

- Artículo de revisión
- [Publicado: 03 agosto 2020](#)

Propiedades estructurales y funcionales de la proteína espiga del SARS-CoV-2: desarrollo potencial de fármacos antivirales para COVID-19

- [Yuan Huang,](#)
- [Chan Yang,](#)
- [Xin-feng Xu,](#)
- [Wei Xu &](#)
- [Shu-wen Liu](#)

[Acta Pharmacologica Sinica](#) volumen **41**, páginas 1141–1149 (2020) Cita este [artículo](#)

- Accesos **546k**
- **460** Citas
- **948** Altmetric
- [Métricas detalles](#)

Abstracto

La enfermedad por coronavirus 2019 es una enfermedad infecciosa emergente que actualmente se propaga por todo el mundo. Es causada por un nuevo coronavirus, el síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2). La proteína espiga (S) del SARS-CoV-2, que desempeña un papel clave en el proceso de reconocimiento de receptores y fusión de la membrana celular, está compuesta por dos subunidades, S1 y S2. La subunidad S1 contiene un dominio de unión al receptor que reconoce y se une a la enzima convertidora de angiotensina del receptor huésped 2, mientras que la subunidad S2 media la fusión de la membrana celular viral formando un haz de seis helicoidales a través del dominio de repetición de dos heptados. En esta revisión, destacamos el avance reciente de la investigación en la estructura, función y desarrollo de medicamentos antivirales dirigidos a la proteína S.

Introducción

La epidemia de la enfermedad del nuevo coronavirus 2019 (COVID-19) fue causada por un nuevo coronavirus ocurrido en diciembre de 2019, y ahora se ha extendido por todo el mundo y se ha convertido en una pandemia mundial [1]. Rápidamente se descubrió que el COVID-19 era causado por un coronavirus que más tarde se denominó coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) [1], que pertenece a la familia de los coronavirus β . Es el séptimo coronavirus conocido que infecta a los humanos; cuatro de estos coronavirus (229E, NL63, OC43 y HKU1) solo causan síntomas leves del resfriado común. Por el contrario, los otros tres, SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2, pueden causar síntomas graves e incluso la muerte, con tasas de mortalidad del 10%, 37% y 5%, respectivamente.

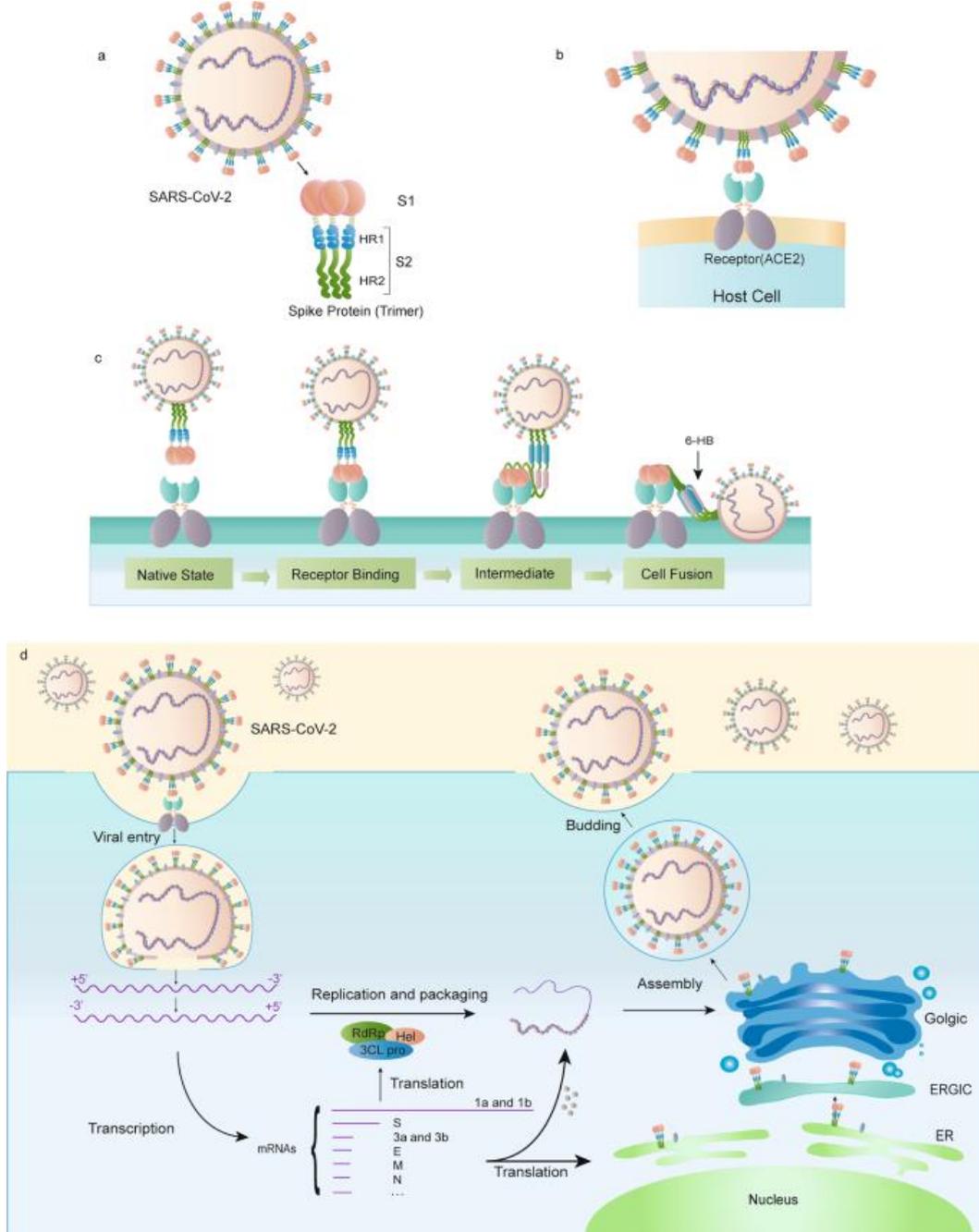
Aunque se están lanzando un gran número de estudios y ensayos clínicos sobre COVID-19 en todo el mundo [2, 3], ninguna evidencia de ensayos clínicos aleatorios ha demostrado que cualquier terapia potencial mejore los resultados en los pacientes [4]. A medida que la epidemia se propaga, es fundamental encontrar una terapéutica específica para COVID-19, y se están desarrollando vacunas dirigidas a varias proteínas del SARS-CoV-2.

El SARS-CoV-2 es un virus monocatenario envuelto en ARN [5]. Se ha aplicado un enfoque de secuenciación metagenómica de próxima generación basado en ARN para caracterizar todo su genoma, que tiene una longitud de 29.881 pb (GenBank no. MN908947), codificando 9860 aminoácidos [6]. Los fragmentos de genes expresan proteínas estructurales y no estructurales. Los genes S, E, M y N codifican proteínas estructurales, mientras que las proteínas no estructurales, como la proteasa similar a la 3-quimotripsina, la proteasa similar a la papaína y la ARN polimerasa dependiente del ARN, están codificadas por la región ORF [7].

Un gran número de proteínas S glicosiladas cubren la superficie del SARS-CoV-2 y se unen a la enzima convertidora de angiotensina del receptor de la célula huésped 2 (ACE2), mediando la entrada de células virales [8]. Cuando la proteína S se une al receptor, la proteasa TM serina 2 (TMPRSS2), una serina proteasa TM tipo 2 ubicada en la membrana de la célula huésped, promueve la entrada del virus en la célula mediante la activación de la proteína S. Una vez que el virus ingresa a la célula, se libera el ARN viral, las poliproteínas se traducen del genoma del ARN y la replicación y transcripción del genoma del ARN viral se producen a través de la escisión de proteínas y el ensamblaje del complejo replicasa-transcriptasa. El ARN viral se replica, y las

proteínas estructurales se sintetizan, ensamblan y empaquetan en la célula huésped, después de lo cual se liberan partículas virales (Fig. 1d) [9].

Fig. 1: Esquema de la proteína SARS-CoV-2 S.



a La estructura esquemática de la proteína S. b La proteína S se une al receptor ACE2. c El proceso de unión y fusión virus-célula mediado por la proteína S. d El ciclo de vida del SARS-CoV-2 en las células huésped.

