

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS A. C. SIMÕES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
FARMÁCIA

ANA BEATRIZ SOUZA FLOR DOS SANTOS

**POTENCIAIS AGENTES ANTIVIRAIS CONTRA MONKEYPOX: UMA REVISÃO
DA LITERATURA**

Maceió - AL

2023

ANA BEATRIZ SOUZA FLOR DOS SANTOS

**POTENCIAIS AGENTES ANTIVIRAIS CONTRA MONKEYPOX: UMA REVISÃO
DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de farmácia da Universidade Federal de
Alagoas, como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharelado em farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Edeildo Ferreira da Silva
Júnior.

Maceió - AL

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S237p Santos, Ana Beatriz Souza Flor dos.
Potenciais agentes antivirais contra monkeypox: uma revisão da literatura
/ Ana Beatriz Souza Flor dos Santos. – 2023.
35 f. : il. color.

Orientador: Edeildo Ferreira da Silva Júnior.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –
Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacéuticas.
Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 33-35.

1. Vírus monkeypox. 2. Vacinas. 3. Agentes antivirais. 4. Fármacos. I.
Título.

CDU: 615.281.8 : 578.821

Dedico este trabalho a todos aqueles que me ajudaram de forma direta e indireta, durante esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família e amigos, que me apoiaram e me encorajaram durante todo o processo, e sempre me apoiaram em minhas decisões, o que foi fundamental para que eu pudesse concluir este trabalho com êxito.

Não poderia deixar de agradecer a todos os professores e colegas que me ajudaram durante minha jornada acadêmica, oferecendo suporte e inspiração. Sem a colaboração deles, eu não teria chegado até aqui.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O vírus Monkeypox (MPXV), integrante da família *Poxviridae* e do gênero *Orthopoxvirus* (OPV), relaciona-se geneticamente ao vírus da varíola humana e é responsável por caracterizar uma doença marcada por eventos febris e erupções cutâneas. Antes, identificada apenas no continente Africano, destacou-se nos últimos anos devido ao registro de casos em países do ocidente. Neste sentido, meios preventivos, a partir de vacinas, são utilizadas na Europa e parte da América do Norte, incluindo a ACAM2000 e JYNNEOS, sendo as duas indicadas como profilaxia na pré-exposição ao vírus. Por outro lado, antivirais como o tecovirimat e brincidovir, um inibidor da formação do vírus extracelular e um conjugado lipídico do cidofovir, respectivamente, são importantes em casos de pacientes imunocomprometidos e aqueles com risco de adquirir doenças graves. Além disso, através de estudos de reposicionamento de fármacos, alguns agentes virais demonstraram resultados positivos contra o Monkeypox incluindo compostos como simeprevir, hipericina, naldemedina, fosdagrocorate, lixivaptam e NIOCH-14. Logo, estes compostos mostraram ser agentes potenciais frente ao vírus da varíola dos macacos, sendo candidatos interessantes para o tratamento dessa virose, e contribuir para o arsenal terapêutico desta, que se encontra escasso, atualmente.

Palavras-chave: Varíola dos macacos; Monkeypox; Vacinas; Antivirais; Tratamento farmacológico.

ABSTRACT

The Monkeypox virus (MPXV), a member of the Poxviridae family and the Orthopoxvirus genus (OPV), is genetically related to the human smallpox virus and is responsible for characterizing a disease marked by febrile events and skin eruptions. Before, identified only in the African continent, it highlighted the last years due to the registration of cases in western countries. In this sense, preventive means, based on vaccines, are used in Europe and part of North America, including ACAM2000 and JYNNEOS, both of which are indicated as prophylaxis in pre-exposure to the virus. On the other hand, antivirals such as tecovirimat and brincidovir, an inhibitor of extracellular virus formation and a cidofovir lipid conjugate, respectively, are important in cases of immunocompromised patients and those at risk of acquiring serious diseases. Furthermore, through drug repositioning studies, some viral agents have demonstrated positive results against Monkeypox including compounds such as simeprevir, hypericin, naldemedin, phosdagrocorate, lixivaptam and NIOCH-14. Therefore, these compounds have shown to be potential agents against monkeypox virus, being interesting candidates for the treatment of this virus disease, and contributing to its therapeutic arsenal, which is currently scarce.

Keywords: Monkeypox; Monkeypox; Vaccines; Antivirals; pharmacological treatment.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	10
2.1	Aspectos históricos	10
2.2	Genética do vírus	11
2.3	Transmissão e aspectos clínicos	13
2.4	Ciclo de vida.....	14
2.5	Diagnóstico	16
2.5.1	Métodos imunológicos	16
2.5.2	Métodos genéticos	17
2.5.3	Microscopia eletrônica	17
2.6	Alternativas imunológicas	18
2.6.1	Vacinas	18
2.6.2	Imunoglobulina intravenosa (IgIV).....	20
2.6.3	Outras estratégias imunoterapêuticas promissoras.....	20
2.7	Fármacos aprovados para o tratamento da doença e futuros desenvolvimentos	21
2.7.1	Tecovirimat	21
2.7.2	Brincidofovir	22
2.7.3	Cidofovir	23
2.8	Fármacos reposicionados com agentes antivirais contra Monkeypox	24
2.8.1	NMCT e rutaecarpina.....	24
2.8.2	Nilotinibe.....	25
2.8.3	Simeprevir	26
2.8.4	Hipericina e naldemedina.....	27
2.8.5	Fosdagrocorate e lixivaptam	28
2.8.6	NIOCH-14.....	29
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
	REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

A varíola dos macacos é caracterizada como uma doença zoonótica emergente, tendo como agente causador, o vírus da varíola dos macacos (MPXV). Este, por sua vez, pertence ao gênero *Orthopoxvirus* (OPV) e a família *Poxviridae*, que apresenta DNA de fita dupla envolto por proteínas que compõem o nucleocapsídeo (ALAKUNLE et al., 2020). Foram identificados dois clados filogeneticamente distintos de MPXV, sendo o clado da África Central (Bacia do Congo) e o clado da África Ocidental (BUNGE et al., 2022; LEÓN-FIGUEROA et al., 2022).

Esta doença foi nomeada de varíola dos macacos, uma vez que, uma doença semelhante à varíola humana foi causada em macacos no ano de 1985 (MAGNUS et al., 2009). No entanto, é uma doença que acomete principalmente roedores como ratos, esquilos e camundongos. Porém, os reservatórios e o ciclo natural do vírus ainda são muito desconhecidos.

No final da década de 60, oito surtos ocorreram em colônias de primatas, além de um surto em um zoológico europeu. O primeiro caso humano foi registrado em 1970, sendo em uma criança da República Democrática do Congo. Então, entre 1970 e 1979 foram registrados mais de 50 casos da doença em humanos em regiões florestais da África Ocidental e Central (MAGNUS et al., 2009).

A varíola dos macacos apresenta os sinais e sintomas semelhantes aos da varíola, no entanto, destaca-se por ser menos grave. Por outro lado, erupções cutâneas são comuns e normalmente precedidas por sintomas prodrômicos leves, como linfadenopatia maxilar, febre, dor de cabeça generalizada, fadiga e outros sintomas semelhantes aos de uma gripe. Comumente, causa erupção cutânea que surge na face e é capaz de se espalhar difusamente pelo corpo, alcançando as plantas dos pés e palmas das mãos (WEI et al., 2022).

Contudo, um diferencial desse novo surto é que a maioria dos casos mostraram um quadro atípico devido ao surgimento de erupções nas áreas genital e perianal, podendo ter ou não a disseminação para outras partes do corpo (PETER et al., 2022). Logo, fortalecendo a hipótese da transmissão sexual do MPXV, além das formas tradicionais, que incluem contato direto com feridas infecciosas, fluidos corporais, crostas das lesões e roupas/roupas de cama compartilhadas (fômites), e a transmissão vertical, através da placenta da gestante para o feto (GRANT et al., 2020).

O objetivo deste trabalho foi reunir os principais fármacos e moléculas que foram licenciados para o tratamento da varíola dos macacos, a partir da busca de artigos de pesquisa que apresentaram potenciais novos inibidores, estabelecendo assim uma revisão de literatura.

Portanto, de forma geral, atualmente dois medicamentos antivirais foram aprovados pelo FDA para o tratamento da varíola que, por sua vez, podem ser adaptados para o tratamento da varíola dos macacos, são eles o tecovirimat e brincidovir (BCV). Por outro lado, a partir de um estudo de infecção letal de MPXV em macacos *cynomolgus*, relatou-se que a terapia através de antivirais, mostrou-se mais eficaz do que a vacinação (STITTELAAR et al., 2006).

