

DOI:10.13350/j.cjpb.240527

• 综述 •

抗寨卡病毒药物研究进展*

董卓凡^{1,2}, 韩尧², 孙岩松², 杨海燕^{1**}, 李浩^{1,2**}

(1. 郑州大学公共卫生学院, 河南郑州 450001; 2. 军事医学研究院微生物流行病学研究所)

【摘要】 寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)是黄病毒科家族中的一员,已成为世界范围内威胁人类健康的潜在病毒。寨卡病毒感染后主要表现为皮疹、发热和关节痛等非特异性症状,但有时也会导致严重的神经系统并发症,例如格林-巴利综合征和新生儿小头畸形。目前,还没有FDA批准的疫苗或药物,因此,迫切需要开安全有效的药物用于控制寨卡病毒的感染。在本文中,我们系统分析了ZIKV药物研发的进展,包括临床批准药物的再利用,抑制剂的筛选、病毒蛋白靶向药物的发现以及小核酸药物的应用。本综述旨在为寨卡病毒感染的预防和治疗提供新的参考。

【关键词】 寨卡病毒;抗病毒药物;抑制剂;CRISPR;综述

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)05-0619-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 May;19(5):619-620, inside back cover, back cover.]

Research progress on anti-Zika drugs

DONG Zhuofan^{1,2}, HAN Yao², SUN Yansong², YANG Haiyan², LI Hao^{1,2} (1. *College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China*; 2. *Institute Microbiology and Epidemiology, Academy Medical Sciences*)

【Abstract】 The Zika virus (ZIKV), a member of the Flaviviridae family, has become a potential virus threatening human health worldwide. Although the primary manifestations of Zika virus infection are non-specific symptoms such as rash, fever, and joint pain, it can sometimes lead to severe neurological complications, such as Guillain-Barre syndrome and microcephaly in newborns. Currently, there are no FDA-approved vaccines or drugs available for ZIKV. And there is an urgent need to prescribe safe and effective drugs to control Zika virus infection. In this review, we systematically summarize the overall strategy for the discovery of ZIKV drugs, which encompasses the repurposing of clinically approved drugs, screening for virus entry inhibitors, the discovery of virus protein-targeted drugs, and the application of small nucleic acid drugs. The review aims to provide new ideas and research directions for the treatment and prevention of Zika virus infection.

【Key words】 Zika virus; antiviral; inhibitors; CRISPR; review

***寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)是一种蚊媒病毒,属于黄病毒家族,主要由伊蚊叮咬传播,是一种正链RNA病毒。1947年, ZIKV首次在乌干达恒河猴体内被分离^[1], 1954年,人类感染ZIKV的首例病例在尼日利亚被报道^[2], ZIKV虽在70年前已被分离出来,但当时人们对其病毒生物学相关认识还存在不足。2014年,格林-巴利综合征(Landry-Guillain-Barre-Strohl syndrome, GBS)和小头畸形等与ZIKV感染相关的神经系统疾病病例的突增,才引发了全球关注^[3]。2015年3月,南美洲地区的巴西、阿根廷等地发生大规模疫情的暴发^[4],有44万疑似病例被发现,且疫情所在地的小头畸形的数量出现了很大程度的增加^[5]。因此,世界卫生组织在2016年将ZIKV确认为全球重大公共卫生紧急事件。2016年2月9日,我国首例ZIKV感染病例在江西省报道,这是我国首例输入性ZIKV感染病例。根据世界卫生组织统计,截至2022年2月,全球共有89个国家和地区出现感染病例。

1 寨卡病毒

寨卡病毒病是ZIKV感染所致的一种自限性急性传染病,可通过血液、母婴和性等途径传播,埃及伊蚊是ZIKV的主要传播媒介。ZIKV感染后大约20%的患者会出现发热、皮疹、结膜炎、关节痛以及肌肉疼痛等症状,多在病毒感染一周左右自愈,但有时也会引起严重的并发症。新生儿小头畸形是一种

