

TARGET KERJA OBAT ANTIVIRUS COVID-19: REVIEW

DRUG TARGET OF ANTIVIRUS COVID-19: REVIEW

Purwaniati^{1*}, Aiyi Asnawi¹¹ Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana*Corresponding Author Email: purwaniati@bku.ac.idDOI: <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v7i2.172>

ABSTRAK

Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) yang disebabkan Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2) telah menjadi wabah global. Hingga saat belum ada obat atau vaksin untuk terapi COVID-19 ini. Upaya penemuan obat baru atau pengujian terhadap obat yang telah ada mendesak untuk dilakukan. Penentuan target kerja obat antivirus COVID-19 yang tepat menjadi tantangan tersendiri, karena sebagai virus baru strukturnya belum diketahui secara jelas. Sistematis review ini dilakukan untuk dapat mengidentifikasi molekul-molekul yang dapat menjadi target kerja obat antivirus COVID-19. Review ini diawali dengan penelusuran pustaka pada database PubMed dengan menggunakan kata kunci "SARS-CoV-2 drug target". Protein target yang paling sering digunakan dalam penelitian, yaitu: Main protease (M^{pro}) dan angiotensin converting enzyme 2 (ACE2).

Kata Kunci: Target Kerja SARS-CoV-2, COVID-19, Virus Corona

ABSTRACT

Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) caused by Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2) has become a global pandemic. Until now there is no drug or vaccine for this COVID-19 therapy. Efforts to find new drugs or test existing drugs are urgent to do. Determining the right target of COVID-19 antivirus drugs is a challenge because as a new virus the structure is not yet clearly known. This systematic review was conducted to be able to identify molecules that could be targeted by COVID-19 antivirus drugs. This review begins with a library search on the PubMed database using the keyword "SARS-CoV-2 drug target". The target proteins most frequently used in research are main protease (M^{pro}) and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2).

Keywords: SARS-CoV-2 Drug Target, COVID-19, Coronavirus

PENDAHULUAN

Akhir tahun 2019 hingga batas waktu yang belum pasti, dunia dilanda wabah virus Corona strain baru. *Corona Virus Disease 2019 (COVID-19)* yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2)*. Virus Corona ditemukan pada tahun 1930an (Hudson and Beaudette, 1932) dan menimbulkan wabah *severe acute respiratory syndrome (SARS)* yang mendunia pertama kali pada tahun 2002-2003. Virus Corona memiliki bentuk *spherical* atau *pleomorphic* dan merupakan genom RNA terbesar diantara virus RNA lainnya (Yang, Bartlam and Rao, 2006) (Belouzard *et al.*, 2012).

SARS-CoV-2 sebagaimana virus Corona yang telah ada sebelumnya merupakan virus yang termasuk dalam famili *Coronaviridae*.

Virus RNA ini dapat menginfeksi unggas, mamalia dan manusia, kemudian menyebabkan penyakit akut hingga kronis (Weiss and Leibowitz, 2011)(Yang, Bartlam and Rao, 2006). Famili *Coronaviridae* terdiri dari 4 genus, yaitu: *alphacoronavirus*, *betacoronavirus*, *gammacoronavirus* dan *deltacoronavirus*. SARS-CoV-2 seperti halnya SARS-CoV termasuk dalam genus *betacoronavirus* (Belouzard *et al.*, 2012). SARS-CoV merupakan *betacoronavirus* yang mempunyai posisi filogenetik yang unik yang kemudian dimasukkan dalam subgenus *Sarbecovirus* (Luk *et al.*, 2019). Genus, spesies dan reseptor inang yang digunakan untuk berinteraksi dengan virus corona dapat dilihat pada Tabel 1.

Kemunculan SARS-CoV-2 pertama kali pada akhir Desember 2019 di Wuhan, Cina. Ditemukan sejumlah pasien dengan gejala batuk, demam, *dispnea* (kesulitan bernafas) yang disertai sindrom distress pernafasan akut (*acute respiratory distress syndrome* (ARDS)) dengan penyebab infeksi yang tidak diketahui. ARDS merupakan penyebab utama kematian pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 (Gao *et al.*, 2020). ARDS pada dasarnya adalah respon imunopatologis yang umum terjadi pada kasus infeksi SARS-CoV-2, SARS-CoV dan MERS-CoV (Xu *et al.*, 2020). Hal ini terjadi karena adanya pelepasan proinflamasi sitokin (IFN- α , IFN- β , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF- β , dll) dan kemokin (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10). Peristiwa pelepasan

sejumlah agen proinflamasi tersebut disebut badai sitokin (*cytokin storm*) (Huang *et al.*, 2020) (Williams and Chambers, 2014) (Channappanavar and Perlman, 2017). *Cytokine storm* kemudian menyebabkan ARDS dan kegagalan fungsi sejumlah organ (Xu *et al.*, 2020). Sekuensing genom virus dari pasien tersebut, diketahui bahwa infeksi disebabkan oleh *betacoronavirus* (β -CoV) dengan strain yang berbeda dari yang telah ada. *Betacoronavirus* baru tersebut menunjukkan 88% kemiripan terhadap *severe acute respiratory syndrome* (SARS)-like coronavirus; *bat-SL-CoVZC45* dan *bat-SL-CoVZC21* dan 50% kemiripan terhadap MERS-CoV (Li *et al.*, 2020)(Lu *et al.*, 2020).