[Imagen a tamaño completo](#)

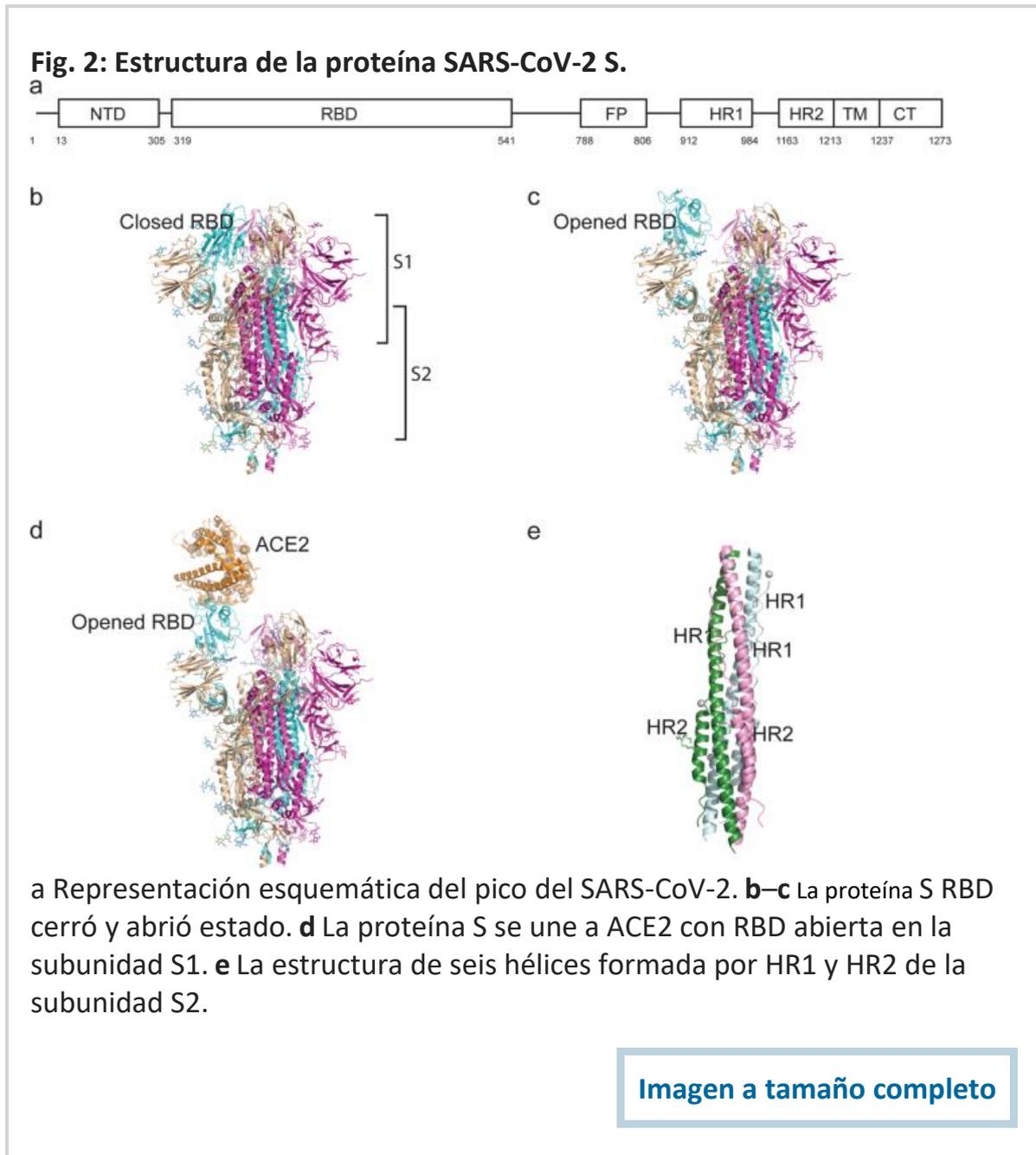
Estas proteínas son críticas para el ciclo de vida viral y proporcionan objetivos potenciales para las terapias farmacológicas. Por ejemplo, se ha demostrado experimentalmente que el péptido basado en ACE2, el inhibidor de 3CLpropro (3CLpro-1) y un nuevo inhibidor de la proteasa vinilsulfona son efectivos contra el SARS-CoV-2 [10]. La proteína SARS-CoV-2 S está altamente conservada entre todos los coronavirus humanos (HCoV) y está involucrada en el reconocimiento del receptor, la unión viral y la entrada en las células huésped. Debido a sus funciones indispensables, representa uno de los objetivos más importantes para la vacuna covid-19 y la investigación terapéutica. En esta revisión, resumimos los avances en la investigación de la proteína SARS-CoV-2 S y su orientación terapéutica.

Estructura de la proteína S

Con un tamaño de 180-200 kDa, la proteína S consiste en un N-terminal extracelular, un dominio transmembrana (TM) anclado en la membrana viral y un segmento C-terminal intracelular corto [11]. S normalmente existe en una conformación metaestable, prefusión; una vez que el virus interactúa con la célula huésped, se produce un reordenamiento estructural extenso de la proteína S, lo que permite que el virus se fusione con la membrana de la célula huésped. Las espigas están recubiertas con moléculas de polisacáridos para camuflarlas, evadiendo la vigilancia del sistema inmune del huésped durante la entrada [12].

La longitud total del SARS-CoV-2 S es de 1273 aa y consiste en un péptido señal (aminoácidos 1-13) ubicado en el extremo N, la subunidad S1 (14-685 residuos) y la subunidad S2 (residuos 686-1273); las dos últimas regiones son responsables de la unión al receptor y la fusión de la membrana, respectivamente. En la subunidad S1, hay un dominio N-terminal (14-305 residuos) y un dominio de unión al receptor (RBD, 319-541 residuos); el péptido de fusión (PF) (788-806 residuos), la secuencia de repetición de heptapéptidos 1 (HR1) (residuos 912-984), HR2 (residuos 1163-1213), el dominio TM (residuos 1213-1237) y el dominio citoplasma (residuos 1237-1273) comprenden la subunidad S2 (Fig. 2a) [13]. Los trímeros de proteína S forman visualmente un halo bulboso característico, similar a una corona, que rodea la partícula viral (Fig. 1a). Sobre la base de la estructura de los monómeros de la proteína S del coronavirus, las subunidades S1 y S2 forman la cabeza bulbosa y la región del tallo [14]. La estructura de la proteína S trimérica SARS-CoV-2 ha sido determinada por microscopía crioelectrónica a nivel atómico, revelando diferentes conformaciones del dominio S RBD en

estados abierto y cerrado y sus correspondientes funciones (Fig. [2b, c](#)) [[15](#), [16](#)].



En el estado nativo, la proteína CoV S existe como un precursor inactivo. Durante la infección viral, las proteasas de células diana activan la proteína S escindiéndola en subunidades S1 y S2 [[17](#)], que es necesaria para activar el dominio de fusión de membrana después de la entrada viral en las células diana [[18](#)]. Al igual que otros coronavirus, la proteína S del SARS-CoV-2 se divide en subunidades S1 y S2 mediante proteasas celulares, y la serina proteasa TMPRSS2 se utiliza como cebador de proteínas. Aunque se conoce

el sitio de escisión del SARS-CoV, el del SARS-CoV-2 S aún no se ha reportado [18, 19].

Estructura de la subunidad S1

La unión de las partículas del virus a los receptores celulares en la superficie de la célula huésped es el inicio de la infección por virus; por lo tanto, el reconocimiento del receptor es un determinante importante de la entrada viral y un objetivo de diseño de fármacos.

RBD situado en la subunidad S1 se une al receptor celular ACE2 en la región de aminopeptidasa N. La región S1 contiene el NTD y el CTD, y los detalles atómicos en la interfaz de unión demuestran sustituciones de residuos clave en SARS-CoV-2-CTD. Además, la interfaz de unión al SARS-CoV-2 S CTD tiene más residuos que interactúan directamente con el receptor ACE2 que el SARS-RBD (21 frente a 17), y una mayor superficie está enterrada con el SARS-CoV-2 S CTD en complejo con ACE2 que con el SARS S RBD. Las mutaciones de residuos clave juegan un papel importante en la mejora de la interacción con ACE2. F486 en SARS-CoV-2, en lugar de I472 en SARS RBD, forma fuertes interacciones aromáticas-aromáticas con ACE2 Y83, y E484 en SARS-CoV-2-CTD, en lugar de P470 en SARS RBD, forma interacciones iónicas con K31, lo que conduce a una mayor afinidad por la unión a los receptores que RBD de SARS-CoV (Fig. 2d)[15, 16, 20, 21].

La región RBD es un objetivo crítico para neutralizar anticuerpos (nAbs), y SARS-CoV-2 y SARS-CoV RBD son ~ 73% -76% similares en secuencia. Nueve residuos de contacto ace2 en CoV RBD se conservan completamente y cuatro se conservan parcialmente. El análisis de la RBM (motivo de unión al receptor, una porción de RBD que hace contacto directo con ACE2) del SARS-CoV y el SARS-CoV-2 reveló que la mayoría de los residuos esenciales para la unión a ACE2 en la proteína SARS-CoV S se conservan en la proteína SARS-CoV-2 S. Sin embargo, algunos estudios mostraron que los anticuerpos monoclonales murinos (mAbs) y los anticuerpos policlonales contra el SARS-RBD no pueden interactuar con la proteína SARS-CoV-2 S, revelando diferencias en la antigenicidad entre el SARS-CoV y el SARS-CoV-2 [20]. Del mismo modo, un anticuerpo específico para el SARS-CoV RBD no pudo bloquear la infección mediada por la proteína S de SL-CoV-SHC014 [22], lo que sugiere que el S1 RBD puede no ser un objetivo farmacológico ideal debido a la característica altamente mutable de los fármacos anti-CoV de amplio espectro.

