Stratégies en thérapeutique antivirale contre le SARS-CoV-2

Veille bibliographique du 27 mai 2020

Jérôme Bouchet, PhD. MCF Laboratoire EA 2496 Pathologies Orofaciales, Imagerie et Biothérapies Faculté de chirurgie dentaire Université de Paris.

Introduction

Les coronavirus humains, découverts dans les années 60, font partie de la famille des *Coronaviridae*, de l'ordre des *Nidovirales* (McIntosh *et al*, 1967). Il s'agit de virus enveloppés à ARN simple brin de polarité positive, non segmenté (groupe IV de la classification de Baltimore (Baltimore, 1971)). Leur génome approche les 30000 nucléotides (Woo *et al*, 2010). Les réservoirs naturels de la plupart des coronavirus pathogènes pour l'homme seraient les chauve-souris (Cui *et al*, 2019; Ji *et al*, 2020). Parmi les *Coronaviridae*, la sous-famille des *Orthocoronavirinae* regroupe en particulier les genres Alpha- et Betacoronavirus, chez lesquels 7 souches de coronavirus sont connues pour infecter l'homme. Entre ces souches, 4 sont considérées comme responsables d'infections respiratoires largement bénignes telles que le rhume (HCoV 229E, OC43, NL63 et HKU1) et 3 souches, identifiées plus récemment peuvent provoquer le développement de graves pneumopathies, éventuellement létales. Le SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*), et le MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) ont été découverts en 2002 et en 2012 et ont provoqué l'apparition de nouvelles épidémies présentant des taux de mortalité élevés (10 à 35%, respectivement). Fin 2019, est apparu en Chine un nouveau Coronavirus, le SARS-CoV-2, nommé ainsi pour sa similitude avec le SARS-CoV, et responsable du COVID-19 (Wu *et al*, 2020). L'apparition de ce virus a rapidement entraîné le développement d'une épidémie qui a explosé en pandémie en l'espace de quelques mois (Wang *et al*, 2020a). Depuis le début de l'épidémie, de nombreux essais cliniques ciblant le Covid-19 ont été initiés à travers le monde https://covid-trials.org. Les principales stratégies ciblant le cycle viral sont regroupées dans cette étude bibliographique.

