.

MARTINEZ, J. P. et al. Antiviral drug discovery: broad-spectrum drugs from nature. **Nat. Prod. Rep.**, v. 32, n. 1, p. 29–48, 2015.

MAZZUCCO, M. B. et al. Antiviral activity of an N-allyl acridone against dengue virus. **Journal of Biomedical Science**, v. 22, n. 1, 2015.

MCCARTHY, M. Zika virus was transmitted by sexual contact in Texas, health officials report. **BMJ**, v. 352, p. i720, 4 fev. 2016.

MCGEE, C. E. et al. Infection, dissemination, and transmission of a West Nile virus green fluorescent protein infectious clone by *Culex pipiens quinquefasciatus* mosquitoes. **Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)**, v. 10, n. 3, p. 267–274, 2010.

MÉCHARLES, S. et al. Acute myelitis due to Zika virus infection. **The Lancet**, v. 387, n. 10026, p. 1481, abr. 2016.

MEERTENS, L. et al. Axl Mediates ZIKA Virus Entry in Human Glial Cells and Modulates Innate Immune Responses. **Cell Reports**, v. 18, n. 2, p. 324–333, 2017.

MERINO-RAMOS, T. et al. Antiviral Activity of Nordihydroguaiaretic Acid and Its Derivative Tetra- O -Methyl Nordihydroguaiaretic Acid against West Nile Virus and Zika Virus. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 8, p. e00376-17, ago. 2017.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological reviews**, v. 52, n. 4, p. 673–751, 2000.

MILLER, C. D. et al. Rilpivirine: A new addition to the anti-HIV-1 armamentarium. **Drugs of Today**, v. 47, n. 1, p. 5, 2011.

MILLER, S.; SPARACIO, S.; BARTENSCHLAGER, R. Subcellular localization and membrane topology of the Dengue virus type 2 Non-structural protein 4B. **The Journal of biological chemistry**, v. 281, n. 13, p. 8854–63, 2006.

MING, G.; TANG, H.; SONG, H. Advances in Zika Virus Research: Stem Cell Models, Challenges, and Opportunities. **Cell Stem Cell**, v. 19, n. 6, p. 690–702, 2016.

MLAKAR, J. et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 10, p. 951–958, 10 mar. 2016.

MOUNCE, B. C. et al. Curcumin inhibits Zika and chikungunya virus infection by inhibiting cell binding. **Antiviral Research**, v. 142, p. 148–157, 2017.

MULLER, V. D. et al. Phospholipase A2 Isolated from the Venom of *Crotalus durissus terrificus* Inactivates Dengue virus and Other Enveloped Viruses by Disrupting the Viral Envelope. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112351, 10 nov. 2014.

MURATA, K. et al. Induction of IFN- λ 3 as an additional effect of nucleotide, not nucleoside, analogues: a new potential target for HBV infection. **Gut**, p. 1–10, 2016.

MUSSO, D. et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 14, 2014.

MUSSO, D. et al. Potential sexual transmission of zika virus. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 359–361, 2015.

MUSSO, D.; NILLES, E. J.; CAO-LORMEAU, V.-M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. O595–O596, out. 2014.

MUTSO, M. et al. Reverse genetic system, genetically stable reporter viruses and packaged subgenomic replicon based on a Brazilian Zika virus isolate. **Journal of General Virology**, p. 1–13, 12 out. 2017.

NAHMIAS, Y. et al. Apolipoprotein B-dependent hepatitis C virus secretion is inhibited by the grapefruit flavonoid naringenin. **Hepatology**, v. 47, n. 5, p. 1437–1445, 2008.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery (Antiquity to late 1999). **Natural Product Reports**, v. 17, n. 3, p. 215–234, 2000.

NICASTRI, E. et al. Persistent detection of Zika virus RNA in semen for six months after symptom onset in a traveller returning from Haiti to Italy, February 2016. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 32, 2016.

NITTOLI, T. et al. Identification of anthranilic acid derivatives as a novel class of allosteric inhibitors of hepatitis C NS5B polymerase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2108–2116, 2007.

NOWAKOWSKI, T. J. et al. Expression analysis highlights AXL as a candidate zika virus entry receptor in neural stem cells. **Cell Stem Cell**, v. 18, n. 5, p. 591–596, 2016.

