



BASES MOLECULARES DE LA PATOGÉNESIS DE COVID-19 Y ESTUDIOS IN SILICO DE POSIBLES TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS

MOLECULAR BASIS OF COVID-19 PATHOGENESIS AND IN SILICO STUDIES OF POTENTIAL PHARMACOLOGICAL TREATMENT

Eduardo Lam-Cabanillas^{1,a}, Anthony León-Risco^{1,a}, Kevyn León-Risco^{1,a}, Gaby Llamó-Hoyos^{1,a}, Rosa López-Zavaleta^{1,a}, Estefanía Luzuriaga-Tirado^{1,a}, Alex Mendoza-Blas^{1,a}, Jorge Huamán-Saavedra^{1,b}

RESUMEN

La COVID-19 es una enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2, que representa una grave amenaza para la salud mundial. El objetivo de este artículo es profundizar en la estructura de las proteínas no estructurales (Nsp1-16) y estructurales (Spike, Envoltura, Membrana y Nucleocápside) del SARS-CoV-2, su rol durante la infección a sus células diana; asimismo plantear moléculas de estudios in silico que inhiben a las proteínas del ciclo viral para posibles tratamientos farmacológicos. El genoma del SARS-CoV-2 presenta los ORF1a y ORF1ab que codifican dieciséis proteínas no estructurales (Nsps), así como trece ORFs que codifican cuatro proteínas estructurales y nueve accesorias. Las Nsps participan tanto en el ciclo viral, siendo Nsp3 y Nsp5 responsables del clivaje de las poliproteínas 1a y 1ab para la posterior formación del complejo replicasa-transcriptasa, como favoreciendo el progreso de la infección viral. La proteína S media la unión y fusión del virus a la célula huésped a través de sus subunidades S1 y S2, respectivamente; sin embargo, se debe activar previamente por proteasas como TMPRSS2, furina, tripsina o catepsinas. Por otra parte, las proteínas E, M y N participan en el ensamblaje del virus y hasta el momento se desconoce las funciones de las proteínas accesorias. Asimismo, estudios in silico de medicamentos como el disulfiram y el viomycin, y moléculas de la *Azadirachta indica*, la planta de té y la *Andrographis paniculata* han mostrado efectos inhibitorios en el ciclo viral del SARS-CoV-2.

Palabras clave: COVID-19; Genoma; In silico (fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

COVID-19 is a disease caused by SARS-CoV-2, a virus that represents a serious threat to global health. The objective of the article is to deepen into the structure of the non-structural proteins (Nsp1-16) and structural proteins (Spike, Envelope, Membrane and Nucleocapsid) of SARS-CoV-2 and their role during the infection of its target cells; also to propose molecules from in silico studies that inhibit proteins of the viral cycle for potential pharmacological treatments. The SARS-CoV-2 genome has ORF1a and ORF1ab that encode sixteen non-structural proteins (Nsp1-16), as well as thirteen ORFs that encode four structural proteins and nine accessory proteins. The Nsps participate both in the viral cycle, being Nsp3 and Nsp5 responsible for the cleavage of polyproteins 1a and 1ab for the subsequent formation of the replicase-transcriptase complex, and favoring the progress of the viral infection. The S protein mediates the union and fusion of the virus to the host cell through its subunits S1 and S2, respectively; however, it must be previously activated by proteases such as TMPRSS2, furin, trypsin or cathepsins. On the other hand, the E, M and N proteins participate in the assembly of the virus and until now the functions of the accessory proteins are unknown. Also, in silico studies of drugs such as disulfiram and viomycin, and molecules found in plants as *Azadirachta indica*, the tea plant, and *Andrographis paniculata* have shown inhibitory effects on the SARS-CoV-2 viral cycle.

Key words: COVID-19; SARS-CoV-2; Genome; Protein structure; In silico (source: MeSH NLM).

¹ Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

^a Estudiante de Medicina.

^b Doctor en Medicina.

Citar como: Eduardo Lam-Cabanillas, Anthony León-Risco, Kevyn León-Risco, Gaby Llamó-Hoyos, Rosa López-Zavaleta, Estefanía Luzuriaga-Tirado, Alex Mendoza-Blas, Jorge Huamán-Saavedra. Bases moleculares de la patogénesis de COVID-19 y estudios in silico de posibles tratamientos farmacológicos. Rev. Fac. Med. Hum. Abril 2021; 21(2):417-432. DOI 10.25176/RFMH.v21i1.3327

Journal home page: <http://revistas.urp.edu.pe/index.php/RFMH>

Artículo publicado por la Revista de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Ricardo Palma. Es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons: Creative Commons Attribution 4.0 International, CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada. Para uso comercial, por favor póngase en contacto con revista.medicina@urp.pe



INTRODUCCIÓN

La COVID-19 es una enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2, un nuevo betacoronavirus que representa una grave amenaza para la salud a nivel mundial⁽¹⁾. Los primeros casos de COVID-19 se reportaron a finales de diciembre de 2019 en Wuhan-China, y tres meses después ya se había propagado por todo el mundo⁽¹⁾; por esta razón, la Organización Mundial de la Salud (OMS) la declaró pandemia el 11 de marzo del presente año⁽¹⁾. Desde su aparición hasta el momento, las cifras de contagiados a nivel mundial superan los 36754395 casos confirmados y 1064838 fallecidos (10/10/2020)⁽²⁾. De estas cifras, el Perú registra más de 843355 casos confirmados y 33158 fallecidos a la fecha (10/10/2020)⁽³⁾, siendo uno de los países con mayor número de muertes en Sudamérica y el mundo.

El 24 de enero del 2020, Zhu N. et al⁽⁴⁾ publicaron la secuencia genética del SARS-CoV-2, mediante ensayo con PCR de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR), de pacientes con neumonía atípica de la ciudad de Wuhan. A raíz de este descubrimiento se determinó que el SARS-CoV-2 presenta una región 5' no traducible (UTR), un complejo replicasa (ORF1ab), genes S, E, M, N, una región 3'-UTR y otros marcos abiertos de lectura (ORFs) que difieren del resto de betacoronavirus^(4,5).

A pesar de ser un nuevo virus, el estudio del genoma y las proteínas de los coronavirus con los que comparte un gran porcentaje de identidad se ha desarrollado desde hace varios años atrás, principalmente investigaciones realizadas en SARS-CoV y MERS-CoV, lo que ha permitido sentar la base para el estudio de las proteínas del SARS-CoV-2^(6,7).

Debido a la importancia de ciertas proteínas en procesos de replicación, transcripción y ensamblaje del SARS-CoV-2 se han realizado múltiples estudios con fármacos para su inhibición, como tratamiento del COVID-19⁽⁸⁾; dentro de los cuales se encuentran la hidroxycloroquina, azitromicina y remdesivir que se han estudiado por mucho tiempo sin ningún resultado favorable^(8,9). Sin embargo, diversos investigadores han enfocado sus esfuerzos en experimentar con otras moléculas mediante estudios *in silico*, al ser más rápidos y baratos, para su posterior estudio *in vivo* o *in vitro*.

El presente trabajo busca profundizar desde el aspecto molecular la patogénesis del COVID-19, mediante la descripción del rol de las proteínas no estructurales (Nsps) y estructurales del SARS-CoV-2⁽⁴⁾

en la infección de sus células diana. Asimismo, dar a conocer posibles tratamientos farmacológicos de estudios *in silico* que tienen como objetivo la inhibición de proteínas esenciales en el desarrollo del ciclo viral y podrían servir de base para posteriores estudios tanto *in vitro* como *in vivo*.

El procedimiento para la búsqueda de información se inició buscando todas las proteínas no estructurales (Nsps) y las proteínas estructurales del SARS-CoV-2 en MeSH. Una vez identificadas se hizo la búsqueda de cada una de ellas hasta el 6 de setiembre en las bases de datos PubMed, Scielo, Google Scholar y LinkSpringer, empleando como criterios publicación en revistas indexadas, que respondan a los objetivos y que tengan información relevante. Se encontraron 100 artículos y se seleccionaron 68, la mayoría de PubMed; solo 4 tuvieron la excepción de ser preprint por la relevancia de su información.

Para la elaboración de las Figuras 2 y 3, primero se obtuvo los códigos de identificación de cada proteína del Protein Data Bank⁽¹⁰⁾ (PDB), luego se visualizó su secuencia aminoacídica con el programa Jalview⁽¹¹⁾ y con su extensión Quimera⁽¹²⁾ se visualizó la estructura 3D de cada proteína. Se utilizó el programa CellPAINT⁽¹³⁾ para dibujar el virus, la célula y las proteínas estructurales del SARS-CoV-2 publicadas en la Figura 4 conforme lo señalan los autores⁽¹³⁾. Asimismo, se utilizó el programa BioRender⁽¹⁴⁾ empleando sus figuras prediseñadas de la célula y organelas, añadiendo la estructura del virus y sus proteínas para esquematizar el proceso de patogénesis del SARS-CoV-2 de la Figura 5⁽¹⁴⁾.

ORGANIZACIÓN GENÓMICA DEL SARS-COV-2

El SARS-CoV-2 pertenece al género de los betacoronavirus y comparte una identidad de secuencia genómica del 79,6% con SARS-CoV y del 50% con el MERS-CoV⁽⁵⁾. Tiene un ARN genómico monocatenario de sentido positivo (ssARN) con una longitud de aproximadamente 30 Kb⁽⁶⁾; además, presenta una cola poliadenilada (poli-A) en el extremo 3' y un capuchón metilado en el extremo 5', teniendo una similitud estructuralmente al ARN mensajero (ARNm) de células eucariotas⁽¹⁵⁾.