No entanto, além desses dois medicamentos existem outros candidatos que foram avaliados quanto a sua eficácia frente ao MPXV, como alternativas e a fim de enriquecer o arsenal terapêutico, frente a este vírus. Assim, compostos como cidofovir, NMCT, rutaecarpina, nilitinibe, simeprevir, hipericina, naldemedina, fosdagrocorate, lixivaptam e NIOCH-14 são compostos que se mostraram promissores e atividade antiviral interessantes contra o MPXV.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos históricos

O vírus Monkeypox, é endêmico em países da África Ocidental e Central. Este foi descoberto em 1958, em um laboratório dinamarquês, durante a ocorrência de surtos de uma doença semelhante à varíola que acometia colônias de macacos utilizadas para pesquisa, resultando no nome “monkeypox”, que em sua tradução literal significa “varíola dos macacos” (SHAHEEN et al., 2022). Nos anos compreendidos entre 1958 e 1968, oito surtos ocorreram em colônias de primatas, além de um surto em um zoológico europeu. Porém, o primeiro caso humano foi reportado em 1970, na República Democrática do Congo, em uma criança. Dessa forma, entre 1970 e 1979 foram registrados 54 casos da doença em humanos em regiões florestais da África Ocidental e Central (BREMAN, 2014; DAMON, 2011). Segundo a OMS, os animais mais suscetíveis a este tipo de varíola são roedores, como ratos e cão-da-pradaria (WHO, 2022).

Em 2003, o primeiro surto de varíola fora do território africano foi documentado, ocorrendo nos Estados Unidos. Portanto, percebeu-se a expansão geográfica da transmissão da varíola dos macacos por viajantes intercontinentais, contribuindo para a transmissão massiva de humano para outro (LIGON, 2004). Conseqüentemente, o número de casos suspeitos foi aumentando gradualmente ao longo dos anos, principalmente em regiões endêmicas, como na República Democrática do Congo, que registrou mais de 2.000 casos, apenas em 2018 (HARAPAN et al., 2022).

Em contrapartida, desde o início de maio de 2022, houve um ressurgimento inesperado e repentino da varíola dos macacos contribuindo para centenas de casos simultâneos em diversos países anteriormente não endêmicos (VENKATESAN, 2022). Assim, a nível global, entre maio e junho foram confirmados mais de 700 casos de varíola dos macacos em laboratórios, os quais foram relatados à OMS por 27 países não endêmicos. Logo, delineou-se um cenário de preocupação mundial, uma vez que sua transmissão encontra-se acelerada e ainda não se tem antivirais específicos para tratamento. Por outro lado, epidemiologistas afirmam que surto de 2022 pode ser justificado pela transmissão não detectada (período assintomático), o que foi amplificado através da realização recente de eventos sociais de grande porte e ao aumento no número de viagens ao redor do mundo, incluindo zonas endêmicas.

O Reino Unido registrou o maior número de casos confirmados entre os meses de maio de junho de 2022, com um total de 302 infecções (VENKATESAN, 2022). No entanto,

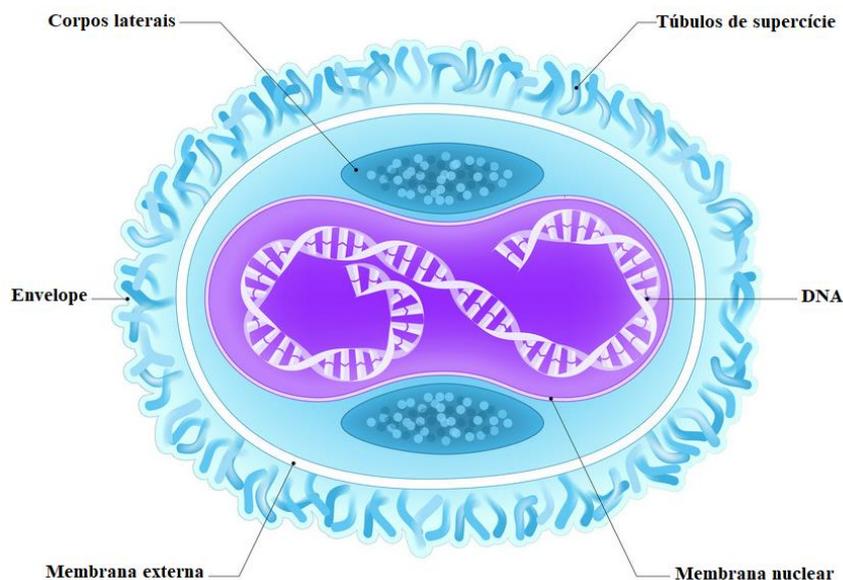
em junho de 2022 foram confirmados mais de 1.240 casos, em 33 países em todos os continentes, destacando-se países da Europa e os Estados Unidos. Por outro lado, o primeiro caso da varíola dos macacos na América do Sul foi relatado na Argentina, em maio de 2022 (CLARO et al., 2022). O Brasil, em agosto do mesmo ano, já havia ultrapassado 4 mil casos da varíola dos macacos, de acordo com o Ministério da Saúde (ROCHA, 2022).

Mediante a importância desta virose para o mundo, é de extrema necessidade que haja um controle sanitário rigoroso em países que registraram casos da doença. No caso do Brasil, ainda existem deficiências frente as medidas de saúde pública vigentes, que por vezes não são objetivas, o que coopera ainda mais para a disseminação do vírus. Em decorrência do Brasil ser um ponto de grande circulação de pessoas, as chances de ocorrer um descontrole sobre essa doença é maior, não apenas para o país, mas para a América Latina e o mundo inteiro.

2.2 Genética do vírus

O vírus Monkeypox pertence ao gênero *Orthopoxvirus*, da família *Poxviridae* (figura 1), que apresenta DNA de fita dupla, envolto por proteínas que compõem o nucleocapsídeo (KUMBHAR e AGARWALA, 2022). Além disso, dentro da família, este está incluído na subfamília *Chordopoxvirinae*, que abrange os poxvírus que infectam vertebrados. Este gênero também compreende os vírus da varíola, Vaccinia e varíola bovina (REALEGENO et al., 2017).

Figura 1- Estrutura viral do Monkeypox



Fonte: VectorStock, (2023)

Apesar do vírus Monkeypox ter sido isolado primeiramente a partir macacos de infectados, seu hospedeiro natural também inclui arganazes, esquilos de corda, esquilos de árvore e ratos gambianos (GUARNER et al., 2022). Ademais, o genoma deste vírus apresenta semelhanças ao da varíola humana, em que um estudo anterior revelou 96,3% de identidade em regiões importantes como as centrais, responsáveis por codificar enzimas e proteínas essenciais do vírus (SHCHELKUNOV et al., 2001). Estruturalmente o genoma do MPXV possui aproximadamente 190 kb e 60 resíduos de aminoácidos. Neste sentido, os vírus da vaccínia e varíola possuem um tamanho de genoma de aproximadamente 190 kb e 186 kb, respectivamente (MASSUNG et al., 1994; PRAZSÁK et al., 2018).

Através do sequenciamento genômico foi possível identificar dois clados filogeneticamente distintos de Monkeypox, sendo o clado da África Central (Bacia do Congo) e o clado da África Ocidental (SHCHELKUNOV et al., 2001). Comumente, o Monkeypox da África Central está relacionado à doença com um dos maiores níveis de gravidade, mortalidade e frequente transmissão de humano para humano. Logo, as diferenças genéticas existentes entre os genomas virais dos dois clados podem explicar as diferenças na patogênese e depuração viral (JEZEK et al., 1987). Além disso, os vírus do gênero *Orthopoxvirus* destacam-se por sua forte estabilidade no meio ambiente (ESSBAUER et al., 2007). Neste sentido, os poxvírus também possuem maior tolerância a variações de temperatura e pH, bem como uma grande resistência à secagem (desidratação), quando comparados com outros vírus envelopados (RHEINBABEN et al., 2007). Entretanto, apesar dessas características, os poxvírus são sensíveis aos desinfetantes comuns, embora possam ser menos sensíveis aos desinfetantes orgânicos em comparação com outros vírus envelopados. Além disso, os poxvírus destacam-se por apresentar uma estrutura oval ou em forma de tijolo medindo 200-400 nm (LOUTEN, 2016).

Os poxvírus destacam-se por produzirem dois tipos de partículas infecciosas, que são os vírions maduros (VM) e vírions extracelulares (VE) (MCFADDEN, 2005). Embora estes compartilhem o mesmo genoma viral, ambos diferem quanto à quantidade de membranas que envolvem o núcleo e em suas glicoproteínas de superfície. Consequentemente, MVs e EVs expressam proteínas de superfície distintas, o que confere uma especificidade antigênica, diferenciando estes vírions.

Através de estudos morfológicos por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), foi revelado detalhes acerca das superfícies externas e internas dos vírions de Monkeypox. Assim, a superfície externa destas partículas, contém uma membrana lipoproteica, com uma estrutura semelhante à uma amora. Ademais, na parte interior encontra-se uma parede central em forma de haltere em torno do núcleo viral, além de duas estruturas amorfas

denominadas corpos laterais. Adicionalmente, o núcleo viral é composto por nucleoproteína compacta e um genoma de DNA (PRIYAMVADA e SATHESHKUMAR, 2021).

2.3 Transmissão e aspectos clínicos

No surto 2022 de Monkeypox, o padrão anterior de transmissão não foi mantido, uma vez que no passado os casos isolados e esporádicos ocorreram em pacientes tendo conexões com a África Ocidental, especificamente aqueles que realizaram contato direto com profissionais da saúde (LUO e HAN, 2022). Desta forma, atualmente a transmissão sexual está sendo um diferencial, principalmente entre homens que se identificam como gays, bissexuais ou homens que fazem sexo com homens, na faixa etária entre 20 e 50 anos (ALPALHÃO et al., 2022). Além disso, o vírus também pode ser transmitido por meio do contato direto com feridas infecciosas, fluidos corporais, crostas das lesões e roupas/roupas de cama compartilhadas (fômites), que caracterizam as formas mais prováveis de transmissão (PETERSEN et al., 2019).