OLSON, J. G. et al. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 389–393, jan. 1981.

PAUPY, C. et al. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light.

Microbes and Infection, v. 11, n. 14–15, p. 1177–1185, 2009.

PERREIRA, J. M. et al. IFITMs Restrict the Replication of Multiple Pathogenic Viruses. **Journal of Molecular Biology**, v. 425, n. 24, p. 4937–4955, dez. 2013.

PETERSEN, E. et al. Rapid Spread of Zika Virus in The Americas - Implications for Public Health Preparedness for Mass Gatherings at the 2016 Brazil Olympic Games. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 44, n. May 2015, p. 11–15, mar. 2016a.

PETERSEN, L. R. et al. Zika Virus. **The New England journal of medicine**, v. 374, n. 16, p. 1552–63, 2016b.

PLODEK, A.; BRACHER, F. New Perspectives in the Chemistry of Marine Pyridoacridine Alkaloids. **Marine Drugs**, v. 14, n. 2, p. 26, 26 jan. 2016.

PRYOR, M. J.; WRIGHT, P. J. Glycosylation mutants of dengue virus NS1 protein. **J Gen Virol**, v. 75 (Pt 5), n. 1994, p. 1183–1187, 1994.

QUICKE, K. M. et al. Zika Virus Infects Human Placental Macrophages. **Cell Host and Microbe**, v. 20, n. 1, p. 83–90, 2016.

RALAPANAWA, D. M. P.; KULARATNE, S. A. M.; JAYALATH, W. A. T. A. Guillain–Barre syndrome following dengue fever and literature review. **BMC Research Notes**, v. 8, n. 1, p. 729, 27 dez. 2015.

ROBINSON, W. E. et al. Inhibitors of HIV-1 replication that inhibit HIV integrase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. June, p. 6326–6331, 1996.

ROY, A. et al. Solution conformations of Zika NS2B-NS3pro and its inhibition by natural products from edible plants. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, 2017.

SAHOO, M. et al. Virtual Screening for Potential Inhibitors of NS3 Protein of Zika Virus. **Genomics Inform**, v. 14, n. 3, p. 104–111, 2016.

SAIZ, J.-C. et al. Zika Virus: the Latest Newcomer. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. APR, 19 abr. 2016.

SAIZ, J.-C.; MARTÍN-ACEBES, M. A. Reply to Iannetta et al., “Azithromycin Shows Anti-Zika Virus Activity in Human Glial Cells”. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 9, p. e01192-17, 24 set. 2017a.

SAIZ, J.; MARTÍN-ACEBES, M. A. The Race To Find Antivirals for Zika Virus. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 6, p. e00411-17, jun. 2017b.

SAMARASEKERA, U.; TRIUNFOL, M. Concern over Zika virus grips the world. **The Lancet**, v. 387, n. 10018, p. 521–524, 2016.

SAVIDIS, G. et al. Identification of Zika Virus and Dengue Virus Dependency Factors using Functional Genomics. **Cell Reports**, v. 16, n. 1, p. 232–246, 2016.

SCHRÖDINGER RELEASE. Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY,. v. 2, 2015a.

SCHRÖDINGER RELEASE. LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY,. v. 2, 2015b.

SCHULER-FACCINI, L. et al. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. **Morbidity and mortality weekly report**, v. 65, n. 3, p. 59–62, 2016.

SEPÚLVEDA, C. S. et al. Acridones as antiviral agents: synthesis, chemical and biological properties. **Current medicinal chemistry**, v. 20, n. 19, p. 2402–14, 2013.

SERKEDJIEVA, J.; NIKOLOVA, E.; KIRILOV, N. Synergistic inhibition of influenza A virus replication by a plant polyphenol-rich extract and epsilon-aminocaproic acid in vitro and in vivo. **Acta virologica**, v. 54, n. 2, p. 137–45, 2010.

SHANKAR, A.; PATIL, A. A.; SKARIYACHAN, S. Recent Perspectives on Genome, Transmission, Clinical Manifestation, Diagnosis, Therapeutic Strategies, Vaccine Developments, and Challenges of Zika Virus Research. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. September, p. 1761, 14 set. 2017.

SHAPSHAK, P. et al. Zika virus. In: **Global Virology I-Identifying and Investigating Viral Diseases**. [s.l: s.n.]. p. 477–500.