Este ARN consta de 15 marcos abiertos de lectura (ORFs) que son secuencias de ARN comprendida entre un codón de inicio de la traducción y un codón de terminación⁽¹⁶⁾. En SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2⁽¹⁶⁾, los dos tercios próximos al extremo 5'-terminal de su genoma, se encuentran



los ORF1a y ORF1b, que codifican las poliproteínas 1a (PP1a) y 1ab (PP1ab), respectivamente. El clivaje de estas poliproteínas origina a las proteínas no estructurales (Nsp1-16), que conforman el complejo viral replicasa-transcriptasa⁽¹⁶⁾. Por otro lado, en el tercio próximo al extremo 3', se encuentran los ORFs S, E, M y N, que codifican a las proteínas spike (S), envoltura (E), nucleocápside (N) y membrana (M), respectivamente, y los ORFs 3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8, 9a, 9b y 10 que codifican a las proteínas accesorias^(16,17) (Figura 1).

PROTEÍNAS DEL SARS-COV-2

El conocimiento de las proteínas y sus funciones en el SARS-CoV-2 se ha obtenido principalmente de diversas investigaciones sobre el SARS-CoV y otros betacoronavirus relacionados, como el MERS-CoV, pero en menor proporción, debido a las similitudes del genoma del SARS-CoV-2 con el de este grupo de virus^(5,18). En la Tabla 1 se muestran los porcentajes de identidad de las proteínas del SARS-CoV-2 con sus homólogas del SARS-CoV^(6,16,19-24).

El SARS-CoV-2 cuenta con 16 proteínas no estructurales, cuatro proteínas estructurales y ocho proteínas accesorias⁽¹⁶⁾, las cuales se describirán a continuación.

Proteínas no estructurales

Las 16 proteínas no estructurales provienen del clivaje proteolítico de las poliproteínas PP1a y PP1ab expresada por ORF1a y ORF1ab⁽¹⁶⁾, respectivamente. Estas cumplen un rol fundamental en la replicación del virus dentro de las células huésped y algunas de ellas son el objetivo de diversos fármacos en desarrollo^(7,25).

Nsp1

En su estructura posee 6 láminas beta que conforman un barril con una hélice alfa cubriendo una parte terminal del barril y otra a lo largo de este⁽²⁶⁾.

Esta proteína interactúa con la subunidad ribosomal 40S de la célula huésped por medio de los residuos de Lys164 e His165, a través de esta subunidad conseguirá el acceso al ARNm del huésped⁽²⁷⁾. El Nsp1 no permite la unión de la subunidad ribosomal 40S con la subunidad 60S, inhibiendo así la traducción del ARNm⁽²⁷⁾. Después, recluta a una endonucleasa que induce a un clivaje endonucleotico en el extremo 5'-UTR del ARNm; esto conlleva a una degradación por la exoribonucleasa Xrn1 del extremo 5' truncado⁽²⁷⁾.

Nsp2

Presenta una estructura estabilizada por Gln321, debido a la longitud de su cadena lateral, polaridad y potencial para formar enlaces de hidrógeno⁽²⁸⁾. Esta se une a las proteínas PHB 1 y PHB2 (prohibitin 1 y 2) de la célula huésped, que participan en el progreso del ciclo celular, migración celular, diferenciación celular, apoptosis y biogénesis mitocondrial⁽²⁸⁾. Sin embargo, el mecanismo de unión de Nsp2 a las proteínas PHB1 y PHB2 aún no está estudiado⁽¹⁸⁾.

Nsp3

Esta es la proteína más grande del SARS-CoV-2 y a partir del extremo N-terminal, presenta de forma secuencial un dominio similar a la ubiquitina que se une al ARN monocatenario, a un módulo de unión a ribosa ADP, a un dominio de unión de poli (A) trenzado, a una proteasa viral de tipo papaína, a un dominio de unión a ácido nucleico y a un receptor C acoplado a proteína G⁽²⁹⁾.

Esta proteína junto con Nsp4 y Nsp6, regula el sitio de replicación reclutando la proteína replicasa a la membrana del huésped⁽²⁸⁾. Los dominios transmembrana de múltiples capas de la proteína Nsp3 sirven como un andamio para el ensamblaje del complejo replicasa-transcriptasa asociado a la membrana⁽³⁰⁾.

El dominio proteasa similar a la papaína (PLpro) del Nsp3 (Figura 2) es responsable de la liberación de Nsp1, Nsp2 y Nsp3 de la región N-terminal de las poliproteínas 1a y 1ab⁽²⁹⁾. Además, este dominio se puede unir a las proteínas RIG-I, NEMO, TRAF6 para que no activen los factores de transcripción IRF3 y NFkB, quienes coordinan la expresión de los interferones tipo I. Debido a ello, se bloquea la producción de citocinas importantes involucradas en la activación de la respuesta inmune innata del huésped contra la infección viral^(29,31).

Nsp4

Esta proteína transmembrana presenta múltiples sustituciones cerca de su región N-terminal y tiene un C-terminal bastante conservado; estas regiones son citosólicas⁽¹⁸⁾. Además, posee un dominio muy conservado similar a las defensinas humanas involucradas en la inmunidad innata que está constituido por residuos de aminoácidos que se extienden desde las posiciones 217 a 237⁽³²⁾.

La coexpresión de Nsp4 con el tercio C-terminal de Nsp3 se produce en las posiciones 112-164 en su bucle luminal, permitiendo así la redistribución del

retículo endoplasmático a la región perinuclear para la inducción de la formación de vesículas de doble membrana, pero cuando se expresa individualmente la Nsp4 se localiza en el retículo endoplasmático⁽³³⁾. Además, al expresarse junto con la Nsp6 permiten una replicación óptima dentro de las células huésped. Por otro lado, se ha observado que en los residuos de aminoácidos His120 y Phe121 en SARS-CoV, Nsp4 juega papeles cruciales en la remodelación de la membrana a través de su interacción con Nsp3⁽³³⁾.

Nsp5

La proteasa principal de SARS-CoV-2 (Mpro, NSP5, 3CLpro) es una cisteína proteasa homodimérica de 67,6 kDa altamente conservada, que difiere solo en 12 aminoácidos con la correspondiente proteasa Mpro del SARS-CoV⁽²⁰⁾.

Está conformada por los dominios I (residuos 8–101), II (residuos 102–184) y III (residuos 201–303), con un bucle largo (residuos 185–200) que conecta los dominios II y III⁽²⁰⁾ (Figura 2). El residuo Glu166 es un aminoácido clave implicado en la dimerización de Mpro y en la creación de bolsillo de unión al sustrato⁽³⁴⁾. Además, los residuos Cys141 e His41 forman una díada catalítica en el sitio activo de la proteína, esencial para su función^(20,34,35).

Esta proteasa se escinde de las poliproteínas para producir enzimas maduras, y luego escinde más proteínas no estructurales downstream en 11 sitios para liberar Nsp4 – Nsp16. Además, actúa como mediador en la maduración de Nsps, que es esencial en el ciclo de vida del virus^(34,36).

Nsp6

Proteína transmembrana que consta de 290 aminoácidos y se localiza en el retículo endoplasmático⁽³⁷⁾. La parte de su estructura que se encuentra en la región de la membrana externa posee múltiples residuos de fenilalanina, lo cual favorece la afinidad de esta proteína con la membrana del retículo y haría su unión más estable⁽³⁸⁾.

El Nsp6 forma complejos con Nsp3 y Nsp4; además, está implicada en la formación de vesículas de doble membrana derivadas de retículo endoplasmático durante la replicación del coronavirus^(21,37). Se hipotetiza que la formación de estas vesículas de doble membrana están inducidas como omegasomas por la inhibición de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR) por Nsp6 o bien por la activación de la autofagia a través de inducción de vías alternas, las cuales continúan hasta la formación

del autofagosoma donde, en condiciones normales, pasaría a formar un autolisosoma para degradar su contenido, en este caso viral, por la infección de SARS-CoV-2^(21,37). Sin embargo, este proceso no se daría gracias a la Nsp6, ya que formaría autofagosomas más pequeños (menos de 0,5µm de lo normal (aprox. 1µm)). Se sugiere que el tamaño reducido de estos autofagosomas limita su capacidad de fusionarse con los lisosomas, esto beneficiaría la replicación viral al prevenir la maduración de las vesículas endosómicas y autofágicas y, por consecuencia, su capacidad de degradar los elementos virales, proporcionándoles una nueva maquinaria para su replicación en condiciones seguras^(21,37).

Nsp7 y Nsp8

Tanto la estructura de Nsp7 como de Nsp8 es predominantemente alfa helicoidal^(38,39) (Figura 3). Ambas forman un super complejo hexadecamérico que adopta una estructura cilíndrica hueca y puede participar en la replicación viral actuando como primasa, cuyas propiedades electrostáticas positivas implican que confiere procesividad a la ARN polimerasa dependiente de ARN⁽⁴⁰⁾.

Nsp9

Presenta un núcleo conformado por un pequeño barril β cerrado de siete hebras, desde el cual se proyecta una serie de bucles extendidos hacia afuera⁽²²⁾. Los bucles alargados unen las cadenas β individuales del barril, junto con una cadena β N-terminal en proyección y la hélice α1 C-terminal; estos dos últimos elementos constituyen los componentes principales en la disposición dimerica de la proteína^(22,41). Existen dos formas para la dimerización de la Nsp9, una es la interacción que se da entre las hélices α paralelas de cada monómero que contienen el motivo de interacción proteína-proteína Gli-X-X-X-Gli; y la otra forma es mediante una interfaz de lámina beta estabilizada por interacciones de átomos de la cadena principal dentro de las regiones de lámina de cada monómero⁽⁴¹⁾.

El Nsp9 tiene capacidad de unión a ARN y ADN, por lo que media la replicación viral, la virulencia general y la reproducción viral del ARN genómico; siendo, probablemente, un miembro del complejo de replicación⁽²²⁾.

Nsp10

La estructura de esta pequeña proteína de 139 aminoácidos (Figura 3) está conformada por un par de láminas beta antiparalelas en el centro, rodeadas



en un lado por un bucle grande que las cruza y por 5 hélices alfa cuyos bucles forman dos dominios de dedos de zinc, el primer sitio de unión a zinc está coordinado por los residuos Cys74, Cys77, His83 y Cys90 y el segundo sitio de enlace a zinc está coordinado por Cys117, Cys120, Cys128 y Cys130^(16, 42). La función de estos sitios en otros coronavirus está involucrada con la unión no específica al ARN⁽⁴²⁾.