A transmissão também pode ser transplacentária (Monkeypox congênita), através do contato durante e após o nascimento, no entanto, as consequências desta infecção em mulheres grávidas ainda não estão esclarecidas (DASHRAATH et al., 2022). Por outro lado, esse tipo de transmissão é característico em casos de infecção pelo Zika vírus, a qual configura a transmissão vertical, da mãe para o feto, podendo causar má formações congênitas, incluindo problemas neurológicos, tais como a microcefalia e retardo cognitivo (ADES et al., 2021; ARIF et al., 2022; TEIXEIRA et al., 2021). Por sua vez, em casos da varíola dos macacos, a transmissão do animal para o homem pode ocorrer através de mordida, arranhão, contato direto ou indireto com fluidos corporais ou material de lesão ou até mesmo durante a preparação de carne de caça (GRANT et al., 2020). Por outro lado, a transmissão de humano para humano pode ocorrer por meio de grandes gotículas respiratórias, tosse, espirros, dentre outras.

Uma ampla diversidade taxonômica de espécies de mamíferos pode ser infectada pelo Monkeypox. Porém, o vírus foi isolado apenas uma vez de um animal selvagem, um esquilo *Funisciurus*. A maioria das linhas de evidências apontam os roedores como um provável reservatório, todavia, como há uma extensa circulação viral entre populações animais, torna-se difícil afirmar com precisão as espécies que podem abrigar o vírus (BEER e RAO, 2019). Logo, o hospedeiro reservatório do Monkeypox ainda é desconhecido.

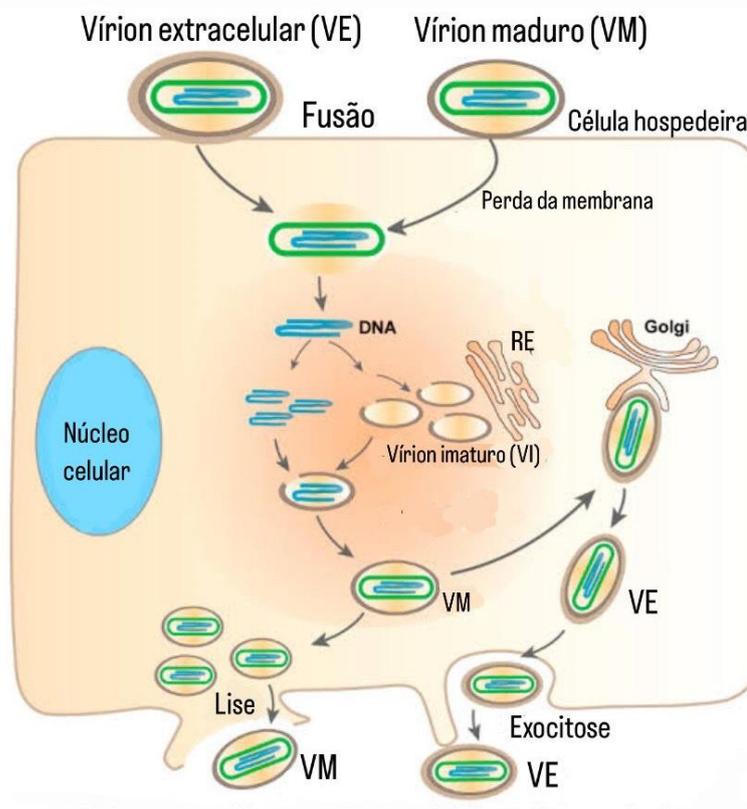
Os sinais e sintomas se assemelham com os da varíola, porém com um nível inferior de gravidade. Logo, erupções cutâneas são comuns, e normalmente precedidas por sintomas prodrômicos leves como linfadenopatia maxilar, febre, dor de cabeça generalizada, fadiga e

outros sintomas semelhantes aos de uma gripe (CDC, 2022). Em contrapartida, há uma hipótese a qual sugere que a presença de linfadenopatia pode indicar a existência de um reconhecimento imunológico mais eficaz à infecção pelo Monkeypox quando comparado com a varíola (DAMON, 2011). Normalmente, Monkeypox inicia-se com uma erupção cutânea que surge na face ou até na mucosa oral e, logo após, se espalha difusamente, podendo incluir plantas dos pés e palmas das mãos. A maioria dos casos atuais configuraram um quadro atípico devido ao surgimento de erupções nas áreas genital e perianal, podendo ter ou não a disseminação para outras partes do corpo.

2.4 Ciclo de vida

Os poxvírus invadem as células hospedeiras através dos processos de macropinocitose e fusão (SCHMIDT et al., 2012) (figura 2). Apesar do Monkeypox ser um vírus de DNA, seu ciclo de vida acontece no citoplasma. Portanto, diversas proteínas participam da etapa de replicação do DNA viral, transcrição e montagem do vírion (MOSS, 2013).

Figura 2- Ciclo de vida do Monkeypox



Fonte: Shi et al, (2023)

Inicialmente, os vírions conseguem invadir as células hospedeiras de forma direta,

através da fusão com a membrana plasmática ou por macropinocitose (PRIYAMVADA e SATHESHKUMAR, 2021). A ligação do vírion é estabelecida por proteínas de superfície e por glicosaminoglicanos na superfície das células alvo ou por componentes da matriz extracelular. As proteínas de superfície dos VEs provocam a ruptura da membrana do VE ao se ligar aos receptores de fixação do hospedeiro. Subsequentemente, a membrana do VM é exposta, que por sua vez é responsável por expressar o complexo de fusão de entrada, que permite o processo de fusão célula-vírus-hospedeiro. Portanto, esta fusão viral promove a liberação do núcleo interno no citoplasma, local onde as enzimas virais empacotadas, iniciam a transcrição e tradução precoces dentro do núcleo.

Assim, em um primeiro momento, fatores imunomoduladores e enzimas virais configuram exemplos de proteínas que facilitam a replicação do DNA. Ao passo que a replicação do DNA ocorre, fatores de transcrição virais específicos, regulam a transcrição e expressão dos genes intermediários e, conseqüentemente, tardios. Ademais, os produtos de tradução tardia abrangem proteínas estruturais que são necessárias para a montagem do vírion.

Após as etapas de infecção viral, todas as fases do ciclo de replicação viral do Monkeypox acontecem dentro do citoplasma. Deste modo, regiões eletrodensas conhecidas como “fábrica de vírus” registram a montagem das partículas virais e a formação de vírions imaturos caracterizados por apresentar um núcleo de DNA recém-gerado e uma membrana viral simples. Estes, por sua vez, são maturados por meio do processamento proteolítico de proteínas centrais, sendo mediadas por uma protease que é codificada por vírus a fim de gerar MVs.

No entanto, a maioria dos VMs permanece no citoplasma, mesmo sendo totalmente infecciosos. Por outro lado, uma parcela destes passam pelo processo adicional de membrana, tornando-se um vírus envelopado de dupla membrana. Este último é um intermediário entre o VM e as derivações do VE (VE associado às células (VEC) ou VE extracelular (VEE)), ambas proporcionais à maior parte da disseminação viral no hospedeiro ao longo da infecção. A saída viral é caracterizada por gerar a formação de caudas de actinas, as quais estão envolvidas com infecção de partículas virais para células vizinhas. Logo, VECs e VEEs são projetados para fora das superfícies celulares em direção a outras células, a partir das pontas das microvilosidades. Além disso, este evento ocorre tendo como alvo um microambiente que atua como ponto em que outro processo infeccioso possa ser iniciado. Adicionalmente, boa parte dos VMs encontram-se presos dentro das células infectadas até o momento da lise celular, onde são liberados e atuam infectando outras células.

2.5 Diagnóstico

Uma das principais observações realizadas acerca da varíola dos macacos é que os sinais e sintomas clínicos da doença não são específicos, logo, dificultam o processo de distinção da varíola dos macacos. É possível visualizar isto, sobretudo, em casos de doenças com aparência similares àquelas encontradas na varíola dos macacos, incluindo erupções cutâneas. Dessa forma há grandes chances de confundir outras patologias com a que é buscada. Assim, a nível de análises clínicas, pode-se confundir a manifestação do MPXV com o vírus varicela Zoster, vírus herpes simplex, enterovírus, vírus molusco contagioso, sarampo, sífilis, infecções bacterianas de pele, riquetsia varíola, sarna, alergias a medicamentos e outras doenças (BOTHRA et al., 2021; BROWN e LEGGAT, 2016). Assim, outros métodos de realização do diagnóstico são mais recomendados e complementares ao diagnóstico clínico, incluindo métodos imunológicos, genéticos e microscopia eletrônica. Adicionalmente, a partir de um experimento *in vitro* utilizando o IFN- β foi observado que este agente imunomodulador inibe de expressivamente a produção e disseminação do MPXV. O IFN- β recombinante tem potencial para ser um agente novo e seguro para o tratamento da varíola dos macacos (JOHNSTON et al., 2012).