SHELLEY, J. C. et al. Epik: A software program for pKa prediction and protonation state generation for drug-like molecules. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 21, n. 12, p. 681–691, 2007.

SIMPSON, D. I. H. Zika virus infection in man. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 58, n. 4, p. 335–337, 1964a.

SIMPSON, D. I. H. Zika virus infection in man. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 58, n. 4, p. 339–348, jul. 1964b.

SIROHI, D. et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. **Science**, v. 5316, n. March, p. 1–7, 2016.

SIROHI, D.; KUHN, R. J. Zika Virus Structure, Maturation, and Receptors. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 216, n. suppl_10, p. S935–S944, 16 dez. 2017.

SKALKA, A. M. et al. Principles of Virology, Volume I: Molecular Biology. [s.l.] **American Society of Microbiology**, 2015.

SMITH-BINDMAN, R. Is Computed Tomography Safe? **New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 1, p. 1–4, jul. 2010.

SONG, B.-H. et al. Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation. **Journal of Neuroimmunology**, v. 308, p. 50–64, 22 jul. 2017.

SOTO-ACOSTA, R. et al. Nordihydroguaiaretic acid (NDGA) inhibits replication and viral morphogenesis of dengue virus. **Antiviral Research**, v. 109, n. 1, p. 132–140, set. 2014.

STANKIEWICZ-DROGON, A. et al. New acridone-4-carboxylic acid derivatives as potential inhibitors of hepatitis C virus infection. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 16, n. 19, p. 8846–52, 2008.

STANKIEWICZ-DROGÓN, A. et al. Synthesis of new acridone derivatives, inhibitors of NS3 helicase, which efficiently and specifically inhibit subgenomic HCV replication. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 3117–3126, 2010.

STEPHEN, P.; LIN, S. X. RNA-dependent RNA polymerase: Addressing Zika outbreak by a phylogeny-based drug target study. **Chemical Biology and Drug Design**, 2017.

SWARUP, V. et al. Antiviral and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid in an experimental murine model of Japanese encephalitis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 9, p. 3367–3370, 2007.

SYED, G. H.; SIDDIQUI, A. Effects of hypolipidemic agent nordihydroguaiaretic acid on lipid droplets and hepatitis C virus. **Hepatology**, v. 54, n. 6, p. 1936–1946, 2011.

TANG, B. L. Zika virus as a causative agent for primary microencephaly: the evidence so far. **Archives of Microbiology**, v. 198, n. 7, p. 595–601, 13 set. 2016.

TANG, H. et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. **Cell Stem Cell**, v. 18, n. 5, p. 587–590, 2016.

TANJI, Y. et al. Hepatitis C virus-encoded nonstructural protein NS4A has versatile functions in viral protein processing. **Journal of virology**, v. 69, n. 3, p. 1575–1581, 1995.

TEIXEIRA, M. G. et al. The epidemic of Zika virus-related microcephaly in Brazil: Detection, control, etiology, and future scenarios. **American Journal of Public Health**, v. 106, n. 4, p. 601–605, 2016.

THOMAS, D. L. et al. Local Transmission of Zika Virus — Puerto Rico, November 23, 2015–January 28, 2016. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, n. 6, p. 154–158, 19 fev. 2016.

TIAN, H. et al. Structural basis of Zika virus helicase in recognizing its substrates. **Protein & cell**, v. 7, n. 8, p. 562–570, ago. 2016.

TIAN, Y. et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel 3,5-disubstituted-1,2,6-thiadiazine-1,1-dione derivatives as HIV-1 NNRTIs. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 82, n. 4, p. 384–393, 2013.

VAN AGTMAEL, M. Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 5, p. 199–205, 1 maio 1999.

VAN HEMERT, F.; BERKHOUT, B. Nucleotide composition of the Zika virus RNA genome and its codon usage. **Virology Journal**, v. 13, n. 1, p. 1–9, 2016.

VASILAKIS, N.; WEAVER, S. C. Flavivirus transmission focusing on Zika. **Current**

Opinion in Virology, v. 22, p. 30–35, fev. 2017.

VÁZQUEZ-CALVO, ÁNGELA et al. Antiviral properties of the natural polyphenols delphinidin and epigallocatechin gallate against the flaviviruses West Nile Virus, Zika Virus, and Dengue Virus. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JUL, 2017.