大脑皮质神经祖细胞增殖障碍或死亡造成新生儿神经系统发育异常的疾病,多数患儿可表现有不同程度的智力障碍^[6],怀孕期间感染ZIKV是导致先天性大脑异常的一个重要因素。有研究表明,位于ZIKV prM蛋白中关键位点单个氨基酸突变S139N可显著增加ZIKV的神经毒力,从病毒层面揭示了ZIKV感染导致小头畸形的分子机制,证明了ZIKV感染与小头畸形的直接关联^[7]。少数患者也可被诱发格林-巴利综合征^[8],其是一种人体自身免疫系统攻击部分外周神经系统的一种疾病,常伴有瘫痪、反射消失、轻度感觉缺失、脑脊液蛋白细胞分离等症状。

ZIKV结构呈球形,有包膜,表面有棘突,其表面蛋白呈二十面体对称状排列^[9]。ZIKV基因组为正义单链RNA病毒(+ssRNA),2007年研究人员首次对ZIKV的全基因组(ZIKV MR766原型毒株)完成了病毒基因组测序,病毒的颗粒直径约

* **【基金项目】** 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 2022BCA018)。

** **【通讯作者】** 李浩, E-mail: lihao88663239@126.com
杨海燕, E-mail: yhy@zzu.edu.cn

【作者简介】 董卓凡(1999-),男,山西人,硕士研究生,主要研究方向:病毒学。E-mail: dzf624873750@163.com

为 40 nm,基因组全长约为 10.8 kb,有一个单独的开放阅读框(ORF),两侧分别有 106 个核苷酸和 428 个核苷酸的 5'和 3'的非编码区,编码一个 3 423 个氨基酸的多聚蛋白,随后在宿主和病毒蛋白酶的切割下加工成三个结构蛋白和七个非结构蛋白。结构蛋白包括衣壳蛋白(Capsid,C)、前体膜蛋白(Precursor of the membrane protein,prM)和融合蛋白(Envelope,E),非结构蛋白(Nonstructural,NS)包括 NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B 和 NS5^[10]。与其他黄病毒类似,ZIKV 的结构蛋白位于 N 端,是病毒组装成完整的病毒颗粒的主要组成成分;非结构蛋白是病毒复制复合体的一部分,在病毒复制、病毒粒子组装和宿主免疫应答的逃避中起到调控作用。

临床上针对寨卡病毒病的治疗策略多以对症治疗为主,例如,当患者出现瘙痒皮疹时常用地氯雷他定等抗组胺药物来治疗,出现发烧和疼痛时则使用对乙酰氨基酚等非甾体抗炎药(NSAIDs)来控制。近年来,研究人员在对 ZIKV 基因结构和蛋白质的研究中发现了多种潜在药物靶标,根据作用位点主要分为靶向病毒受体的阻断剂和直接靶向病毒的抑制剂;此外一些新型方法也已被用于抗 ZIKV 治疗研究中,如小分子核酸类药物以及一些广谱抑制剂等,这些方法有效地弥补了一些传统抗病毒药物的不足之处,创新了抗病毒药物的研发思路。

