



**INSTITUTO  
FEDERAL**  
Rio de Janeiro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

*Campus Realengo*

Bacharelado em Farmácia

Rayanne Victória Santana da Silva

**REPOSICIONAMENTO DE  
MEDICAMENTOS PARA O  
TRATAMENTO DA FEBRE AMARELA:  
UMA BREVE REVISÃO DA LITERATURA**

Rio de Janeiro

2021

RAYANNE VICTÓRIA SANTANA DA SILVA

**REPOSICIONAMENTO DE MEDICAMENTOS PARA O  
TRATAMENTO DA FEBRE AMARELA: UMA BREVE REVISÃO DA  
LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadores: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Débora Leandro Rama Gomes (IFRJ) e Prof. Dr. Pedro Paulo de Abreu Manso (Fiocruz).

Rio de Janeiro  
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação.  
Elaborada por Karina Barbosa dos Santos  
Bibliotecária - CRB 7 nº 6212

S586

Silva, Rayanne Victória Santana da

Reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre amarela:  
uma breve revisão da literatura / Rayanne Victória Santana da Silva, 2021.

83f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Farmácia) – Instituto  
Federal do Rio de Janeiro, 2021.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Débora Leandro Rama Gomes

Coorientador(a): Prof. Dr. Pedro Paulo de Abreu Manso

1. febre amarela. 2. Reposicionamento. 3. Medicamentos. 4. Flavivírus I.  
Instituto Federal do Rio de Janeiro. Campus Realengo. II. Gomes, Débora  
Leandro Rama. III. Manso, Pedro Paulo de Abreu IV. Título.

COBIB/CReal

CDU 615

RAYANNE VICTÓRIA SANTANA DA SILVA

**REPOSICIONAMENTO DE MEDICAMENTOS PARA O TRATAMENTO DA  
FEBRE AMARELA: UMA BREVE REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como parte dos requisitos  
necessários para a obtenção do título de  
Bacharel em Farmácia.

Data da aprovação: 11/10/2021.

Banca Examinadora:



---

**Profª Drª Débora Leandro Rama Gomes**  
(Orientadora Interna – IFRJ)



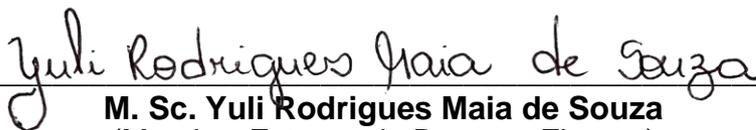
---

**Dr. Pedro Paulo de Abreu Manso**  
(Orientador Externo – Fiocruz)



---

**Profª Drª Elisa Suzana Carneiro Pôças**  
(Membro Interno da Banca – IFRJ)



---

**M. Sc. Yuli Rodrigues Maia de Souza**  
(Membro Externo da Banca – Fiocruz)

Rio de Janeiro  
2021

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelo seu imenso amor e por todas as bênçãos em minha vida. Agradeço ao Senhor por ter me dado força e coragem para conquistar os meus objetivos.

Agradeço aos meus pais Lucimar e Jefferson por todo o apoio e dedicação ao longo da minha trajetória. Essa vitória também pertence a eles, que sempre acreditaram no meu potencial e são os meus maiores fãs. Também deixo um agradecimento especial ao meu amor, Rodrigo, por toda ajuda e compreensão durante todos esses anos de graduação.

Agradeço aos meus amigos, em especial as “farmaravilhosas”, Beatriz, Lohaine, Rebeca e Rafaela, e também aos “farmentorpecidos”, Pedro e Gabriel. Vocês foram essenciais durante toda a minha caminhada e não consigo mensurar o quanto sou grata por tudo que vivi ao lado de vocês. Agradeço também à Vitória, por toda a parceria durante esses anos de iniciação científica.

Agradeço ao meu orientador Dr. Pedro Paulo pelo apoio, confiança e ajuda no desenvolvimento deste trabalho. Agradeço à minha co-orientadora Yuli Maia por ter me ensinado tanto e a toda equipe do LABPAT por terem contribuído para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Agradeço à minha orientadora Prof<sup>a</sup> Débora Rama que, além de me auxiliar na elaboração e correção deste trabalho, confiou em mim a responsabilidade de ser monitora da disciplina de Microbiologia e Imunologia.

Agradeço à minha querida amiga Tathiane que, desde o ensino médio, sempre me incentivou e esteve ao meu lado. Aos meus amigos Lucas e Késia, agradeço pelos bons momentos e por todo o carinho que vocês têm por mim.

Dedico este trabalho ao meu avô Wilas,  
à minha avó Maria José e à minha madrinha Luciene Oliveira.

SILVA, R. V. S. Reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre amarela: uma breve revisão da literatura. 39 p. Trabalho de Conclusão de Curso. Bacharelado em Farmácia. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus Realengo*, Rio de Janeiro, RJ, 2021.

## RESUMO

A febre amarela é uma doença infecciosa febril aguda causada pelo vírus da febre amarela. É considerada uma doença endêmica e enzoótica nas regiões tropicais da América do Sul e da África. A vacina atenuada contra a febre amarela é segura e eficaz e representa a principal forma de prevenção. Entretanto, ela possui contraindicações e efeitos adversos. Atualmente, não existe um medicamento específico para esta doença, devido à ausência de uma droga antiviral eficiente. Desse modo, a busca por alternativas para o tratamento da febre amarela é de extrema relevância e o reposicionamento de medicamentos tem surgido como uma opção promissora. Nesse sentido, este trabalho teve por objetivo realizar revisão da literatura científica sobre o reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre amarela. Foi realizada pesquisa bibliográfica em diferentes bancos de dados científicos no período de 2001 a 2021, utilizando também bibliografias de anos anteriores que se demonstraram fundamentais ao presente estudo. O reposicionamento de fármacos apresenta uma série de vantagens frente ao desenvolvimento de medicamentos de forma tradicional. Contudo, também existem desafios e limitações associados a esta estratégia. A terapia antiviral depende principalmente de medicamentos que atuem especificamente nas proteínas virais, mas também podem ter como alvo proteínas do hospedeiro que são indispensáveis à biossíntese viral. Nesse sentido, foram apresentados os principais fármacos que vêm sendo estudados de acordo com seu mecanismo de ação, com destaque para a temoporfina, niclosamida, sofosbuvir e ribavirina. Por fim, pesquisas voltadas especificamente para o reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre amarela ainda são necessárias, com estudos clínicos e parâmetros farmacológicos bem descritos, uma vez que grande parte dos artigos investigaram flavivírus de um modo geral, principalmente o vírus da dengue.

Palavras-chave: febre amarela; reposicionamento; medicamentos; flavivírus.

SILVA, R. V. S. Drug repositioning for the treatment of yellow fever: a brief review of the literature. 39 p. Trabalho de Conclusão de Curso. Bacharelado em Farmácia. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus Realengo*, Rio de Janeiro, RJ, 2021.

## **ABSTRACT**

Yellow fever is an acute febrile infectious disease caused by the yellow fever virus. It is considered an endemic and enzootic disease in the tropical regions of South America and Africa. The yellow fever attenuated vaccine is safe and effective and represents the main mode of prevention. However, it has contraindications and adverse effects. Currently, there is no specific treatment for this disease due to the absence of an efficient antiviral drug. Thus, the search for alternatives for the treatment of yellow fever is extremely relevant and drug repositioning has emerged as a promising option. In this sense, this study aimed to review the scientific literature on the repositioning of drugs for the treatment of yellow fever. Bibliographic research was carried out in different scientific databases from 2001 to 2021, also using bibliographies from previous years that proved to be fundamental to the present study. Drug repurposing has a number of advantages over the development of medicines in a traditional way. However, there are also challenges and limitations associated with this strategy. Antiviral therapy depends primarily on drugs that specifically target viral proteins, but may also target host proteins that are indispensable to viral biosynthesis. In this sense, the main drugs that have been studied were presented according to their mechanism of action, with emphasis on temoporphine, niclosamide, sofosbuvir and ribavirin. Finally, research specifically aimed at the repositioning of drugs for the treatment of yellow fever is still needed, with well described clinical studies and pharmacological parameters, since most of the articles investigated flaviviruses in general, especially dengue virus.

Keywords: yellow fever; repositioning; drugs; flavivirus.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema da partícula viral de um flavivirus.....	13
Figura 2 – Representação esquemática do genoma dos flavivírus.....	14
Figura 3 – Esquema da biossíntese dos flavivírus.....	15
Figura 4 – Estrutura do ácido acetilsalicílico ou aspirina.....	18
Figura 5 – Comparação entre o desenvolvimento de medicamentos de forma tradicional e o reposicionamento de fármacos.....	20
Figura 6 – Farmacologia do sofosbuvir contra o vírus da febre amarela.....	25
Figura 7 – Pré-tratamento e tratamento tardio de camundongos com sofosbuvir.....	25
Figura 8 – Carga viral em pacientes submetidos à terapia com sofosbuvir.....	26
Figura 9 – Efeito do ácido micofenólico e da ribavirina na titulação viral.....	30
Figura 10 – Atividade antiviral do brequinar.....	31
Figura 11 – A uridina reverte o efeito antiviral do brequinar.....	32

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	9
1.1 OBJETIVOS.....	10
<b>1.1.1 Objetivo geral</b> .....	<b>10</b>
<b>1.1.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>11</b>
<b>2 DESENVOLVIMENTO</b> .....	12
2.1 METODOLOGIA .....	12
2.2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
<b>2.2.1 Vírus da febre amarela e sua patogênese</b> .....	<b>12</b>
<b>2.2.2 Desenvolvimento da vacina contra a febre amarela</b> .....	<b>16</b>
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	17
<b>2.3.1 Reposicionamento de medicamentos</b> .....	<b>17</b>
2.3.1.1 Vantagens do reposicionamento de medicamentos .....	19
2.3.1.2 Desafios e limitações associados ao reposicionamento de medicamentos .....	19
<b>2.3.2 Reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre             amarela</b> .....	<b>21</b>
2.3.2.1 Inibidores da NS3 protease .....	22
2.3.2.1.1 <i>Temoporfina e niclosamida</i> .....	22
2.3.2.2 Inibidores da NS5 RNA polimerase .....	24
2.3.2.2.1 <i>Sofosbuvir</i> .....	24
2.3.2.3 Inibidores da NS3 helicase .....	27
2.3.2.3.1 <i>Ivermectina</i> .....	27
2.3.2.4 Inibidores da biossíntese de nucleosídeos .....	28
2.3.2.4.1 <i>Ribavirina e ácido micofenólico</i> .....	28
2.3.2.4.2 <i>Brequinar</i> .....	31
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	33
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34

## 1 INTRODUÇÃO

O vírus da febre amarela, é um membro protótipo do gênero *Flavivirus*, que pertence à família *Flaviviridae*, transmitido por artrópodes (arbovírus). O relato mais antigo sobre a febre amarela foi encontrado em um manuscrito Maia em 1648. Entretanto, estudos do genoma viral sugerem que este vírus evoluiu de outros vírus transmitidos por mosquitos há cerca de 3.000 anos na África, sendo disseminado para o Novo Mundo através do comércio de escravos (MONATH, 2001).