VENTURA, C. V. et al. Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 79, n. 1, p. 1–3, 2016.

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal polynomials. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 9, p. 1347–1350, 7 nov. 2010a.

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal polynomials. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 389–393, 7 nov. 2010b.

VOROU, R. Zika virus, vectors, reservoirs, amplifying hosts, and their potential to spread worldwide: what we know and what we should investigate urgently. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 48, p. 85–90, 2016.

VRONTAKI, E. et al. Searching for anthranilic acid-based thumb pocket 2 HCV NS5B polymerase inhibitors through a combination of molecular docking, 3D-QSAR and virtual screening. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 31, n. 1, p. 38–52, 2016.

WAN, Z.; CHEN, X. Triptolide inhibits human immunodeficiency virus type 1 replication by promoting proteasomal degradation of Tat protein. **Retrovirology**, v. 11, n. 1, p. 88, 2014.

WANG, L. et al. From Mosquitos to Humans: Genetic Evolution of Zika Virus. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 5, p. 561–565, maio 2016.

WANG, X.-F. et al. Design and synthesis of diarylamines and diarylethers as cytotoxic antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 19, p. 6224–6228, out. 2012.

WEAVER, S. C.; BARRETT, A. D. T. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 10, p. 789–801, out. 2004.

WHO. **The History of Zika Virus**. WHO. World Health Organization, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/emergencies/zika-virus/history/en/>>

WHO. Situation report: Zika virus, microcephaly, Guillain-Barré Syndrome, 10 march 2017. **Situation Report**, n. March, p. 1–5, 2017.

WHO. Current Zika Product Pipeline. WHO. World Health Organization, n. March, p. 1–16, 2016.

WONG, P. S. J. et al. *Aedes* (Stegomyia) albopictus (Skuse): A Potential Vector of Zika Virus in Singapore. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 8, p. e2348, 2013.

WOODS, C. G.; BOND, J.; ENARD, W. Autosomal Recessive Primary Microcephaly (MCPH): A Review of Clinical, Molecular, and Evolutionary Findings. **The American Journal of Human Genetics**, v. 76, n. 5, p. 717–728, maio 2005.

XIE, X. et al. Membrane Topology and Function of Dengue Virus NS2A Protein. **Journal of Virology**, v. 87, n. 8, p. 4609–4622, 2013.

XU, M. et al. Identification of small-molecule inhibitors of Zika virus infection and induced neural cell death via a drug repurposing screen. **Nature Publishing Group**, v. 22, n. 10, p. 1–9, 2016.

YUAN, L. et al. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. **Science**, v. 358, n. 6365, p. 933–936, 2017a.

YUAN, S. et al. Structure-based discovery of clinically approved drugs as Zika virus NS2B-NS3 protease inhibitors that potently inhibit Zika virus infection in vitro and in vivo. **Antiviral Research**, v. 145, p. 33–43, 2017b.

ZAMMARCHI, L. et al. Zika virus infection in a traveller returning to Europe from Brazil, March 2015. **Eurosurveillance**, v. 20, n. 23, p. 21153, 11 jun. 2015.

ZANELLO, P. R. et al. Quinic acid derivatives inhibit dengue virus replication in vitro. **Virology journal**, v. 12, n. 1, p. 223, 2015.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569–572, jun. 2015.

ZHANG, C. et al. Structure of the NS5 methyltransferase from Zika virus and implications in inhibitor design. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 492, n. 4, p. 624–630, 2017.

ZHANG, Z. et al. Crystal structure of unlinked NS2B-NS3 protease from Zika virus. **Science**, v. 354, n. 6319, p. 1597–1600, 2016.

ZHAO, B. et al. Structure and function of the Zika virus full-length NS5 protein. **Nature Communications**, v. 8, p. 14762, 27 mar. 2017.

ZHENG, H. et al. Molecular characterization of Japanese encephalitis virus strains prevalent in Chinese swine herds. **Journal of veterinary science**, v. 14, n. 1, p. 27–36, 2013.

ZHU, Z. et al. Comparative genomic analysis of pre-epidemic and epidemic Zika virus strains for virological factors potentially associated with the rapidly expanding epidemic. **Emerging Microbes and Infections**, v. 5, n. 3, 2016.