2 抗 ZIKV 药物研究进展

2.1 NS2B-NS3 蛋白酶抑制剂

ZIKV 的 NS2B-NS3 蛋白酶是一种高度保守的病毒复制相关蛋白的酶,由非结构蛋白 NS3 和 NS2B 组成,主要负责病毒多聚蛋白的加工^[11]。研究人员发现许多天然化合物对 NS2B-NS3 蛋白酶具有抑制作用。例如,2017 年 Roy 等^[12]对九种天然产物进行了体外生化酶测定,发现了 5 种黄酮类化合物(杨梅酮(myricetin)、槲皮酮(quercetin)、木犀草素(luteolin)、异鼠李素(isorhamnetin)、芹菜素(apigenin)和 1 种富含天然酚的姜黄素(curcumin)可通过变构效应影响 ZIKV NS2B-NS3 蛋白酶的催化活性。5 种黄酮类化合物对病毒的半数有效浓度(concentration for 50% of maximal effect,EC₅₀)为 1.3~56.3 mmol/L,姜黄素的 EC₅₀ 为 3.5 μmol/L。2020 年,Li 等^[13]发现亚甲蓝(methylene blue)可以抑制病毒蛋白酶 NS3 和其 NS2B 之间的相互作用进而抑制病毒蛋白酶活性和病毒复制时的 NS3 蛋白的产生,其对病毒的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration,IC₅₀)为 8.9 μmol/L。2022 年,Li 等^[14]通过药代动力学和体内研究,发现了一种 FDA 批准的食品添加剂赤藓红 B(Erythrosin B)可显著抑制 ZIKV 的感染,其对病毒的 IC₅₀ 为 0.42 μmol/L,EC₅₀ 为 0.62 μmol/L。在 3D 类器官模型中,赤藓红 B 可有效抑制 ZIKV 的复制;在小鼠模型中,用致死剂量的 ZIKV 攻击的小鼠在口服赤藓红 B 后生存率显著提高了 42.7%^[14]。

2.2 NS3 解旋酶抑制剂

ZIKV 的 NS3 蛋白含有丝氨酸蛋白酶和 RNA 解旋酶结构域,主要负责切割多聚蛋白。2022 年,Zu 等^[15]发现一种功能性 E3 泛素连接酶 TRIM22 在 ZIKV 感染中起着至关重要的作用,过表达 TRIM22 蛋白可以抑制 ZIKV 的复制,而在宿主细胞中敲除 TRIM22 可以增强 ZIKV 的感染性,进一步的研究发现 TRIM22 促进了 ZIKV 非结构蛋白 NS1 和 NS3 的泛素化和降解。2023 年,Ayusso 等^[16]发现了一种来自 Bothropstoxin-I 毒素的(p-BthTX-I)₂K 肽,可在细

胞中抑制 ZIKV 感染,并在病毒进入后降低 ZIKV RNA 的表达和 NS3 蛋白的表达水平,其抑制 ZIKV 的 EC₅₀ 值为 6.5 μmol/L,抑制了约 65.3%的病毒感染。同年,Lozano 等^[17]等人建立了一个黄病毒科 NS3 蛋白酶抑制剂的小分子库,使用黄病毒表型分析进行生物学筛选后发现其中两种先导化合物 42、44 可有效抑制 ZIKV 感染,IC₅₀ 分别为 6.6 μmol/L 和 1.9 μmol/L。

2.3 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RdRp)抑制剂

RdRp 位于 NS5 蛋白的 C 端,主要负责促进病毒基因组合成。由于人类细胞中不存在 RdRp,RdRp 抑制剂对人类细胞产生的危害较少,因此 RdRp 抑制剂是目前具有前景的抗 ZIKV 候选药物之一^[18]。2017 年,Ferreira 等^[19]发现索非布韦(Sofosbuvir)可通过阻断病毒 RdRp 活性来抑制不同细胞系中的 ZIKV。在 ZIKV 感染动物中,索非布韦治疗组的存活率相对对照组提升了 40%。同年,Julander 等^[20]发现 BCX 4430 作为 RdRp 的选择性抑制剂,可促进病毒 RNA 合成链的提前终止,在 Vero 细胞中的 EC₅₀ 为 3.8~11.7 μg·mL⁻¹,在动物实验中,治疗后 24 h 可显著降低 AG129 小鼠的病毒血症,小鼠死亡率减少了 87.5%^[21]。2018 年,Pattnaik 等^[22]对 100 000 个小分子的文库进行了计算机筛选,鉴定出了一种对 ZIKV RdRp 具有强效抑制活性的化合物 TPB,该化合物在 Vero 细胞 IC₅₀ 和 CC₅₀ (Concentration of cytotoxicity 50%)分别为 94 nmol/L 和 19.4 μmol/L,可显著降低由 ZIKV 引发的病毒血症。2019 年,Oo 等^[23]发现黄芩素和黄芩素对 ZIKV NS5 具有很强的结合亲和力,在 Vero 细胞中展现出高效的抗病毒作用。此外,黄芩素和黄芩苷的半衰期分别为 15.01 和 9.65 h,具有良好的药代动力学特性。2020 年,Yuan 等^[24]在 1 789 种 FDA 批准的药物中发现了一种环内酯类抗生素:非达霉素(fidaxomicin),其在体外和体内均有效抑制了 ZIKV 感染,并减轻了 ZIKV 相关的病理损伤,IC₅₀ 为 10.9 μmol/L。进一步研究表明,非达霉素可以直接与 ZIKV NS5 蛋白结合进而抑制 RdRp 的 RNA 合成催化活性。此外,2023 年,Chen 等^[25]对抗感染化合物库和天然产物库进行筛选,发现泊沙康唑(Posaconazole,POS)可有效抑制 RdRp 活性,IC₅₀ 为 4.29 μmol/L,EC₅₀ 为 0.59 μmol/L,研究人员通过分子对接和定点突变分析发现,POS 是通过与氨基酸 D666 结合进而抑制病毒 RdRp 活性。