El dominio C-terminal de Nsp10 forma múltiples interacciones con el dominio ExoN de Nsp14, lo que afecta fuertemente su actividad nucleolítica, la cual mejora hasta 35 veces⁽⁴³⁾. Por otra parte, esta proteína también actúa como cofactor de Nsp16, aumentando la actividad de su dominio 2'-O-MTasa⁽⁴³⁾.

Nsp12

En su estructura encontramos un dominio β hairpin conformado por una horquilla β N-terminal en los residuos 31-50, un dominio NiRAN (nidovirus RdRp-associated nucleotidyl-transferase) en los residuos 115-250 con siete hélices y 3 láminas β , un dominio interface en los residuos 251-365 compuesto por tres hélices y cinco láminas β que conecta el dominio NiRAN y el dominio RdRp, el cual tiene una configuración ahuecada, con subdominios fingers en los residuos 397-581 y 621-679, un subdominio thumb en los residuos 819-920, y un subdominio palm, los cuales forman un círculo cerrado⁽⁴⁴⁾ (Figura 3).

El dominio RdRp tiene actividad ARN polimerasa dependiente de ARN, pero por sí solo presenta baja actividad; por ello requiere factores accesorios, que son las proteínas Nsp7 y Nsp8 con los que conforma un complejo, el cual presenta motivos con residuos conservados de unión a Zn^{2+} en Cys487 His642, Cys645, Cys646 y en His295, Cys301, Cys306, Cys310⁽⁴⁴⁾. Esto incrementa la unión de RdRp al molde-primer de ARN^(40,44).

Nsp13

En su estructura presenta cinco dominios: dominio en cintas – ZBD, dominio tallo, dominio 1b, dominio 1a, dominio 2a y un sitio activo NTPasa que está compuesto por Lys288, Ser289, Asp374, Glu375, Gln404 y Arg567; estos son vitales para el desenrollado de una molécula de ARN dúplex⁽⁴⁵⁾ (Figura 3).

A concentraciones elevadas de ATP, la actividad helicasa de la proteína presenta una mayor afinidad por el ARN dúplex, que se desarrolla en tres pasos: Primero, el Nsp13 se une a la cola 5'-ss en presencia de ATP sin hidrólisis de ATP; luego, al agregar iones

de magnesio desencadena la hidrólisis de ATP y finalmente, el Nsp13 permite separar el ARN dúplex y se transloca a lo largo del ARN desenrollado en dirección 5' a 3'⁽⁴⁶⁾.

Nsp14

Esta proteína posee un dominio N-terminal (ExoN) que incluye tres motivos (I(DE), II(E), III(D)) y un dominio carboxiterminal que contiene (N7 guanina)-metil transferasa (N7-MTasa)⁽⁴⁷⁾. El dominio ExoN presenta un pliegue alfa/beta, compuesta por una lámina beta central formada por cinco filamentos beta flanqueados por hélices alfa, a excepción de la cadena beta 3, y sus residuos catalíticos incluyen Asp90, Glu92 Glu191, Asp272⁽⁴⁷⁾. Por otra parte, el dominio N7-MTasa está formado por una lámina beta constituido por cinco cadenas beta y un motivo canónico de unión a S-adenosilmetionina (SAM)⁽⁴⁷⁾. Una región de bisagra separa el dominio ExoN del dominio N7-MTasa, esta es flexible y consta de un bucle y tres hebras, lo que permite movimientos laterales y rotacionales de los dos dominios para coordinar las actividades enzimáticas^(43,47).

El Nsp14 funciona como una metiltransferasa dependiente de S-adenosil metionina (SAM) (guanina-N7) (N7-MTasa)⁽⁴⁷⁾. Después de la hidrólisis del ARN naciente por el Nsp13, se forma ARN-pp. Una guanililtransferasa (GTasa) desconocida hidroliza GTP, transfiere el producto GMP a ARN-pp y crea ARN-Gppp. Luego, SAM metila la guanina 5' del ARN-Gppp en la posición N7, formando la tapa 5'(m7GpppN-ARN)^(43,47).

Nsp15

Esta proteína es una endoribonucleasa específica de uridilato de ARN nidovírico (NendoU) con unidades monoméricas compuestas por 345 aminoácidos que se pliegan en tres dominios⁽⁴⁸⁾. El dominio N-terminal se compone de una hoja- β antiparalela envuelta alrededor de dos α -hélices (α 1 y α 2) y el dominio medio subsiguiente está formado por diez filamentos β organizados en tres pines, una hoja- β mixta, y tres hélices cortas⁽⁴⁸⁾. El dominio catalítico NendoU del terminal C contiene dos láminas β antiparalelas con bordes que alojan un sitio catalítico⁽⁴⁸⁾.

El sitio activo está ubicado en un surco poco profundo entre las dos hojas β , lleva seis residuos clave: His235, His250, Lys290, Thr341, Tyr343 y Ser294, de los cuales, los residuos His235, His250 y Lys290 constituyen la tríada catalítica, mientras que Ser294 y Tyr343 se encargan de la especificidad de NendoU^(48,49).

Nsp16

En su estructura contiene una tétrada catalítica altamente conservada (Lys-Asp-Lys-Glu), distintiva de las ARN 2'-O-MTasas, dentro de un núcleo compuesto por un pliegue de lámina β tipo Rossmann decorado por once hélices α , siete cadenas β y bucles⁽⁵⁰⁾. Además, forma el pliegue del SARS-CoV-2, conformado por una lámina β la cual está encajonada por bucles y hélices α ⁽⁵⁰⁾ (Figura 3).

Proteínas estructurales

Se han identificado cuatro proteínas estructurales en el SARS-CoV-2, las cuales también están presentes en otros coronavirus. Estas son las proteínas Spike(S), Envoltura(E), Membrana(M) y Nucleocápside(N) (Figura 4).

Proteína Spike(S)

Esta proteína tiene un peso molecular de 180 kDa⁽¹⁶⁾. Su estructura contiene las subunidades funcionales S1 y S2, ubicadas en su ectodominio⁽⁵¹⁾.

La subunidad S1 presenta un dominio N-terminal, un dominio C-terminal⁽⁵¹⁾ y un dominio de unión al receptor conservado (RBD) que contiene un núcleo y un motivo de unión al receptor (RBM)⁽⁵¹⁾. Esta subunidad media la unión al receptor ECA 2, donde los residuos de aminoácidos como Lys317 y Phe486 del dominio RBD podrían ser claves para esta interacción^(51,52).

Por otro lado, la sub unidad S2 posee en su estructura un dominio péptido de fusión (FP), dominios de repetición heptad-1 y -2 (HR1, HR2) y un dominio transmembrana (TM), que le permiten la fusión de las membranas viral y celular^(51,52).

La proteína S requiere un clivaje por proteasa para la activación de su potencial de fusión. Se han propuesto dos pasos secuenciales para el modelo de clivaje; un clivaje inicial entre S1 y S2, y la posterior activación de clivaje en el sitio S2⁽⁵³⁾.

Además, presenta una gran superficie mutada, con cuatro insertos nuevos en la proteína; de los cuales, tres se ubican en el primer dominio NTD, mientras que el cuarto se ubica inmediatamente antes del sitio de escisión S2 y dentro de la interfaz de interacción de homo-trimerización⁽¹⁶⁾. Asimismo, el dominio RBD no está afectado por estos insertos, pero es la región más mutada con potenciales alteraciones en su función de unión a ECA2⁽¹⁶⁾.

Proteína de Envoltura(E)

Presenta gran identidad con las secuencias de otros

coronavirus; sin embargo, existen características distintivas como la sustitución de residuos de glutamato, glutamina o aspartato por arginina en la posición y el reemplazo de la diada Ser-Phe por Thr-Val en las posiciones 55-56⁽⁵⁴⁾.

Esta proteína es la más pequeña de las cuatro proteínas estructurales, con 76 aminoácidos de longitud^(55,56). Su estructura posee un extremo amino hidrófilo corto cargado negativamente que consta de 7 a 12 aminoácidos, seguido de un dominio transmembrana hidrófobo (TMD) grande de 25 aminoácidos, y termina con un extremo carboxilo hidrófilo largo de carga variable^(55,56). La región hidrófoba de la TMD contiene una hélice α anfipática que se oligomeriza para formar un poro conductor de iones en las membranas; una parte del TMD consta de dos aminoácidos neutros no polares, Val y Leu, que confieren una fuerte hidrofobicidad a la proteína⁽⁵⁶⁾. El extremo C-terminal también exhibe cierta hidrofobicidad, pero menos que el TMD debido a la presencia de un grupo de aminoácidos básicos cargados positivamente, además contiene un residuo de prolina conservado centrado en un motivo β -coil- β , que probablemente funciona como una señal de dirección hacia el complejo de Golgi⁽⁵⁶⁾.

Proteína de Membrana(M)

Esta glicoproteína integral de membrana es la mayoritaria y proporciona la morfología al virión^(57,58). Posee una longitud de aproximadamente 220-260 aminoácidos con un dominio N-terminal de longitud corta, integrada en la membrana del virus por medio de tres dominios transmembrana etiquetados como tm1, tm2 y tm3⁽⁵⁷⁻⁵⁹⁾. Su extremo terminal amino corto glicosilado constituye un ectodominio fuera de la membrana, mientras su endodominio C-terminal se sitúa en el lado citoplasmático de la membrana del virión^(57,58). El ectodominio puede ser glicosilado, afectando el tropismo de los órganos a infectar y la capacidad inductora de interferón (IFN) de algunos coronavirus^(58,59). Además, presenta la inserción de un residuo de serina en la posición 4 como característica única en el SARS-CoV-2⁽²³⁾.