Estructura de la subunidad S2

La subunidad S2, compuesta sucesivamente por un dominio FP, HR1, HR2, TM y fusión de dominio citoplasmático (CT), es responsable de la fusión y entrada viral.

La PF es un segmento corto de 15-20 aminoácidos conservados de la familia viral, compuesto principalmente de residuos hidrófobos, como la glicina (G) o la alanina (A), que se anclan a la membrana diana cuando la proteína S adopta la conformación preclava. Investigaciones anteriores han demostrado que la PF desempeña un papel esencial en la mediación de la fusión de la membrana al interrumpir y conectar las bicapas lipídicas de la membrana de la célula huésped [23].

HR1 y HR2 están compuestos por un heptapéptido repetitivo: HPPHCPC, donde H es un residuo hidrófobo o tradicionalmente voluminoso, P es un residuo polar o hidrófilo, y C es otro residuo cargado [24]. HR1 y HR2 forman el haz de seis helicoidales (6-HB) (Fig. 2e), que es esencial para la fusión viral y la función de entrada de la subunidad S2 [13]. HR1 se encuentra en el extremo C de un FP hidrofóbico, y HR2 se encuentra en el extremo N del dominio TM [25]. El dominio TM aguas abajo ancla la proteína S a la membrana viral, y la subunidad S2 termina en una cola ciana [14].

RBD se une a ACE2, y S2 cambia la conformación insertando FP en la membrana celular objetivo, exponiendo la bobina enrollada preclava del dominio HR1 y desencadenando la interacción entre el dominio HR2 y el trímero HR1 para formar 6-HB, acercando así la envoltura viral y la membrana celular para la fusión y entrada viral [26]. HR1 forma un conjunto homotrimérico en el que se exponen tres surcos hidrofóbicos altamente conservados en la superficie que se unen a HR2. El dominio HR2 forma tanto una hélice rígida como un bucle flexible para interactuar con el dominio HR1. En la conformación de horquilla postfusión de CoVs, hay muchas interacciones fuertes entre los dominios HR1 y HR2 dentro de la región helicoidal, que se designa como la "región central de fusión" (regiones HR1core y HR2core, respectivamente).

Dirigirse a la repetición heptada (HR) ha atraído el mayor interés en el descubrimiento de fármacos terapéuticos. La proteína S es una proteína diana importante para el desarrollo de fármacos específicos, mientras que el dominio S1 RBD es parte de una región altamente mutable y no es un sitio objetivo ideal para el desarrollo de inhibidores antivirales de amplio espectro [27]. Por el contrario, la región HR de la subunidad S2 juega un papel esencial en las infecciones por HCoV y se conserva entre HCoVs, al igual que el modo

de interacción entre HR1 y HR2 [28]. En 2017 se demostró que un péptido sintético derivado de la región del tallo de la proteína de la envoltura zIKV inhibe potentemente la infección por ZIKV y otros flavivirus in vitro [29], lo que implica la eficiencia antiviral de los péptidos derivados de regiones conservadas de proteínas virales. Los péptidos derivados de la región HR2 de las proteínas de fusión viral de clase I de los virus envueltos se unen competitivamente a la HR1 viral e inhiben eficazmente la infección viral [22]. Por lo tanto, HR1 es un objetivo prometedor para el desarrollo de inhibidores de la fusión contra la infección por SARS-CoV-2.

Funciones de la proteína S

La proteína S en la superficie del virus es un factor clave involucrado en la infección. Es una glicoproteína TM trimérica de clase I responsable de la entrada viral, y está presente en todo tipo de HCoVs, así como en otros virus como el VIH (glicoproteína del VIH 160, Env), el virus de la gripe (hemaglutinina de la gripe, HA), el paramixovirus (paramixovirus F) y el Ébola (glicoproteína del virus del Ébola) [30]. Al igual que otros coronavirus, la proteína S del SARS-CoV-2 media el reconocimiento del receptor, la unión celular y la fusión durante la infección viral [16, 20, 21, 31, 32, 33].

El trímero de la proteína S situado en la superficie de la envoltura viral es la unidad básica por la cual la proteína S se une al receptor [16, 33]. El dominio S1 contiene el RBD, que es el principal responsable de la unión del virus al receptor, mientras que el dominio S2 contiene principalmente el dominio HR, incluidos HR1 y HR2, que está estrechamente relacionado con la fusión del virus [34].

Unión al receptor

Como se mencionó anteriormente, la proteína SARS-CoV-2 S se une a la célula huésped reconociendo el receptor ACE2 [33]. ACE2 es un homólogo de la ECA, que convierte la angiotensina I en angiotensina 1-9 [35]. ACE2 se distribuye principalmente en el pulmón, el intestino, el corazón y el riñón, y las células epiteliales alveolares tipo II son las principales células que expresan [36]. ACE2 es también un receptor conocido para el SARS-CoV. La subunidad S1 de la proteína SARS-CoV S se une a ACE2 para promover la formación de endosomas, lo que desencadena la actividad de fusión viral bajo pH bajo (Fig. 1a, b) [37].

La interacción entre la proteína S y ACE2 se puede utilizar para identificar huéspedes intermedios de SARS-CoV-2, ya que ACE2 de diferentes especies, como anfibios, aves y mamíferos, tiene una estructura primaria conservada [38]. Luan et al. compararon las afinidades de unión entre ACE2 y SARS-CoV-2 S de mamíferos, aves, serpientes y tortugas y encontraron que el ACE2 de *Bovidae* y *Cricetidae* interactuaba bien con SARS-CoV-2 S RBD, pero que ACE2 de serpientes y tortugas no podía.

La proteína S se une a ACE2 a través de la región RBD de la subunidad S1, mediando la unión viral a las células huésped en forma de trímero [15]. El SARS-CoV-2 S se une a la ACE2 humana con una constante de disociación (K_D) de 14,7 nM, aunque la del SARS-CoV S es de 325,8 nM [15], lo que indica que el SARS-CoV-2 S es más sensible a la ACE2 que el SARS-CoV S. A través de la identificación de las proteínas del SARS-CoV-2, los investigadores encontraron ~ 24% de diferencia en S entre el SARS-CoV-2 y el SARS-CoV, mientras que la de RBD es ~ 23% [39].

Fusión viral

La fusión viral se refiere a la fusión de la membrana viral y la membrana de la célula huésped, lo que resulta en la liberación del genoma viral en la célula huésped. La escisión de las subunidades SARS-CoV-2 S1 y S2 es la base de la fusión. La proteína S se divide en dos partes, la subunidad S1 y la subunidad S2, por las proteasas del huésped, y las subunidades existen en forma no covalente hasta que se produce la fusión viral [40]. Los investigadores han encontrado que el sitio específico de escisión de furina se encuentra en el sitio de escisión del SARS-CoV-2, pero no en otros CoV similares al SARS [41, 42]. La mutación del sitio de escisión en sars-CoV-2 o CoV similares al SARS ha revelado que la proteína S del SARS-CoV-2 existe en un estado de uncleaved, pero que los otros están principalmente en un estado escindido. El SARS-CoV-2 S tiene múltiples sitios de escisión de furinas, lo que aumenta la probabilidad de ser escindido por proteasas similares a la furina y, por lo tanto, mejora su infectividad [43, 44]. El dominio de escisión similar a la furina también está presente en el virus de la influenza altamente patógeno y está relacionado con su patogenicidad, como se observó en el brote de influenza aviar en Hong Kong en 1997 [45, 46]. Además, las proteasas de las células huésped como TMPRSS2 son esenciales para el cebado de la proteína S, y se ha demostrado que se activan en la entrada del SARS-CoV y el virus de la influenza A [18, 47, 48]. Otra proteasa de la célula huésped que se ha demostrado que escinde la proteína S viral es la tripsina [49]. En resumen, la proteína S del SARS-CoV-2 es similar a la del SARS-CoV, y las proteasas de la célula huésped son esenciales para promover la escisión de la proteína S

tanto del SARS-CoV-2 como del SARS-CoV. La presencia de un sitio específico de escisión de furinas en el SARS-CoV-2 S podría ser una de las razones por las que el SARS-CoV-2 es más contagioso que el SARS-CoV.