2.5.1 Métodos imunológicos

Os métodos imunológicos são realizados por meio do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) para a detecção de anticorpos IgG e IgM, enquanto a imuno-histoquímica detecta o antígeno viral (ALAKUNLE et al., 2020). Ademais, a análise imunoquímica pode ser realizada com o objetivo de diferenciar infecções causadas por poxvírus e o vírus causador da herpes, o que acontece por meio de anticorpos policlonais ou monoclonais contra todos os OPV. No entanto, devido ao fato dos ortopoxvírus serem sorologicamente reativos, os métodos de detecção de antígenos e anticorpos não demonstram confirmação específica para MPXV. Assim, a detecção de IgM na infecção aguda ou aumento de IgG em duas amostras diferentes coletas tendo 21 dias de intervalo contribui no diagnóstico. Vale ressaltar que o paciente vacinado pode ter os resultados dos testes sorológicos afetados.

Por outro lado, o diagnóstico indireto do MPXV pode surgir se os anticorpos IgM e IgG estiverem presentes em um indivíduo não vacinado com história de erupção cutânea e doença grave (NASIR et al., 2018; PETERSEN et al., 2019). Neste sentido, a IgM pode indicar a infecção por MPXV em um indivíduo com vacinação recente contra varíola

(WEAVER e ISAACS, 2008). Consequentemente, o ELISA de captura de IgM positivo indica exposição recente a OPV, sugerindo MPXV, quando em áreas endêmicas, em indivíduos não vacinados e vacinados. Em contraste, um ELISA de captura de IgG positivo sugere que o indivíduo foi previamente exposto a OPV por meio de vacinação ou infecção natural (MACNEIL et al., 2011).

2.5.2 Métodos genéticos

O diagnóstico laboratorial do MPXV, no âmbito de métodos genéticos, é realizado por meio da identificação de sequências específicas do vírus através da reação em cadeia da polimerase (PCR) ou PCR em tempo real (RT-PCR). Rotineiramente, este último é utilizado para detectar o DNA do MPXV em espécimes clínicos e veterinários, e também em culturas de células infectadas por este vírus. Assim, tem como alvos regiões do gene da DNA polimerase, *E9L* (YINKA-OGUNLEYE et al., 2019), gene da proteína do envelope extracelular (*B6R*) (LI et al., 2006), subunidade 18 da polimerase de RNA dependente de DNA, *rpo18* (SUU-IRE et al., 2010) e gene *F3L* (ORBA et al., 2015).

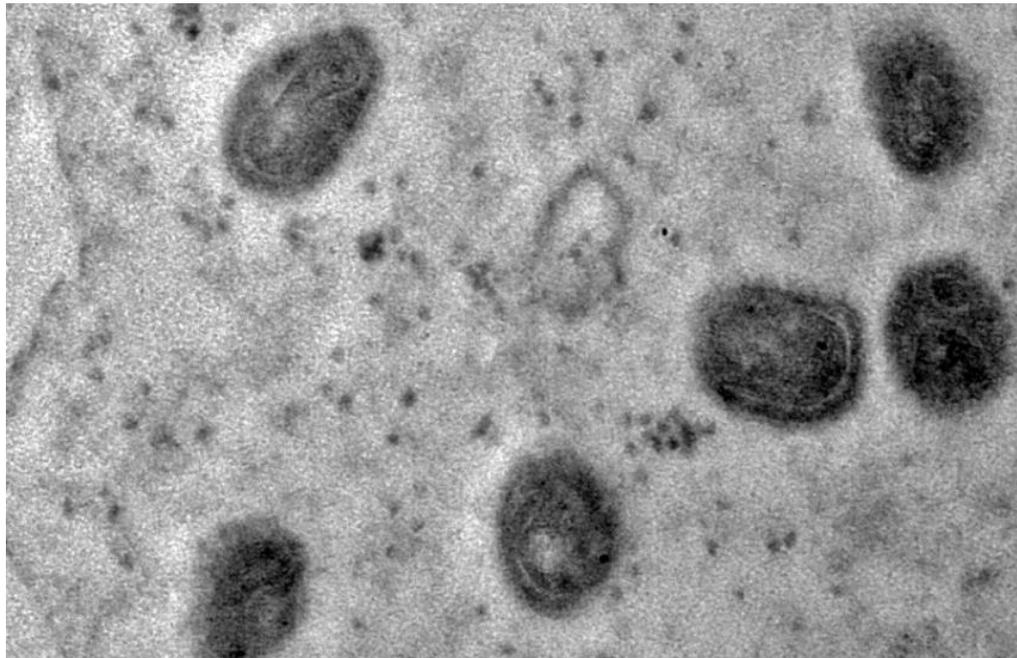
Adicionalmente, recomenda-se que esses testes sejam efetuados em uma instalação de nível três de biossegurança (FOWOTADE et al., 2018). Por conseguinte, as amostras para realização destes testes são advindas de biópsias de pele, conforme a apresentação clínica ou amostras de lesões de mucosas (genital, oral ou perianal) e/ou de pele (exsudatos de pústulas, vesículas e crostas secas). Preferencialmente, estes materiais precisam ser coletados de mais de um local e lesão diferente (ALTINDIS et al., 2022).

Normalmente, o resultado de PCR em amostras de sangue mostra-se inconclusivo por conta da curta duração da viremia, logo não deve ser feito de modo rotineiro. Destaca-se que, o sequenciamento de todo o genoma, a partir de tecnologias de *next-generation sequencing* (NGS), ainda se mantém como padrão ouro para caracterização de alguns OPV, incluindo MPXV (COHEN-GIHON et al., 2020). No entanto, é uma técnica que requer maiores investimentos, o que torna o RT-PCR mais usual, principalmente em países pobres. Porém, este último precisa ser acompanhado por uma técnica complementar, como a tecnologia de sequenciamento de campo, que é capaz de fornecer dados do genoma do vírus em tempo real, cruciais para pesquisas epidemiológicas (QUICK et al., 2016).

2.5.3 Microscopia eletrônica

A identificação do MPXV através do microscópio eletrônico não é um método de diagnóstico definitivo, tendo em vista que as espécies de OPV não podem ser diferenciadas morfológicamente, mas é importante para certificar que o vírus faz parte da família *Poxviridae*. Por sua vez, o MPXV é visualizado sob o microscópio eletrônico, intracitoplasmático em forma de tijolo com corpos laterais e um núcleo central medindo cerca de 200-300 nm (figura 3) (CHIELOKA et al., 2020; ESSBAUER et al., 2010)

Figura 3- Microscopia eletrônica do Monkeypox



Fonte: Débora F. Barreto-Vieira/IOC/Fiocruz (2022)

2.6 Alternativas imunológicas

2.6.1 Vacinas

O ano de 1980 ficou marcado pela primeira campanha de vacinação bem-sucedida do Brasil, levando à erradicação da varíola na época e caracterizando um marco histórico, uma vez que se tratava de uma doença infecciosa global. Porém, mediante a declaração da erradicação, a produção comercial de vacinas voltada para varíola foi descontinuada. No entanto, os Estados Unidos mantiveram o programa de estoque de vacinas ativo, tendo em vista a preocupação acerca de terrorismo biológico que pudessem reintroduzir o vírus da varíola no país (ALIBEK, 2004).

A vacina Dryvax era usada predominantemente nos Estados Unidos, e era tida como

um padrão vacinal. Esta deriva de fluido linfático o qual é extraído da pele escarificada de animais vivos infectados pelo vírus vaccínia replicante (VACV; cepa New York City Board of Health [NYCBOH]). Esta vacina consistia em um pool de cepas com graus variados de virulência (NALCA e ZUMBRUN, 2010). No entanto, o fornecimento desta vacina tornou-se insuficiente, além de demonstrar problemas atrelados à segurança e algumas limitações significativas. Dessa forma, apresentando riscos para gestantes e pessoas imunocomprometidas, uma vez que podia levar a efeitos adversos letais, como a miopericardite (ARAGÓN et al., 2003).

As vacinas desenvolvidas contra varíola e a varíola dos macacos podem ser usadas em situações de pré- ou pós-exposição, com o objetivo de prevenir ou melhorar a infecção e os sintomas da doença, respectivamente. Neste sentido, a vacinação para pré-exposição garante a proteção de pacientes em maior risco. Ademais, a vacinação pós-exposição tem a sua administração recomendada dentro de 4 dias, visando prevenir a infecção, contudo, pode ser usada até 14 dias após exposição, tendo em vista a diminuição da gravidade da doença. Vale destacar que, em ambos os casos (pré- e pós-exposição), são indicadas vacinas de segunda ou terceira geração, sendo estas capazes de promover uma proteção mais eficaz (POLAND et al., 2022).

Os Estados Unidos possuem duas vacinas licenciadas contra a varíola humana, ACAM2000 (Acambis® Inc.) e JYNNEOS (Imvamune® no Canadá ou Imvanex® na Europa). Em 2015, o Comitê Consultivo em Práticas de Imunização (*The Advisory Committee on Immunization Practices* -ACIP), recomenda o uso da ACAM200, até então a única vacina contra OTPV disponível na época, no país (PETERSEN et al., 2016). Ademais, em 2019, a JYNNEOS foi aprovada tanto para prevenção de varíola quanto varíola dos macacos. Durante os anos de 2020 e 2021, a ACIP considerou a JYNNEOS como alternativa à ACAM2000. Portanto, ambas foram submetidas a testes voltados para proteção contra infecção pelo vírus da varíola dos macacos em animais. No entanto, as duas vacinas são indicadas como profilaxia na pré-exposição contra a varíola dos macacos (RAO et al., 2022).