A febre amarela é uma doença endêmica e enzoótica nas regiões tropicais da América do Sul e da África sendo responsável por surtos periódicos. Existem dois ciclos epidemiológicos de transmissão da febre amarela: o urbano e o silvestre. No ciclo urbano, o principal vetor é o mosquito *Aedes aegypti* na América do Sul e na África, não apresentando reservatórios animais de relevância epidemiológica. No ciclo silvestre, a doença é transmitida, no continente americano, por mosquitos de dois gêneros, *Haemagogus* e *Sabethes*, tendo como principal fonte de infecção os primatas não-humanos (CAVALCANTE; TAUILL, 2017).

O quadro clínico da febre amarela pode variar desde infecções assintomáticas até as formas graves e fatais, sendo a forma grave descrita em três fases: infecção, remissão e intoxicação. O início dos sintomas pode ocorrer em uma média de 4 dias após a transmissão do vírus através da picada do mosquito infectado (WAGGONER; ROJAS; PINSKY, 2018).

O desenvolvimento da vacina 17D contra a febre amarela representou um grande avanço na história das vacinas virais e desde o seu desenvolvimento em 1937, “mais de 500 milhões de pessoas foram vacinadas e acredita-se que mais de 98% dos vacinados estejam protegidos por pelo menos 10 anos” (HEINZ; STIASNY, 2012).

Apesar da disponibilidade da vacina, esta apresenta algumas contraindicações, como em indivíduos com histórico de hipersensibilidade a algum componente da vacina, incluindo ovos e seus derivados, crianças menores de seis meses ou adultos maiores de 60 anos (CETRON *et al.*, 2002). Além das contraindicações, e apesar da relativa segurança desde 1996, surgiram relatórios de eventos adversos, incluindo doença neurológica associada à vacina contra a febre amarela (YEL-AND), doença viscerotrópica associada à vacina contra a febre amarela (YEL-AVD) e reações de hipersensibilidade associadas à alergia ao ovo, nomeada anafilaxia (PORUDOMINSKY; GOTUZZO, 2018).

Além disso, estudos afirmam que a cobertura vacinal é insuficiente e que cerca de 400 milhões de pessoas ainda precisam de vacinação para que se possa atingir então, o limiar de cobertura populacional de 80% recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (SHEARER *et al.*, 2017).

Cabe ressaltar que pesquisas têm indicado uma possível reurbanização da febre amarela devido a surtos da doença em países como Angola, República Democrática do Congo e Brasil, somado à disseminação do principal vetor humano, o mosquito *A. aegypti* (SHEARER *et al.*, 2018). O ciclo silvestre da febre amarela é responsável por um surto que ocorreu no Brasil entre julho de 2016 a abril de 2017, com cerca de 691 casos confirmados e 220 óbitos. Entre julho de 2017 a abril de 2018 com 1.127 casos confirmados e 328 óbitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Atualmente, não existe um tratamento específico para a febre amarela, devido à ausência de uma droga antiviral eficiente. Logo, o tratamento de apoio deve ser iniciado em casos de suspeita clínica e baseia-se nos sintomas apresentados pelos indivíduos acometidos pela doença, comumente sendo prescritos analgésicos, antitérmicos e antieméticos, de acordo com cada caso (VASCONCELOS, 2003).

Nesse contexto, a busca por alternativas ou novas estratégias para o desenvolvimento de terapêuticas para o tratamento da febre amarela é de extrema relevância. O reposicionamento de medicamentos apresenta-se como uma proposta promissora, pois baseia-se na identificação e desenvolvimento de novos usos para medicamentos já existentes e comercializados para uso clínico. Acredita-se que o reposicionamento de medicamentos apresente muitas vantagens se comparado ao processo de desenvolvimento tradicional, devido ao conhecimento prévio sobre a substância (LANGEDIJK *et al.*, 2015).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Realizar revisão da literatura científica sobre o reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre amarela.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar o vírus da febre amarela e sua patogênese;
- Abordar o desenvolvimento da vacina contra a febre amarela;
- Apresentar vantagens, desafios e limitações associados ao reposicionamento de medicamentos;
- Pesquisar os principais fármacos com potencial de reposicionamento para o tratamento da febre amarela.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 METODOLOGIA

Foi realizada pesquisa bibliográfica com levantamento de dados da literatura científica do período de 2001 a 2021, utilizando também bibliografias de anos anteriores que demonstraram ser fundamentais ao presente estudo.

Este levantamento bibliográfico foi realizado por meio de buscas por documentação indireta utilizando os bancos de dados LILACS, Periódicos CAPES, *Pubmed* e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), utilizando as seguintes palavras-chave com ou sem combinações entre si, tanto em português como em inglês: febre amarela, reposicionamento, medicamentos, fármacos, flavivírus e mecanismo de ação. Além dos artigos encontrados nos bancos de dados, também foram consultados livros, teses, revistas e sites.

Após breve leitura, como critério de exclusão, foram desconsiderados artigos que não se aplicavam ao tema e que se repetiam nas diferentes bases de dados.

### 2.2 REFERENCIAL TEÓRICO

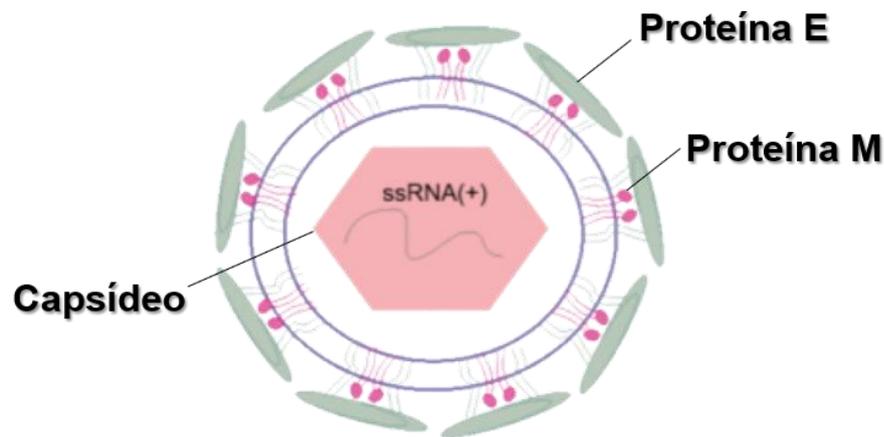
#### 2.2.1 Vírus da febre amarela e sua patogênese

A febre amarela é uma doença infecciosa febril aguda transmitida por vetores artrópodes. O vírus da febre amarela é um arbovírus protótipo pertencente ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*; sendo *flavus* amarelo em latim. Os gêneros desta família contêm um grande número de patógenos humanos, incluindo o vírus da dengue, com quatro sorotipos distintos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) e o vírus Zika no gênero *Flavivirus*, além do vírus da hepatite C no gênero *Hepacivirus* (CHEN *et al.*, 2018).

As partículas virais dos flavivírus são esféricas, medem de 40 a 60 nanômetros (nm) de diâmetro, possuem capsídeo de simetria icosaédrica, composto de subunidades da proteína do capsídeo (C), circundado por uma bicamada lipídica derivada das membranas do hospedeiro. O envelope viral é cravejado de dímeros de glicoproteína de envelope (E) e proteína de membrana (M). A glicoproteína E é o principal componente da superfície e possui a maior parte da atividade biológica, incluindo ligação ao receptor da superfície celular, montagem do vírion, atividade de

fusão em pH baixo e imunogenicidade (Figura 1) (KROL; BRZUSKA; SZEWCZYK, 2019). Dentro do nucleocapsídeo, encontra-se o material genético desses vírus, o qual é formado por uma fita simples de RNA, de sentido positivo, com aproximadamente 10.8 kilobases (kb) (MEIER *et al.*, 2009).

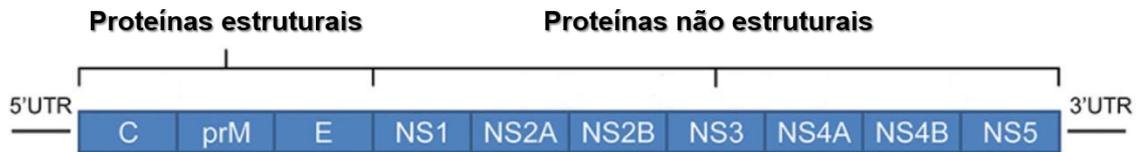
Figura 1. Esquema da partícula viral de um flavivirus.



Legenda: O nucleocapsídeo é formado pela proteína do capsídeo (C) e o genoma de RNA de fita simples de polaridade positiva (ssRNA+). O envelope viral contém os dímeros da glicoproteína E que recobre a bicamada lipídica e a proteína M está localizada abaixo da camada de proteína E. Fonte: Adaptado de KROL; BRZUSKA; SZEWCZYK, 2019.

A entrada dos flavivírus nas células-alvo é mediada pela interação da glicoproteína E, presente no envelope viral, com receptores de superfície celular. Depois da ligação das glicoproteínas com os receptores do hospedeiro, as partículas virais entram nas células por meio de endocitose mediada por clatrina, formando o endossomo. O ambiente ácido do endossomo desencadeia uma alteração conformacional irreversível da proteína E que resulta na fusão das membranas viral e celular, e o nucleocapsídeo é liberado no citoplasma (BRESSANELLI *et al.*, 2004; MODIS *et al.*, 2004). A proteína do capsídeo e o RNA se dissociam e a replicação do genoma de RNA é iniciada. Uma vez que o genoma é liberado no citoplasma, inicia-se a replicação viral, na qual ocorre a tradução da fita de mRNA de polaridade positiva originando uma única poliproteína que posteriormente é processada por proteases virais e da célula do hospedeiro, formando 3 proteínas estruturais (Proteínas E, M e C) e 7 proteínas não-estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) sendo estas de extrema relevância para a replicação viral (Figura 2) (GUZMAN *et al.*, 2010).

Figura 2. Representação esquemática do genoma dos flavivírus.



Legenda: O genoma codifica três proteínas estruturais: proteína do capsídeo (C), proteína do envelope (E) e proteína de membrana, a qual é inicialmente expressa pelo precursor (prM), e sete proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5). Fonte: Adaptado de FERNÁNDEZ-SANLÉS *et al.*, 2017.