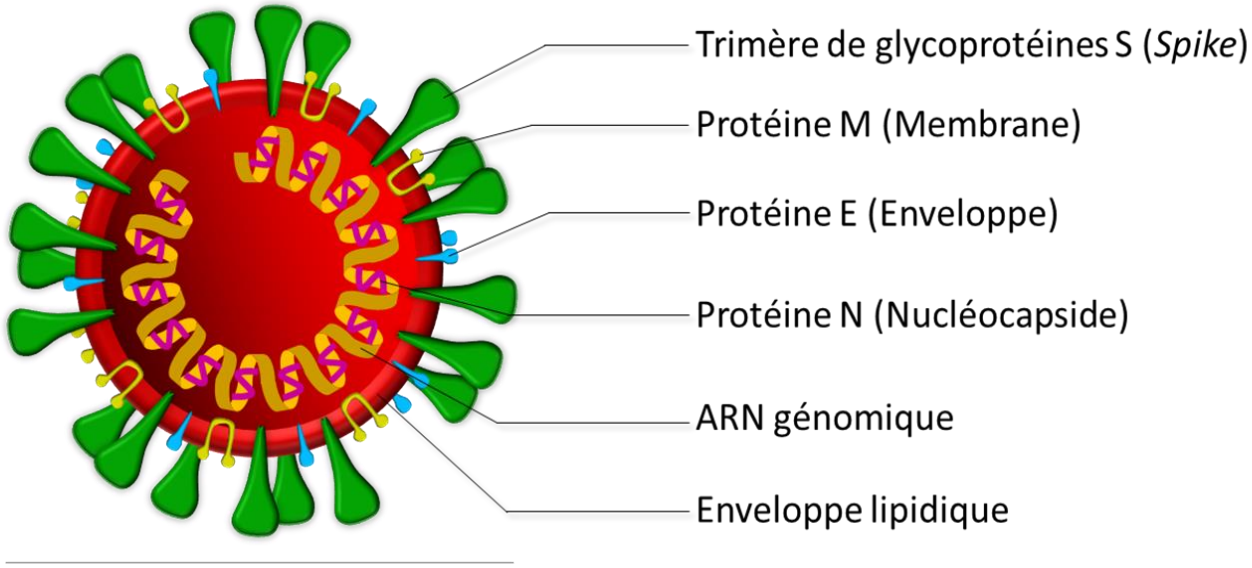
Structure

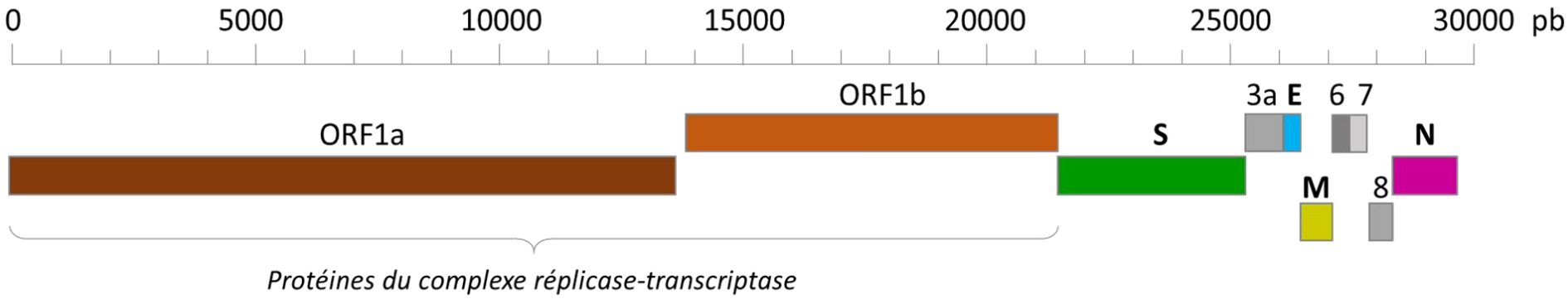
Les coronavirus présentent un diamètre compris entre 100 et 160 nm. Ce sont des virus enveloppés qui sont caractérisés par la présence de pointes (**S** pour *spike* en anglais) constituées de glycoprotéines hautement glycosylées, retrouvées sous forme trimérique et enchâssées dans l'enveloppe virale. Ces pointes, disposées en forme de couronne autour de la membrane virale ont donné leur nom aux coronavirus. L'ARN génomique (ARNg) est encapsulé dans une nucléocapside phosphorylée de forme hélicoïdale (**N**). L'ensemble ARNg + N, nommé ribonucléoprotéide (RNP), est enveloppé dans la particule virale à l'aide de glycoprotéines de membrane (**M**) et d'enveloppe (**E**) (Chen *et al*, 2020b).

Génome

Le génome de ces virus est un ARN simple brin à polarité positive et non segmenté d'environ 30 kilobases de longueur. La queue polyadénylée de l'ARN génomique permet sa traduction directe en plusieurs protéines virales après l'infection. Le génome de SARS-CoV-2 permet la transcription de l'ARN génomique ainsi que de 9 ARN subgénomiques principaux (Kim *et al*, 2020). A partir de l'ARN génomique complet, deux polypeptides sont traduits selon leur cadre ouvert de lecture. Leur autoclivage permet la libération d'environ 26 protéines non-structurales essentielles à la réplication du virus, parmi lesquelles se trouvent les protéines du complexe réplicase-transcriptase (Kim *et al*, 2020). Les ARN subgénomiques permettent l'expression des protéines structurales (N, M, E et S) communes à tous les coronavirus et de certaines protéines non-structurales et accessoires qui sont autant de facteurs de virulence (Kim *et al*, 2020; Chen *et al*, 2020b).