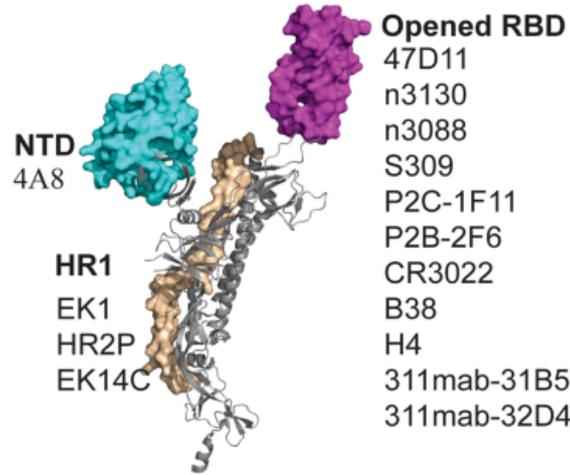
La formación de 6-HB es esencial para la fusión viral. La FP en el extremo N del SARS-CoV-2 y los dos dominios HR en S2 es esencial para la fusión viral [50]. Después de la escisión de la proteína S, el FP del SARS-CoV-2 se expone y desencadena la fusión viral. Bajo la acción de algunos ligandos especiales, la proteína de fusión sufre un cambio conformacional y luego se inserta en la membrana de la célula huésped (Fig. 1c) [51]. Por ejemplo, el ligando para el virus de la influenza A es H, mientras que el ligando para el VIH es un correceptor como CCR5 o CXCR4 [14]. La distancia entre la membrana viral y la membrana de la célula huésped se acorta, y el dominio HR1 de la proteína S está muy cerca de la membrana de la célula huésped, mientras que el dominio HR2 está más cerca del lado de la membrana viral. Luego, HR2 se pliega de nuevo a HR1, los dos dominios HR forman una estructura de seis hélices en un formato antiparalelo del núcleo de fusión, la membrana viral se tira hacia la membrana de la célula huésped y se une firmemente a ella, y las dos membranas se fusionan [52].⁺

Fármacos potenciales dirigidos a la proteína S

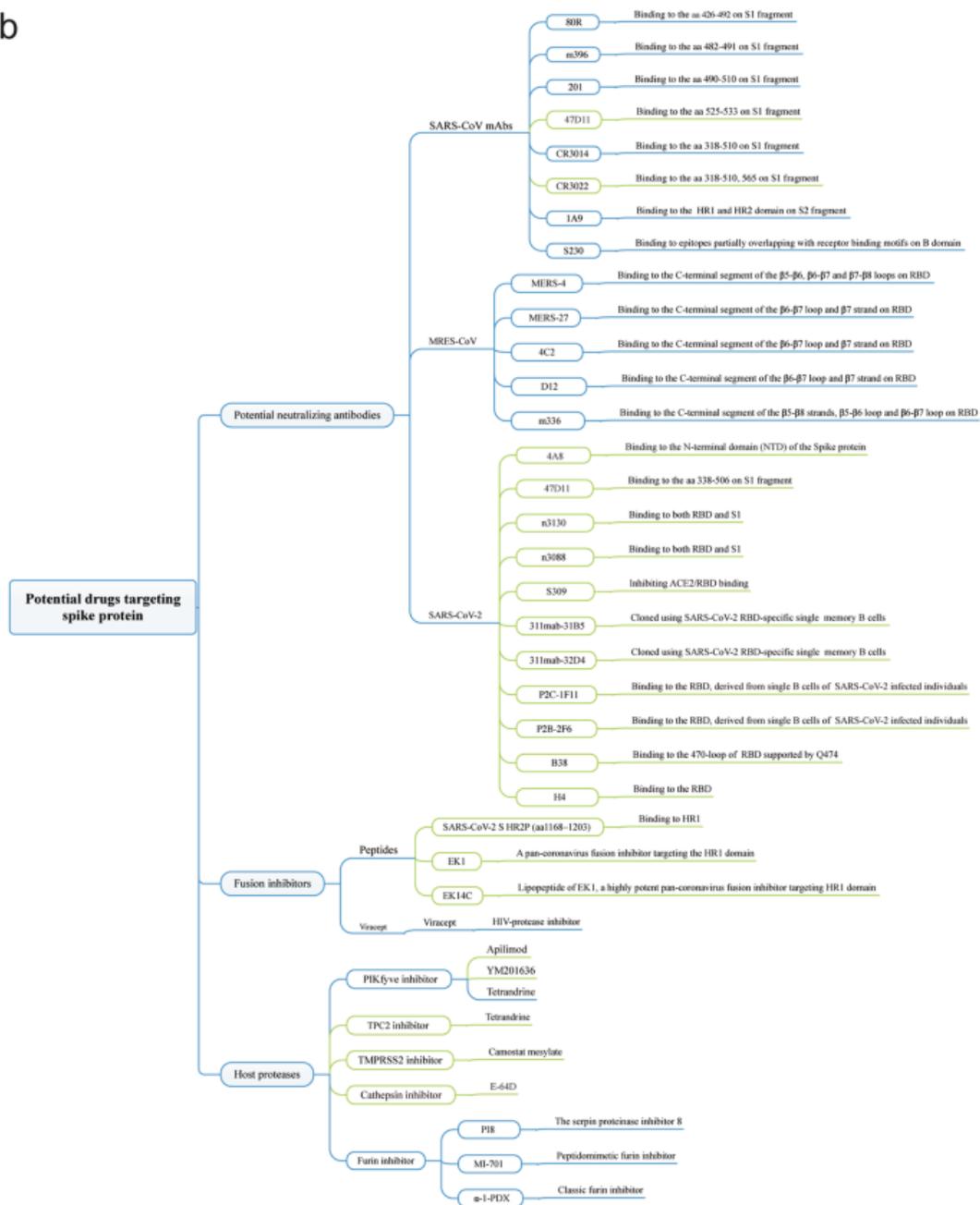
El papel fundamental de la proteína S en la infección viral indica que es un objetivo potencial para el desarrollo de vacunas, la terapia de bloqueo de anticuerpos y los inhibidores de moléculas pequeñas. Teniendo en cuenta la similitud con el SARS-CoV y el MERS-CoV, a continuación se resumen los posibles nAbs e inhibidores dirigidos al SARS-CoV-2 S (Fig. 3).

Fig. 3: Fármacos potenciales dirigidos a la proteína SARS-CoV-2 S.

a



b



a mAbs potenciales dirigidos a varios epítomos de la proteína S. **b** Resumen de los inhibidores actuales del SARS-CoV-2.

[Imagen a tamaño completo](#)

Anticuerpos basados en la proteína SARS-CoV-2 S

La proteína S es el principal componente del antígeno en todas las proteínas estructurales del SARS-CoV-2. A diferencia de otras proteínas funcionales de SARS-CoV-2, es responsable de inducir la respuesta inmune del huésped, y los nAbs dirigidos a la proteína S pueden inducir inmunidad protectora contra la infección viral. Al igual que el SARS-CoV y el MERS-CoV, la investigación sobre los nAbs del SARS-CoV-2 incluye principalmente mAbs, fragmentos de unión a antígenos, fragmentos de regiones variables de cadena única y anticuerpos de dominio único (Nbs), que se dirigen a las regiones S1 RBD, S1-NTD o S2 para prevenir la fusión mediada por S2 [53, 54]. Por otro lado, se están desarrollando múltiples tipos de vacunas contra el SARS-CoV-2, incluidas formulaciones basadas en ARN / ADN, epítomos virales recombinantes, vectores basados en adenovirus y virus inactivados purificados [55].

La secuencia y la sorprendente similitud estructural entre las proteínas SARS-CoV-2 y SARS-CoV S enfatizan la estrecha relación entre estos dos virus, lo que brinda la posibilidad de tratar covid-19 con anticuerpos dirigidos a la proteína SARS-CoV S [56]. En comparación con el SARS-CoV-2 RBD, el SARS-CoV-2 interactúa con hACE2 a través del dominio C-terminal (SARS-CoV-2-CTD), mostrando una mayor afinidad por la unión al receptor. RBD puede inducir respuestas nAb altamente potentes y tiene el potencial de desarrollarse como una vacuna de subunidades efectiva y segura contra el SARS-CoV-2. Los anticuerpos policlonales del SARS-CoV S obtenidos de ratones inmunizados inhibieron completamente la invasión del SARS-CoV S-MLV (virus de la leucemia murina), mientras que la tasa de invasión del SARS-CoV-2 S-MLV se redujo a ~10% [20]. El anticuerpo policlonal anti-SARS S1 T62 inhibe la entrada del SARS-CoV S pero no la de las partículas del pseudovirus SARS-CoV-2 S [49]. Consistentemente, estudios recientes han reportado resultados similares, mostrando que tres mAbs dirigidos por SARS RBD, S230, m396 y 80R, no pudieron unirse a SARS-CoV-2 RBD [16, 20, 21].