Durante el ensamblaje, proporciona un andamio para las partículas virales, estabiliza a la proteína N (complejo proteína N - ARN) y al núcleo interno de los viriones; además es necesaria para la retención de la proteína S en el compartimento intermedio ER-Golgi (ERGIC) y su incorporación a nuevos viriones⁽⁵⁷⁾. La coexpresión de M y E forman la envoltura viral, su interacción es suficiente para la producción y liberación de partículas similares a virus (VLP)^(58,59).



Proteína Nucleocápside(N)

Su estructura está conformada por dos dominios bien plegados, conocidos como dominio N-terminal (NTD) y dominio C-terminal (CTD)⁽²⁴⁾, ambos dominios son ricos en cadenas β , pero CTD tiene además algunas hélices cortas⁽²⁴⁾.

Se une directamente al ARN viral y le provee estabilidad⁽⁶⁰⁾. Además, se ha encontrado que antagoniza al ARNi antiviral e inhibe la actividad del complejo ciclina-CDK (cyclin-cyclin-dependent kinase); esta inactivación resulta en la hidrofosforilación de la proteína retinoblastoma y a su vez inhibe la progresión de la fase S en el ciclo celular⁽¹⁸⁾.

Proteínas accesorias

Las proteínas accesorias del SARS-CoV-2 son expresadas por los genes ORF3a, ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9a, ORF9b y ORF10. Varias de estas proteínas tienen funciones aún desconocidas, se sospecha que no intervienen en la replicación viral pero pueden tener roles importantes en la patogénesis viral⁽¹⁸⁾.

PATOGÉNESIS DEL COVID-19

Entrada del virus y unión con receptor ECA2

El SARS-CoV-2 puede ingresar a la célula huésped a través de dos rutas: endocitosis o fusión directa con la superficie celular^(15,51). Para la ruta de endocitosis, el virus es encapsulado por el endosoma después de la unión a su receptor ECA2⁽¹⁵⁾. Luego, el ambiente de pH bajo promueve la escisión de la proteína S con la catepsina L (CPL) de cisteína proteasa dependiente del pH⁽⁵⁰⁾. Por otra parte, en la ruta de fusión directa con la superficie celular, después de la unión del dominio RBD de la subunidad S1 al receptor ECA2, la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2) escinde y activa a la proteína S, en el ectodominio conformado por S1 y S2, que permite la fusión de la membrana viral con la membrana de la célula huésped^(15,51,61).

La activación de la proteína S se realiza en el sitio de escisión S1/S2 también llamado "sitio polibásico" o "sitio multibásico", el cual contiene varios residuos de arginina (Ser-Pro-Arg-Arg-Ala-Arg ↓ Ser)^(15,61). También se necesita un segundo corte en S2' en Lys-Arg ↓ Ser-Phe⁽⁵³⁾, el cual no difiere de otros virus similares al SARS-CoV-2, lo que activa el péptido de fusión (FP) que une las membranas del huésped y el virus, constituyendo la etapa intermedia de

fusión^(53,62,63). Por último, el segmento entre HR1 y HR2 cambia en su conformación, se doblan y forman un heptámero (6-HB) que une ambas membranas facilitando el ingreso del virus⁽⁶¹⁾.

También se tiene conocimiento que otras enzimas pro proteína convertasas, como la furina o tripsina de la célula huésped, reconocen el sitio de escisión S1/S2⁽⁶¹⁾.

Mecanismo de replicación, transcripción y traducción del SARS-CoV-2

Después del ingreso del virus a la célula huésped, por la vía endocítica, se requiere acidificación endosómica, es decir una disminución de pH mediada por lisosomas⁽⁶⁴⁾, permitiendo la unión de la membrana del endosoma con la envoltura viral, liberando su nucleocápside al citoplasma^(64,65).

El ARN del virus en las regiones ORF1a y ORF1b actúa como un ARNm donde se transcribe directamente el gen de la replicasa viral con la maquinaria de la célula huésped, traduciéndose en las poliproteínas PP1a y PP1ab⁽¹⁵⁾. Estas se escinden por las proteasas tipo papaína (PLpro; correspondiente a Nsp3) y tipo 3C (3CLpro o Mpro; correspondiente a Nsp5) para formar las 16 proteínas no estructurales (Nsps)^(15,64).

A continuación, las proteínas no estructurales se reorganizan en vesículas de doble membrana a partir del retículo endoplasmático (RE)⁽⁶⁴⁾, y se ensamblan en la región perinuclear, en el complejo replicasa-transcriptasa (RTC), creando un entorno adecuado para la síntesis de ARN de sentido negativo (-) a través de la replicación y la transcripción, de manera que replica y sintetiza un conjunto de ARNm subgenómicos (sgARN)^(64,65).

Los ARN subgenómicos se sintetizan combinando longitudes variables del extremo 3' del genoma con la secuencia líder 5' necesaria para la traducción. Estos ARN subgenómicos (-) se transcriben en ARNm subgenómicos (+), que codifican a las proteínas estructurales S, M, E, N y las accesorias (hacia el extremo 3')^(64,65).

El ARN genómico viral recién sintetizado se une a la proteína N originando la nucleocápside⁽⁶⁴⁾. Las proteínas S, M, E y las accesorias, expresadas a partir de los sgARN, son sintetizadas en las membranas del RE y luego transportadas al complejo de Golgi para ser ensambladas con la nucleocápside, produciendo nuevas partículas víricas; que por medio del sistema de transporte de vesículas, viajarán hasta la superficie, liberándolo por exocitosis^(64,65) (Figura 5).

Como ya se mencionó anteriormente, el SARS-CoV-2 utiliza como receptor a la ECA2, la cual está expresada en diferentes células del sistema vascular, sistema nervioso central, ojos, vías aéreas superiores, corazón, pulmones e intestino; siendo más vulnerables los últimos tres⁽⁶⁶⁾ (Figura 6).

ESTUDIOS IN SILICO DE POSIBLES TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS

La expresión in silico se utiliza para caracterizar aquellos estudios que son completamente ejecutados utilizando modelos de computadora. Significa que el entorno y el comportamiento del objeto de estudio bajo este medio están representados por modelos que simulan sus características relevantes a través de ingeniería de software. La ventaja de estos estudios es la rapidez de ejecución, el bajo costo y la capacidad de reducir el uso de animales; por ello, su uso ha sido una estrategia para acelerar el descubrimiento de nuevos fármacos potenciales como los que se describen en esta sección⁽⁶⁷⁾. El diseño de prototipos de fármacos in silico, en los estudios citados en este artículo, abarca principalmente la relación estructura-actividad, en este caso entre las proteínas del SARS-CoV-2 y las moléculas de los fármacos⁽⁶⁷⁾.

Las proteínas como unidades funcionales de la célula representan un sitio principal de acción farmacológica y xenobiótica⁽⁶⁸⁾. Por lo tanto, caracterizar las proteínas objetivo es fundamental para conocer el mecanismo de acción de los fármacos y los xenobióticos. El acoplamiento de sustratos en el sitio activo de una proteína de estructura conocida o modelada se puede utilizar para explicar las interacciones proteína-sustrato y posiblemente predecir las sustancias químicas que interactuarán con las proteínas⁽⁶⁹⁾.

Comprender cómo los diferentes aminoácidos interactúan con los sustratos (ligando, proteína,

fármaco, etc.) es crucial para explicar la conformación y la afinidad de las interacciones proteína-ligando. Esta técnica, también conocida como diseño de fármacos basado en la estructura, utiliza datos de estructura de proteínas 3D existentes para predecir las interacciones proteína-ligando utilizando softwares de acoplamiento (Docking) de ligando asistido por computadora⁽⁶⁹⁾. El Docking usa una función de puntuación basada en la energía, las puntuaciones de energía más bajas representan mejores enlaces proteína-ligando en comparación con los valores de energía más altos⁽⁷⁰⁾. La función de puntuación se define por la suma de la energía de interacción ligando-proteína la energía interna del ligando⁽⁷⁰⁾.

Las moléculas que se han encontrado en los diversos estudios in silico realizados se han dividido en dos grupos: aquellas que son medicamentos aprobados para el uso humano que se intentan repositar para tratar el SARS-CoV-2⁽⁷¹⁻⁷³⁾ (Tabla 1) y aquellas de origen vegetal⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾ (Tabla 2).

CONCLUSIÓN

Las Nsps participan en el ciclo viral del virus y favorecen su infección; mientras que las proteínas estructurales median la unión y fusión del virus a la célula huésped, así como su ensamblaje; hasta el momento se desconoce las funciones de las proteínas accesorias. La activación de la proteína S por TMPRSS2, furina, tripsina o catepsinas permite el ingreso del SARS-CoV-2 a la célula huésped; en donde su ARN viral traduce las proteínas del complejo replicasa-transcriptasa, el cual inicia la síntesis de un molde para los ARN genómicos nuevos, quienes traducen las proteínas estructurales. Estudios in silico de muchas moléculas re propositadas y de origen vegetal han mostrado su acción inhibitoria en las proteínas Nsp3, Nsp5, N, M y E del SARS-CoV-2.

**Tabla 1.** Porcentaje de identidad entre proteínas de SARS-CoV-2 y SARS-CoV.

Proteína	% Identidad con SARS-CoV
Nsp1	86%
Nsp2	<70%
Nsp3	76%
Nsp4	80%
Nsp5	97%
Nsp6	88%
Nsp7	67%
Nsp8	85%
Nsp9	97%
Nsp10	99%
Nsp12	97%
Nsp13	100%
Nsp14	95%
Nsp15	88%
Nsp16	94%
Spike	75%
Envoltura	89%
Membrana	90,50%
Nucleocápside	90,52%

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Tabla 2. Medicamentos aprobados para el uso humano que se intentan repositar para tratar el SARS-CoV-2.