SARS-CoV-2 : Organisation génomique et structurelle





Cycle de réplication virale

Attachement : La protéine de surface S interagit avec le récepteur de surface membranaire ACE2 (Ou *et al*, 2020). ACE2 est l'enzyme de conversion de l'Angiotensine 2, dont la fonction principale est de diminuer la concentration plasmatique en angiotensine, provoquant ainsi une vasoconstriction et la régulation de la pression sanguine (Donoghue *et al*, 2000). Ce récepteur est commun à plusieurs souches de coronavirus, dont SARS-CoV, SARS-COV-2 et NL63 (Hofmann *et al*, 2005; Li *et al*, 2003; Ou *et al*, 2020). Cependant, la protéine S du SARS-CoV-2 présenterait une meilleure affinité pour ACE2 (Wrapp *et al*, 2020).

Entrée : Alors qu'initialement, une entrée du SARS-CoV dans les cellules avait été décrite comme dépendante d'un mécanisme de fusion entre l'enveloppe virale et la membrane plasmique de la cellule cible (Ng *et al*, 2003; Simmons *et al*, 2004), des études plus récentes ont montré que cette étape faisait intervenir des mécanismes d'endocytose (Inoue *et al*, 2007; Wang *et al*, 2008). Une interaction de la protéine virale S avec la protéase transmembranaire à sérine 2 (TMPRSS2) permettrait son clivage, de manière dépendante du pH (Huang *et al*, 2006; Simmons *et al*, 2005), exposant ainsi le peptide fusogène de la protéine S et la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane des vésicules d'endocytose (Glowacka *et al*, 2011; Hofmann *et al*, 2005). Un mécanisme d'entrée semblable serait utilisé par les SARS-CoV-2 pour entrer dans les cellules épithéliales (Ou *et al*, 2020). La fusion des membranes permet la libération du matériel viral dans le cytosol de la cellule infectée.