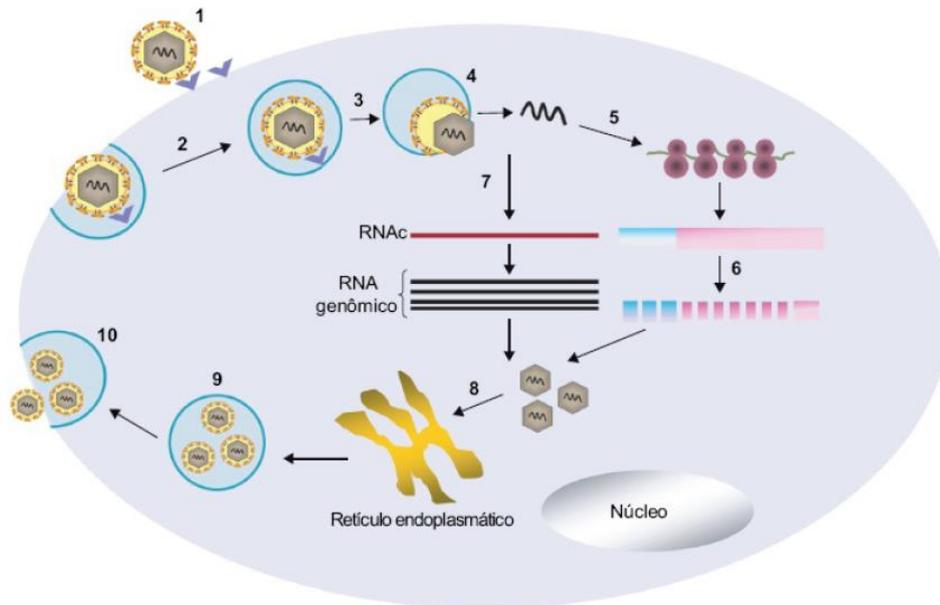
A replicação do RNA genômico ocorre também no citoplasma, em associação a membranas celulares nos chamados complexos de replicação viral, no qual estão presentes proteínas virais não-estruturais, com a síntese de uma fita de RNA complementar, com polaridade negativa, o intermediário replicativo, que serve como molde para a produção de novas fitas de RNA com polaridade positiva (BRINTON, 2002; MACKENZIE, 2005).

Inicialmente, as partículas virais imaturas são formadas no lúmen do retículo endoplasmático. Essas partículas, que contêm a proteína E e o precursor da proteína de membrana (prM), não podem induzir a fusão célula-hospedeiro, portanto são partículas não infecciosas. A montagem dos vírus ocorre no retículo endoplasmático e as partículas virais imaturas são encaminhadas para o complexo de Golgi onde ocorre a clivagem do prM em M, pela ação das furinas, levando à maturação do vírus. Por fim, as partículas virais são liberadas por exocitose (Figura 3) (MUKHOPADHYAY; KUHN; ROSSMANN, 2005).

O vírus penetra pela pele, após inoculação pelo mosquito infectado, e inicia sua replicação nos linfonodos regionais, disseminando-se em seguida via corrente sanguínea, para outros órgãos, como fígado, rins, medula óssea, sistema nervoso central, coração, pâncreas, baço e linfonodos. As lesões estão relacionadas com o órgão onde ocorre a replicação viral, com consequente necrose celular sendo mais proeminentes no fígado e nos rins. O fígado encontra-se aumentado, com necrose médio-zonal, esteatose e com degeneração de hepatócitos decorrente de apoptose celular. A formação dos corpúsculos de Councilman pode ser observada nas células do fígado. Icterícia e baixa na produção de protrombina ocorrem como consequência da replicação viral nos macrófagos hepáticos (células de Kupffer) e os rins também se

apresentam maiores e há presença de edema no interstício com pequeno infiltrado inflamatório mononuclear (SANTOS; ROMANOS; WIGG, 2015).

Figura 3. Esquema da biossíntese dos flavivírus.



Legenda: **1.** Adsorção da partícula viral através da interação entre a glicoproteína E e os receptores na membrana celular. **2.** A endocitose ocorre em vesículas recobertas por clatrina. **3.** Fusão do envelope com a membrana do endossomo que ocorre em pH ácido. **4.** Liberação do nucleocapsídeo e desnudamento do ácido nucleico. **5.** O RNA genômico serve como RNA mensageiro (RNAm) e é traduzido em uma poliproteína. **6.** A poliproteína é clivada gerando proteínas estruturais e não estruturais. **7.** A replicação do RNA genômico ocorre no citoplasma, em associação a membranas celulares nos chamados complexos de replicação viral. **8.** A morfogênese das partículas virais ocorre nas proximidades do retículo endoplasmático, onde adquire o envelope com as proteínas E e prM já inseridas, seguida da clivagem de prM em M e rearranjo na proteína E no complexo de Golgi. **9 e 10.** O transporte para a membrana plasmática é realizado por meio de vesículas que se fundem com a membrana celular, liberando as partículas por exocitose. Fonte: SANTOS; ROMANOS; WIGG, 2015.

A evolução clínica da febre amarela é dividida em três fases, que se iniciam após um período de incubação de três a seis dias, sendo estas: infecção, remissão e intoxicação. O período de infecção, corresponde ao período de viremia e dura entre 3 a 4 dias. Caracteriza-se pelos sintomas inespecíficos como febre, calafrios, cefaleia intensa, mialgia generalizada, dor lombossacral, mal-estar intenso, fotofobia e prostração. Em seguida, há o período de remissão no qual ocorre melhora significativa do quadro clínico, com o paciente chegando mesmo a ficar afebril. Esse período é curto, não mais do que 48 horas, e nas formas abortivas o quadro clínico se resolve nessa fase, com melhora do paciente. Na fase de intoxicação, que se inicia entre o

terceiro e o sexto dia, há o retorno da febre, uma piora progressiva e o surgimento de icterícia, albuminúria, oligúria, manifestações hemorrágicas, delírio, estupor, coma e mesmo choque. A morte se dá por falência múltipla dos órgãos (CIMERMAN, 2004).

O tratamento é apenas sintomático e a conduta depende dos achados clínicos e laboratoriais. O acompanhamento ambulatorial pode ser feito nas formas clínicas leve e moderada com cuidadosa assistência ao paciente, que, sob hospitalização, deve permanecer em repouso, com reposição de líquidos e das perdas sanguíneas, quando indicado. Nas formas graves, o paciente deve ser atendido em unidade de terapia intensiva (UTI), com intuito de reduzir as complicações e o risco de óbito (BRASIL, 2016).

### **2.2.2 Desenvolvimento da vacina contra a febre amarela**

No final do século 19, a febre amarela era uma pestilência conhecida e temida no hemisfério ocidental e nas regiões costeiras da África Ocidental, para a qual nenhuma causa ou tratamento eficaz era conhecido. Embora a profissão médica ainda não conhecesse muitos aspectos da doença, as observações acumuladas haviam tornado certos fatos claros: ocorreu de forma epidêmica e endêmica; estava associado a portos e novos surtos eram frequentemente associados à chegada de um navio de um foco conhecido; um “germe” transmissível foi presumido, mas a transmissão não foi direta; e a recuperação da doença conferiu imunidade durável (FERREIRA *et al.*, 2011).

Os esforços para produzir vacinas inativadas durante o início do século 20 foram malsucedidos. Com isso, o desenvolvimento da vacina contra o vírus da febre amarela teve início em 1927, quando o vírus foi isolado pela primeira vez do sangue de um jovem africano chamado Asibi. Em 1932, a primeira vacina contra a febre amarela foi desenvolvida por Andrew Sellards, da Universidade de Harvard, em colaboração com Jean Laigret, do Instituto Pasteur em Tunis. A vacina neurotrópica francesa, produzida através de passagens em cérebro de ratos, provou ser eficaz, especialmente para reduzir doenças epidêmicas nos países da África Ocidental, mas foi descontinuada por causa da alta incidência de eventos adversos, especialmente encefalite (BARNETT, 2007; MONATH, 2001).

Em 1936, Max Theiler, Wray Lloyd e Hugh Smith na Fundação Rockefeller desenvolveram a vacina viva atenuada através de métodos empíricos de passagens sequenciais do vírus Asibi em embriões de galinha nos quais o cérebro e a medula

espinhal foram removidos (MONATH, 2005). Existem atualmente seis produtores de vacinas contra a febre amarela com apenas quatro considerados pré-qualificados pela OMS: Bio-Manguinhos (Rio de Janeiro, Brasil), Sanofi Pasteur (Lyon, França), Instituto Pasteur (Dacar, Senegal) e Instituto de Poliomielite e Encefalite Vírus (Moscou, Rússia) (FERREIRA *et al.*, 2018).

A produção brasileira da vacina atenuada contra a febre amarela ficou consolidada no Instituto Oswaldo Cruz e desde a sua criação, em 1976, o Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos / Fiocruz produz milhões de doses da vacina anualmente (FIOCRUZ, 2017).

A vacinação com a cepa YF-17D resulta em uma infecção viral aguda, na qual há uma viremia média que atinge o pico em cerca de 5 a 7 dias e, subsequentemente, se dissipa. Acredita-se que os anticorpos neutralizantes sejam os principais responsáveis pela proteção contra a infecção pelo vírus da febre amarela e a imunização é conhecida por proteger contra a infecção em mais de 90% dos vacinados (PULENDRAN, 2009).

Apesar de ser considerada uma vacina segura, dois tipos de eventos adversos graves têm sido reportados: a doença neurotrópica associada à vacina, causada pela neuroinvasão do vírus vacinal e a doença viscerotrópica associada à vacina, que é uma infecção multissistêmica que começa geralmente com envolvimento hepático, uma condição muito semelhante à infecção causada pelo vírus selvagem (CRUZ, 2011).

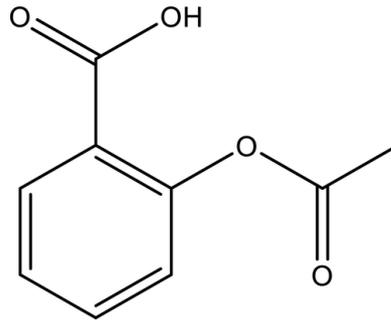
## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Reposicionamento de medicamentos

O reposicionamento de medicamentos é definido como o “processo de encontrar novos usos fora do âmbito da indicação médica original para medicamentos existentes, sendo também conhecido como redirecionamento, reaproveitamento e *reprofiling*” (ASHBURN; THOR, 2004, p. 673).

Um dos exemplos mais antigos de reposicionamento de medicamentos é o do ácido acetilsalicílico (aspirina) (Figura 4). Inicialmente comercializada como analgésico pela empresa química e farmacêutica Bayer em 1899, a aspirina foi reposicionada pela primeira vez na década de 1980, apenas em baixas doses, como um antiagregante plaquetário (MONNERET; BOHUON, 2009).

Figura 4. Estrutura do ácido acetilsalicílico ou aspirina.



Fonte: JOURDAN *et al.*, 2020.

Em 1971, Vane descobriu o mecanismo pelo qual a aspirina exerce sua ação anti-inflamatória, analgésica e antipirética. Os resultados mostraram que a aspirina e outros anti-inflamatórios não esteróides inibem a atividade de uma enzima, chamada ciclooxigenase (COX), que leva à formação de prostaglandinas que causam inflamação, inchaço, dor e febre. Com a descoberta de um segundo gene *cox*, ficou claro que existem duas isoformas da enzima (VANE; BOTTING, 2003).

A COX-1 está presente em quase todos os tecidos (vasos sanguíneos, plaquetas, estômago, intestino, rins) e é por isso denominada de enzima constitutiva. A COX-1 está associada à produção de prostaglandinas e resulta em diversos efeitos fisiológicos, como proteção gástrica, agregação plaquetária, homeostase vascular e manutenção do fluxo sanguíneo renal. Em contraste, a COX-2 está presente nos locais de inflamação, sendo, por isso, denominada de enzima indutiva. Ela é expressa primariamente por células envolvidas no processo inflamatório, como macrófagos, monócitos, entre outros (HILÁRIO; TERRERI; LEN, 2006).