Por otro lado, varios mAbs han mostrado resultados prometedores en la neutralización del SARS-CoV-2. CR3022, un mAb humano específico del SARS-CoV, se une potently con el SARS-CoV-2 (K_D de 6,3 nM, medido por BLI

en OctetRED96), lo que sugiere que CR3022 tiene el potencial de ser desarrollado como candidato terapéutico, solo o en combinación con otros nAbs, para la prevención y el tratamiento de la infección por SARS-CoV-2 [57]. Recientemente se ha demostrado que un mAb dirigido a S1 preparado a partir de ratones transgénicos inmunizados que expresan cadenas pesadas y ligeras variables de Ig humana neutraliza las infecciones por SARS-CoV-2 y SARS-CoV a través de un mecanismo desconocido que es independiente del bloqueo de la interacción RBD-hACE2 [58]. Recientemente, muchos mAbs de bloqueo humano (311mab-31B5, 311mab-32D4, 47D11, n3130, n3088, S309, P2C-1F11, P2B-2F6, B38, H4) se han clonado con éxito a partir de células B de memoria única de pacientes recuperados de COVID-19 [58,59,60,61,62,63]. Estos mAbs se unen específicamente al SARS-CoV-2 S para neutralizar eficazmente la infección. Además, los sueros de pacientes con SARS durante la rehabilitación o animales específicamente inmunizados con SARS-CoV S1 pueden neutralizar el SARS-CoV-2 y reducir la entrada de SARS-CoV-2 mediada por la proteína S (Fig. 3) [18].

Inhibidores de la fusión

La estabilidad de la proteína SARS-CoV-2 S es menor que la del SARS-CoV S [42]. El mapeo de múltiples secuencias S del subgénero Sarbecovirus subraya que la región de fusión S2 está más conservada que la subunidad S1 y que la subunidad S1 está más expuesta en la superficie viral [16]. La subunidad SARS-CoV S2 desempeña un papel clave en la mediación de la fusión virus-célula y su integración en las células huésped, donde HR1 y HR2 interactúan para formar 6-HB, lo que permite que el virus se una y se fusione con la membrana celular [28].

La alineación de la secuencia muestra que el SARS-CoV-2 HR2 tiene la misma secuencia que el SARS-CoV HR2. Por lo tanto, el SARS-CoV-2 HR2P (1168-1203 residuos) fue diseñado para inhibir la fusión del SARS-CoV-2 y la entrada en una célula objetivo. Sorprendentemente, HR2P mostró actividad inhibitoria contra la fusión mediada por SARS-CoV-2 S y el pseudovirus SARS-CoV-2, con valores de IC_{50} de 0,18 y 0,98 μ M, respectivamente [13]. En particular, EK1 es un inhibidor de la fusión de pancoronavirus dirigido al dominio HR1 de HCoV S [22]. La estructura cristalina de rayos X del núcleo 6-HB de los dominios HR1 y HR2 de la subunidad HR1 y HR2 del SARS-CoV-2 S2, lo que indica que varios residuos mutantes en la región HR1 pueden estar relacionados con una interacción mejorada en la región HR2 [64]. Posteriormente, ek1C4, un lipopéptido derivado de EK1, fue generado y verificado para inhibir la fusión célula-célula mediada por SARS-CoV-2 S. Como era de esperar, la entrada del pseudovirus SARS-CoV-2 S también fue

inhibida por EK1C4, con un IC_{50} de 15,8 nM, ~ 149 veces más potente que el péptido EK1 original. Otro inhibidor de la fusión de lipopéptidos basado en secuencias, IPB02, inhibe poderosamente la fusión célula-célula mediada por la proteína SARS-CoV-2 S y la infección por pseudovirus [65].

Además de los inhibidores de la fusión peptídica, el mesilato de nelfinavir (Viracept), un inhibidor de la proteasa contra el VIH actualmente prescrito, suprime tanto el SARS-CoV-2 S como la fusión célula-célula mediada por el SARS-CoV S. Viracept es el primer inhibidor de fusión de moléculas pequeñas reportado además de los inhibidores de fusión de péptidos. Además, nelfinavir puede inhibir la función de TMPRSS2 involucrada en la activación de la proteína S [66]. Este descubrimiento hace posibles las aplicaciones clínicas de la terapéutica anti-SARS-CoV-2, especialmente en la etapa temprana de la infección.

Inhibidores de la proteasa dirigidos a los sitios de escisión del SARS-CoV-2 S

La entrada al SARS-CoV-2 requiere la escisión de la proteína S en los sitios S1/S2 y S2. La proteólisis por TMPRSS2 y catepsina B y L juega un papel importante en el cebado del SARS-CoV-2 S para la entrada. El mesilato de camostato es un potente inhibidor de la serina proteasa de TMPRSS2. Utilizando la investigación sobre el mecanismo de entrada celular SARS-CoV y SARS-CoV-2, se ha demostrado que la entrada celular sars-CoV-2 puede ser bloqueada por el mesilato de camostato [18, 67]. Actualmente hay cinco ensayos clínicos registrados para evaluar la eficacia del mesilato de camostato (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT04321096, NCT04353284, NCT04338906, NCT04355052, NCT04374019). Además, las catepsinas en los lisosomas son cruciales para la entrada del SARS-CoV a través de la endocitosis. E-64d, un inhibidor de la catepsina L, bloquea la infección por SARS-CoV y SARS-CoV-2 PsV [68,69,70]. Los ensayos futuros con pacientes con COVID-19 pueden ayudar a confirmar la eficacia del tratamiento con E-64d.

La fosfatidilinositol 3-fosfato 5-quinasa (PIKfyve) es la principal enzima que sintetiza PI(3,5)P2 en endosomas tempranos [71]. Apilimod, un potente inhibidor de PIKfyve35, puede reducir significativamente la entrada del pseudovirus SARS-CoV S en células 293/hACE2 a través de endosomas tempranos de manera dependiente de la dosis [49]. El tratamiento de las células 293/hACE2 con otro inhibidor de PIKfyve, YM201636 [72], también tuvo un efecto similar. Además, un importante efector aguas abajo de PI(3,5)P2, subtipo 2 de canal de dos poros (TPC2) [73], es importante para la

entrada de SARS-CoV-2, y la tetrandrina (un inhibidor de TPC2) inhibe la actividad del pseudovirus SARS-CoV-2 S.

La furina (proteína convertasa (PC) subtilisina kexina 3, PCSK3), como miembro de la familia PC, cataliza la hidrólisis de sustratos de péptidos y proteínas en residuos básicos pareados [74]. Sorprendentemente, el SARS-CoV-2 S alberga un sitio de escisión de furinas (682-685 residuos) en el límite S1/S2, lo que puede aumentar la eficiencia de la transmisión del SARS-CoV-2 [75]. El sitio de escisión similar a la furina en la proteína S del SARS-CoV-2 puede tener implicaciones para el ciclo de vida viral y la patogenicidad. Por lo tanto, los inhibidores de furina se pueden utilizar como una terapia farmacológica para el SARS-CoV-2 [41]. La literatura de patentes desde 1994 describe el uso de furina o sus inhibidores en el tratamiento de enfermedades, y algunos inhibidores de furina que se han reportado, incluyendo α -1-PDX (α 1-antitripsina Portland) [76], hexa-D-arginina (D6R) [77], inhibidor de la proteinasa de serpin 8 (PI8) [78], y un inhibidor de la furina peptidomimética [79].

Aspectos futuros del desarrollo de fármacos antivirales dirigidos a la proteína S del SARS-Cov-2

La proteína SARS-CoV-2 S se une al receptor de la célula huésped e induce la fusión de la membrana del virus y la célula, que desempeña un papel vital en el proceso de invasión del virus. Además, la alta afinidad entre la proteína S y ACE2 aumenta la infectividad del SARS-CoV-2. Los mamíferos, incluidos los pangolines, las mascotas (perros y gatos) y los miembros de *Cricetidae* pueden ser importantes para determinar los residuos clave para la asociación con S del SARS-CoV y el SARS-CoV-2 [80]. Una mayor comprensión de la estructura y función del SARS-CoV-2 S permitirá obtener información adicional sobre la invasión y patogénesis del virus, lo que apoyará el descubrimiento de terapias antivirales y el diseño de vacunas de precisión.