Autor, Año, Número de Referencia	Molécula	Efecto esperado en la estructura del SARS-CoV-2	Resultado esperado	Uso común en medicina
Sarma, P; et al. 2020 ⁽⁷¹⁾	8- (2-hidroxi)etil aminofilina	Unión al dominio N-terminal de la proteína N	Inhibición de la replicación	Broncodilatador
Sarma, P; et al. 2020 ⁽⁷¹⁾	etil (4S) -4-metil-2-oxo-6 - [(1S) -1-feniletíl] -3,4-dihidro-1H-pirimidina-5-carboxilato	Unión al dominio N-terminal de la proteína N	Inhibición de la replicación	Antiviral
Lobo-Galo, N; et al. 2020 ⁽⁷²⁾	Disulfiram	Inhibición de la proteasa viral	Inhibición de la replicación	Alcoholismo
Mahanta, S; et al. 2020 ⁽⁷³⁾	Viomycin	Atacar en el sitio activo de la Mpro	Inhibición de la replicación	Tuberculosis

Tabla 3. Moléculas de origen natural aptas para el uso humano para tratamiento contra COVID-19.

Autor, Año, Número de Referencia	Molécula	Efecto esperado en la estructura del SARS-CoV-2	Resultado	Fuente de obtención
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	Nimbolin A	Inhibición de los canales iónicos de la proteína E e interactúa principalmente con el dominio transmembrana de la proteína M	Previene la propagación del virus	Azadirachta indica (Neem)
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	Nimocin	Inhibición de los canales iónicos de la proteína E e interactúa principalmente con el dominio transmembrana de la proteína M	Pueden dificultar el ensamblaje del virus	Azadirachta indica (Neem)
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	7-Deacetyl-7-Benzoylgedunin	Inhibición de los canales iónicos de la proteína E	Previene la propagación del virus	Azadirachta indica (Neem)
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	24-Methylenecycloartanol	Inhibición de los canales iónicos de la proteína E	Previene la propagación del virus	Azadirachta indica (Neem)
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	Cycloeucalenone	Inhibición de los canales iónicos de la proteína E	Previene la propagación del virus	Azadirachta indica (Neem)
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	Phytosterol	Interactúan con la región C-terminal, principalmente con el dominio conservado CD de la proteína M	Pueden dificultar el ensamblaje del virus	Azadirachta indica (Neem)
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	Beta-Amyrin	Interactúan con la región C-terminal, principalmente con el dominio conservado CD de la proteínas M	Pueden dificultar el ensamblaje del virus	Azadirachta indica (Neem)
Borkotoky, S; et al. 2020 ⁽⁷⁴⁾	24-Methylenecycloartan-3-one	Interactúan con la región C-terminal, principalmente con el dominio conservado CD de la proteína M	Pueden dificultar el ensamblaje del virus	Azadirachta indica (Neem)
Bhardwaj, VK; et al. 2020 ⁽⁷⁵⁾	Oolonghomobisflavan-A	Interactúan con el sitio activo de la Mpro uniéndose a residuos críticos.	Inhibición de la replicación	Planta de té
Bhardwaj, VK; et al. 2020 ⁽⁷⁵⁾	Theasinensin-D	Interactúan con el sitio activo de la Mpro uniéndose a residuos críticos.	Inhibición de la replicación	Planta de té
Bhardwaj, VK; et al. 2020 ⁽⁷⁵⁾	Theaflavin-3-O-gallate	Interactúan con el sitio activo de la Mpro uniéndose a residuos críticos	Inhibición de la replicación	Planta de té
Enmozhi, SK; et al. 2020 ⁽⁷⁶⁾	Andrographolide	Interactúa en el sitio de unión de la Mpro	Inhibición de la replicación	Andrographis paniculata

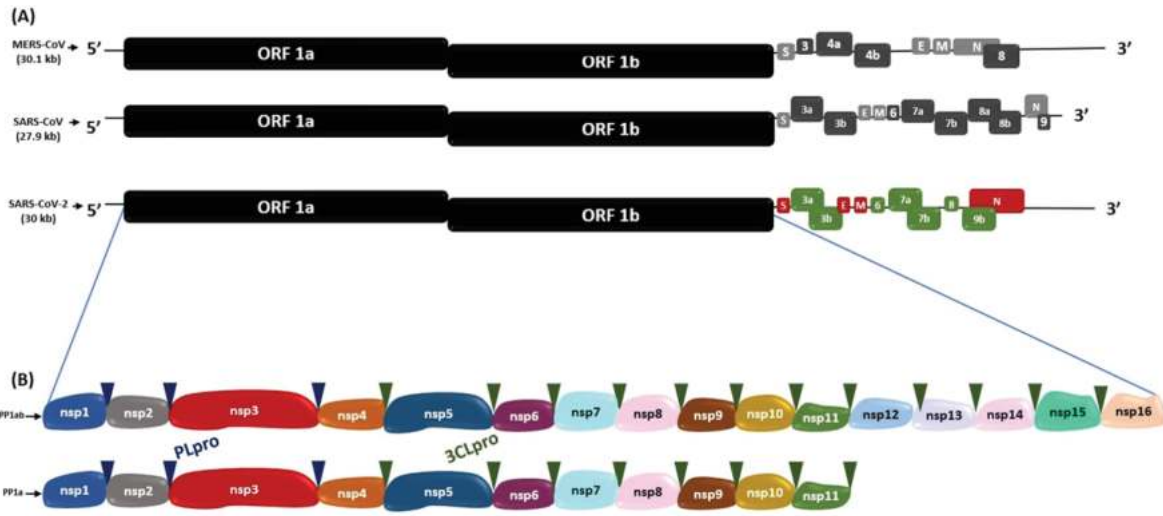


Figura 1. Secuencias genómicas de SARS-CoV-2, MERS-CoV y SARS-CoV. (A) Comparación de secuencia genómica de SARS-CoV-2 con MERS-CoV y SARS-CoV. (B) Poliproteína 1ab (PP1ab) y poliproteína 1a (PP1a) codificadas por ORF 1a y ORF 1b, con sus respectivas proteínas no estructurales (Nsps). Los triángulos azul y verde indican los sitios de escisión de la proteasa PLpro y 3CLpro, respectivamente.

ARTÍCULO DE REVISIÓN

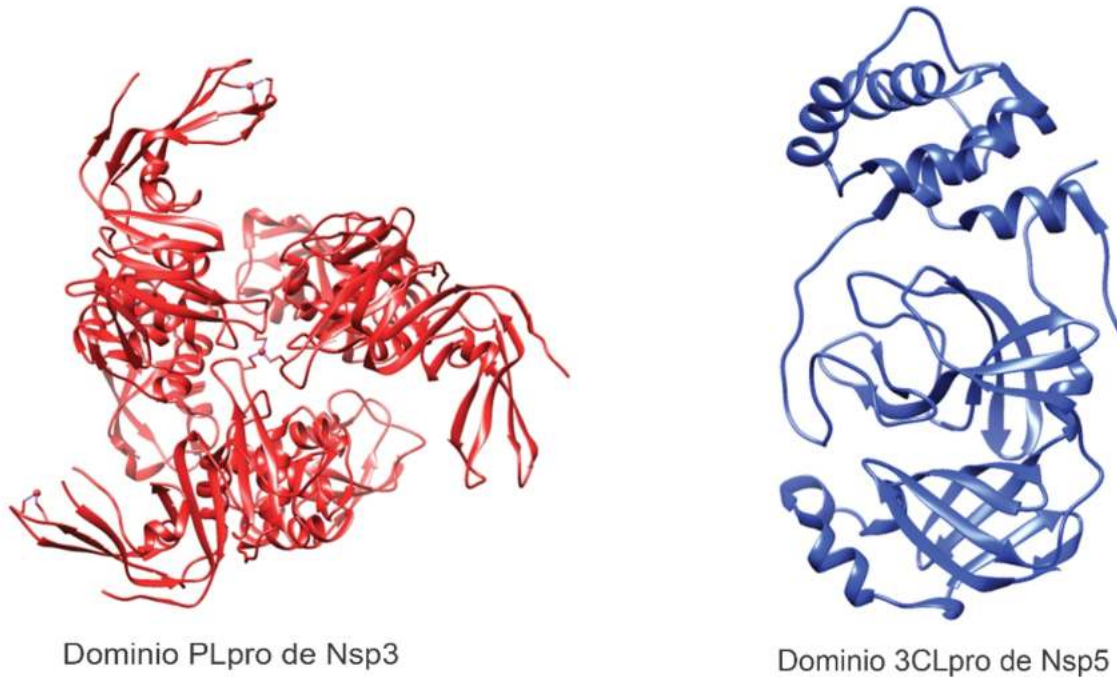


Figura 2. Estructura tridimensional de proteasas del SARS-CoV-2. Dominio PLpro (papain-like protease) de Nsp3 (PDB: 6W9C) y Nsp5 (PDB: 6Y2E) con su dominio 3CLpro (3-chymotrypsin-like protease). Elaborado con UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. J Comput Chem. 2004 Oct;25(13):1605-12.