Em doses baixas (<300 mg/dia), a aspirina tem seletividade parcial para COX-1 e exerce sua ação de antiagregante plaquetário. Os efeitos analgésicos e anti-inflamatórios da aspirina decorrem da inibição da COX-2. Além disso, a inibição da COX-1 pela aspirina, independente da dose administrada, também é responsável pelos efeitos danosos no trato gastrointestinal, devido ao papel dessa enzima na síntese das prostaglandinas envolvidas na proteção gástrica. (JOURDAN *et al.*, 2020).

Estudos de reposicionamento da aspirina na área da oncologia vêm sendo conduzidos com o objetivo de avaliar a eficácia da aspirina na prevenção e no tratamento do câncer colorretal. Vários ensaios clínicos projetados para avaliar o

papel da aspirina no tratamento do câncer colorretal estão em andamento (COYLE; CAFFERTY; LANGLEY, 2016).

#### 2.3.1.1 Vantagens do reposicionamento de medicamentos

A descoberta de um novo medicamento é um processo demorado, trabalhoso, de alto custo e risco. Estudos indicam que geralmente leva de 10 a 15 anos para desenvolver um novo medicamento e, em média, a taxa de sucesso do desenvolvimento de uma nova estrutura molecular é de apenas 2,01% (YEUE; YOON; PARK, 2015).

Devido ao rápido crescimento do conhecimento de bioinformática, o reposicionamento diminui significativamente o tempo do processo de desenvolvimento de medicamentos. Os pesquisadores precisam apenas de 1 a 2 anos para identificar novos alvos e, em média, 8 anos para desenvolver um medicamento reposicionado (Figura 5) (XUE *et al.*, 2018). Portanto, não é surpreendente que nos últimos anos aproximadamente 30% dos novos medicamentos que chegam ao mercado são reposicionados (YELLA *et al.*, 2018).

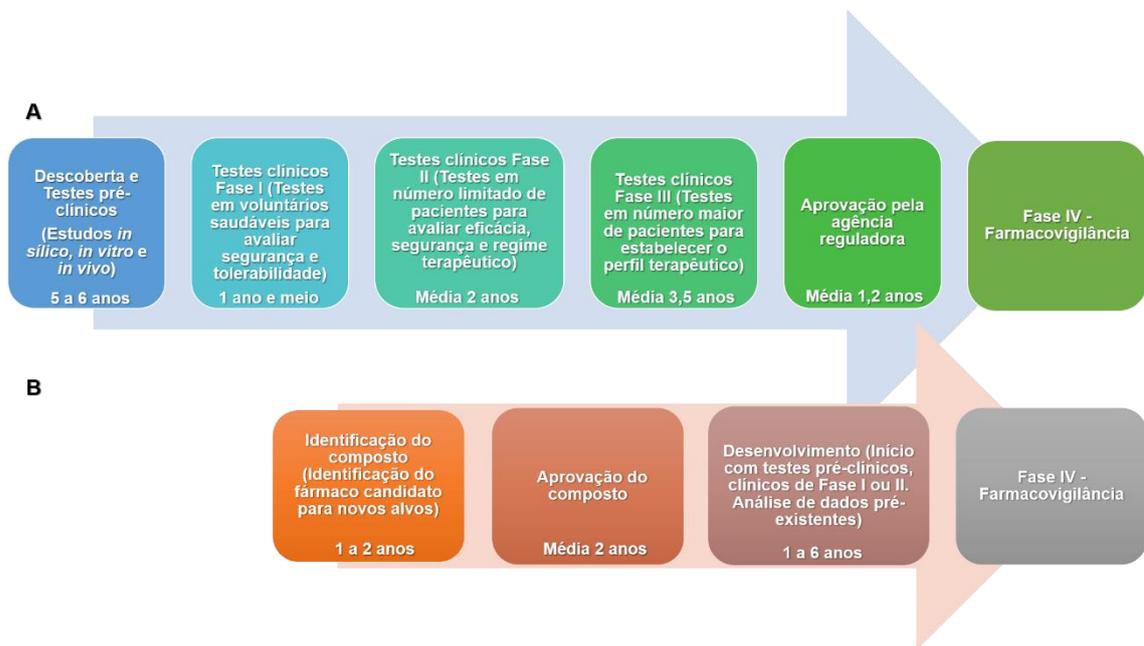
Segundo Pantziarka e colaboradores (2018), o reposicionamento pode oferecer uma série de vantagens em termos de desenvolvimento, como (i) a disponibilidade de dados farmacocinéticos, farmacodinâmicos e posológicos; (ii) conhecimento de segurança, toxicidade e eventos adversos; (iii) experiência clínica derivada das indicações originais; (iv) disponibilidade generalizada em todo o mundo; (v) baixo custo; e (vi) compreensão dos mecanismos de ação e alvos moleculares do fármaco. No entanto, apesar das vantagens que o reposicionamento possa oferecer, principalmente em termos de toxicidade e custo, provar a eficácia em qualquer nova indicação permanece um desafio.

#### 2.3.1.2 Desafios e limitações associados ao reposicionamento de medicamentos

Embora o reposicionamento de medicamentos apresente diversas vantagens e muito progresso tenha sido feito nos últimos anos, o principal objetivo desta estratégia é a aprovação do medicamento reposicionado no mercado. Para tal, alguns desafios e limitações podem ser previstos, desde a etapa de desenvolvimento até a aprovação. Além dos desafios científicos na identificação de compostos candidatos favoráveis e robustos, há a necessidade de estabelecer modelos de negócios para oferecer suporte a trazer moléculas existentes como terapias para novas doenças (CHA *et al.*,

2018). Além disso, semelhante a qualquer outro projeto, o reposicionamento precisa de um investimento inicial, o que, em muitos casos, pode representar um desafio (NOVAC, 2013).

Figura 5. Comparação entre o desenvolvimento de medicamentos de forma tradicional e o reposicionamento de fármacos.



Legenda: A) Fluxograma do processo de desenvolvimento de medicamentos de forma tradicional. B) Fluxograma do reposicionamento de medicamentos. Fonte: Adaptado de GRANDO; OLIVEIRA; FIORRE, 2020.

Pillaiyar e colaboradores (2020), destacaram algumas limitações do reposicionamento de medicamentos que merecem ser consideradas: (i) desafios técnicos e requisitos legais, como direitos de propriedade intelectual, que podem dificultar todo o processo e muitas vezes são difíceis de superar; (ii) desenvolvimento de micro-organismos resistentes por conta do consumo de um medicamento para uma variedade de doenças; (iii) a dificuldade para identificar um medicamento que possa curar ou tratar duas doenças diferentes sozinho.

Para superar tais limitações, as possíveis soluções incluem a colaboração entre academia, setores de biotecnologia e instituições como a indústria. Esse tipo de colaboração poderá disponibilizar os recursos necessários para o desenvolvimento e

a comercialização de medicamentos reposicionados. Associado a isto, é necessário o engajamento de todas as partes interessadas desde o início do processo (profissionais de saúde, agentes reguladores, etc.), bem como a garantia da viabilidade do ensaio clínico, a inovação de ponta e a novidade do medicamento reposicionado (POLAMREDDY; GATTU, 2019).

O sucesso do reposicionamento de medicamentos depende da necessidade de maximizar a eficácia terapêutica em novos alvos, enquanto minimiza os efeitos fora do alvo (CZECH; LALANI; OYEWUMI, 2019). A análise de todos os fatores descritos anteriormente, bem como as interações com agentes reguladores e colaborações com grandes empresas farmacêuticas permitirão que medicamentos reposicionados entrem com sucesso no mercado.

### **2.3.2 Reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre amarela**

A terapia antiviral depende principalmente de antivirais de ação direta que inibem especificamente as proteínas virais, essenciais para a replicação viral, e ausentes nas células hospedeiras ou pelo menos significativamente diferentes das proteínas humanas, provavelmente tendo mais chances de diminuir o grau de toxicidade. Os inibidores capazes de inibir amplamente muitos ou todos os flavivírus devem ter como alvo as proteínas virais com um bom grau de conservação em todo o gênero (FELICETTI *et al.*, 2020).

Estudos indicam que as proteases e polimerases virais representam os principais alvos na descoberta de medicamentos antivirais (BOLLATI *et al.*, 2010; MALET *et al.*, 2008). Os inibidores dessas enzimas são atualmente utilizados para tratar o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e o vírus da hepatite C (HCV) (KIM *et al.*, 2011). Consistente a isso, as proteínas estruturais, principalmente a proteína do capsídeo (C) e a proteína do envelope (E), e as proteínas não estruturais, com destaque para a NS3 e a NS5, representam potenciais alvos para inibição por medicamentos antivirais. NS3 e NS5 exercem funções essenciais para a replicação viral, não possuem homólogos humanos e reconhecem substratos conservados, como locais de clivagem de poliproteínas bem como nucleotídeos e RNA. Essas duas proteínas mostram o mais alto grau de conservação em todo o gênero *Flavivirus*, resultando assim em alvos virais ideais para identificar inibidores de amplo espectro (FELICETTI *et al.*, 2020; SAMPATH; PADMANABHAN, 2009).

Além dos alvos virais, os flavivírus utilizam proteínas hospedeiras para realizar sua entrada na célula, biossíntese e montagem de novas partículas virais. Medicamentos antivirais podem ter como alvo proteínas do hospedeiro, desde que apresentem toxicidade seletiva, ou seja, possibilidade de utilização sendo minimamente tóxicos para o hospedeiro (NOBLE *et al.*, 2010).

Nesse sentido, com base nas considerações apontadas anteriormente, buscou-se pesquisar os principais fármacos com potencial de reposicionamento para o tratamento da febre amarela, os quais serão apresentados de acordo com seu mecanismo de ação.

#### 2.3.2.1 Inibidores da NS3 protease

A proteína NS3 está associada à membrana do retículo endoplasmático por meio de sua interação próxima com a região hidrofílica central da proteína integral da membrana NS2B. A região N-terminal da NS3 e seu cofator NS2B constituem a protease que cliva a poliproteína viral e, além disso, NS2B-NS3 serve como um centro para a montagem do complexo de replicação dos flavivírus (LUO; VASUDEVAN; LESCAR, 2015). O domínio NS3 C-terminal possui atividades de RNA helicase e RNA trifosfatase e está envolvido tanto na replicação de RNA viral quanto na formação de partículas virais (XU *et al.*, 2005). Os papéis desempenhados pela proteína NS2B-NS3, a tornam um alvo atraente para a descoberta de novos medicamentos antivirais (ZHANG *et al.*, 2016).