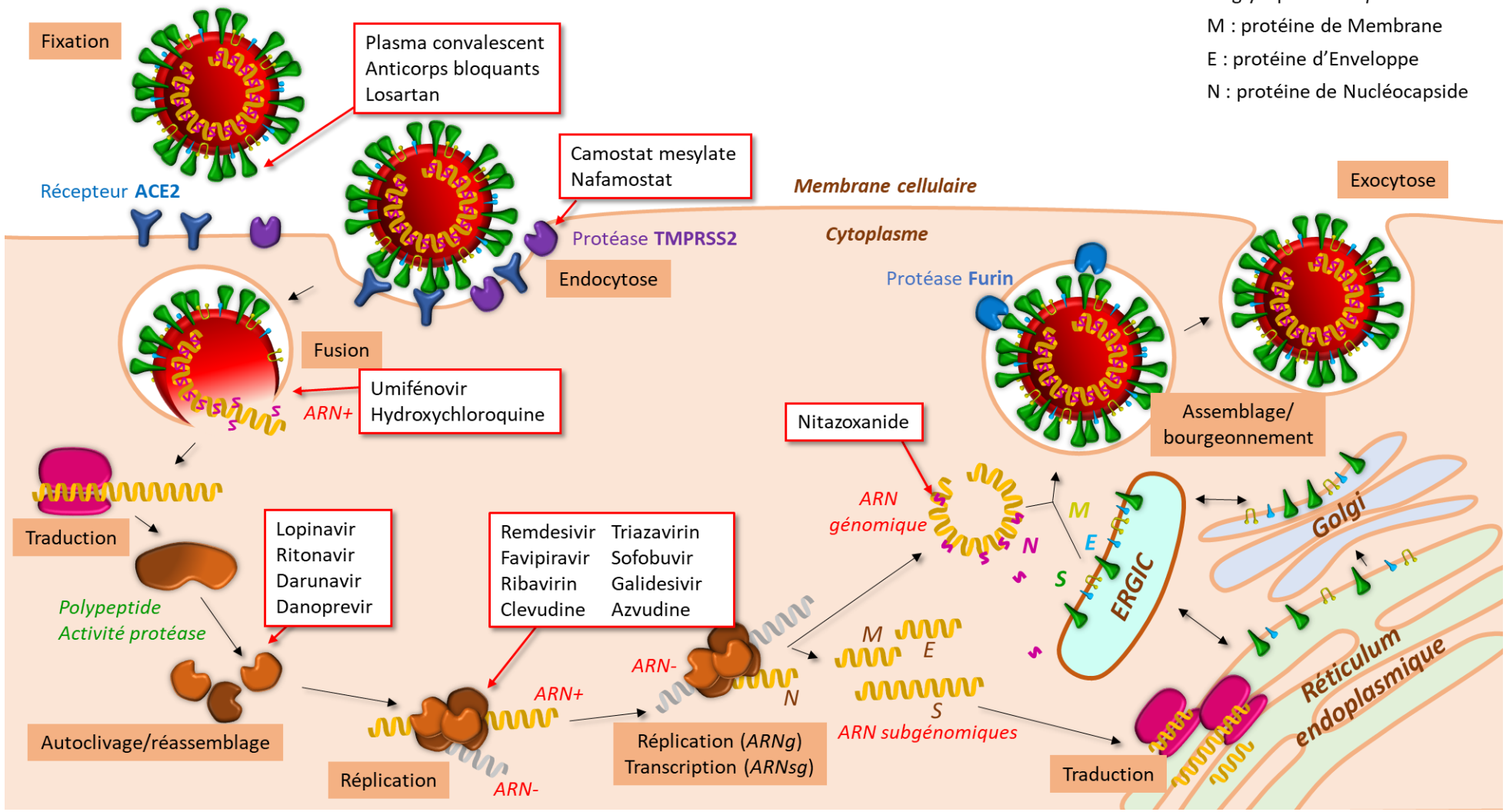
Expression de la réplicase virale : L'ARN génomique viral est polyadénylé en 3', permettant donc sa traduction directe en protéines par les ribosomes cellulaires. Les cadres ouverts de lecture permettent la traduction de cet ARN en plusieurs protéines non-structurales sous formes de polypeptides qui sont par la suite auto-clivés par leur activité protéolytique et réassemblés en un complexe protéique réplicase-transcriptase ARN-dépendant (Fehr & Perlman, 2015).

Réplication génomique, transcription et traduction. Les ARN subgénomiques sont alors produits par transcription et traduits en protéines structurales (N, M, E et S) ou en protéines non-structurales et protéines accessoires ce qui permet l'assemblage de nouveaux virions au niveau d'un compartiment vésiculaire intermédiaire entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi (ERGIC) ((Klumperman *et al*, 1994; de Haan & Rottier, 2005). A ce niveau, la furine, protéase cellulaire permettrait la maturation de la protéine virale S (Shang *et al*, 2020).

Sortie. La fusion des vésicules contenant les particules virales et de la membrane plasmique cellulaire permet le relargage par exocytose des virions dans le milieu extracellulaire (Fehr & Perlman, 2015).

SARS-CoV-2 : Cycle de réplication et stratégies antivirales

S : glycoprotéine *Spike*
M : protéine de Membrane
E : protéine d'Enveloppe
N : protéine de Nucléocapside