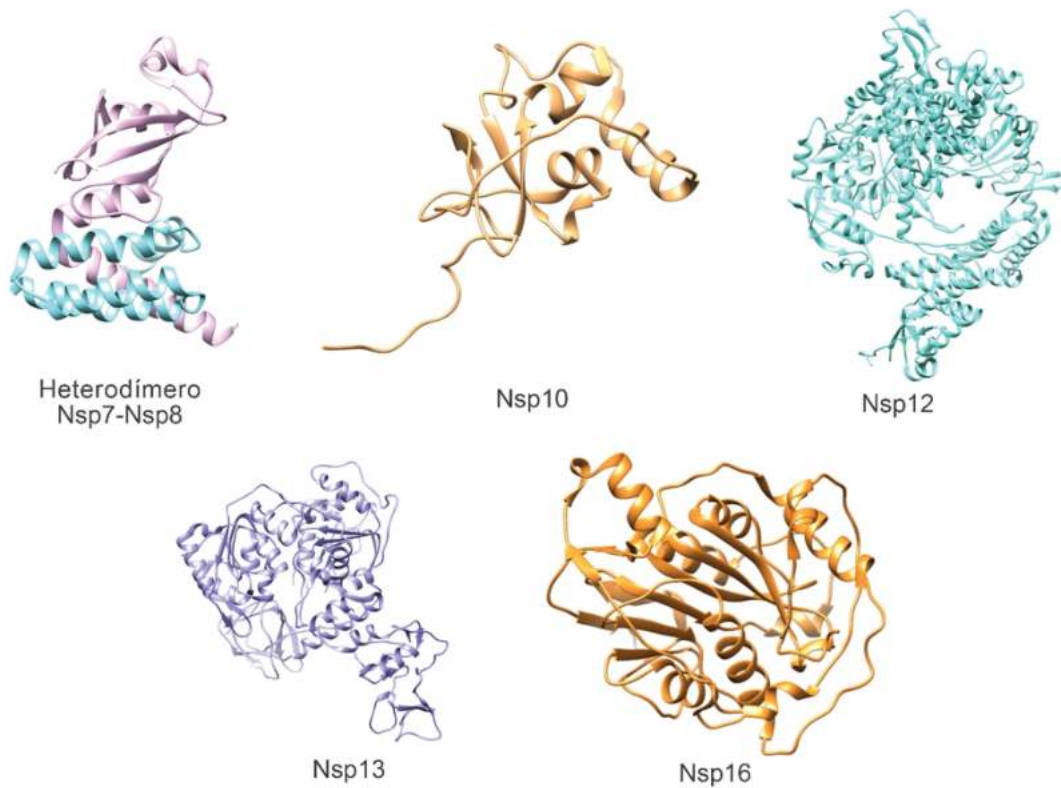


Figura 3. Estructura tridimensional de proteínas del complejo replicasa-transcriptasa del SARS-CoV-2. Heterodímero Nsp7-Nsp8 (Nsp7 de color turquesa, Nsp8 de color magenta) (PDB: 7JLT), Nsp10 (PDB: 6W75), Nsp12 (PDB: 7BW4), Nsp13 (PDB: 6ZSL) y Nsp16 (PDB: 6W75). Elaborado con UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem.* 2004 Oct;25(13):1605-12.

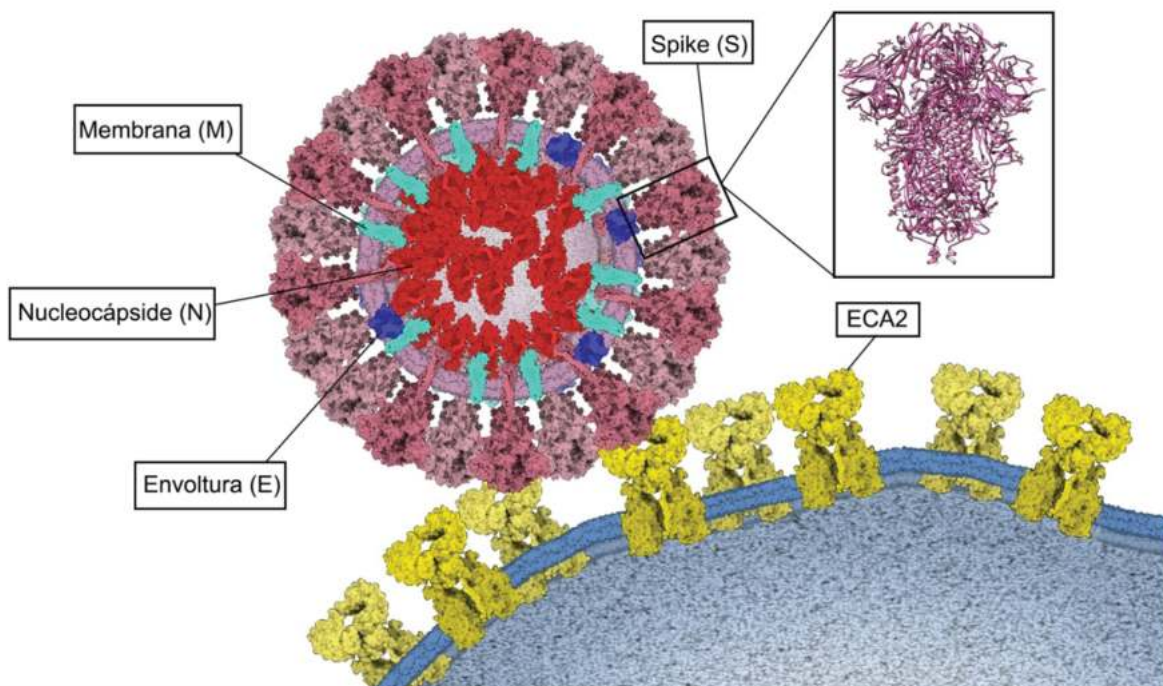
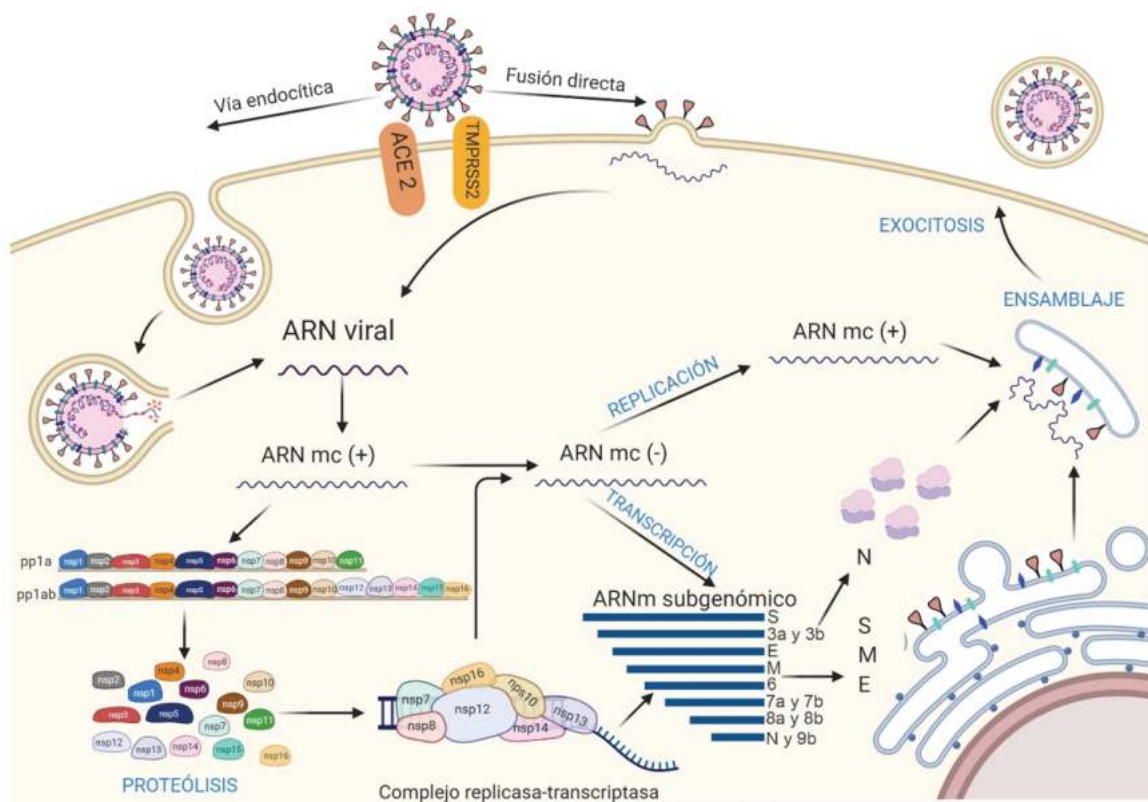


Figura 4. Unión del SARS-CoV-2 a ECA2. Proteínas estructurales Spike (S) de color rosado, Membrana (M) de color turquesa, Envoltura (E) de color azul y Nucleocápside (N) de color rojo. Estructura tridimensional de la proteína Spike (PDB: 6VXX) y su unión a ECA2 (color amarillo) en la membrana de la célula huésped. Elaborado con Gardner A, Autin L, Barbaro BA, Olson AJ, Goodsell DS. *CellPAINT: Interactive Illustration of Dynamic Mesoscale Cellular Environments.* *IEEE Comput Graph Appl.* 2018;38(6):51-66.



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Figura 5. Mecanismo de interacción y patogénesis del SARS-CoV-2. Entrada del SARS-CoV-2 a través de 2 vías: endocitosis (a la izquierda) y fusión directa (a la derecha). El ARN genómico ingresa a la célula y el ARN monocatenario en sentido positivo (ARN mc +) se traduce en las poliproteínas pp1a y pp1ab a partir de las regiones ORF 1a y ORF 1ab. Posteriormente, un proceso de autoclivaje por 3CLpro y Mpro, dará lugar a las 16 proteínas no estructurales (Nsps), que formarán el complejo replicasa transcriptasa (RTC), que producirá ARN monocatenario de polaridad negativa a partir de la cadena positiva; que se asociará con la proteína de nucleocápside. Por otra parte, el complejo RTC, sintetizará ARN subgenómico (ARN sg) que codificarán las proteínas S, M y E, ensambladas en retículo endoplasmático antes de ser transportadas al compartimiento RE-Golgi, donde se asociará con el nuevo ARN genómico y la proteína N. Finalmente se exportará en forma de vesículas para la posterior liberación del nuevo virus. Elaborado con <https://biorender.com/>

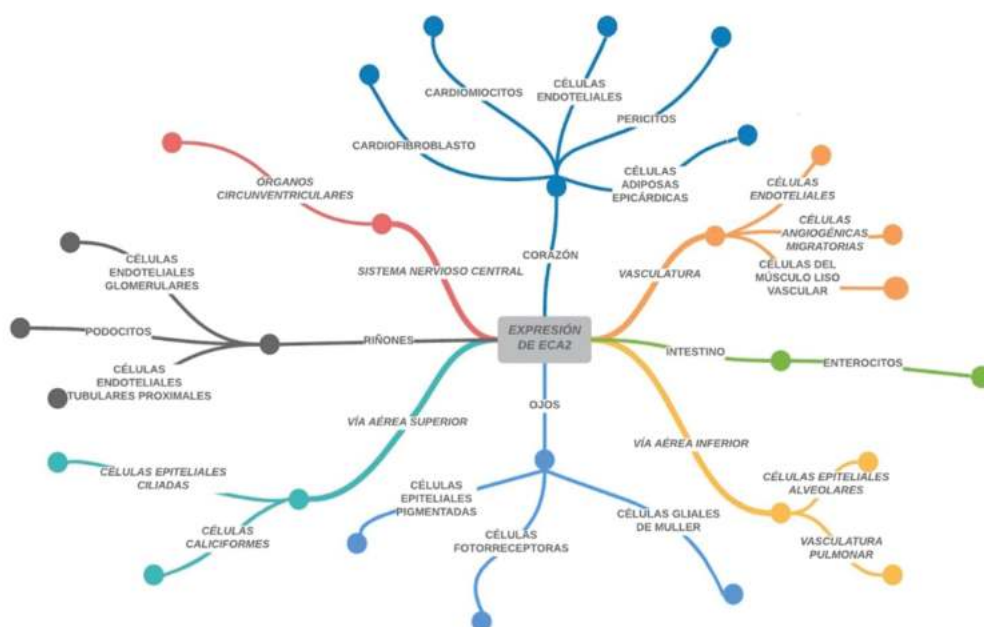


Figura 6. Expresión del ECA2 en diferentes células del ser humano.