##### 2.3.2.1.1 Temoporfina e niclosamida

A temoporfina é um agente fotossensibilizante utilizado no alívio dos sintomas do carcinoma espinocelular avançado da cabeça e pescoço (um tipo de cancro que começa nas células que revestem a boca, nariz, garganta ou ouvido). Ela é distribuída no corpo, incluindo nas células tumorais, e quando a área do tumor é exposta à luz laser não térmica, a temoporfina é ativada, reage com as células tumorais e o oxigênio nas células para criar espécies reativas de oxigênio. Estes matam as células, destruindo seus componentes, como suas proteínas e DNA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2021; LORENZ; MAIER, 2008).

A niclosamida é um medicamento anti-helmíntico usado há mais de 50 anos, principalmente no tratamento de infecções por tênias como *Taenia sodium* e *Taenia saginata*, através do desacoplamento da fosforilação mitocondrial do parasita, que

interfere no processo de obtenção de energia. No entanto, com o aumento das iniciativas de reposicionamento de medicamentos, a niclosamida mostrou potencial no tratamento da doença de Parkinson, diabetes, infecções virais e microbianas, bem como vários tipos de câncer. Essas atividades farmacológicas diversas são resultado da capacidade da niclosamida de modular diversas vias de sinalização, que estão relacionadas com muitas doenças (KADRI; LAMBOURNE; MEHELLOU, 2018).

Li e colaboradores (2017), testaram a ação da temoporfina e da niclosamida como inibidores de amplo espectro para os flavivírus visando o sítio de ligação a NS2B em NS3, uma vez que esse sítio é conservado entre as proteases NS3 dos flavivírus. Os resultados demonstraram que tanto a temoporfina quanto a niclosamida inibiram efetivamente a atividade da protease NS2B-NS3 dos flavivírus testados com valores de IC<sub>50-pro</sub> 1,1 e 12,3 µM, respectivamente (Tabela 1).

Além disso, tais substâncias apresentaram atividade antiviral de amplo espectro contra todos os flavivírus incluídos no estudo. Os dados indicaram que tanto a temoporfina como a niclosamida são inibidores muito potentes com valores baixos de EC<sub>50</sub> na faixa micromolar, principalmente a temoporfina. Esta substância reduziu significativamente o título viral na ausência de exposição à luz para todos os vírus testados, sugerindo que a substância não requer fotoativação para sua atividade (Tabela 1) (LI *et al.*, 2017).

Tabela 1. Atividade antiviral da temoporfina e niclosamida contra os flavivírus.

Composto	IC <sub>50-pro</sub> <sup>‡</sup> (µM)	Vírus	EC <sub>50</sub> <sup>‡</sup> (µM)
Temoporfina	1,1 ± 0,1	ZIKV	0,024 ± 0,003
		ZIKV*	0,022 ± 0,002
		DENV2	0,020 ± 0,003
		YFV*	0,006 ± 0,001
Niclosamida	12,3 ± 0,6	ZIKV	0,48 ± 0,06
		DENV2	0,55 ± 0,05
		YFV	0,84 ± 0,02

Legenda: Sorotipo 2 do vírus da dengue (DENV2); vírus da febre amarela (YFV); zika vírus (ZIKV).  
 \* experimento foi realizado sem luz ambiente (no escuro). IC<sub>50-pro</sub> <sup>‡</sup>: concentração de composto necessária para inibir 50% de uma reação ou ligação; EC<sub>50</sub> <sup>‡</sup>: a concentração efetiva na qual a produção de vírus é reduzida em 50%. Fonte: Adaptado de LI *et al.*, 2017.

### 2.3.2.2 Inibidores da NS5 RNA polimerase

A NS5 é uma proteína bifuncional que tem no seu domínio amino-terminal uma metiltransferase envolvida na metilação da extremidade 5' do RNA genômico, enquanto que seu domínio carboxi-terminal carrega a RNA polimerase dependente de RNA responsável pela síntese de RNA viral (MALET *et al.*, 2008).

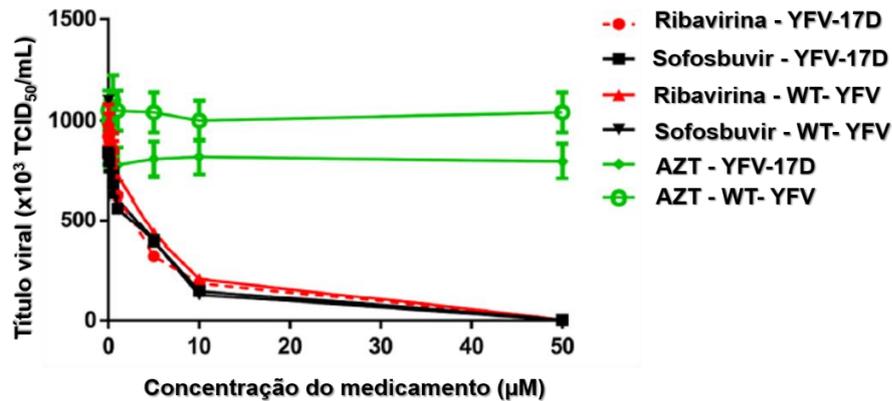
#### 2.3.2.2.1 Sofosbuvir

O sofosbuvir, já clinicamente aprovado contra a hepatite C, foi estudado quanto à potencial atividade inibitória da replicação do vírus da dengue. Este medicamento tem como alvo a NS5 RNA polimerase, enzima crítica para a replicação viral, e causa a terminação da cadeia de RNA após a sua conversão para a forma nucleotídica trifosfato ativa. XU *et al.* (2017) observaram que o sofosbuvir apresentou atividade antiviral contra o vírus da dengue em cultura de células com EC<sub>50</sub> de 4,9 µM. Mendes *et al.* (2019) também relataram atividade antiviral deste medicamento contra o vírus da febre amarela apresentando um EC<sub>50</sub> de 0.4±0.1.

Nesse sentido, Freitas *et al.* (2019) monitoraram a susceptibilidade do vírus da febre amarela ao sofosbuvir usando linhagens de células de carcinoma hepatocelular humano. Como controle positivo para inibir a replicação do vírus, foi utilizada a ribavirina, um antiviral de amplo espectro que inibe a replicação do vírus da febre amarela *in vitro* e *in vivo*. A zidovudina (AZT) foi empregada como controle negativo e não afetou a replicação do vírus. Como resultado, foi observado que o sofosbuvir diminuiu a produção de partículas virais infecciosas através da inibição da replicação do RNA viral das cepas vacinais, bem como do vírus selvagem, de maneira dose-dependente, reduzindo o número de células infectadas (Figura 6).

O sofosbuvir mostrou ser capaz de inibir a replicação de RNA viral *in vitro*, diminuir o número de células infectadas e a produção de partículas virais infecciosas. Esses dados são particularmente relevantes, visto que o fígado é o principal alvo da infecção pelo vírus da febre amarela e o local onde o sofosbuvir é majoritariamente convertido em seu metabólito ativo. Este medicamento também protegeu os animais infectados da mortalidade e da perda de peso (Figura 7), especialmente profilaticamente. Os resultados pré-clínicos apoiam um segundo uso de sofosbuvir contra a febre amarela (FREITAS *et al.*, 2019).

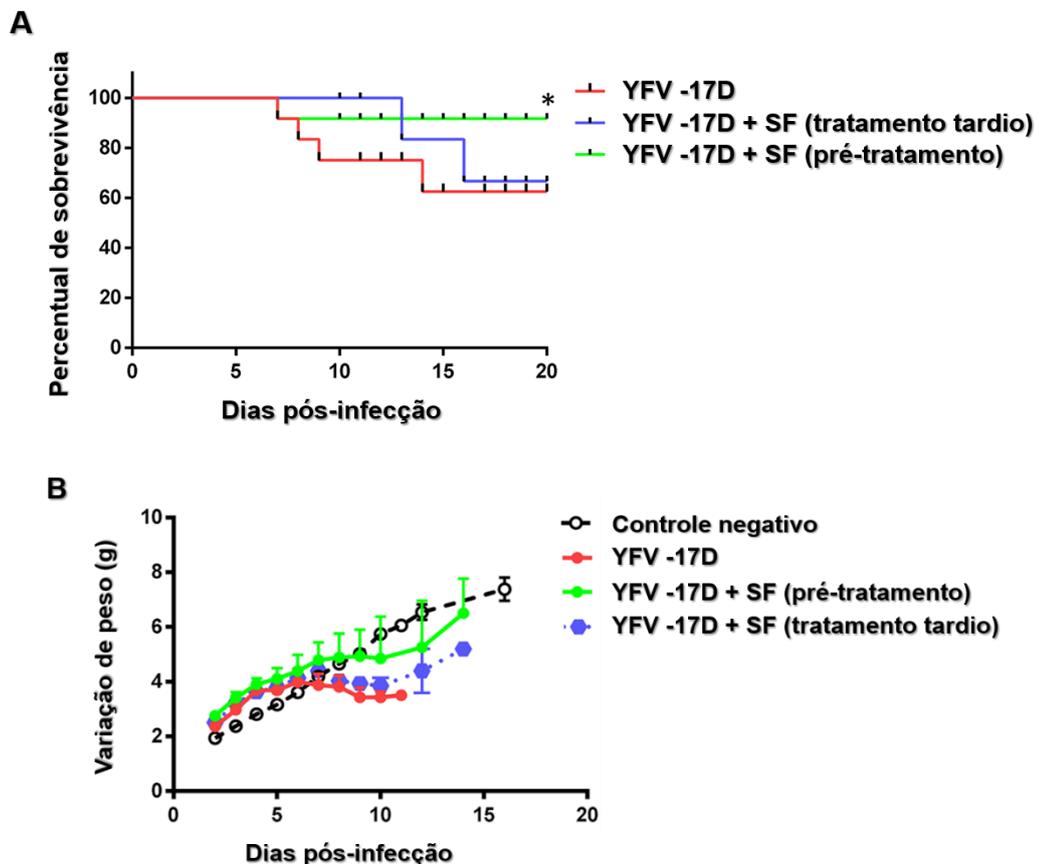
Figura 6. Farmacologia do sofosbuvir contra o vírus da febre amarela.



Legenda: Células Huh-7 foram infectadas com a cepa vacinal (YFV-17D) e selvagem (WT-YFV) do vírus da febre amarela na MOI de 0,1 e expostos a várias concentrações dos antivirais por 24h. Os sobrenadantes foram colhidos e titulados em células Vero (linhagem de rim de macaco-verde africano) por TCID<sub>50</sub>/mL. Os dados representam médias de cinco experimentos independentes.

Fonte: FREITAS *et al.*, 2019.

Figura 7. Pré-tratamento e tratamento tardio de camundongos com sofosbuvir.