A ACAM2000 é uma vacina monoclonal de reposição de segunda geração. Esta é obtida a partir da purificação do vírus vaccínia em placa única de Dryvax, tendo uma propagação de modo asséptico em culturas de células. Assim, contém o vírus vaccínia vivo, competente para replicação. Além disso, apresentou baixos níveis de neurovirulência em modelos animais (WELTZIN et al., 2003). Ademais, tem sua administração por via percutânea, através da técnica de punção múltipla, em uma única dose. É recomendado a revacinação com ACAM2000 a cada três anos, porém, para pessoas que trabalham manuseando culturas ou

animais possivelmente infectados por vírus vaccínia, recomenda-se a vacinação de rotina (PETERSEN et al., 2016).

Em contrapartida, JYNNEOS caracteriza-se como uma vacina de terceira geração baseada na cepa Ankara do vírus vaccínia, modificada com deleção de quase 10% do seu genoma e não replicante. Este imunizante foi feito para adultos maiores de 18. Esta, é produzida através de fibroblastos de ovo de galinha por meio de um meio sem soro. Além disso, tem a sua administração por via subcutânea, a partir de um regime de duas doses de 0,5 mL, com 4 semanas de intervalo. A vacina JYNNEOS também teve sua aprovação para varíola e varíola dos macacos no Canadá, e apenas para varíola na Europa (HUNG et al., 2022). A sua eficácia foi estabelecida por meio da sua imunogenicidade em estudos clínicos e de dados filtrados em estudos de eficácia em animais (RAO et al., 2022).

2.6.2 Imunoglobulina intravenosa (IgIV)

A imunoglobulina intravenosa (IgIV) destaca-se por melhorar a resposta imune em pacientes com varíola, e tem sido empregada no tratamento de variados distúrbios neurológicos, imunológicos, reumatológicos e dermatológicos (PEREZ et al., 2017). Esta é constituída por imunoglobulinas policlonais agrupadas que, por sua vez, são purificadas a partir do plasma de milhares de doadores saudáveis. Os mecanismos que justificam a sua ação estão associados à diminuição da atividade dos macrófagos, inibição das células-T autoreativas, redução da produção endógena de anticorpos e um perfil equilibrado de citocinas (COUSENS et al., 2013).

Como a IgIV já foi anteriormente utilizada para varíola, considera-se que esta pode ser também usada no tratamento da infecção causada por MPXV. Além disso, esta vacina configura um produto recentemente licenciado pela FDA, sendo recomendada para pacientes expostos à imunodeficiência das células-T, cuja vacinação contra varíola é contraindicada (PARKER et al., 2021). Diante disso, a IgIV configura uma estratégia terapêutica importante que pode ser capaz de melhorar os resultados de pacientes com quadro grave de infecção por MPXV.

2.6.3 Outras estratégias imunoterapêuticas promissoras

Estratégias imunoterapêuticas relevantes como aquelas envolvendo anticorpos monoclonais, terapia baseada em células NK e agentes imunomoduladores, ganham destaque por demonstrar resultados positivos no tratamento de doenças virais. Assim, anticorpos

monoclonais, são largamente indicados para o tratamento de OTPV (GILCHUK et al., 2016; MUCKER et al., 2022; XIAO e ISAACS, 2010), podendo ser uma vertente terapêutica promissora mediante infecção grave motivada por MPXV.

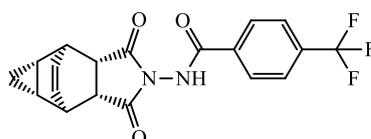
Ademais, a aplicação da terapia através de células NK para varíola dos macacos pode ser uma alternativa promissora, se houver confirmação do seu papel frente ao MPXV. Tendo em vista que, a citotoxicidade mediada por células NK possui especificidade para quase todas as células infectadas por vírus, assim como SARS-CoV-2, citomegalovírus, vírus da imunodeficiência humana (HIV) e ortopoxvírus (OPV) (ARASE et al., 2002; DAI e CALIGIURI, 2018; FANG et al., 2008; MARKET et al., 2020), em que o receptor ativador de células NK NKG2D é imprescindível para a morte mediada por células NK de células infectadas por OTPV (FANG et al., 2008).

2.7 Fármacos aprovados para o tratamento da doença e futuros desenvolvimentos

2.7.1 Tecovirimat

Em 2002, devido ao apelo dos EUA, a SIGA Technologies buscou desenvolver e fornecer ao Estoque Nacional Estratégico um antiviral para varíola, como suporte em caso de um surto de varíola. Logo, através de pesquisas envolvendo *high-throughput screening* (HTS) de 356.240 compostos, o ST-246[®] (tecovirimat) (Figura 4) foi inicialmente identificado (YANG et al., 2005). Deste modo, o HTS foi aplicado para avaliar a capacidade destes compostos em inibir o efeito citopático induzido pelo vírus vaccínia (YANG et al., 2005). Posteriormente, foram realizadas uma série de investigações em torno desta molécula, incluindo estudos *in vitro*, segurança pré-clínica, testes farmacocinéticos e de eficácia. Adicionalmente, foram efetuados ensaios clínicos de fase I e II com objetivo de analisar a segurança e farmacocinética do composto.

Figura 4- Estrutura molecular do Tecovirimat



Fonte: elaborado pela autora (2022)

Portanto, o tecovirimat é um derivado de 4-trifluorometilfenol, que demonstrou

inibir a replicação do vírus com um IC_{50} de $0,010 \mu M$. Além disso, este demonstrou uma $CC_{50} > 40 \mu M$. Sendo assim, mostrou-se ativo contra diversos ortopoxvírus, como o vírus vaccínia, camelpox, cowpox, varíola e mousepox (HUNG et al., 2022).

Este antiviral age inibindo a produção extracelular de vírus, a partir da interação com o produto do gene *F13L*, o qual é uma fosfolipase D que atua na formação de um complexo proteico responsável por catalisar o encapsulamento de partículas virais maduras (CHEN et al., 2009; DELAUNE e ISENI, 2020; JORDAN et al., 2010). Conseqüentemente, o tecovirimat impede a disseminação viral célula-célula e a longa distância.

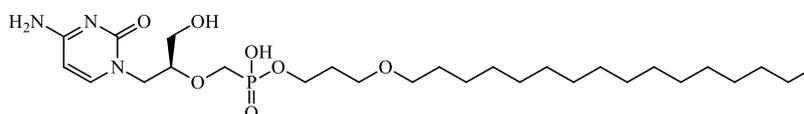
Complementarmente, evidências laboratoriais demonstraram que a administração tardia deste fármaco também é eficaz frente à infecção por Monkeypox. Russo *et.al* (2018) mostraram em seus estudos que macacos cynomolgus infectados com dose letal do vírus aerossolizado, que quando submetidos ao tratamento com tecovirimat em 5, 6, 7 ou 8 dias de infecção, a taxa de sobrevivência foi de 100%, 67%, 100% e 50%, respectivamente (RUSSO et al., 2018). A partir disso, concluiu-se que o antiviral fornece proteção contra os efeitos clínicos da doença.

Adicionalmente, estudos de ensaios clínicos de fase I determinaram que o fármaco pode ser administrado por via oral, além de confirmar a sua tolerância e segurança, mediante os testes realizados nesta fase (JORDAN et al., 2008). Além disso, também foi permitido validar um regime posológico de 600 mg duas vezes ao dia em adultos com idades entre 18 e 79 anos, o que refletiu um ótimo perfil de segurança (GROSENBACH et al., 2018).

2.7.2 Brincidofovir

O brincidofovir (BCV ou hexadeciloxipropil-cidofovir [HDP-CDV]) (Figura 5) é um antiviral oral empregado no tratamento da varíola em humanos, especificamente pacientes adultos e pediátricos (GROSENBACH et al., 2018). Este é um pró-fármaco conjugado lipídico do cidofovir (CDV), um análogo de nucleotídeo acíclico. Seu desenvolvimento deu-se pela Chimerix sob a marca Tembex[®], sendo aprovado pela FDA em junho de 2021, para o tratamento da infecção por varíola humana.

Figura 5- Estrutura molecular do Brincidofovir



Fonte: elaborado pela autora (2022)

O fato de ser um conjugado lipídico potencializa suas propriedades farmacocinéticas, uma vez que melhora a entrega do fármaco às células-alvo, além de reduzir seu perfil nefrotóxico, característica associada à terapia com CDV (HOSTETLER, 2010). Ademais, por ser formulado como pró-droga, demonstra uma biodisponibilidade superior à do CDV, o que permite a sua administração por via oral em detrimento da intravenosa. Adicionalmente, o BCV possui um amplo espectro de ação para diferentes vírus, incluindo vírus BK, adenovírus, vírus Epstein-barr, citomegalovírus, entre outros (HOSTETLER, 2010).

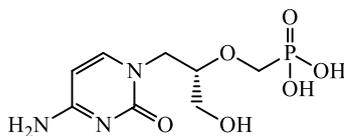
Neste sentido, estudos com o intuito de investigar a eficácia terapêutica de agentes antivirais contra poxvírus têm sido realizados, a partir de cães da pradaria infectados. Logo, o BCV demonstrou uma tendência na eficácia de acordo com o momento do início do tratamento de até 57%. Dessa forma, sugerindo a sua administração precoce para varíola dos macacos (HUTSON et al., 2021).