2.4 甲基转移酶(MTase)抑制剂

甲基转移酶位于 NS5 蛋白的 N 端,主要发挥维持病毒 RNA 复制、加帽和基因组稳定的作用,同时还可调节细胞剪接体的活性^[26]。2020 年,Santos 等^[27]通过基于结构的虚拟筛选、动力学模拟等方法对艾滋病抗病毒筛选数据库中的 42 390 个结构进行了筛选,发现 ZINC1652386 是一种潜在的 ZIKV NS5 MTase 抑制剂,其可与 MTase 形成稳定复合物并且影响 ZIKV 增殖周期,对病毒的 IC₅₀ 为 0.263 μmol/L。2021 年,Song 等^[28]建立了一种基于荧光的甲基转移酶实验用于筛选 NS5 MTase 抑制剂,通过对 228 种天然产物库的筛选,发现茶黄素可有效抑制 ZIKV NS5 MTase 酶的活性,并且抑制作用具有剂量依赖性,IC₅₀ 为 10.10 μmol/L,EC₅₀ 为 8.19 mmol/L。2022 年,Qian 等^[29]发现脱水穿心莲内酯及其衍生物可通过抑制 ZIKV NS5 MTase 的活性抑制 ZIKV 复制,CC₅₀>200 μmol/L。

2.5 E蛋白阻断剂 E蛋白是一种融合蛋白,它对病毒粒子的组装和病毒与靶细胞膜的融合有重要作用,ZIKV的感染始于E蛋白与宿主细胞受体的识别和结合^[30]。当前针对ZIKV E蛋白抑制剂主要有多肽和化合物类。2017年,Yu等^[31]报道了一种源自ZIKV E蛋白茎区域的合成肽,命名为Z2,可以抑制细胞和小鼠中的ZIKV复制,在幼年叙利亚地鼠肾细胞(Baby Hamster Syrian Kidney, BHK21)中的 IC_{50} 为 $1.75 \pm 0.13 \mu\text{mol/L}$,Vero细胞的 IC_{50} 为 $3.69 \pm 0.27 \mu\text{mol/L}$ 。机制研究表明,Z2肽可破坏病毒粒子膜的完整性,进而穿透胎盘屏障,抑制ZIKV在妊娠小鼠中的垂直传播;同年,Chen等^[32]也报道了一种来自日本脑炎病毒(JEV)E蛋白结构域(A424到F445)的肽(P5)可在微摩尔水平上阻断ZIKV的感染, IC_{50} 为 3.93 nmol/L ,此外,P5减少了AG6小鼠(I型和II型干扰素受体缺陷小鼠)感染ZIKV后脑和睾丸的组织病理学损伤。同年,Sharma等^[33]用基于结构的药物发现方法筛选了针对ZIKV E蛋白的市售抗病毒化合物库,对筛选出的前十个化合物进行了抗病毒实验验证,结果表明化合物F1065-0358能够有效抑制ZIKV复制, IC_{50} 为 $14.0 \mu\text{mol/L}$,机制研究结果表明,F1065-0358是通过干扰E蛋白构象重排而发挥抑制ZIKV的作用。