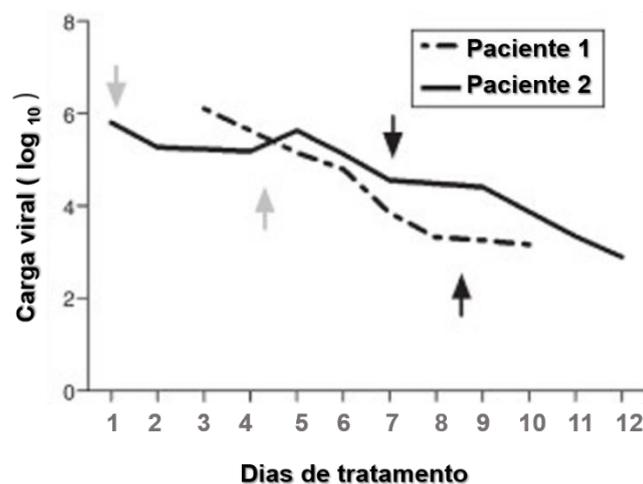


Legenda: Os camundongos suíços de três dias de idade foram infectados com a cepa vacinal do vírus da febre amarela (YFV-17D) e tratados com sofosbuvir (SF) 1 dia antes (pré-tratamento) ou 1 dia após a infecção (tratamento tardio). A sobrevivência (A) e a variação de peso (B) foram avaliadas durante o curso do tratamento. Pelo menos três experimentos independentes foram realizados com 10 camundongos/grupo. Fonte: Adaptado de FREITAS *et al.*, 2019.

Mendes e colaboradores (2019) relataram que os resultados promissores *in vitro* referentes ao sofosbuvir sugerem estudos para análise *in vivo* desta substância contra a infecção pelo vírus da febre amarela. Para entender sua eficácia em pacientes, o sofosbuvir foi usado em um tratamento *off-label*, ou seja, o uso não aprovado, que não consta na bula e como um uso compassivo em dois pacientes com diagnóstico de febre amarela e negativos para todos os marcadores relacionados ao vírus HIV e da hepatite C.

As cargas virais destes dois pacientes são mostradas na Figura 8. O paciente 1 apresentou redução importante da carga viral durante o tratamento, o que foi acompanhado por uma melhora nos parâmetros clínicos. O paciente 2 também apresentou redução da carga viral e ambos os pacientes receberam alta hospitalar. É importante ressaltar que dentre os parâmetros clínicos analisados estavam as enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama-glutamil transferase (GGT), que no momento da alta hospitalar do paciente 1 estavam ainda aumentadas. Esses resultados iniciais sugerem que o sofosbuvir é ativo contra a infecção pelo vírus da febre amarela, confirmando os resultados obtidos *in vitro*, os quais devem ser avaliados posteriormente em um número maior de pacientes (MENDES *et al.*, 2019).

Figura 8. Carga viral em pacientes submetidos à terapia com sofosbuvir.



Legenda: A carga viral do paciente 1 é mostrada como uma curva tracejada, enquanto que para o paciente 2 foi utilizada uma curva preta. O dia inicial da terapia com sofosbuvir é indicado pela seta cinza, enquanto a seta preta indica o último dia de terapia.

Fonte: Adaptado de MENDES *et al.*, 2019.

### 2.3.2.3 Inibidores da NS3 helicase

Durante o ciclo de replicação dos flavivírus, o genoma viral é transcrito em um RNA de fita negativa, que por sua vez é usado como molde para a síntese de novo RNA genômico viral. Para manter a replicação viral, os transcritos nascentes devem ser desenrolados de seus RNA molde complementares por uma helicase dependente de ATP. Nos flavivírus, esta atividade é fornecida pelo domínio C-terminal da proteína NS3 helicase (CARUTHERS; MCKAY, 2002; LUO *et al.*, 2008).

#### 2.3.2.3.1 Ivermectina

A ivermectina é um antiparasitário com amplo espectro de ação utilizado para o controle de doenças tropicais negligenciadas. As principais indicações para este medicamento são oncocercose e filariose linfática (NAVARRO *et al.*, 2020). Além disso, a ivermectina é empregada no tratamento de estrogiloidíase, ascariíase, escabiose (sarna), pediculose (piolhos), entre outras doenças (CRUMP, 2017).

O mecanismo de ação da ivermectina consiste na ligação seletiva a receptores de neurotransmissores específicos que atuam nas sinapses motoras periféricas dos parasitas, ou seja, a substância se liga aos canais de cloro (Cl<sup>-</sup>) controlados pelo glutamato, que estão presentes nas células nervosas e musculares dos invertebrados, causando a paralisia e a morte do parasita (CHHAIYA; MEHTA; KATARIA, 2012). Estudos revelaram a ivermectina como uma droga de amplo espectro com efeitos antiparasitários, antivirais e efeitos na inibição da proliferação de células cancerosas (LAING; GILLAN; DEVANEY, 2017).

Foi demonstrado que a ivermectina inibiu a replicação *in vitro* de diferentes flavivírus. Os dados indicam que a ivermectina inibiu a atividade de diferentes helicases dos flavivírus analisados, incluindo o vírus da febre amarela, vírus da dengue e o vírus do Nilo Ocidental, com valores baixos de IC<sub>50</sub> na faixa micromolar. Este medicamento mostrou ser mais potente contra o vírus da febre amarela, com EC<sub>50</sub> 0.0005 µM, mas também inibiu, embora de forma menos eficiente, a replicação de outros flavivírus (Tabela 2). A atividade antiviral foi caracterizada por meio de estudos cinéticos, como a inibição não competitiva da helicase viral, na qual a ivermectina é capaz de se ligar ao complexo proteína/RNA, bloqueando a atividade enzimática (MASTRANGELO *et al.*, 2012).

A ivermectina tem sido amplamente estudada no âmbito do reposicionamento de medicamentos devido ao seu efeito antiviral exercido por meio de uma variedade de mecanismos. Estudos vêm examinando os efeitos antivirais da ivermectina em uma grande variedade de RNA vírus, incluindo o vírus HIV e, mais recentemente, o SARS-CoV-2, responsável pela pandemia de COVID-19. Entretanto, os resultados não apresentaram evidências suficientes para que o Painel de Diretrizes de Tratamento de COVID-19 recomendasse o uso de ivermectina para o tratamento desta doença (HEIDARY; GHAREBAGH, 2020; NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2021).

Tabela 2. Efeito da ivermectina na atividade de helicases e formação de RNA viral em culturas de células Vero infectadas por flavivírus.

Vírus	IC <sub>50</sub> (µM) <sup>a</sup>	EC <sub>50</sub> (µM) <sup>b</sup>
YFV	0,12 ± 0,01	0,0005
DENV	0,50 ± 0,07	0,7
WNV	0,35 ± 0,04	4

Legenda: Vírus da febre amarela (YFV); vírus da dengue (DENV); vírus do Nilo Ocidental (WNV). a: concentração de composto necessária para atingir 50% de inibição da atividade da helicase. b: concentração de composto necessária para inibir a síntese de RNA viral em 50%.

Fonte: Adaptado de MASTRANGELO *et al.*, 2012.

#### 2.3.2.4 Inibidores da biossíntese de nucleosídeos

Os vírus codificam apenas alguns genes essenciais e dependem fortemente das células hospedeiras para completar seu ciclo de replicação (ZAKARIA; CARLETTI; MARCELLO, 2018). A replicação viral depende do hospedeiro para fornecer nucleosídeos. Desse modo, as enzimas hospedeiras envolvidas na biossíntese de nucleosídeos são alvos potenciais para o desenvolvimento de fármacos antivirais (MEI-JIAO *et al.*, 2018).

##### 2.3.2.4.1 Ribavirina e ácido micofenólico

A ribavirina é um análogo de nucleosídeo com ampla atividade contra patógenos virais. É um medicamento utilizado no tratamento da hepatite C crônica,

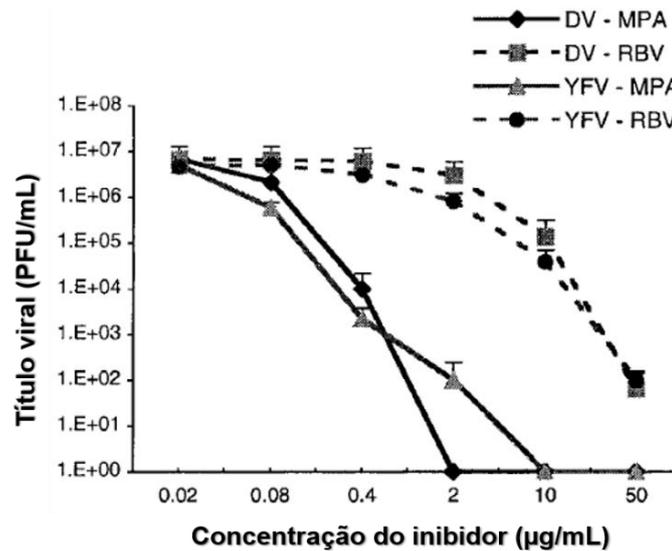
porém seu mecanismo de ação ainda não está completamente elucidado. A ribavirina parece ter atividade direta mínima contra a replicação do vírus da hepatite C, mas pode levar à mutação rápida e letal dos vírions ou depleção do trifosfato de guanosina intracelular, que é necessário para a síntese do RNA viral. Além disso, a ribavirina tem efeitos imunomoduladores e, quando associada ao interferon, melhora de forma acentuada a resposta imune contra infecções virais (HOOFNAGLE; SEEFF, 2006).

O ácido micofenólico é um imunossupressor altamente eficaz usado no transplante renal, mas também é aprovado para a profilaxia da rejeição do aloenxerto após o transplante cardíaco ou hepático. O ácido micofenólico atua como um inibidor não competitivo da inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH), em particular a isoforma IMPDH2, e esta inibição diminui os níveis intracelulares de guanosina, o que resulta na inibição da atividade enzimática da biossíntese de nucleosídeos (PAN *et al.*, 2012).

Um estudo *in vitro* avaliou as propriedades antivirais da ribavirina e do ácido micofenólico no vírus da febre amarela e no sorotipo 2 do vírus da dengue. As células Hep3B (células de carcinoma hepatocelular com hepatite B) foram tratadas com ribavirina ou ácido micofenólico imediatamente após a infecção com o vírus da febre amarela e foi observada diminuição do título viral de maneira dose-dependente (Figura 9). O ácido micofenólico foi mais potente que a ribavirina, pois nas concentrações de 2 e 10 µg/mL foi capaz de reduzir completamente a produção do sorotipo 2 do vírus da dengue e do vírus da febre amarela, respectivamente. Por outro lado, a maior concentração de ribavirina testada não foi capaz de eliminar totalmente a produção dos vírus (DIAMOND; ZACHARIAH; HARRIS, 2002).

Cabe destacar que Leyssen e colaboradores (2005) sugeriram que o mecanismo predominante pelo qual a ribavirina e o ácido micofenólico exercem seu efeito antiviral é através da inibição da IMPDH. Para avaliar tal suposição, culturas de células Vero foram infectadas com a cepa vacinal do vírus da febre amarela e tratadas com ribavirina e ácido micofenólico, de acordo com a quantidade de guanosina adicionada. Essa suplementação restaurou quase completamente a replicação viral, revertendo de forma eficiente a atividade antiviral de ambas as substâncias, principalmente quando a guanosina foi adicionada em uma concentração de 25 µg/mL. Além disso, foi observado efeito dose-dependente no ácido micofenólico quando concentrações mais baixas foram usadas (Tabela 3).

Figura 9. Efeito do ácido micofenólico e da ribavirina na titulação viral.