Agradecimientos: Los gráficos moleculares de las Figuras 2 y 3 se elaboraron con UCSF Chimera, desarrollado por the Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics de la Universidad de California, San Francisco, con el apoyo de NIH P41-GM103311.

Contribuciones de autoría: Los autores participaron en la génesis de la idea, diseño de proyecto, recolección e interpretación de datos, análisis de

resultados y preparación del manuscrito del presente trabajo de investigación.

Financiamiento: Autofinanciado.

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Recibido: 14 de octubre del 2020

Aprobado: 07 de enero del 2021

Correspondencia: Eduardo Rubén Lam Cabanillas.

Dirección: ProL. Costa Rica Mz R' Lote 7 Dpto. 102, Urb. Monserrate Trujillo-Perú

Teléfono: 953015443

Correo: elam@unitru.edu.pe

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wu JT, Leung K, Leung GM. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study. *The Lancet* [Internet]. 29 de febrero de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];395(10225):689-97. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30260-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30260-9)
2. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet]. [citado 4 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://covid19.who.int>
3. PAHO COVID-19 RESPONSE [Internet]. [citado 4 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://paho-covid19-response-who.hub.arcgis.com/>
4. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* [Internet]. 20 de febrero de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];382(8):727-33. DOI: <https://dx.doi.org/10.1056%2FNEJMoa2001017>
5. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* [Internet]. 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];395(10224):565-74. DOI: [https://dx.doi.org/10.1016%2FS0140-6736\(20\)30251-8](https://dx.doi.org/10.1016%2FS0140-6736(20)30251-8)
6. Tilocca B, Soggiu A, Musella V, Britti D, Sanguinetti M, Urbani A, et al. Molecular basis of COVID-19 relationships in different species: a one health perspective. *Microbes Infect* [Internet]. 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];22(4):218-20. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.micinf.2020.03.002>
7. Rabaan A, Al-Ahmed S, Haque S, Sah R, Tiwari R, Singh Y, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: comparative overview. *InfezMed*. 2020; 28(2): 174-184. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32275259/>
8. WHO discontinues hydroxychloroquine and lopinavir/ritonavir treatment arms for COVID-19 [Internet]. [citado 6 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/detail/04-07-2020-who-discontinues-hydroxychloroquine-and-lopinavir-ritonavir-treatment-arms-for-covid-19>
9. Frediansyah A, Nainu F, Dhama K, Mudatsir M, Harapan H. Remdesivir and its antiviral activity against COVID-19: A systematic review. *Clin Epidemiol Glob Health* [Internet]. 7 de agosto de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020]; DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.cegh.2020.07.011>
10. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res*. 1 de enero de 2000;28(1):235-42. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
11. Waterhouse AM, Procter JB, Martin DMA, Clamp M, Barton GJ. Jalview Version 2—a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics*. 1 de mayo de 2009;25(9):1189-91. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>
12. Petterson EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. octubre de 2004;25(13):1605-12. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
13. Gardner A, Autin L, Barbaro BA, Olson AJ, Goodsell DS. CellPAINT: Interactive Illustration of Dynamic Mesoscale Cellular Environments. *IEEE Comput Graph Appl*. 2018;38(6):51-66.
14. BioRender [Internet]. BioRender. [citado 22 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://biorender.com/>
15. Pastrian-Soto G, Pastrian-Soto G. Genetic and Molecular Basis of COVID-19 (SARS-CoV-2) Mechanisms of Pathogenesis and Immune. *International journal of odontostomatology* [Internet]. septiembre de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];14(3):331-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000300331>
16. Srinivasan S, Cui H, Gao Z, Liu M, Lu S, Mkandawire W, et al. Structural Genomics of SARS-CoV-2 Indicates Evolutionary Conserved Functional Regions of Viral Proteins. *Viruses* [Internet]. 25 de marzo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];12(4). DOI: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fv12040360>
17. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host & Microbe* [Internet]. 11 de marzo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];27(3):325-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.02.001>
18. Yoshimoto FK. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J* [Internet]. 23 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];1-19. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs10930-020-09901-4>
19. Davies J, Almasy K, McDonald E, Plate L. Comparative multiplexed interactomics of SARS-CoV-2 and homologous coronavirus non-structural proteins identifies unique and shared host-cell dependencies. *BioRxiv* [Internet]. 15 de julio de 2020 [citado el 6 de setiembre de 2020] 2020.07.13.201517. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.07.13.201517>
20. Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, et al. Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *bioRxiv* [Internet]. 10 de marzo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];2020.02.26.964882. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.02.26.964882>
21. Bello-Perez M, Sola I, Novoa B, Klionsky DJ, Falco A. Canonical and Noncanonical Autophagy as Potential Targets for COVID-19. *Cells* [Internet]. 5 de julio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];9(7). DOI: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fcells9071619>
22. Littler DR, Gully BS, Colson RN, Rossjohn J. Crystal Structure of the SARS-CoV-2 Non-structural Protein 9, Nsp9. *iScience* [Internet]. 24 de julio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];23(7):101258. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.isci.2020.101258>
23. Hasan S, Hossain MM. Analysis of COVID-19 M Protein for Possible Clues Regarding Virion Stability, Longevity and Spreading [Internet]. *Open Science Framework*; 2020 mar [citado 6 de septiembre de 2020]. DOI: <https://doi.org/10.31219/osf.io/e7jkc>