Stratégies antivirales

Molécule antivirale	Utilisation initiale	Cible dans le cycle viral		Références
Losartan	Antagoniste des récepteurs de l'angiotensine II	Récepteur ACE2 : Fixation de la protéine S		(Gurwitz, 2020)
Camostat mesylate	Inhibiteur de la protéase TMPRSS2, préconisé pour le traitement de la pancréatite chronique	Protéase TMPRSS2 : Clivage de la protéine S et libération du peptide de fusion		(Hoffmann *et al*, 2020a)
Nafamostat	Anticoagulant, cible le Facteur Xa et la Thrombine			(Hoffmann *et al*, 2020b; Wang *et al*, 2020b)
Umifénovir	Antiviral, inhibiteur de fusion utilisé en clinique (Russie, Chine) contre les virus Influenza A et B	pH des compartiments endosomaux : Fusion des membranes virale et cellulaire		(Ahsan *et al*, 2020; Vankadari, 2020)
Chloroquine, Hydroxychloroquine	Anti-malaria et maladies auto-immunes			(Ahsan *et al*, 2020; Wang *et al*, 2020b)
Lopinavir	Antirétroviral, Inhibiteur de la protéase du VIH-1	Protéase virale : maturation du complexe de réplication/transcription viral		(Wilde *et al*, 2014; Chu *et al*, 2004; Cao *et al*, 2020)
Ritonavir	Antirétroviral, Inhibiteur de la protéase du VIH-1			(Cao *et al*, 2020; Chu *et al*, 2004)
Darunavir	Antirétroviral, Inhibiteur de la protéase du VIH-1			(Ahsan *et al*, 2020)
Danoprevir	Antiviral, utilisé dans le traitement du Virus de l'Hépatite C			(Chen *et al*, 2020a; Seiwert *et al*, 2008)
Remdesivir	Antiviral, en développement clinique contre l'infection au Virus Ebola	ARN-polymérase-ARN-dépendante virale	Analogue nucléosidique (adenine)	(Ahsan *et al*, 2020; Wang *et al*, 2020b)
Favipiravir	Antiviral, approuvé pour le traitement des virus Influenza		Analogue nucléosidique (guanine)	(Ahsan *et al*, 2020; Delang *et al*, 2018; Wang *et al*, 2020b)
Ribavirin	Antiviral, utilisé dans le traitement du Virus de l'Hépatite C		Analogue nucléosidique (guanine)	(Wang *et al*, 2020b; Elfiky, 2020a)
Clevudine	Antiviral, utilisé dans le traitement du Virus de l'Hépatite B		Analogue nucléosidique (pyrimidine)	(Asselah *et al*, 2008)
Triazavirin	Antiviral, développé pour le traitement des virus Influenza		Inhibiteur non-nucléosidique	(Rusinov *et al*, 2015)
Sofobuvir	Antiviral, utilisé dans le traitement du Virus de l'Hépatite C		Analogue nucléosidique (pyrimidine)	(Elfiky, 2020a, 2020b)
Galidesivir	Antiviral, développé contre le Virus de l'Hépatite C, utilisé contre le virus Ebola		Analogue nucléosidique (adenine)	(Elfiky, 2020b)
Azvudine	Antiviral, développé contre le Virus de l'Hépatite C, expérimenté contre le VIH-1		Analogue nucléosidique (cytidine),	(Harrison, 2020)
Nitazoxanide	Antiparasitaire, employé pour traiter la cryptosporidiose et la giardiase, antiviral à large spectre	Bloque la maturation de la Nucléocapside virale		(Rossignol, 2014, 2016)

Références

Ahsan W, Javed S, Bratty MA, Alhazmi HA & Najmi A (2020) Treatment of SARS-CoV-2: How far have we reached? *Drug Discov. Ther.* **14:** 67–72

Asselah T, Lada O, Moucari R & Marcellin P (2008) Clevudine: a promising therapy for the treatment of chronic hepatitis B. *Expert Opin. Investig. Drugs* **17:** 1963–1974

Baltimore D (1971) Expression of animal virus genomes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **35:** 235–241

Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, Ruan L, Song B, Cai Y, Wei M, Li X, Xia J, Chen N, Xiang J, Yu T, Bai T, Xie X, Zhang L, Li C, Yuan Y, et al (2020) A Trial of Lopinavir–Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N. Engl. J. Med.* Available at: http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2001282 [Accessed May 27, 2020]