2.6 靶向宿主蛋白的病毒进入抑制剂 在病毒感染早期,病毒通过宿主受体介导进入细胞,因此,研究人员试图通过破坏病毒-宿主细胞相互作用或阻断介导病毒衣壳内吞的宿主细胞因子来阻止病毒进入细胞。2017年,Rausch等^[34]对抗ZIKV的化合物库进行了基于图像的高通量筛选,发现了一种抑制剂南昌霉素(Nanchangmycin),在U2O-S(人骨肉瘤细胞)细胞中对ZIKV的 IC_{50} 为 $0.1 \mu\text{mol/L}$,进一步研究发现表明南昌霉素可能通过阻断网格蛋白介导的内吞作用而发挥作用。此外,姜黄素同样被证明可通过与细胞表面的结合而发挥抑制ZIKV感染的作用^[35], IC_{50} 为 $1.90 \mu\text{mol/L}$ 。

2.7 小核酸类药物 小核酸类药物是由十几个到几十个核苷酸串联组成的短链核酸,它可直接与靶RNA结合,实现分子水平上的靶向治疗^[36]。小核酸药物是针对转录后水平的干预治疗,其有望在难以成药的特殊蛋白靶点上实现突破,具备使“不可靶向”、“不可成药”的疾病开发出靶向治疗药物的潜力,形成继小分子药物、抗体药物之后的现代新药第三次浪潮。小核酸类药物主要包括反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)^[37]、小干扰RNA(Small interfering RNA, siRNA)^[38]以及CRISPR基因编辑技术。ASO是一种单链寡核苷酸分子,因其可进行多种人工合成修饰,具有靶向性好精准和成药性好等优势,针对脊髓性肌肉萎缩症研发的反义寡核苷酸注射液诺西那生钠于2016年12月23日在美国获批,可以直接将药物输送到脊髓周围的脑脊液中改变疾病进程,目前已有多个ASO类药物获批上市。2018年,Popik等^[39]使用靶向ZIKV 5'非编码区(5'-UTR)的吗啉代修饰反义寡核苷酸(DWK-1)抑制病毒的复制,结果表明,DWK-1以剂量依赖的方式有效降低了细胞内ZIKV RNA的积累,在 $1.0 \sim 1.5 \mu\text{mol/L}$ 时病毒抑制率可以达到50%,在 $10 \mu\text{mol/L}$ 时病毒抑制率达到了95%以上,ZIKV E蛋白的表达水平降低了98%以上,同时抑制了ZIKV诱导的人肾小球足细胞和原代人视网膜内皮细胞的体外炎症基因表达。siRNA称为短干扰RNA或沉默RNA,可以通

过碱基互补配对结合目标序列,并对其进行特异性的基因沉默。2020年,Perez-Mendez等^[40]针对ZIKV的3'非编码区(3'UTR)设计了一条siRNA,并将其转染到感染ZIKV的C6/36(幼蚊细胞)细胞株中,发现其能够显著抑制ZIKV的复制和细胞的病变效应,在转染 $2 \mu\text{g}$ siRNA时,靶向组中病毒载量qPCR检测Ct值相比非靶向组最高可升高了10.11,提示该siRNA可有效抑制ZIKV核酸1000倍以上。CRISPR-Cas13系统具有靶向单链RNA分子和介导RNA切割的独特能力,目前已被用于针对艾滋病病毒、乙肝病毒、登革病毒^[41]、新冠病毒^[42]等多种病毒的研究。2022年,Chen等^[43]利用CRISPR-Cas13b系统在建立了一种抗ZIKV感染方法,在1138个ZIKV基因组候选靶点中设计了14个CRISPR RNA(crRNA),以靶向ZIKV基因组中最保守的区域。结果表明其中5条crRNA可以显著抑制ZIKV感染,病毒抑制率达到了50%以上,进一步验证了CRISPR-Cas13作为一种针对ZIKV治疗新策略的可能性。