Legenda: As células Hep3B foram expostas ao sorotipo 2 do vírus da dengue (DV) e ao vírus da febre amarela (YFV), e incubadas com concentrações crescentes de ácido micofenólico (MPA) ou ribavirina (RBV). 72h após a infecção, os sobrenadantes foram colhidos para ensaios de placa viral. Os dados do ensaio de placa são expressos como o número de unidades formadoras de placa por mililitro (PFU/mL). Fonte: Adaptado de DIAMOND; ZACHARIAH; HARRIS, 2002.

Tabela 3. Efeito da guanosina sobre a atividade antiviral do ácido micofenólico e da ribavirina.

Quantidade (µg/mL) de guanosina adicionada	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	
	MPA	Ribavirina
0 (controle)	0,06 ± 0,03	40 ± 9,0
1,0	0,057 ± 0,008	≥86
2,5	0,06 ± 0,06	> 100
10	0,15 ± 0,06	> 100
25	> 2,5*	> 100

Legenda: Células Vero infectadas com a cepa vacinal do vírus da febre amarela (YFV-17D) foram tratadas com ácido micofenólico (MPA) e ribavirina de acordo com a quantidade de guanosina adicionada. \*concentração mais alta usada em um experimento foi de 2,5 µg/mL. Em outro experimento, o EC<sub>50</sub> foi > 100 µg/ml. Os dados contra o vírus da febre amarela são de dois experimentos independentes (e até oito determinações separadas).

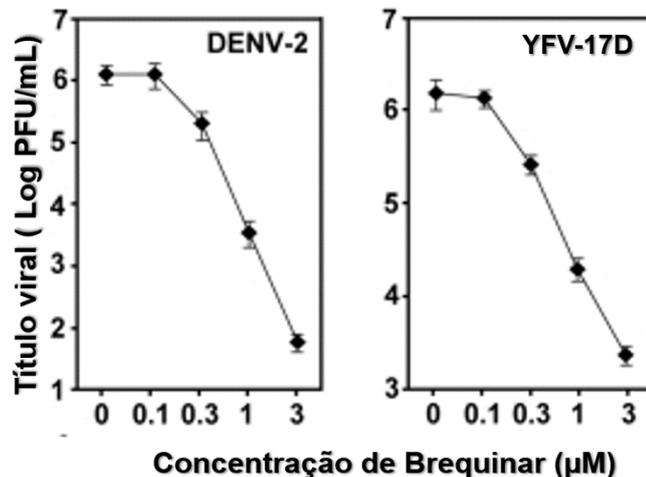
Fonte: Adaptado de LEYSSEN *et al.*, 2005.

#### 2.3.2.4.2 Brequinar

O brequinar foi originalmente desenvolvido como um agente antineoplásico e de imunossupressão que age por meio da inibição da diidroorotato desidrogenase (DHODH), uma enzima indispensável na via da biossíntese de pirimidina. Logo, esta substância bloqueia a síntese de nucleotídeos à base de pirimidina no corpo e, portanto, inibe o crescimento celular. Estudos sugerem que os inibidores da via de síntese da pirimidina poderiam ser alvos potenciais para a terapia contra o vírus da dengue (WANG *et al.*, 2011).

Nesse sentido, Qing *et al.* (2010) investigaram as propriedades antivirais do brequinar contra o vírus da dengue. Para tal, foi realizado ensaio de redução de título viral com células Vero usando o sorotipo 2 do vírus da dengue e a cepa vacinal do vírus da febre amarela. Os resultados apresentados na Figura 10 demonstram que houve redução do título viral de uma maneira dose-dependente para ambos os vírus testados.

Figura 10. Atividade antiviral do brequinar.

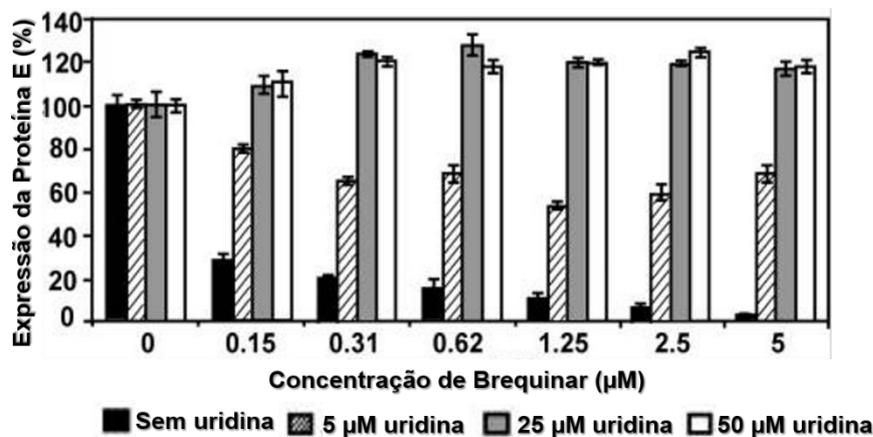


Legenda: As células Vero foram infectadas com o sorotipo 2 do vírus da dengue (DENV-2) e a cepa vacinal do vírus da febre amarela (YFV-17D) com MOI de 0,1. As células infectadas foram imediatamente tratadas com brequinar, os meios de cultura foram coletados em 42h pós-infecção e os títulos virais foram medidos usando ensaios de placa. Fonte: Adaptado de QING *et al.*, 2010.

Os autores também conduziram experimentos para verificar se o efeito inibitório do brequinar poderia ser revertido pela adição de uridina exógena, uma vez que o brequinar inibe a atividade da DHODH e, portanto, bloqueia a biossíntese de

pirimidina. Nesse sentido, células A549 (linhagem pulmonar) foram infectadas com o sorotipo 2 do vírus da dengue e tratadas com diferentes doses de brequinar e uridina. Foi observado que a adição de uridina ao meio de cultura resgatou a replicação viral de uma maneira também dose-dependente (Figura 11). A suplementação com uridina 5  $\mu\text{M}$  restaurou parcialmente a replicação viral e a suplementação com 25  $\mu\text{M}$  ou 50  $\mu\text{M}$  de uridina resgatou completamente a replicação viral (QING *et al.*, 2010).

Figura 11. A uridina reverte o efeito antiviral do brequinar.



Legenda: As células A549 foram infectadas com o sorotipo 2 do vírus da dengue (DENV-2) e tratadas com diferentes doses de brequinar e uridina. Às 48 h pós-infecção, a proteína do envelope viral foi quantificada. Fonte: Adaptado de QING *et al.*, 2010.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de a febre amarela ser considerada um sério problema de saúde pública, não foram encontrados muitos estudos sobre o reposicionamento de medicamentos para o tratamento desta doença. Tal fato pode ser justificado pela existência de uma vacina segura e eficaz, que representa a principal forma de prevenção.

Entretanto, como descrito anteriormente neste trabalho, a vacina da febre amarela apresenta contraindicações e efeitos adversos. Considerando os grupos de indivíduos para os quais a imunização é contraindicada, os efeitos adversos e a cobertura vacinal insuficiente, é de extrema relevância que sejam pesquisadas terapias para o tratamento da febre amarela.

Diante disso, o reposicionamento de medicamentos é considerado uma estratégia promissora. Estudos recentes que investigaram os fármacos sofosbuvir, temoporfina e niclosamida (FREITAS *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2017; MENDES *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2017) mostraram que estes medicamentos poderiam ser indicados como antivirais para o tratamento da febre amarela. Por outro lado, alguns medicamentos precisam ser mais estudados, como é o caso da ribavirina, que é amplamente utilizada nas pesquisas, mas que apresenta mecanismos de ação ainda não bem elucidados.

Por fim, pesquisas voltadas especificamente para o reposicionamento de medicamentos para o tratamento da febre amarela ainda são necessárias, com estudos clínicos e parâmetros farmacológicos bem descritos, uma vez que grande parte dos artigos investigaram flavivírus de um modo geral, principalmente o vírus da dengue.

## REFERÊNCIAS

- ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 8, p. 673-683, 2004.
- BARNETT, E. D. Yellow fever: epidemiology and prevention. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 6, p. 850-856, 2007.
- BECK, A. *et al.* Phylogeographic reconstruction of African yellow fever virus isolates indicates recent simultaneous dispersal into east and west Africa. **Public Library of Science (PLOS) Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 3, p. e1910, 2013.
- BECK, S. A. *et al.* Analysis by deep sequencing of discontinued neurotropic yellow fever vaccine strains. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-12, 2018.
- BIFANI, A. M.; ONG, E. Z.; DE ALWIS, R. Vaccination and Therapeutics: Responding to the Changing Epidemiology of Yellow Fever. **Current Treatment Options in Infectious Diseases**, p. 1-12, 2020.
- BOLLATI, M. *et al.* Structure and functionality in flavivirus NS-proteins: perspectives for drug design. **Antiviral Research**, v. 87, n. 2, p. 125-148, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde: Volume Único**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2016.
- BRESSANELLI, S. *et al.* Structure of a flavivirus envelope glycoprotein in its low-pH-induced membrane fusion conformation. **The EMBO Journal**, v. 23, n. 4, p. 728-738, 2004.
- BRINTON, M. A. The molecular biology of West Nile Virus: a new invader of the western hemisphere. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 56, p. 371-402, 2002.
- CARUTHERS, J. M.; MCKAY, D. B. Helicase structure and mechanism. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 12, n. 1, p. 123-133, 2002.
- CAVALCANTE, K. R. L. J.; TAUIL, P. L. Risco de reintrodução da febre amarela urbana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 26, p. 617-620, 2017.
- CETRON, M. S. *et al.* Yellow fever vaccine recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2002. **Morbidity and Mortality Weekly Report Recommendations and Reports**, v. 51, n. 17, p. 1-10, 2002.
- CHA, Y. *et al.* Drug repurposing from the perspective of pharmaceutical companies. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 2, p. 168-180, 2018.
- CHEN, Chen *et al.* Phylogenomic analysis unravels evolution of yellow fever virus within hosts. **Public Library of Science (PloS) Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 9, p. 0006738, 2018.
- CHHAIYA, S. B.; MEHTA, D S.; KATARIA, B. C. Ivermectin: pharmacology and therapeutic applications. **Int J Basic Clin Pharmacol**, v. 1, n. 3, p. 132-139, 2012.

CIMERMAN, S; CIMERMAN, B. **Condutas em Infectologia**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

COYLE, C.; CAFFERTY, F. H.; LANGLEY, R. E. Aspirin and colorectal cancer prevention and treatment: is it for everyone?. **Current Colorectal Cancer Reports**, v. 12, n. 1, p. 27-34, 2016.

CRUMP, A. Ivermectin: enigmatic multifaceted 'wonder' drug continues to surprise and exceed expectations. **The Journal of Antibiotics**, v. 70, n. 5, p. 495-505, 2017.

CRUZ, F. **Desenvolvimento e avaliação de vacinas de DNA contra o vírus da febre amarela**. 2011. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) -Centro de Pesquisas Aggeu Magalhaes. Fundação Oswaldo Cruz.

CZECH, T.; LALANI, R.; OYEWUMI, M. O. Delivery systems as vital tools in drug repurposing. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 3, p. 1-5, 2019.