O componente lipídico do BCV mimetiza um lipídio endógeno, lisofosfatidilcolina, portanto, confere ao fármaco a capacidade de sequestrar as vias endógenas de captação de lipídios, resultando na sua entrada nas células infectadas. Após o processo de captação, a molécula lipídica sofre clivagem, dando origem ao CDV, que por sua vez é fosforilado, gerando o difosfato de cidofovir, o composto antiviral ativo. Entretanto, o composto ativo pode ser incorporado à cadeia de DNA viral em crescimento, logo, reduzindo a taxa de síntese de DNA viral.

2.7.3 Cidofovir

O CDV (Figura 6) é um antiviral injetável, análogo de nucleosídeo acíclico, sendo aprovado em 1996 para uso clínico no tratamento da retinite por citomegalovírus (CMV) em pacientes com AIDS. Este é utilizado no tratamento de infecções causadas por vírus de DNA como o herpes vírus humano, adenovírus, citomegalovírus humano, dentre outros (CLERCQ et al., 1986). Além disso, ensaios *in vitro* e em modelos animais mostraram que o CDV apresenta atividade antiviral frente o gênero *Orthopoxvirus*, incluindo varíola a varíola dos macacos (ANDREI e SNOECK, 2010).

Figura 6- Estrutura molecular do Cidofovir



Fonte: elaborado pela autora (2022)

Ademais, o CDV atua a partir da inibição seletiva da DNA polimerase viral, resultando na incorporação na cadeia crescente de DNA viral levando a redução na taxa de síntese viral. No entanto, atrelado a este fármaco existem fatores preocupantes como a toxicidade renal, hipersensibilidade e outras reações adversas que enfraquecem sua recomendação médica. Além disso, a ausência de dados clínicos que comprovem sua eficácia no tratamento ou prevenção da varíola ou varíola dos macacos em humanos, é um impasse. Logo não é sabido se o tratamento de pessoas acometidos por estas infecções trará resultados benéficos (ANDREI e SNOECK, 2010).

2.8 Fármacos reposicionados com agentes antivirais contra Monkeypox

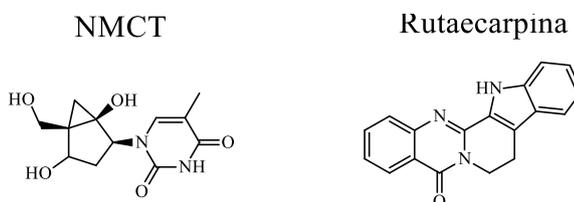
Estudos de reposicionamento de fármacos frente ao Monkeypox são de extrema importância, tendo em vista que atualmente o arsenal terapêutico para o tratamento da varíola dos macacos é escasso (SILVA-JÚNIOR, 2022). Neste sentido, Lam et al. (2022) realizaram estudos empregando a triagem virtual e dinâmica molecular com o objetivo de explorar a capacidade de reaproveitamento de variados fármacos frente ao monkeypox, com aprovação prévia pela FDA ou outras jurisdições (LAM et al., 2022). Os autores basearam-se na genética de outros poxvírus, como o vaccínia, para poder estabelecer os alvos do reposicionamento. De todos os *Poxviridae*, o vaccínia é um dos mais estudados devido ao seu uso para o desenvolvimento de vacinas e sua baixa virulência quando comparado ao vírus da varíola (JACOBS et al., 2009; MACNEIL et al., 2009). Portanto, os alvos investigados incluíram A48R, A50R, complexo de trímero de proteína D13L, F13L e I7L.

2.8.1 NMCT e rutaecarpina

NMCT e rutaecarpina (Figura 7) mostraram ser úteis no reaproveitamento frente ao A48R. Este, é uma timidilato quinase, e complexa-se com o difosfato de timidina (CAILLAT et al., 2008). No entanto, o A48R, atualmente, não é alvo de nenhum fármaco conhecido. Porém, configura um alvo atraente para análogos de timidina, tendo em vista que sua função baseia-se

em fosforilar o monofosfato de timidina e também análogos de 5'-monofosfato desoxiuridina halogenado (PRICHARD e KERN, 2012).

Figura 7- Estrutura molecular do NMCT e Rutaecarpina



Fonte: elaborado pela autora (2022)

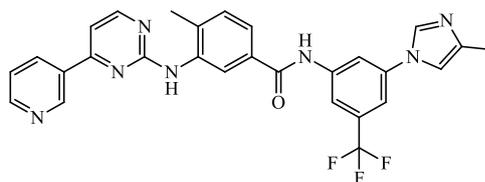
Assim, NMCT e rutaecarpina exibiram uma afinidade de ligação pelo A48R de $-7,0$ kcal/mol e $-9,0$ kcal/mol, respectivamente (LAM et al., 2022). O NMCT, especificamente, teve sua escolha definida mediante prévia atividade relacionada à timidina quinase de poxvírus, somado ao bom desempenho nos estudos de ancoragem molecular, utilizando QVina2.1. Por outro lado, a rutaecarpina é um alcaloide bioativo, que foi isolado de *Evodia rutaecarpa*. Esta é uma erva medicinal versátil, e possui uma vasta aplicação clínica na China, incluindo tratamento de dores de cabeça, hemorragia pós-parto, dor abdominal, amenorreia e disenteria (TIAN et al., 2019).

Ambos os compostos realizam interações hidrofóbicas com o alvo. Entretanto, o NMCT estabeleceu fortes ligações de hidrogênio com alguns resíduos de aminoácidos. Adicionalmente, estas moléculas foram agrupadas apenas em um *cluster* estável durante toda a simulação, o que indica estabilidade significativa do ligante no sítio ativo (LAM et al., 2022).

2.8.2 Nilotinibe

O nilotinibe (Figura 8) foi o fármaco que mais demonstrou afinidade de ligação para A50R dentre os fármacos rastreados por Lam *et al.* (2022), com pontuação de $-10,8$ kcal/mol no QVina2.1. A A50R é uma DNA ligase, sendo reconhecida por ser inibida pela mitoxantrona, um fármaco anticancerígeno, o qual o vírus vaccínia é resistente. Onde o provável mecanismo de resistência esteja atrelado ao A50R produzido pelo vírus (DENG et al., 2007).

Figura 8- Estrutura molecular do Nilotinibe.



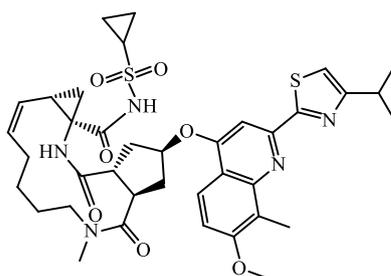
Fonte: elaborado pela autora (2022)

No entanto, o nilotinibe é um inibidor da tirosina quinase, utilizado para o tratamento da fase crônica da leucemia mieloide crônica (LMC) (VARSHNEY et al., 2022). Em adição, foi escolhido, uma vez que há evidências *in silico* e também por conta da sua meia-vida significativamente mais longa que os outros medicamentos. Consequentemente, este fármaco apresentou um valor de RMSD baixo ao longo da simulação de dinâmica molecular. Além disso, também foram observadas interações de hidrogênio e hidrofóbicas entre o ligante e o alvo (LAM et al., 2022).

2.8.3 Simeprevir

O simeprevir (Figura 9) foi o fármaco escolhido como reposicionado para D13L. Este é um complexo de trímero proteico responsável por conferir rigidez à membrana, além de ser crucial na morfogênese das partículas virais (BAHAR et al., 2011).

Figura 9- Estrutura molecular do Simeprevir.



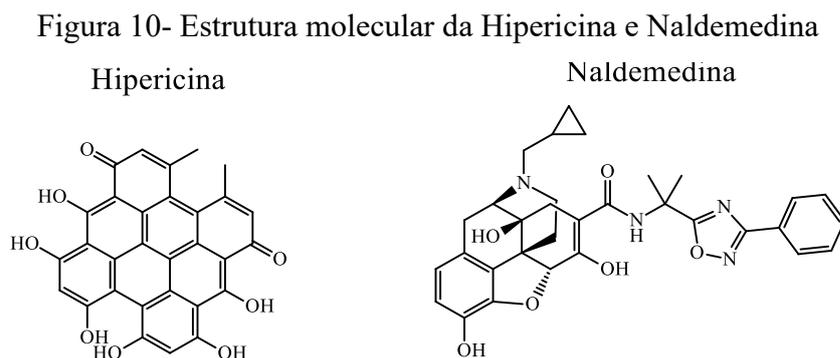
Fonte: elaborado pela autora (2022)

Em contrapartida, o simeprevir é um antiviral de ação direta, e atua inibindo a protease NS3/4A do vírus da hepatite C (HCV), sendo indicado para tratar a infecção crônica em adultos com genótipo 1 do HCV (LI et al., 2019). Ademais, destaca-se por inibir a síntese proteica, maturação e replicação viral. Neste sentido, este antiviral, apresentou um valor de energia de ligação alto, em torno de $-9,2$ kcal/mol frente ao complexo de trímero D13L, um valor maior que a pontuação da droga utilizado como modelo referência, a rifampicina. De

modo complementar, foram observadas ligações de hidrogênio. Além do RMSD mostrar menor flutuação do simeprevir quando comparado à rifampicina, ressaltando uma forte estabilidade de ligação, o que é um potencial indicador da atividade inibitória frente D13L (LAM et al., 2022).