La información estructural también ayudará a evaluar las mutaciones de la proteína S del SARS-CoV-2 y ayudará a determinar si estos residuos tienen exposición superficial y a mapear epítopos de anticuerpos conocidos de proteínas S de otros coronavirus. Además, el conocimiento estructural asegura que las proteínas producidas por los constructos sean homogéneas y participen en la conformación de prefusión, que debe mantener los epítopos más sensibles a la neutralización cuando se utiliza como vacuna candidata o sonda de células B para aislar mAbs humanos neutralizantes. Además, los

detalles a nivel atómico permitirán el diseño y la detección de moléculas pequeñas que inhiben la fusión. Dado que los dominios SARS-CoV-2 y SARS-CoV RBD comparten un 75% de identidad de secuencia de aminoácidos, será necesario trabajar en el futuro para evaluar si alguno de estos Abs neutraliza el coronavirus recién surgido. En general, la interacción entre la proteína S del SARS-CoV-2 y la ACE2 debe estudiarse más a fondo para contribuir a la elucidación del mecanismo de infección por sars-CoV-2. Del mismo modo, centrarse en la alta expresión de la proteína S o su región de unión al receptor también es de gran importancia para el desarrollo de vacunas.

La subunidad S2 del SARS-CoV-2 muestra una homología de secuencia del 88% con el dominio SARS-CoV S2 y se conserva estructuralmente. Por lo tanto, el desarrollo de anticuerpos dirigidos a este motivo funcional puede unirse y neutralizar estos dos virus y CoV relacionados. Los péptidos antivirales previenen la fusión de la membrana del SARS-CoV-2 y potencialmente se pueden usar para la prevención y el tratamiento de la infección. Vale la pena mencionar que ek1C4, que se dirige al dominio HR1 altamente conservado de la subunidad S2, se espera que tenga potencial terapéutico contra el SARS-CoV-2. Más importante aún, EK1C4 se puede usar como una gota nasal, lo que aumenta sus propiedades medicinales, posee una alta barrera genética a la resistencia y no induce fácilmente mutaciones resistentes a los medicamentos. Por otro lado, los inhibidores de la fusión de péptidos pueden no ser ampliamente utilizados clínicamente y tienen baja biodisponibilidad. Por lo tanto, el desarrollo de inhibidores orales de fusión de moléculas pequeñas es una dirección importante.

En el curso de epidemias de virus, la capacidad de adaptarse a la presión externa es un factor importante que afecta la propagación del virus. En cuanto a la envoltura de la proteína S, la recombinación o mutación en el gen de su RBD puede ocurrir para promover la transmisión entre diferentes huéspedes y conducir a una mayor tasa de mortalidad [81]. La mutación del aspartato (D) en la posición 614 a la glicina (G614) da como resultado una cepa más patógena de SARS-CoV-2 [82], lo que dificulta el desarrollo de anticuerpos o vacunas que se dirijan a regiones no conservadoras. Para prevenir eficazmente la enfermedad, se pueden evaluar combinaciones de diferentes mAbs que identifican diferentes epítomos en la superficie del SARS-CoV-2 S para neutralizar una amplia gama de aislamientos, incluidos los mutantes de escape [83].

Actualmente, no se ha utilizado clínicamente ningún tratamiento o profiláctico específico para tratar o prevenir la infección por SARS-CoV-2. Los

medicamentos antivirales inespecíficos, como ifn- α (IFN- α 1b humano recombinante, IFN- α 2a), remdesivir, cloroquina, favipiravir y lopinavir-ritonavir (Aluvia), se han utilizado clínicamente para tratar la COVID-19 en China [84]. Sin embargo, los científicos del NIAID-VRC están desarrollando una vacuna candidata que expresa la proteína SARS-CoV-2 S en la tecnología de la plataforma de vacunas de ARNm. Se esperan ensayos clínicos de la vacuna en los próximos meses. El fortalecimiento continuo del monitoreo de la proteína SARS-CoV-2 S es de gran importancia para el posterior desarrollo de nuevos medicamentos y la protección contra COVID-19.

Referencias

1. 1.

Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. Un nuevo coronavirus de pacientes con neumonía en China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382:727–33.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

2. 2.

Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, et al. Análisis de dianas terapéuticas para el SARS-CoV-2 y descubrimiento de fármacos potenciales por métodos computacionales. *Acta Pharm Sin B.* 2020;10:766–88.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Académico](#)

3. 3.

Liu C, Zhou Q, Li Y, Garner LV, Watkins SP, Carter LJ, et al. Investigación y desarrollo de agentes terapéuticos y vacunas para COVID-19 y enfermedades relacionadas con el coronavirus humano. *ACS Cent Sci.* 2020;6:315–31.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

4. 4.

Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Tratamientos farmacológicos para la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19): una revisión. JAMA. 2020;323:1824–36.

[CAS Google Académico](#)

5. 5.

Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Caracterización genómica y epidemiología del nuevo coronavirus 2019: implicaciones para los orígenes del virus y la unión a los receptores. Lanceta. 2020;395:565–74.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

6. 6.

Chen L, Liu W, Zhang Q, Xu K, Ye G, Wu W, et al. El enfoque mNGS basado en ARN identifica un nuevo coronavirus humano a partir de dos casos individuales de neumonía en el brote de Wuhan de 2019. Los microbios emergentes infectan. 2020;9:313–9.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

7. 7.

Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, et al. Caracterización genómica del nuevo coronavirus patógeno humano de 2019 aislado de un paciente con neumonía atípica después de visitar Wuhan. Los microbios emergentes infectan. 2020;9:221–36.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

8. 8.

Letko M, Marzi A, Munster V. Evaluación funcional de la entrada celular y el uso del receptor para el SARS-CoV-2 y otros betacoronavirus del linaje B. *Nat Microbiol.* 2020;5:562–9.

[CAS Google Académico](#)

9. 9.

Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: una visión general de su replicación y patogénesis. *Métodos Mol Biol.* 2015;1282:1–23.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

10.10.

Morse JS, Lalonde T, Xu S, Liu WR. Aprendiendo del pasado: posibles opciones urgentes de prevención y tratamiento para las infecciones respiratorias agudas graves causadas por 2019-nCoV. *Quimioquímica.* 2020;21:730–8.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

11.11.

Bosch BJ, van der Zee R, de Haan CA, Rottier PJ. La proteína espiga del coronavirus es una proteína de fusión de virus de clase I: caracterización estructural y funcional del complejo del núcleo de fusión. *J Virol.* 2003;77:8801–11.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

12.12.

Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, Crispin M. Análisis de glicanos específicos del sitio del pico de SARS-CoV-2. *Ciencia.* 2020;369:330–3.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

13.13.

Xia S, Zhu Y, Liu M, Lan Q, Xu W, Wu Y, et al. Mecanismo de fusión de 2019-nCoV e inhibidores de fusión dirigidos al dominio HR1 en la proteína espiga. *Célula Mol Immunol.* 2020;17:765–7.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google](#) [Académico](#)

14.14.

Tang T, Bidon M, Jaimes JA, Whittaker GR, Daniel S. El mecanismo de fusión de la membrana del coronavirus ofrece un objetivo potencial para el desarrollo de antivirales. *Antivir Res.* 2020;178:104792.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google](#) [Académico](#)

15.15.

Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Estructura crio-EM del pico 2019-nCoV en la conformación de prefusión. *Ciencia.* 2020;367:1260–3.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

16.16.

Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Estructura, función y antigenicidad de la glicoproteína espiga del SARS-CoV-2. *Celda.* 2020;181:281–92 e286.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

17.17.

Bertram S, Dijkman R, Habjan M, Heurich A, Gierer S, Glowacka I, et al. TMPRSS2 activa el coronavirus humano 229E para la entrada de células huésped independientes de catepsina y se expresa en células diana virales en el epitelio respiratorio. *J Virol.* 2013;87:6150–60.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

18.18.

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. La entrada de células del SARS-CoV-2 depende de ACE2 y TMPRSS2 y está bloqueada por un inhibidor de la proteasa clínicamente probado. *Celda*. 2020;181:271–80.e8.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

19.19.

Du L, Kao RY, Zhou Y, He Y, Zhao G, Wong C, et al. La escisión de la proteína espiga del coronavirus SARS por el factor proteasa Xa se asocia con la infectividad viral. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;359:174–9.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

20.20.

Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, et al. Base estructural y funcional de la entrada al SARS-CoV-2 mediante el uso de ACE2 humano. *Celda*. 2020;181:894–904.e9.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

21.21.

Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Estructura del dominio de unión al receptor de espigas del SARS-CoV-2 unido al receptor ACE2. *Naturaleza*. 2020;581:215–20.

[PubMed CAS Google Académico](#)

22.22.

Xia S, Yan L, Xu W, Agrawal AS, Algaissi A, Tseng CK, et al. Un inhibidor de la fusión pan-coronavirus dirigido al dominio HR1 del pico de coronavirus humano. *Sci Adv.* 2019;5:eaav4580.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

23.23.

Mijo JK, Whittaker GR. Desencadenantes fisiológicos y moleculares para la fusión de la membrana del SARS-CoV y la entrada en las células huésped. *Virología.* 2018;517:3–8.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

24.24.