2.8 临床批准的药物 再利用已批准药物的再利用已成为药物开发的一种重要策略。与筛选一种新抑制剂相比,药物再利用具有速度快、成本低、效率高等优点。由于它们已经被批准用于人类,重新利用的药物相比新药物可能更容易进入临床试验。2016年,Pascoalino等^[44]建立了一种基于细胞的高内涵筛选方法,从725种FDA批准的化合物中筛选出29种具有抗ZIKV活性的药物,其中22种已通过剂量-反应曲线得到证实,其中帕洛司琼(Palonosetron)、6-氮杂尿苷(6-Azauridine)、5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil)、洛伐他汀(Lovastatin)、吉他霉素(Kitasamycin)等五种化合物在人类细胞系中表现出良好的抗ZIKV活性, EC_{50} 介于 $2.3 \sim 41.7 \mu\text{mol/L}$ 之间。2019年,Loe等^[45]利用基于表型的筛选平台对美国FDA批准的1172种化合物的药物库进行高通量筛选,发现了一种血管紧张素II受体抑制剂坎地沙坦西酯对ZIKV有显著的抑制作用, IC_{50} 为 $0.003 \mu\text{mol/L}$,具体机制或为该药物在ZIKV复制阶段的后期抑制病毒RNA的产生和病毒蛋白质的合成。

3 展望

作为一种蚊媒传播的正链RNA病毒,ZIKV在2015年引起了大规模的感染,虽然ZIKV感染通常不会引起任何症状或仅引起轻度自限性疾病,但也导致一些严重的神经系统疾病有关,例如小头畸形和GBS。尽管美洲的ZIKV感染病例已显著下降,但最近在印度爆发的ZIKV突显了继续开发针对这种新病原体有效治疗对策的紧迫性。过去几年,研发人员对ZIKV抑制剂的研发做出了巨大努力,发现了多种可有效抑制ZIKV的抑制剂。同时,基因治疗作为当今最前沿的生物技术之一,在治疗肿瘤、遗传性疾病、代谢疾病、预防性传染病等方面不断取得突破性进展。其中小核酸药物正在成为新药研发第三次浪潮中的佼佼者,该类药物的研究促进了抗病毒策略的发展,目前研究人员已成功利用siRNA,反义寡核苷酸以及CRISPR-Cas13系统实现了对ZIKV的抑制,基于核酸治疗的抗病毒药物有望成为新一代抗病毒药物。长远来看,除了本综述中提到的药物外,可能需要发现更多新的药物及抗病毒策略,以期有效控制下一场由ZIKV所引发的传染病疫情。