Chen H, Zhang Z, Wang L, Huang Z, Gong F, Li X, Chen Y & Wu JJ (2020a) First Clinical Study Using HCV Protease Inhibitor Danoprevir to Treat Naive and Experienced COVID-19 Patients Infectious Diseases (except HIV/AIDS) Available at: http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.03.22.20034041 [Accessed May 27, 2020]

Chen Y, Liu Q & Guo D (2020b) Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* **92:** 418–423

Chu CM, Cheng VCC, Hung IFN, Wong MML, Chan KH, Chan KS, Kao RYT, Poon LLM, Wong CLP, Guan Y, Peiris JSM & Yuen KY (2004) Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. *Thorax* **59:** 252–256

Cui J, Li F & Shi Z-L (2019) Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **17:** 181–192

Delang L, Abdelnabi R & Neyts J (2018) Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res.* **153:** 85–94

Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE & Acton S (2000) A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ. Res.* **87:** E1-9

Elfiky AA (2020a) Anti-HCV, nucleotide inhibitors, repurposing against COVID-19. *Life Sci.* **248:** 117477

Elfiky AA (2020b) Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): A molecular docking study. *Life Sci.* **253:** 117592

Fehr AR & Perlman S (2015) Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Coronaviruses* **1282:** 1–23

Glowacka I, Bertram S, Müller MA, Allen P, Soilleux E, Pfefferle S, Steffen I, Tsegaye TS, He Y, Gnirss K, Niemeyer D, Schneider H, Drosten C & Pöhlmann S (2011) Evidence that TMPRSS2 Activates the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein for Membrane Fusion and Reduces Viral Control by the Humoral Immune Response. *J. Virol.* **85:** 4122–4134

Gurwitz D (2020) Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. *Drug Dev. Res.* Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228359/ [Accessed May 26, 2020]

de Haan CAM & Rottier PJM (2005) Molecular Interactions in the Assembly of Coronaviruses. In *Advances in Virus Research* pp 165–230. Academic Press Available at: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065352705640067 [Accessed May 27, 2020]

Harrison C (2020) Coronavirus puts drug repurposing on the fast track. *Nat. Biotechnol.* **38:** 379–381

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu N-H, Nitsche A, Müller MA, Drosten C & Pöhlmann S (2020a) SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* **181:** 271-280.e8

Hoffmann M, Schroeder S, Kleine-Weber H, Müller MA, Drosten C & Pöhlmann S (2020b) Nafamostat Mesylate Blocks Activation of SARS-CoV-2: New Treatment Option for COVID-19. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64:** Available at: https://aac.asm.org/content/64/6/e00754-20 [Accessed May 27, 2020]

Hofmann H, Pyrc K, van der Hoek L, Geier M, Berkhout B & Pöhlmann S (2005) Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102:** 7988–7993

Huang I-C, Bosch BJ, Li F, Li W, Lee KH, Ghiran S, Vasilieva N, Dermody TS, Harrison SC, Dormitzer PR, Farzan M, Rottier PJM & Choe H (2006) SARS coronavirus, but not human coronavirus NL63, utilizes cathepsin L to infect ACE2-expressing cells. *J. Biol. Chem.* **281:** 3198–3203

Inoue Y, Tanaka N, Tanaka Y, Inoue S, Morita K, Zhuang M, Hattori T & Sugamura K (2007) Clathrin-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into target cells expressing ACE2 with the cytoplasmic tail deleted. *J. Virol.* **81:** 8722–8729

Ji W, Wang W, Zhao X, Zai J & Li X (2020) Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J. Med. Virol.* **92:** 433–440

Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN & Chang H (2020) The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell* Available at: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420304062 [Accessed April 27, 2020]

Klumperman J, Locker JK, Meijer A, Horzinek MC, Geuze HJ & Rottier PJ (1994) Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding. *J. Virol.* **68:** 6523–6534

Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, Somasundaran M, Sullivan JL, Luzuriaga K, Greenough TC, Choe H & Farzan M (2003) Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* **426:** 450–454

McIntosh K, Becker WB & Chanock RM (1967) Growth in suckling-mouse brain of 'IBV-like' viruses from patients with upper respiratory tract disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **58:** 2268–2273

Ng ML, Tan SH, See EE, Ooi EE & Ling AE (2003) Early events of SARS coronavirus infection in vero cells. *J. Med. Virol.* **71:** 323–331

Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, Guo L, Guo R, Chen T, Hu J, Xiang Z, Mu Z, Chen X, Chen J, Hu K, Jin Q, Wang J & Qian Z (2020) Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat. Commun.* **11:** 1–12

Rossignol J-F (2014) Nitazoxanide: A first-in-class broad-spectrum antiviral agent. *Antiviral Res.* **110:** 94–103

Rossignol J-F (2016) Nitazoxanide, a new drug candidate for the treatment of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Infect. Public Health* **9:** 227–230

Rusinov VL, Sapozhnikova IM, Ulomskii EN, Medvedeva NR, Egorov VV, Kiselev OI, Deeva EG, Vasin AV & Chupakhin ON (2015) Nucleophilic substitution of nitro group in nitrotriazolotriazines as a model of potential interaction with cysteine-containing proteins. *Chem. Heterocycl. Compd.* **51:** 275–280

Seiwert SD, Andrews SW, Jiang Y, Serebryany V, Tan H, Kossen K, Rajagopalan PTR, Misialek S, Stevens SK, Stoycheva A, Hong J, Lim SR, Qin X, Rieger R, Condroski KR, Zhang H, Do MG, Lemieux C, Hingorani GP, Hartley DP, et al (2008) Preclinical Characteristics of the Hepatitis C Virus NS3/4A Protease Inhibitor ITMN-191 (R7227). *Antimicrob. Agents Chemother.* **52:** 4432–4441

Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A & Li F (2020) Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **117:** 11727–11734

Simmons G, Gosalia DN, Rennekamp AJ, Reeves JD, Diamond SL & Bates P (2005) Inhibitors of cathepsin L prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102:** 11876–11881

Simmons G, Reeves JD, Rennekamp AJ, Amberg SM, Piefer AJ & Bates P (2004) Characterization of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) spike glycoprotein-mediated viral entry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101:** 4240–4245

Vankadari N (2020) Arbidol: A potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2 by blocking the trimerization of viral spike glycoprotein ? *Int. J. Antimicrob. Agents* Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7187825/ [Accessed May 26, 2020]

Wang C, Horby PW, Hayden FG & Gao GF (2020a) A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet* **395:** 470–473

Wang H, Yang P, Liu K, Guo F, Zhang Y, Zhang G & Jiang C (2008) SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway. *Cell Res.* **18:** 290–301

Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, Shi Z, Hu Z, Zhong W & Xiao G (2020b) Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* **30:** 269–271

Wilde AH de, Jochmans D, Posthuma CC, Zevenhoven-Dobbe JC, Nieuwkoop S van, Bestebroer TM, Hoogen BG van den, Neyts J & Snijder EJ (2014) Screening of an FDA-Approved Compound Library Identifies Four Small-Molecule Inhibitors of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Replication in Cell Culture. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58:** 4875–4884

Woo PCY, Huang Y, Lau SKP & Yuen K-Y (2010) Coronavirus Genomics and Bioinformatics Analysis. *Viruses* **2:** 1804–1820

Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh C-L, Abiona O, Graham BS & McLellan JS (2020) Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* **367:** 1260–1263

Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, Hu Y, Tao Z-W, Tian J-H, Pei Y-Y, Yuan M-L, Zhang Y-L, Dai F-H, Liu Y, Wang Q-M, Zheng J-J, Xu L, Holmes EC & Zhang Y-Z (2020) A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* **579:** 265–269