Cámaras P, Pringle CR, Easton AJ. Las secuencias de repetición heptadas se encuentran adyacentes a las regiones hidrofóbicas en varios tipos de glicoproteínas de fusión de virus. *J Gen Virol.* 1990;71:3075–80.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

25.25.

Robson B. Computadoras y enfermedades virales. Estudios bioinformáticos preliminares sobre el diseño de una vacuna sintética y un antagonista peptidomimético preventivo contra el coronavirus SARS-CoV-2 (2019-nCoV, COVID-19). *Comput Biol Med.* 2020;119:103670.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

26.26.

Xia S, Xu W, Wang Q, Wang C, Hua C, Li W, et al. Inhibidores de la fusión de membrana basados en péptidos dirigidos a los dominios HR1 y HR2 de la proteína espiga HCoV-229E. *Int J Mol Sci.* 2018;19:487. <https://doi.org/10.3390/ijms19020487>.

[Artículo PubMed Central CAS Google Scholar](#)

27.27.

Lu G, Wang Q, Gao GF. De murciélago a humano: características de pico que determinan el "salto del huésped" de los coronavirus SARS-CoV, MERS-CoV y más allá. *Tendencias Microbiol.* 2015;23:468–78.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

28.28.

Liu S, Xiao G, Chen Y, He Y, Niu J, Escalante CR, et al. Interacción entre las regiones de repetición heptada 1 y 2 en la proteína espiga del coronavirus asociado al SARS: implicaciones para el mecanismo fusogénico del virus e identificación de inhibidores de la fusión. *Lanceta.* 2004;363:938–47.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

29.29.

Yu Y, Deng YQ, Zou P, Wang Q, Dai Y, Yu F, et al. Un inactivador viral a base de péptidos inhibe la infección por el virus del Zika en ratones y fetos preñados. *Nat Commun.* 2017;8:15672.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

30.30.

Weissenhorn W, Dessen A, Calder LJ, Harrison SC, Skehel JJ, Wiley DC. Base estructural para la fusión de membranas por virus envueltos. *Mol Membr Biol.* 1999;16:3–9.

[PubMed CAS Google Académico](#)

31.31.

Gui M, Song W, Zhou H, Xu J, Chen S, Xiang Y, et al. Las estructuras de microscopía crioelectrónica de la glicoproteína espiga del SARS-CoV revelan un estado conformacional previo para la unión al receptor. *Cell Res.* 2017;27:119–29.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

32.32.

Hulswit RJ, de Haan CA, Bosch BJ. La proteína espiga del coronavirus y los cambios en el tropismo. *Virus Adv Res.* 2016;96:29–57.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

33.33.

Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Base estructural para el reconocimiento del SARS-CoV-2 por ACE2 humano de cuerpo entero. *Ciencia.* 2020;367:1444–8.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

34.34.

Cui J, Li F, Shi ZL. Origen y evolución de los coronavirus patógenos. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17:181–92.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

35.35.

Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. Una nueva carboxipeptidasa relacionada con la enzima convertidora de angiotensina (ACE2) convierte la angiotensina I en angiotensina 1-9. *Circ Res.* 2000;87:E1–9.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

36.36.

Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor del SARS-CoV-2: mecanismos moleculares y potencial diana terapéutica. *Medicina de Cuidados Intensivos*. 2020;46:586–90.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

37.37.

Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A, et al. Mecanismos de entrada celular del SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117:11727–34.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

38.38.

Chen Y, Guo Y, Pan Y, Zhao ZJ. Análisis de la estructura de la unión al receptor de 2019-nCoV. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;525:135–40.

[PubMed](#) [Central](#) [Google Académico](#)

39.39.

Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Reconocimiento del receptor por el nuevo coronavirus de Wuhan: un análisis basado en estudios estructurales de una década sobre el coronavirus del SARS. *J Virol*. 2020;94:e00127–20.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Académico](#)

40.40.

Tortorici MA, Walls AC, Lang Y, Wang C, Li Z, Koerhuis D, et al. Base estructural para la unión del coronavirus humano a los receptores de ácido siálico. *Nat Struct Mol Biol*. 2019;26:481–9.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Académico](#)

41.41.

Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. La glicoproteína espiga del nuevo coronavirus 2019-nCoV contiene un sitio de escisión similar a la furina ausente en CoV del mismo clado. *Antivir Res.* 2020;176:104742.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

42.42.

Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV y MERS-COV: a comparative overview. *Infez Med.* 2020;28:174–84.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

43.43.

Hasan A, Paray BA, Hussain A, Qadir FA, Attar F, Aziz FM, et al. Una revisión sobre el cebado de escisión de la proteína espiga en el coronavirus por la enzima convertidora de angiotensina-2 y furina. *J Biomol Struct Dyn.* 2020;22:1–9.

[Google Académico](#)

44.44.

Mijo JK, Whittaker GR. Proteasas de células huésped: determinantes críticos del tropismo y la patogénesis del coronavirus. *Virus Res.* 2015;202:120–34.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

45.45.

Claas EC, Osterhaus AD, van Beek R, De Jong JC, Rimmelzwaan GF, Senne DA, et al. Virus de la influenza humana A H5N1 relacionado con

un virus de la influenza aviar altamente patógeno. Lanceta. 1998;351:472–7.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google](#) [Académico](#)

46.46.

Kido H, Okumura Y, Takahashi E, Pan HY, Wang S, Yao D, et al. Papel de las proteasas celulares del huésped en la patogénesis de la influenza y la insuficiencia orgánica múltiple inducida por la influenza. Biochim Biophys Acta. 2012;1824:186–94.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google](#) [Académico](#)

47.47.

Heurich A, Hofmann-Winkler H, Gierer S, Liepold T, Jahn O, Pohlmann S. TMPRSS2 y ADAM17 escinden ACE2 de forma diferencial y solo la proteólisis por TMPRSS2 aumenta la entrada impulsada por la proteína espiga del coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo. J Virol. 2014;88:1293–307.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google](#) [Académico](#)

48.48.

Limburg H, Harbig A, Bestle D, Stein DA, Moulton HM, Jaeger J, et al. TMPRSS2 es la principal proteasa activadora del virus de la influenza A en las células primarias de las vías respiratorias humanas y el virus de la influenza B en los neumocitos humanos tipo II. J Virol. 2019;93:e00649–19.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google](#) [Académico](#)

49.49.

Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, et al. Caracterización de la glicoproteína espiga del SARS-CoV-2 en la entrada del virus y su reactividad cruzada inmune con el SARS-CoV. Nat Commun. 2020;11:1620.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

50.50.

Kawase M, Kataoka M, Shirato K, Matsuyama S. Análisis bioquímico de intermedios conformacionales de glicoproteína de pico de coronavirus durante la fusión de membrana. J Virol. 2019;93:e00785–19.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

51.51.

Harrison SC. Fusión de membrana viral. Virología. 2015;479-480:498–507.

[PubMed CAS Google Académico](#)

52.52.

Eckert DM, Kim PS. Mecanismos de fusión de la membrana viral y su inhibición. Annu Rev Bioquímica. 2001;70:777–810.

[PubMed CAS Google Académico](#)

53.53.

Dhama K, Sharun K, Tiwari R, Dadar M, Malik YS, Singh KP, et al. COVID-19, una infección emergente por coronavirus: avances y perspectivas en el diseño y desarrollo de vacunas, inmunoterapias y terapéuticas. Hum Vaccin Immunother. 2020;16:1232–8

[PubMed CAS Google Académico](#)

54.54.

Zheng M, Song L. Nuevos epítomos de anticuerpos dominan la antigenicidad de la glicoproteína espiga en el SARS-CoV-2 en comparación con el SARS-CoV. Célula Mol Immunol. 2020;17:536–8.

[PubMed CAS Google Académico](#)

55.55.

Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Xu K, Yang M, et al. Desarrollo rápido de una vacuna candidata inactivada para el SARS-CoV-2. *Ciencia*. 2020;369:77–81.

[PubMed CAS Google Académico](#)

56.56.

Coleman CM, Liu YV, Mu H, Taylor JK, Massare M, Flyer DC, et al. Las nanopartículas purificadas de proteína espiga del coronavirus inducen anticuerpos neutralizantes del coronavirus en ratones. *Vacuna*. 2014;32:3169–74.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

57.57.

Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z, et al. Potente unión de la proteína espiga del nuevo coronavirus 2019 por un anticuerpo monoclonal humano específico del coronavirus del SARS. *Los microbios emergentes infectan*. 2020;9:382–5.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

58.58.

Wang C, Li W, Drabek D, Okba NMA, van Haperen R, Osterhaus A, et al. Un anticuerpo monoclonal humano que bloquea la infección por SARS-CoV-2. *Nat Commun*. 2020;11:2251.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

59.59.

Chen XY, Li R, Pan ZW, Qian CF, Yang Y, You RR, et al. Los anticuerpos monoclonales humanos bloquean la unión de la proteína espiga del SARS-CoV-2 al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2. *Célula Mol Immunol*. 2020;17:647–9.