【参考文献】

- [1] Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus (i). isolations and serological specificity[J]. *T Roy Soc Trop Med H*, 1952, 46 (5):509-520.
- [2] Macnamara FN. Zika virus; a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in nigeria[J]. *T Roy Soc Trop Med H*, 1954, 48(2):139-145.
- [3] Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, et al. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(22):2142-2151.
- [4] Pettersson JHO, Eldholm V, Seligman SJ, et al. How did zika virus emerge in the pacific islands and latin america? [J]. *MBio*, 2016, 7(5):e01239-16.
- [5] Plourde AR, Bloch EM. A literature review of zika virus[J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22(7):1185-1192.
- [6] Woods CG, Bond J, Enard W. Autosomal recessive primary microcephaly (mcp): a review of clinical, molecular, and evolutionary findings[J]. *Am J Hum Genet*, 2005, 76 (5): 717-728.
- [7] Yuan L, Huang XY, Liu ZY, et al. A single mutation in the prn protein of zika virus contributes to fetal microcephaly [J]. *Science*, 2017, 358(6365):933-936.
- [8] Oehler E, Watrin L, Larre P, et al. Zika virus infection complicated by guillain-barre syndrome - case report, french polynesia, december 2013[J/OL]. *Eurosurveillance*, 2014, 19(9):20720.
- [9] Wang A, Thurmond S, Islas L, et al. Zika virus genome biology and molecular pathogenesis[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2017, 6 (1):1-6.
- [10] Shi Y, Gao GF. Structural biology of the zika virus [J]. *TrendBiochem Sci*, 2017, 42(6):443-456.
- [11] Lei J, Hansen G, Nitsche C, et al. Crystal structure of zika virus ns2b-ns3 protease in complex with a boronate inhibitor[J]. *Science*, 2016, 353(6298):503-505.
- [12] Roy A, Lim L, Srivastava S, et al. Solution conformations of zika ns2b-ns3pro and its inhibition by natural products from edible plants[J]. *Plos one*, 2017, 12(7):e0180632.
- [13] Li Z, Lang Y, Sakamuru S, et al. Methylene blue is a potent and broad-spectrum inhibitor against zika virus *in vitro* and *in vivo* [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1):2404-2416.
- [14] Li Z, Xu J, Lang Y, et al. Invitro and invivo characterization of erythrosin b and derivatives against zika virus[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(4):1662-1670.
- [15] Zu S, Li C, Li L, et al. TRIM22 suppresses zika virus replication by targeting ns1 and ns3 for proteasomal degradation[J]. *Cell Biosci*, 2022, 12:139.
- [16] Ayusso GM, Lima MLD, Da silva sanches PR, et al. The dimeric peptide (kkyryhlpf) 2k shows broad-spectrum antiviral activity by inhibiting different steps of chikungunya and zika virus infection[J]. *Viruses*, 2023, 15(5):1168.
- [17] Del rosario garcia-lozano M, Dragoni F, Gallego P, et al. Piperazine-derived small molecules as potential flaviviridae ns3 protease inhibitors. *in vitro* antiviral activity evaluation against zika and dengue viruses [J]. *Bioorganic Chem*, 2023, 133:106408.
- [18] Choi KH, Rossmann MG. RNA-dependent rna polymerases from flaviviridae[J]. *Current OpinionStructural Biol*, 2009, 19 (6):746-751.
- [19] Ferreira AC, Zaverucha-do-valle C, Reis PA, et al. Sofosbuvir protects zika virus-infected mice from mortality, preventing short- and long-term sequelae[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):9409.
- [20] Julander JG, Siddharthan V, Evans J, et al. Efficacy of the broad-spectrum antiviral compound bex4430 against zika virus in cell culture and in a mouse model[J]. *Antivir Res*, 2017, 137:14.
- [21] Lim SY, Osuna CE, Best K, et al. A direct-acting antiviral drug abrogates viremia in zika virus-infected rhesus macaques[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(547):eaa9135.
- [22] Pattnaik A, Palermo N, Sahoo BR, et al. Discovery of a non-nucleoside rna polymerase inhibitor for blocking zika virus replication through *in silico* screening[J]. *Antivir Res*, 2018, 151:78-86.