2.8.4 Hipericina e naldemedina

A hipericina e naldemedina (Figura 10) foram os fármacos escolhidos para F13L. Este, é um alvo de grande importância para a clínica do poxvírus, uma vez que ele é o alvo do único medicamento aprovado, tecovirimat, para o tratamento destas viroses. Logo, destaca-se por ser uma importante proteína do envelope, além de ser uma proteína de membrana palmitoilada (PRICHARD e KERN, 2012). Assim, o F13L tem papel crucial na formação do VE, e na invasão viral na célula (MOSS, 2016).



Fonte: elaborado pela autora (2022)

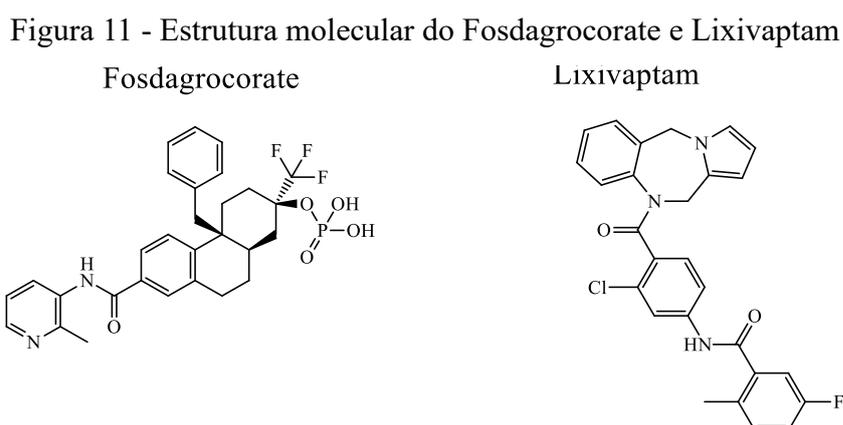
Neste contexto, a hipericina é um metabólito secundário presente no extrato da erva-de-São-João (*Hypericum perforatum*), o qual possui efeito antidepressivo comprovado, e é apresentado na forma de comprimidos, cápsula, soluções, xaropes e tabletes. Esta, atua na inibição da enzima monoamino oxidase (MAO), que por sua vez é responsável pela degradação de monoaminas, em sua maioria, neurotransmissores como a serotonina (SOUZA et al., 2006). Em contrapartida, a naldemedina é um antagonista opioide usado no tratamento da constipação induzida por opioides. No entanto, é uma análogo da naltrexona, onde modificações foram realizadas em torno desta molécula, objetivando resultar em um transporte restrito através da barreira hematoencefálica. Para isso, foi adicionada uma cadeia lateral, com o intuito de aumentar o peso molecular e a área de superfície polar (MARKHAM, 2017).

Tanto a hipericina quanto a naldemedina, demonstraram valores de afinidade de ligação maiores que a do medicamento de controle, o tecovirimat ($-8,4$ kcal/mol), com $-11,2$

kcal/mol e $-10,1$ kcal/mol, respectivamente. A hipericina teve um encaixe perfeito no bolsão de F13L, tendo as extremidades hidrofílicas interagindo de acordo com a proteína. Ademais, foram observadas duas ligações de hidrogênio. A naldemedina também apresentou áreas hidrofóbicas e hidrofílicas, contendo o grupo nitrogênio hidrofílico, estabelecendo ligação adequada com o alvo. Ambos os fármacos demonstraram estabilidade, a partir de conformações estáveis em mais de 95% da simulação. Adicionalmente, a naldomedina, realizou múltiplas ligações de hidrogênio não transitórias, e muitas interações hidrofóbicas com os resíduos de aminoácidos de FL13 (LAM et al., 2022).

2.8.5 Fosdagrocorate e lixivaptam

Os fármacos fosdagrocorate e lixivaptam (figura 11) apresentaram mais resultados positivos frente a IL7. Esta última, é uma cisteína protease, responsável por clivar as principais proteínas estruturais e de membrana dos ortopoxvírus (BYRD et al., 2004). Devido a sua função em interferir na replicação viral, a partir da clivagem de poliproteínas precursoras, as proteases são alvos terapêuticos ideais. Logo, as proteases do vírus da varíola dos macacos também são alvos importantes no desenvolvimento de medicamentos ou reposicionamento de fármacos. Como pôde ser visto em estudos anteriores que identificaram o TTP-6171 (BYRD et al., 2004).



Fonte: elaborado pela autora (2022)

O fosdagrocorate é um composto que estava sendo desenvolvido para o tratamento da artrite reumatoide, este é um modulador seletivo de receptor de glicocorticoide não esteroide. No entanto, a droga nunca foi comercializada, atingindo apenas os ensaios clínicos de fase II, antes de ter seu desenvolvimento descontinuado (BUTTGEREIT et al.,

2019). Por outro lado, o lixivaptan é um antagonista seletivo do receptor de vasopressina 2, não peptídico, sendo oralmente ativo. Porém, é uma droga experimental e que se encontra no final da fase III dos ensaios clínicos voltados para o tratamento da doença renal policística autossômica dominante (BAIS et al., 2022; DI MISE et al., 2019).

Portanto, ambos os compostos, mostraram uma afinidade de ligação em torno de $-10,1$ kcal/mol, sendo mais forte quando comparado com composto referência TTP -6171, com $-9,3$ kcal/mol. Ambas moléculas tiveram maior estabilidade no local de ligação, a partir de valores de RMSD baixos, além de baixa flutuação, ao longo da simulação. Ademais, o fosdagrocorate estabeleceu uma forte ligação de hidrogênio. Adicionalmente, a presença de anéis aromáticos em ambos, leva a formação de interação empilhamento π , fator que contribui para a estabilidade da posição do ligante na proteína (LAM et al., 2022).

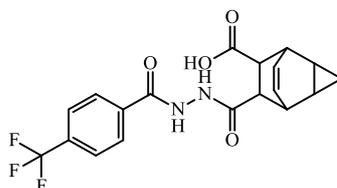
2.8.6 NIOCH-14

O composto sintetizado quimicamente, NIOCH-14 (Figura 12), é um derivado do ácido triciclodicarboxílico e um precursor do tecovirimat, que teve sua atividade antiviral avaliada em experimentos *in vitro* e *in vivo*, a partir do vírus ectromelia e OPV altamente patogênicos para humanos, incluindo o MPXV (MAZURKOV et al., 2016).

Foram utilizados modelos de camundongos infectados por estes vírus. Logo, 100% dos animais foram protegidos pelo tratamento, até 2 dias após a administração, porém, a taxa de sobrevivência após 6 dias pós-infecção foi de 60%, estabelecendo uma diferença significativa entre a duração do efeito de proteção destes e sua respectiva taxa de sobrevivência para os camundongos infectados. Posteriormente, um modelo de estudo envolvendo marmotas infectadas com o MPXV foi utilizado para avaliar o desempenho do NIOCH-14.

Como resultados, viu-se que sua eficácia foi semelhante à do tecovirimat quando administrado uma dose diária de 40 mg/kg (MAZURKOV et al., 2016). Diante, disso, o NIOCH-14, enquadra-se como um forte candidato antiviral frente ao MPXV, futuramente, ganhando destaque (WHO, 2010).

Figura 12- Estrutura molecular do NIOCH-14

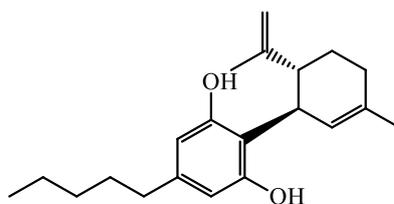


Fonte: elaborado pela autora (2022)

2.8.7 Canabidiol

Júnior et al, (2022) (SANTOS-JÚNIOR et al., 2022) evidenciaram em seu trabalho a importância do desenvolvimento de alternativas terapêuticas com o propósito de diminuir o estado hiperinflamatório e controlar os sintomas em pacientes infectados pelo MPX. Portanto, um potencial candidato para aliviar os sintomas da MPXV, seria o canabidiol (CBD) (figura 13), uma vez que possui propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias (SIVESIND et al., 2022) . Estudos anteriores demonstraram que o CBD reduz as concentrações séricas de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13 em camundongos, além de modular o sistema endocanabinoide ativando o receptor CB 2 que é expresso no tecido linfóide, levando a inibição da tempestade de citocinas e redução da inflamação (SPIERA et al., 2020).