[PubMed CAS Google Académico](#)

60.60.

Wu Y, Li C, Xia S, Tian X, Wang Z, Kong Y, et al. Identificación de anticuerpos de dominio único totalmente humanos contra el SARS-CoV-2. *Microbio huésped celular*. 2020;27:891–8.e5. <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.015990>.

[Artículo PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

61.61.

Pinto D, Park Y-J, Beltramello M, Walls AC, Tortorici MA, Bianchi S, et al. Análisis estructural y funcional de un potente anticuerpo neutralizante del sarbecovirus. *bioRxiv*. 2020;2020.04.07.023903. <https://doi.org/10.1101/2020.04.07.023903>.

62.62.

Ju B, Zhang Q, Ge X, Wang R, Yu J, Shan S, et al. Potentes anticuerpos neutralizantes humanos provocados por la infección por SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2020; <https://doi.org/10.1101/2020.03.21.990770>.

63.63.

Chi X, Yan R, Zhang J, Zhang G, Zhang Y, Hao M, et al. Un potente anticuerpo humano neutralizante revela el dominio N-terminal de la proteína Spike del SARS-CoV-2 como un sitio de vulnerabilidad. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.05.08.083964>.

64.64.

Xia S, Liu MQ, Wang C, Xu W, Lan QS, Feng SL, et al. Inhibición de la infección por SARS-CoV-2 (anteriormente 2019-nCoV) por un inhibidor de fusión pan-coronavirus altamente potente dirigido a su proteína espiga que alberga una alta capacidad para mediar la fusión de membrana. *Cell Res.* 2020;30:343–55.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

65.65.

Zhu Y, Yu D, Yan H, Chong H, He Y. Diseño de potentes inhibidores de la fusión de membrana contra el SARS-CoV-2, un coronavirus emergente con alta actividad fusogénica. *J Virol.* 2020;94:e00635–20.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

66.66.

Musarrat F, Chouljenko V, Dahal A, Nabi R, Chouljenko T, Jois SD, et al. El medicamento contra el VIH Mesilato de Nelfinavir (Viracept) es un potente inhibidor de la fusión celular causada por la glicoproteína SARS-CoV-2 Spike (S) que justifica una evaluación adicional como antiviral contra las infecciones por COVID-19. *J Med Virol.* 2020;10.1002/jmv.25985.

67.67.

Uno Y. Terapia de mesilato de camostat para COVID-19. *Pasante Emerg Med.* 2020;1–2. <https://doi.org/10.1007/s11739-020-02345-9>. [Epub antes de la impresión].

68.68.

de Wilde AH, Falzarano D, Zevenhoven-Dobbe JC, Beugeling C, Fett C, Martellaro C, et al. Alisporivir inhibe la replicación del coronavirus

MERS y SARS en cultivos celulares, pero no la infección por coronavirus SARS en un modelo de ratón. *Virus Res.* 2017;228:7–13.

[PubMed](#) [Google Académico](#)

69.69.

Huang IC, Bosch BJ, Li WH, Farzan M, Rottier PM, Choe H. SARS-CoV, pero no HCoV-NL63, utiliza catepsinas para infectar las células: entrada viral. *Nidovirus: hacia el control del Sars y otros Nidovirus. Enfermedades.* 2006;581:335–8.

[CAS](#) [Google Académico](#)

70.70.

Zhou N, Pan T, Zhang JS, Li QW, Zhang X, Bai C, et al. Los antibióticos glicopéptidos inhiben potentemente la catepsina L en el endosoma/lisosoma tardío y bloquean la entrada del virus del Ébola, el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV). *J Biol Chem.* 2016;291:9218–32.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

71.71.

Nelson EA, Dyllal J, Hoenen T, Barnes AB, Zhou H, Liang JY, et al. El inhibidor de la fosfatidilinositol-3-fosfato 5-quinasa apilimod bloquea la entrada filoviral y la infección. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11:e0005540.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Académico](#)

72.72.

Hou JZ, Xi ZQ, Niu J, Li W, Wang X, Liang C, et al. La inhibición de PIKfyve utilizando YM201636 suprime el crecimiento del cáncer de hígado a través de la inducción de la autofagia. *Oncol Rep.* 2019;41:1971–9.

[PubMed CAS Google Académico](#)

73.73.

Sakurai Y, Kolokoltsov AA, Chen CC, Tidwell MW, Bauta WE, Klugbauer N, et al. Los canales de dos poros controlan la entrada de células huésped del virus del Ébola y son objetivos farmacológicos para el tratamiento de la enfermedad. *Ciencia*. 2015;347:995–8.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

74.74.

Artenstein AW, Opal SM. Proproteína convertasas en salud y enfermedad. *N Engl J Med*. 2011;365:2507–18.

[PubMed CAS Google Académico](#)

75.75.

Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Características clínicas de pacientes infectados con el nuevo coronavirus 2019 en Wuhan, China. *Lanceta*. 2020;395:497–506.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

76.76.

Yakala GK, Cabrera-Fuentes HA, Crespo-Avilan GE, Rattanasopa C, Burlacu A, George BL, et al. La inhibición de FURIN reduce la remodelación vascular y la progresión de la lesión aterosclerótica en ratones. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39:387–401.

[PubMed PubMed Central CAS Google Scholar](#)

77.77.

Zhou M, Zhang Y, Wei H, He J, Wang D, Chen B, et al. El inhibidor de furina D6R suprime la transición epitelial-mesenquimal en las células SW1990 y PaTu8988 a través de la vía de señalización Hippo-YAP. *Oncol Lett.* 2018;15:3192–6.

[PubMed](#) [Google Académico](#)

78.78.

Leblond J, Laprise MH, Gaudreau S, Grondin F, Kisiel W, Dubois CM. El inhibidor de la proteinasa serpina 8: un inhibidor endógeno de la furina liberado de las plaquetas humanas. *Thromb Haemost.* 2006;95:243–52.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

79.79.

Lu Y, Hards K, Dahms SO, Bottcher-Friebertshauser E, Steinmetzer T, Than ME, et al. El inhibidor peptidomimético de furina MI-701 en combinación con oseltamivir y ribavirina bloquea eficientemente la propagación de los virus de la influenza aviar altamente patógenos y retrasa la resistencia de alto nivel de oseltamivir en las células MDCK. *Antivir Res.* 2015;120:89–100.

[PubMed](#) [CAS](#) [Google Académico](#)

80.80.

Abidin AZ, DSouza AM, Nagarajan MB, Wang L, Qiu X, Schifitto G, et al. Alteración de la topología de la red cerebral en el trastorno neurocognitivo asociado al VIH: una nueva perspectiva de conectividad funcional. *Neuroimagen Clin.* 2018;17:768–77.

[PubMed](#) [Google Académico](#)

81.81.

Wang C, Liu Z, Chen Z, Huang X, Xu M, He T, et al. El establecimiento de la secuencia de referencia para el SARS-CoV-2 y el análisis de variación. *J Med Virol.* 2020;92:667–74.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

82.82.

Becerra-Flores M, Cardozo T. Sars-CoV-2 la mutación G614 del pico viral exhibe una mayor tasa de letalidad. *Int J Clin Pract.* 2020;6:e13525.

[Google Académico](#)

83.83.

Zhou GY, Zhao Q. Perspectivas sobre los anticuerpos neutralizantes terapéuticos contra el nuevo coronavirus SARS-CoV-2. *Int J Biol Sci.* 2020;16:1718–23.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Académico](#)

84.84.

Wang ML, Cao RY, Zhang LK, Yang XL, Liu J, Xu MY, et al. El remdesivir y la cloroquina inhiben eficazmente el nuevo coronavirus recientemente surgido (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* 2020;30:269–71.

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

[Descargar referencias](#)

Agradecimientos

Este proyecto fue apoyado por subvenciones del Programa de Ciencia y Tecnología de Guangzhou (# 201803040006 a WX), la Fundación del Fondo de Ciencias Naturales de la Provincia de Guangdong (#2018A030313056 a WX) y subvenciones de Los Principales Proyectos Científicos y Tecnológicos de la Provincia de Guangdong (#2019B020202002 a SWL).

Información del autor

Afiliaciones

- 1. Guangdong Provincial Key Laboratory of New Drug Screening,
Escuela de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Médica del Sur,
Guangzhou, 510515, China**
Yuan Huang, Chan Yang, Xin-feng Xu, Wei Xu y Shu-wen Liu
- 2. Laboratorio Estatal Clave de Investigación de Insuficiencia Orgánica,
Universidad Médica del Sur, Guangzhou, 510515, China**
Shu-wen Liu

Autores correspondientes

Correspondencia a [Wei Xu](#) o [Shu-wen Liu](#).

Declaraciones éticas