DIAMOND, M. S.; ZACHARIAH, M.; HARRIS, E. Mycophenolic acid inhibits dengue virus infection by preventing replication of viral RNA. **Virology**, v. 304, n. 2, p. 211-221, 2002.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Sciences Medicines Health. **Foscan**. Disponível em: <<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/foscan>>. Acesso em: 25 de setembro de 2021.

FELICETTI, T. *et al.* Broad-Spectrum Flavivirus Inhibitors: a Medicinal Chemistry Point of View. **Chem Med Chem**, v. 15, n. 24, p. 2391-2419, 2020.

FERNÁNDEZ-SANLÉS, A. *et al.* Functional information stored in the conserved structural RNA domains of flavivirus genomes. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 546, 2017.

FERREIRA, C. C. *et al.* The 17D-204 and 17DD yellow fever vaccines: an overview of major similarities and subtle differences. **Expert Review of Vaccines**, v. 17, n. 1, p. 79-90, 2018.

FERREIRA, V. K. *et al.* Histórico da febre amarela no Brasil e a importância da vacinação antiamarílica. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, v. 36, n. 1, 2011.

FIOCRUZ. **História e qualidade: produção da vacina contra febre amarela na Fiocruz**. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/historia-e-qualidade-producao-da-vacina-contra-febre-amarela-na-fiocruz>>. Acesso em: 27 setembro 2021.

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

GRANDO, R. L.; OLIVEIRA, A. C. D.; FIORRE, I. M. O reposicionamento de fármacos como uma potencial estratégia para o tratamento da COVID-19. 2020.

GUZMAN, G. M. *et al.* Dengue: a continuing global threat. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 12, p. S7-S16, 2010.

- HEIDARY, F.; GHAREBAGHI, R. Ivermectin: a systematic review from antiviral effects to COVID-19 complementary regimen. **The Journal of Antibiotics**, v. 73, n. 9, p. 593-602, 2020.
- HEINZ, F. X.; STIASNY, K. Flaviviruses and flavivirus vaccines. **Vaccine**, v. 30, n. 29, p. 4301-4306, 2012.
- HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase 2 inhibitors. **Jornal de Pediatria**, v. 82, p. S206-S212, 2006.
- HOOFNAGLE, J. H.; SEEFF, L. B. Peginterferon and ribavirin for chronic hepatitis C. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 23, p. 2444-2451, 2006.
- JARADA, T. N.; ROKNE, J. G.; ALHAJJ, R. A review of computational drug repositioning: strategies, approaches, opportunities, challenges, and directions. **Journal of Cheminformatics**, v. 12, n. 1, p. 1-23, 2020.
- JOURDAN, J. P. *et al.* Drug repositioning: a brief overview. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 9, p. 1145-1151, 2020.
- KADRI, H.; LAMBOURNE, O. A.; MEHELLOU, Y. Niclosamide, a drug with many (re) purposes. **ChemMedChem**, v. 13, n. 11, p. 1088, 2018.
- KIM, M. K. *et al.* 2, 6-Bis-arylmethoxy-5-hydroxychromones with antiviral activity against both hepatitis C virus (HCV) and SARS-associated coronavirus (SCV). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 5698-5704, 2011.
- KROL, E.; BRZUSKA, G.; SZEWCZYK, B. Production and biomedical application of flavivirus-like particles. **Trends in Biotechnology**, v. 37, n. 11, p. 1202-1216, 2019.
- LAING, R.; GILLAN, V.; DEVANEY, E. Ivermectin—old drug, new tricks? **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 6, p. 463-472, 2017.
- LANGEDIJK, J. *et al.* Drug repositioning and repurposing: terminology and definitions in literature. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 8, p. 1027-1034, 2015.
- LEYSEN, P. *et al.* The predominant mechanism by which ribavirin exerts its antiviral activity in vitro against flaviviruses and paramyxoviruses is mediated by inhibition of IMP dehydrogenase. **Journal of Virology**, v. 79, n. 3, p. 1943-1947, 2005.
- LI, Z. *et al.* Existing drugs as broad-spectrum and potent inhibitors for Zika virus by targeting NS2B-NS3 interaction. **Cell Research**, v. 27, n. 8, p. 1046-1064, 2017.
- LORENZ, K. J.; MAIER, H. Squamous cell carcinoma of the head and neck. Photodynamic therapy with Foscan. **HNO**, v. 56, n. 4, p. 402-409, 2008.
- LUNA, A. J. E.; CAMPOS, C. L. S. R. S. O desenvolvimento de vacinas contra as doenças tropicais negligenciadas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, p. 1, 2020.
- LUO, D. *et al.* Insights into RNA unwinding and ATP hydrolysis by the flavivirus NS3 protein. **The EMBO Journal**, v. 27, n. 23, p. 3209-3219, 2008.
- LUO, D.; VASUDEVAN, S. G.; LESCAR, J. The flavivirus NS2B–NS3 protease–helicase as a target for antiviral drug development. **Antiviral Research**, v. 118, p. 148-158, 2015.

- MACKENZIE, J. Wrapping things up about virus RNA replication. **Traffic**, v. 6, n. 11, p. 967-977, 2005.
- MALET, H. *et al.* The flavivirus polymerase as a target for drug discovery. **Antiviral Research**, v. 80, n. 1, p. 23-35, 2008.
- MASTRANGELO, E. *et al.* Ivermectin is a potent inhibitor of flavivirus replication specifically targeting NS3 helicase activity: new prospects for an old drug. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 8, p. 1884-1894, 2012.
- MEIER, C. K. *et al.* A Mouse Model for Studying Viscerotropic Disease Caused by Yellow Fever Virus Infection. **Public Library of Science (PloS) Pathogens**, v. 5, n. 10, p. 1000614, 2009.
- MEI-JIAO, G. *et al.* Antiviral effects of selected IMPDH and DHODH inhibitors against foot and mouth disease virus. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 118, p. 109305, 2019.
- MENDES, E. A. *et al.* Sofosbuvir inhibits yellow fever virus in vitro and in patients with acute liver failure. **Annals of Hepatology**, v. 18, n. 6, p. 816-824, 2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Febre amarela: ministério da saúde atualiza casos no Brasil**. 19 abr. 2018. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/febre-amarela-ministerio-da-saude-atualiza-casos-no-pais-7>>. Acesso em: 20 nov. 2020.
- MODIS, Y. *et al.* Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion. **Nature**, v. 427, n. 6972, p. 313-319, 2004.
- MONATH, P. T. Yellow fever vaccine. **Expert Review of Vaccines**, v. 4, n. 4, p. 553-574, 2005.
- MONATH, T. P. Yellow fever: an update. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, n. 1, p. 11-20, 2001.
- MONNERET, C.; BOHUON, C. **Fabuleux hasards—Histoire de la découverte des médicaments**. Paris: EDP Sciences, 2009. 140 p.
- MUKHOPADHYAY, S.; KUHN, R. J.; ROSSMANN, M. G. A structural perspective of the flavivirus life cycle. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 13-22, 2005.
- NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. Covid-19 Treatment Guidelines. **Ivermectin**. Disponível em: <<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/antiviral-therapy/ivermectin/>> Acesso em: 14 de outubro de 2021.
- NAVARRO, M. *et al.* Safety of high-dose ivermectin: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 75, n. 4, p. 827-834, 2020.
- NOBLE, C. G. *et al.* Strategies for development of dengue virus inhibitors. **Antiviral Research**, v. 85, n. 3, p. 450-462, 2010.

- NOVAC, N. Challenges and opportunities of drug repositioning. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 34, n. 5, p. 267-272, 2013.
- PAN, Q. *et al.* Mycophenolic acid augments interferon-stimulated gene expression and inhibits hepatitis C Virus infection in vitro and in vivo. **Hepatology**, v. 55, n. 6, p. 1673-1683, 2012.
- PANTZIARKA, P. *et al.* ReDO\_DB: the repurposing drugs in oncology database. **ecancermedicalsecience**, v. 12, 2018.
- PILLAIYAR, T. *et al.* A medicinal chemistry perspective of drug repositioning: Recent advances and challenges in drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 195, p. 112275, 2020.
- POLAMREDDY, P.; GATTU, N. The drug repurposing landscape from 2012 to 2017: evolution, challenges, and possible solutions. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 3, p. 789-795, 2019.
- PORUDOMINSKY, R.; GOTUZZO, E. H. Yellow fever vaccine and risk of developing serious adverse events: a systematic review. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 42, p. e75, 2018.
- PULENDRAN, B. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 10, p. 741-747, 2009.
- QING, M. *et al.* Characterization of dengue virus resistance to brequinar in cell culture. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 9, p. 3686-3695, 2010.
- SAMPATH, A.; PADMANABHAN, R. Molecular targets for flavivirus drug discovery. **Antiviral Research**, v. 81, n. 1, p. 6-15, 2009.
- SANTOS, O. S. N.; ROMANOS, V. T. M.; WIGG, D. M. **Virologia Humana**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- SHEARER, F. M. *et al.* Existing and potential infection risk zones of yellow fever worldwide: a modelling analysis. **The Lancet Global Health**, v. 6, n. 3, p. e270-e278, 2018.
- SHEARER, F. M. *et al.* Global yellow fever vaccination coverage from 1970 to 2016: an adjusted retrospective analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. 1209-1217, 2017.
- SOUZA, M. N. R. *et al.* Novas estratégias de imunização contra a febre amarela. **Revista Científica Faema**, v. 9, p. 584-589, 2018.
- VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**, v. 231, n. 25, p. 232-235, 1971.
- VANE, J. R.; BOTTING, R. M. The mechanism of action of aspirin. **Thrombosis Research**, v. 110, n. 5-6, p. 255-258, 2003.

VASCONCELOS, C. F. P. Yellow fever. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 275-293, 2003.

WAGGONER, J. J.; ROJAS, A.; PINSKY, B. A. Yellow fever virus: diagnostics for a persistent arboviral threat. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 10, p.1-13, 2018.

WANG, Q. Y. *et al.* Inhibition of dengue virus through suppression of host pyrimidine biosynthesis. **Journal of Virology**, v. 85, n. 13, p. 6548-6556, 2011.

XU, H.T. *et al.* Evaluation of Sofosbuvir ( $\beta$ -D-2'-deoxy-2'- $\alpha$ -fluoro-2'- $\beta$ -C-methyluridine) as an inhibitor of Dengue virus replication. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.

XU, T. *et al.* Structure of the Dengue virus helicase/nucleoside triphosphatase catalytic domain at a resolution of 2.4 Å. **Journal of Virology**, v. 79, n. 16, p. 10278-10288, 2005.

XUE, H. *et al.* Review of drug repositioning approaches and resources. **International Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 10, p. 1232, 2018.

YELLA, J. K. *et al.* Changing trends in computational drug repositioning. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 2, p. 57, 2018.

YEU, Y.; YOON, Y.; PARK, S. Protein localization vector propagation: a method for improving the accuracy of drug repositioning. **Molecular BioSystems**, v. 11, p. 2096 - 2102, 2015.

ZAKARIA, M. K.; CARLETTI, T.; MARCELLO, A. Cellular targets for the treatment of flavivirus infections. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, p. 398, 2018.

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