- [23] Oo A, Teoh BT, Sam SS, et al. Baicalein and baicalin as zika virus inhibitors[J]. *Archives of Virol*, 2019, 164(2):585-593.
- [24] Yuan J, Yu J, Huang Y, et al. Antibiotic fidaxomicin is an rdrp inhibitor as a potential new therapeutic agent against zika virus [J]. *BMC Medicine*, 2020, 18:204.
- [25] Chen Y, Chi X, Zhang H, et al. Identification of potent zika virus ns5 rna-dependent rna polymerase inhibitors combining virtual screening and biological assays[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3):1900.
- [26] Coloma J, Jain R, Rajashankar KR, et al. Structures of ns5 methyltransferase from zika virus[J]. *Cell Reports*, 2016, 16 (12):3097-3102.
- [27] Santos FRS, Lima WG, Maia EHB, et al. Identification of a potential zika virus inhibitor targeting ns5 methyltransferase using virtual screening and molecular dynamics simulations[J]. *J Chem Infect Model*, 2020, 60(2):562-568.
- [28] Song W, Zhang H, Zhang Y, et al. Identification and characterization of zika virus ns5 methyltransferase inhibitors [J]. *Front Cell Infect Mi*, 2021, 11:665379.
- [29] Qian W, Zhou GF, Ge X, et al. Discovery of dehydroandrographolide derivatives with c19 hindered ether as potent anti-zikv agents with inhibitory activities to mtase of zikv ns5[J]. *EurJMedChem*, 2022, 243:114710.
- [30] D S, RJ K. Zika virus structure, maturation, and receptors[J]. *J Infect Dis*, 2017, 216(suppl_10):S935-S944.
- [31] Yu Y, Deng YQ, Zou P, et al. A peptide-based viral inactivator inhibits zika virus infection in pregnant mice and fetuses[J]. *Nat Commu*, 2017, 8:15672.
- [32] Chen L. Antiviral activity of peptide inhibitors derived from the protein e stem against japanese encephalitis and zika viruses [J]. *Antivir Res*, 2017.
- [33] Sharma N, Prosser O, Kumar P, et al. Small molecule inhibitors possibly targeting the rearrangement of zika virus envelope protein[J]. *Antivir Res*, 2020, 182:104876.
- [34] Rausch K, Hackett B, Weinren N, et al. Screening bioactives reveals nanchangmycin as a broad spectrum antiviral active against zika virus[J]. *Cell reports*, 2017, 18(3):804-815.
- [35] Mounce BC, Cesaro T, Carrau L, et al. Curcumin inhibits zika and chikungunya virus infection by inhibiting cell binding[J]. *Antivir Res*, 2017, 142:148-157.
- [36] Yamada Y. Nucleic acid drugs-current status, issues, and expectations for exosomes[J]. *Cancers*, 2021, 13(19):5002.
- [37] Agrawal S, Akhtar S. Advances in antisense efficacy and delivery [J]. *Trends Biotechnol*, 1995, 13(6):197-199.
- [38] Bumcrot D, Manoharan M, Koteliansky V, et al. RNAi therapeutics; a potential new class of pharmaceutical drugs[J]. *Nat Chem Biol*, 2006, 2(12):711-719.
- [39] Popik W, Khatua A, Hildreth JEK, et al. Phosphorodiamidate morpholino targeting the 5' untranslated region of the zikv RNA inhibits virus replication[J]. *Virology*, 2018, 519:77-85.
- [40] Perez-mendez M, Zarate-segura P, Salas-benito J, et al. SiRNA design to silence the 3' utr region of zika virus[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:1-8.
- [41] Li H, Wang S, Dong X, et al. CRISPR-cas13a cleavage of dengue virus ns3 gene efficiently inhibits viral replication [J]. *Mol Ther-Nucl Acids* 2020, 19:1460-1469.
- [42] Abbott TR, Dhamdhare G, Liu Y, et al. Development of crispr as an antiviral strategy to combat sars-cov-2 and influenza[J]. *Cell*, 2020, 181(4):865-876. e12.
- [43] Chen P, Chen M, Chen Y, et al. Targeted inhibition of zika virus infection in human cells by crispr-cas13b[J]. *Virus Res*, 2022, 312:198707.
- [44] Pascoalino BS, Courtemanche G, Cordeiro MT, et al. Zika antiviral chemotherapy: identification of drugs and promising starting points for drug discovery from an fda-approved library [J]. *Research*, 2016, 5:2523.
- [45] Loe MWC, Lee RCH, Chu JJH. Antiviral activity of the fda-approved drug candesartan cilexetil against zika virus infection [J]. *Antivir Res*, 2019, 172:104637.