24. Zeng W, Liu G, Ma H, Zhao D, Yang Y, Liu M, et al. Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 30 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];527(3):618-23. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.bbrc.2020.04.136>
25. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* [Internet]. abril de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];92(4):418-23. DOI: <https://dx.doi.org/10.1002%2Fjmv.25681>
26. Chaudhuri A. Comparative analysis of non structural protein 1 of SARS-COV2 with SARS-COV1 and MERS-COV: An in silico study. *bioRxiv* [Internet]. 10 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];2020.06.09.142570. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.06.09.142570>
27. Narayanan K, Ramirez SI, Lokugamage KG, Makino S. Coronavirus nonstructural protein 1: Common and distinct functions in the regulation of host and viral gene expression. *Virus Res* [Internet]. 16 de abril de 2015 [citado 6 de septiembre de 2020];202:89-100. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virusres.2014.11.019>
28. Angeletti S, Benvenuto D, Bianchi M, Giovanetti M, Pascarella S, Ciccozzi M. COVID-19: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis. *Journal of Medical Virology* [Internet]. 1 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];92(6). DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.25719>
29. Claverie JM. A Putative Role of de-Mono-ADP-Ribosylation of STAT1 by the SARS-CoV-2 Nsp3 Protein in the Cytokine Storm Syndrome of COVID-19. *Viruses* [Internet]. 15 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];12(6). DOI: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fv12060646>
30. Lei J, Kusov Y, Hilgenfeld R. Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Res* [Internet]. enero de 2018 [citado 6 de septiembre de 2020];149:58-74. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.antiviral.2017.11.001>
31. Báez-Santos YM, St. John SE, Mesecar AD. The SARS-coronavirus papain-like protease: Structure, function and inhibition by designed antiviral compounds. *Antiviral Res* [Internet]. marzo de 2015 [citado 6 de septiembre de 2020];115:21-38. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.antiviral.2014.12.015>
32. Karmakar S, Kumar S, Katiyar V. Comparative Domain-Fold Analysis of the SARS-CoV-2 ORF1ab Polyprotein: Insight into Co-Evolution, Conservation of Folding Patterns, Potential Therapeutic Strategies, and the Possibility of Reemergence. 16 de abril de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020]; DOI: 10.20944/preprints202004.0286.v1
33. Sakai Y, Kawachi K, Terada Y, Omori H, Matsuura Y, Kamitani W. Two-amino acids change in the nsp4 of SARS coronavirus abolishes viral replication. *Virology* [Internet]. octubre de 2017 [citado 6 de septiembre de 2020];510:165-74. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virol.2017.07.019>
34. Bafna K, Krug RM, Montelione GT. Structural Similarity of SARS-CoV2 Mpro and HCV NS3/4A Proteases Suggests New Approaches for Identifying Existing Drugs Useful as COVID-19 Therapeutics. *ChemRxiv* [Internet]. 21 de abril de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020]; DOI: <https://dx.doi.org/10.26434%2Fchemrxiv.12153615>
35. Gupta S, Singh AK, Kushwaha PP, Prajapati KS, Shuaib M, Senapati S, et al. Identification of potential natural inhibitors of SARS-CoV2 main protease by molecular docking and simulation studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* [Internet]. 1 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];0(0):1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1776157>
36. Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharmaceutica Sinica B* [Internet]. 1 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];10(5):766-88. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.02.008>
37. Benvenuto D, Angeletti S, Giovanetti M, Bianchi M, Pascarella S, Cauda R, et al. Evolutionary analysis of SARS-CoV-2: how mutation of Non-Structural Protein 6 (NSP6) could affect viral autophagy. *Journal of Infection* [Internet]. 1 de julio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];81(1):e24-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.058>
38. Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. Chapter Three - The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. En: Ziebuhr J, editor. *Advances in Virus Research* [Internet]. Academic Press; 2016 [citado 6 de septiembre de 2020]. p. 59-126. (Coronaviruses; vol. 96). DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.008>
39. Hillen HS, Kokic G, Farnung L, Dienemann C, Tegunov D, Cramer P. Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase. *Nature* [Internet]. agosto de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];584(7819):154-6. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2368-8>
40. Peng Q, Peng R, Yuan B, Zhao J, Wang M, Wang X, et al. Structural and Biochemical Characterization of the nsp12-nsp7-nsp8 Core Polymerase Complex from SARS-CoV-2. *Cell Reports* [Internet]. 16 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];31(11):107774. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107774>
41. Miknis ZJ, Donaldson EF, Umland TC, Rimmer RA, Baric RS, Schultz LW. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus nsp9 Dimerization Is Essential for Efficient Viral Growth. *J Virol* [Internet]. abril de 2009 [citado 6 de septiembre de 2020];83(7):3007-18. DOI: <https://dx.doi.org/10.1128%2FJVI.01505-08>
42. Rosas-Lemus M, Minasov G, Shuvalova L, Inniss NL, Kiryukhina O, Wiersum G, et al. The crystal structure of nsp10-nsp16 heterodimer from SARS-CoV-2 in complex with S-adenosylmethionine. *bioRxiv* [Internet]. 26 de abril de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];2020.04.17.047498. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.047498>
43. Romano M, Ruggiero A, Squeglia F, Maga G, Berisio R. A Structural View of SARS-CoV-2 RNA Replication Machinery: RNA Synthesis, Proofreading and Final Capping. *Cells* [Internet]. 20 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];9(5). DOI: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fcells9051267>
44. Yin W, Mao C, Luan X, Shen D-D, Shen Q, Su H, et al. Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. *Science* [Internet]. 26 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];368(6498):1499-1504. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abc1560>
45. Gurung AB. In silico structure modelling of SARS-CoV-2 Nsp13 helicase and Nsp14 and repurposing of FDA approved antiviral drugs as dual inhibitors. *Gene Rep* [Internet]. diciembre de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];21:100860. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.genrep.2020.100860>
46. Jang KJ, Jeong S, Kang DY, Sp N, Yang YM, Kim D-E. A high ATP concentration enhances the cooperative translocation of the SARS coronavirus helicase nsp13 in the unwinding of duplex RNA. *Sci Rep* [Internet]. 11 de marzo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];10. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038%2F41598-020-61432-1>
47. Ma Y, Wu L, Shaw N, Gao Y, Wang J, Sun Y, et al. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 28 de julio de 2015 [citado 6 de septiembre de 2020];112(30):9436-41. DOI: <https://dx.doi.org/10.1073%2Fpnas.1508686112>
48. Kim Y, Jedrzejczak R, Maltseva NI, Wilamowski M, Endres M, Godzik A, et al. Crystal structure of Nsp15 endoribonuclease NendoU from SARS-CoV-2. *Protein Science* [Internet]. 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];29(7):1596-605. DOI: <https://doi.org/10.1002/pro.3873>
49. Zhang L, Li L, Yan L, Ming Z, Jia Z, Lou Z, et al. Structural and Biochemical Characterization of Endoribonuclease Nsp15 Encoded by Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *Journal of Virology* [Internet]. 15 de noviembre de 2018 [citado 6 de septiembre de 2020];92(22). DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00893-18>
50. Menachery VD, Debbink K, Baric RS. Coronavirus non-structural protein 16: Evasion, attenuation, and possible treatments. *Virus Res* [Internet]. 19 de diciembre de 2014 [citado 6 de septiembre de 2020];194:191-9. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virusres.2014.09.009>
51. Wang X, Xia S, Wang Q, Xu W, Li W, Lu L, et al. Broad-Spectrum Coronavirus Fusion Inhibitors to Combat COVID-19 and Other Emerging Coronavirus Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. enero de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];21(11):3843. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21113843>
52. Wędrowska E, Wandtke T, Senderek T, Piskorska E, Kosiński P. Coronaviruses fusion with the membrane and entry to the host cell. *Ann Agric Environ Med* [Internet]. 19 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];27(2):175-83. DOI: <https://doi.org/10.26444/aaem/122079>
53. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* [Internet]. 16 de abril de 2020 [citado 6 de septiembre



- de 2020];181(2):281-292.e6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
54. Bianchi M, Benvenuto D, Giovanetti M, Angeletti S, Ciccozzi M, Pascarella S. Sars-CoV-2 Envelope and Membrane Proteins: Structural Differences Linked to Virus Characteristics? *Biomed Res Int* [Internet]. 30 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1155%2F2020%2F4389089>
55. Hassan SkS, Choudhury PP, Roy B. SARS-CoV2 envelope protein: non-synonymous mutations and its consequences. *Genomics* [Internet]. noviembre de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];112(6):3890-2. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.ygeno.2020.07.001>
56. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology Journal* [Internet]. 27 de mayo de 2019 [citado 6 de septiembre de 2020];16(1):69. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>
57. Malik YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *Malays J Pathol*. 2020;42(1):3-11. Disponible en: <http://www.mjpath.org.my/2020/v42n1/properties-of-coronavirus.pdf>
58. Satarker S, Nampoothiri M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Arch Med Res* [Internet]. 25 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020]. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.arcmed.2020.05.012>
59. INFORME SARS COV-2 – Argentina [Internet]. FIBA Fundación para Investigaciones Biológicas Aplicadas. 2020 [citado 6 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://fibamp.wordpress.com/2020/03/23/informe-sars-cov-2-argentina/>
60. Chang C, Hou M-H, Chang C-F, Hsiao C-D, Huang T. The SARS coronavirus nucleocapsid protein – Forms and functions. *Antiviral Res* [Internet]. marzo de 2014 [citado 6 de septiembre de 2020];103:39-50. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.antiviral.2013.12.009>
61. Hwang SS, Lim J, Yu Z, Kong P, Sefik E, Xu H, et al. mRNA destabilization by BTG1 and BTG2 maintains T cell quiescence. *Science* [Internet]. 13 de marzo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];367(6483):1255-60. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aax0194>
62. Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res* [Internet]. abril de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];176:104742. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.antiviral.2020.104742>
63. Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR. Proteolytic Cleavage of the SARS-CoV-2 Spike Protein and the Role of the Novel S1/S2 Site. *iScience* [Internet]. 26 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];23(6). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101212>
64. De Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. agosto de 2016 [citado 6 de septiembre de 2020];14(8):523-34. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>
65. Tang T, Bidon M, Jaimes JA, Whittaker GR, Daniel S. Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. *Antiviral Res* [Internet]. junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];178:104792. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.antiviral.2020.104792>
66. Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, Nguyen Q, Zhong J-C, Turner AJ, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System. *Circ Res* [Internet]. 8 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];126(10). DOI: <https://dx.doi.org/10.1161%2FCIRCRESAHA.120.317015>
67. Andrade EL, Bento AF, Cavalli J, Oliveira SK, Freitas CS, Marcon R, et al. Non-clinical studies required for new drug development - Part I: early in silico and in vitro studies, new target discovery and validation, proof of principles and robustness of animal studies. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* [Internet]. 2016 [citado 9 de septiembre de 2020];49(11). DOI: <https://doi.org/10.1590/1414-431x20165644>
68. Wiederstein M, Sippl MJ. ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 1 de julio de 2007 [citado 10 de septiembre de 2020];35(suppl_2):W407-10. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkm290>
69. Fielden MR, Matthews JB, Fertuck KC, Halgren RG, Zacharewski TR. In Silico Approaches to Mechanistic and Predictive Toxicology: An Introduction to Bioinformatics for Toxicologists. *Critical Reviews in Toxicology* [Internet]. 1 de enero de 2002 [citado 9 de septiembre de 2020];32(2):67-112. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/20024091064183>
70. Mutlu O. In silico molecular modeling and docking studies on the leishmanial trypanredoxin peroxidase. *Brazilian Archives of Biology and Technology* [Internet]. abril de 2014 [citado 10 de septiembre de 2020];57(2):244-52. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132014000200013>
71. Sarma P, Shekhar N, Prajapat M, Avti P, Kaur H, Kumar S, et al. In-silico homology assisted identification of inhibitor of RNA binding against 2019-nCoV N-protein (N terminal domain). *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 18 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];1-9. DOI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7256351/>
72. Lobo-Galo N, Terrazas-López M, Martínez-Martínez A, Díaz-Sánchez ÁG. FDA-approved thiol-reacting drugs that potentially bind into the SARS-CoV-2 main protease, essential for viral replication. *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 14 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];1-9. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080%2F07391102.2020.1764393>
73. Mahanta S, Chowdhury P, Gogoi N, Goswami N, Borah D, Kumar R, et al. Potential anti-viral activity of approved repurposed drug against main protease of SARS-CoV-2: an in silico based approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* [Internet]. 14 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];0(0):1-10. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1768902>
74. Borkotoky S, Banerjee M. A computational prediction of SARS-CoV-2 structural protein inhibitors from *Azadirachta indica* (Neem). *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 11 de junio de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];1-11. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080%2F07391102.2020.1774419>
75. Bhardwaj VK, Singh R, Sharma J, Rajendran V, Purohit R, Kumar S. Identification of bioactive molecules from tea plant as SARS-CoV-2 main protease inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* [Internet]. 13 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];0(0):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1766572>
76. Enmozhi SK, Raja K, Sebastine I, Joseph J. Andrographolide as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease: an in silico approach. *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 5 de mayo de 2020 [citado 6 de septiembre de 2020];1-7. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080%2F07391102.2020.1760136>