Figura 13- Estrutura molecular do Canabidiol



Fonte: elaborado pela autora (2022)

Ademais, ensaios clínicos avaliaram a eficácia e a segurança de formulações sistêmicas e tópicas de CBD para o tratamento de doenças inflamatórias da pele, incluindo dermatomiosite, esclerose sistêmica e dermatite atópica. Assim, esses estudos sugerem que o CBD pode ser uma alternativa para o tratamento de prurido, ressecamento da pele, eritema, dor e fechamento/cicatrização de feridas. No entanto, é necessário a realização de mais pesquisas acerca dessa possível contribuição do CBD para o tratamento e alívio dos sintomas da infecção causada por MPXV.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A varíola dos macacos, antes caracterizada como uma doença restrita ao continente africano, ganhou destaque nos últimos tempos devido ao seu aparecimento em países do ocidente. Logo, a expansão geográfica do vírus, de forma intercontinental, cooperou para a transmissão acentuada de humano para humano. Assim, estabeleceu-se um alerta mundial quanto a esta zoonose e o aumento desenfreado no número de novos casos. Tendo em vista a sua gravidade, a vacinação contra o vírus Monkeypox é recomendada, sendo usada em situações de pré- ou pós exposição. Portanto, as vacinas licenciadas na Europa, Estados Unidos e Canadá, são a ACAM2000 e JYNNEOS e mostraram-se eficazes quanto a prevenção da varíola dos macacos, sendo as duas indicadas como profilaxia na pré-exposição. Portanto, as vacinas disponíveis contra a varíola dos macacos são indicadas apenas em caso de alto risco, não sendo realizada, no momento, a vacinação universal.

Entretanto, é necessário padronizar um tratamento farmacológico para esta patologia, uma vez que ainda é escasso o arsenal terapêutico para esta. Deste modo, alguns fármacos vêm sendo aprovados para o tratamento da doença, bem como o tecovirimat, que teve comprovada a sua ação protetora contra os efeitos clínicos da varíola dos macacos, sendo capaz de impedir a disseminação viral célula-célula e a longa distância. Adicionalmente, o brincidofovir também é um dos candidatos que tem a sua administração sugerida para a varíola dos macacos, tendo em vista a sua eficácia terapêutica contra os poxvírus. Assim, estes antivirais são recomendados, em situações clínicas com risco de gravidade patológica.

Portanto, a partir da busca literária realizada neste trabalho, foi possível reunir os principais fármacos que foram reposicionados como agentes virais contra o Monkeypox, e mostraram resultados interessantes por meio de estudos *in silico*. Entretanto, algumas moléculas destacaram-se, tais como o fosdagrocorate e lixivaptam, os quais obtiveram potenciais resultados frente ao Moneypox, uma vez que podem agir sobre a protease IL7 deste vírus, mostrando uma afinidade de ligação em torno de $-10,1$ kcal/mol, sendo mais forte quando comparado com o composto referência TTP-6171($-9,3$ kcal/mol), além de ter estabelecido ligações de hidrogênio com o alvo, que foram observados a partir de estudos *in silico*.

Ademais, o NIOCH-14, também é um antiviral com resultados promissores frente ao Monkeypox, tendo sua eficácia semelhante à do tecovirimat quando administrado uma dose diária de 40 mg/kg em camundongos infectados pelo vírus. Foi observado que a hipericina e naldemedina são compostos químicos que merecem atenção frente ao Monkeypox, uma vez que ambos mostram valores de eficácia melhores frente a um dos principais alvos deste vírus,

a proteína F13L (o alvo do medicamento aprovado para varíola dos macacos, tecovirimat). Logo, a hiperacina com $-11,2$ kcal/mol e a naldemedina $-10,1$ kcal/mol, comparados aos $-8,4$ kcal/mol do tecovirimat. Além de ambos estabelecer ligações químicas estáveis com o alvo, a partir de ligações de hidrogênio que favorecem a eficácia destes compostos.

Desta forma, a partir da elaboração deste trabalho, é imprescindível que a busca por alternativas farmacológicas para o tratamento da varíola dos macacos, continue, e seja estabelecido e selecionados compostos eficazes e seguros contra essa virose. Neste sentido, há uma gama de candidatos que foram destacados nesta pesquisa, que podem ser avaliados de forma mais aprofundada, e futuramente torna-se apto e receber autorização de uso, por parte das instituições reguladoras.

REFERÊNCIAS

- ALPALHÃO, M. et al. **Monkeypox: a new (sexually transmissible) epidemic?** *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 21 Jul. 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jdv.18424>>.
- BEER, Ellen M. e RAO, V. Bhargavi. **A systematic review of the epidemiology of human monkeypox outbreaks and implications for outbreak strategy.** *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 13, n. 10, p. e0007791, 16 Oct. 2019. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0007791>>.
- BREMAN, Joel G. *Monkeypox: an Emerging Infection for Humans?* *Emerging Infections* 4. Washington, DC, USA: ASM Press, 2014. p. 45–67. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1128/9781555816971.ch5>>.
- CDC. **Monkeypox.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/symptoms.html>>.
- CLARO, Ingra Morales et al. **Shotgun metagenomic sequencing of the first case of monkeypox virus in Brazil, 2022.** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652022000100224&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.
- DAMON, Inger K. **Status of human monkeypox: clinical disease, epidemiology and research.** *Vaccine*, v. 29, p. D54–D59, Dec. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X1100524X>>.
- DASHRAATH, Pradip et al. **MONKEYPOX AND PREGNANCY: FORECASTING THE RISKS.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, Aug. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937822006512>>.
- ESSBAUER, S. et al. **Long-Lasting Stability of Vaccinia Virus (Orthopoxvirus) in Food and Environmental Samples.** *Zoonoses and Public Health*, v. 54, n. 3–4, p. 118–124, May 2007. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1863-2378.2007.01035.x>>.
- GRANT, Rebecca e NGUYEN, Liem-Binh Luong e BREBAN, Romulus. **Modelling human-to-human transmission of monkeypox.** *Bulletin of the World Health Organization*, v. 98, n. 9, p. 638–640, 1 Sep. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7463189/pdf/BLT.19.242347.pdf>>.
- GUARNER, Jeannette e DEL RIO, Carlos e MALANI, Preeti N. **Monkeypox in 2022—What Clinicians Need to Know.** *JAMA*, v. 328, n. 2, p. 139, 12 Jul. 2022. Disponível em: <<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2793516>>.
- JEZEK, Z. et al. **Human Monkeypox: Clinical Features of 282 Patients.** *Journal of Infectious Diseases*, v. 156, n. 2, p. 293–298, 1 Aug. 1987. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/156.2.293>>.
- KUMBHAR, Nitin e AGARWALA, Pragma. **The lurking threat of monkeypox in current**

times. Indian Journal of Medical Microbiology, Aug. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0255085722001396>>.

LIGON, B.Lee. **Monkeypox: A review of the history and emergence in the Western hemisphere**. Seminars in Pediatric Infectious Diseases, v. 15, n. 4, p. 280–287, Oct. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1045187004000767>>.

LOUTEN, Jennifer. Virus Structure and Classification. Essential Human Virology. [S.l.]: Elsevier, 2016. p. 19–29. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128009475000028>>.

LUO, Qin e HAN, Jun. **Preparedness for a monkeypox outbreak**. Infectious Medicine, v. 1, n. 2, p. 124–134, Jun. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2772431X22000259>>.

MCFADDEN, Grant. **Poxvirus tropism**. Nature Reviews Microbiology, v. 3, n. 3, p. 201–213, Mar. 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrmicro1099>>.

MOSS, B. **Poxvirus DNA Replication**. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, v. 5, n. 9, p. a010199–a010199, 1 Sep. 2013. Disponível em: <<http://cshperspectives.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a010199>>.

PETERSEN, Eskild et al. **Human Monkeypox**. Infectious Disease Clinics of North America, v. 33, n. 4, p. 1027–1043, Dec. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891552019300170>>.

PRIYAMVADA, Lalita e SATHESHKUMAR, Panayampalli S. Variola and Monkeypox Viruses (Poxviridae). Encyclopedia of Virology. [S.l.]: Elsevier, 2021. p. 868–874. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128096338215458>>.

REALEGENO, Susan et al. **Monkeypox Virus Host Factor Screen Using Haploid Cells Identifies Essential Role of GARP Complex in Extracellular Virus Formation**. Journal of Virology, v. 91, n. 11, Jun. 2017. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.00011-17>>.

RHEINBABEN, Friedrich V. et al. Environmental resistance, disinfection, and sterilization of poxviruses. Poxviruses. Basel: Birkhäuser Basel, [S.d.]. p. 397–405. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-7643-7557-7_19>.

ROCHA, Lucas. **Brasil ultrapassa 4 mil casos de varíola dos macacos; saiba como prevenir**. Disponível em: <<https://www.cnnbrasil.com.br/saude/brasil-ultrapassa-4-mil-casos-de-variola-dos-macacos-saiba-como-prevenir/>>.

SCHMIDT, Florian Ingo e BLECK, Christopher Karl Ernst e MERCER, Jason. **Poxvirus host cell entry**. Current Opinion in Virology, v. 2, n. 1, p. 20–27, Feb. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187962571100188X>>.

SHAHEEN, Nour et al. **Is there a need to be worried about the new monkeypox virus outbreak? A brief review on the monkeypox outbreak**. Annals of Medicine and Surgery, v. 81, p. 104396, Sep. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2049080122011566>>.

SHCHELKUNOV, Sergei N. et al. **Human monkeypox and smallpox viruses: genomic comparison**. FEBS Letters, v. 509, n. 1, p. 66–70, 30 Nov. 2001. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1016/S0014-5793%2801%2903144-1>>.

VENKATESAN, Priya. **Global monkeypox outbreak**. The Lancet Infectious Diseases, v. 22, n. 7, p. 950, Jul. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309922003796>>.