Tabel 1. Genus, Spesies dan Reseptor yang Digunakan oleh Virus Corona

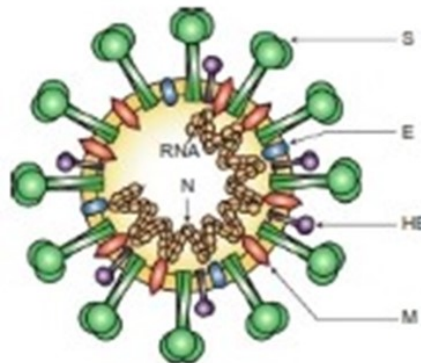
Genus	Spesies	Reseptor inang	Referensi
<i>Alphacoronavirus</i>	1) <i>Alphacoronavirus</i> 1:		(Belouzard <i>et al.</i> , 2012)
	a) <i>Feline Coronavirus</i> (FCoV) serotype 2	Aminopeptidase N	
	b) <i>Canine Coronavirus</i> (CCoV) serotype 2	Aminopeptidase N	
	c) <i>Transmissible gastroenteritis virus</i> (TGEV)	Aminopeptidase N	
	2) <i>Human coronavirus</i> 229E		
	3) <i>Human coronavirus</i> NL63		
	4) <i>Porcine Epidemic Diarrhea Coronavirus</i> (PEDV)	Aminopeptidase N	
	5) <i>Rhinolophus bat coronavirus</i> HKU2	Aminopeptidase N	
6) <i>Scotophilus bat coronavirus</i> 512/05			
7) <i>Miniopterus bat coronavirus</i> 1			
8) <i>Miniopterus bat coronavirus</i> KHU8			
<i>Betacoronavirus</i>	1) <i>Betacoronavirus</i> 1	Neu 5,9 Ac2	(Belouzard <i>et al.</i> , 2012)
	2) <i>Murine coronavirus</i>	CEACAM1	
	3) <i>Human coronavirus</i> HKU9		(Prajapat <i>et al.</i> , 2020)
	4) <i>Rousettus bat coronavirus</i> HKU4		
	5) <i>Tylonycteris bat coronavirus</i> HKU5		
	6) SARS-COV:		
a) <i>Human SARS-COV</i>	ACE2		
b) SARS COV-2			
c) <i>Rhinolophu bat viruses</i>			
<i>Gammacoronavirus</i>	1) <i>Avian coronavirus</i>		(Belouzard <i>et al.</i> , 2012)
	2) <i>Beluga Whale coronavirus</i> SW1		
<i>Deltacoronavirus</i>	1) <i>Bulbul coronavirus</i> HKU11		(Belouzard <i>et al.</i> , 2012)
	2) <i>Thrush coronavirus</i> HKU12		
	3) <i>Munia coronavirus</i> HKU13		

Sebagian besar ilmuwan sepakat bahwa SARS-CoV-2 seperti halnya SARS-CoV

memasuki sel inang melalui interaksinya dengan reseptor *angiotensin converting*

enzyme 2 (ACE2). Pengikatan virus pada sel inang ini sangat menentukan pathogenesis infeksi (Zhou *et al.*, 2020). Zhou dan koleganya juga membuktikan bahwa SARS-CoV-2 tidak berinteraksi dengan reseptor *aminopeptidase N* (APN) atau *dipeptidyl*

peptidase 4 (DPP4). Pengikatan virus pada reseptor ACE2 terjadi melalui protein *spike* (S) (De Wit *et al.*, 2016). Masuknya virus ke dalam sel menyebabkan fusi membran (Simmons *et al.*, 2004).



Gambar 1. Struktur Virus Corona. RNA virus membentuk kompleks dengan protein N (Nucleocapsid). S adalah spike, E, envelope, HE, hemagglutinin esterase, dan M, membrane. (Sumber gambar: Weiss dan Leibowitz 2011)

SAR-CoV-2 memiliki 2 kelompok protein; protein struktural dan protein non struktural (*non structural protein* (NSP)). Protein struktural terdiri dari: *spike* (S), *membrane* (M), *envelop* (E) dan *nucleocapsid* (N) serta *hemagglutinin esterase* (HE) *glycoprotein*. HE hanya terdapat pada beberapa jenis *Coronavirus* (Hilgenfeld, 2014). Genom CoV terdiri dari 7 gen yaitu: ORF1a, ORF1b, S, OEF3, E, M dan N (Prajapat *et al.*, 2020). Genom virus Corona terdiri dari 6-10 *open reading frames* (ORFs). ORF1a/b menghasilkan polyprotein pp1a dan pp1b (McBride, van Zyl and Fielding, 2014). ORF1a/b mengandung dua per tiga dari seluruh genom yang mengkode replikasi protein dan sepertiga sisanya mengandung gen-gen protein dalam urutan tetap; HE-S-E-M-N. Selaput virus setidaknya mengandung 3 jenis protein yaitu; protein *spike* (S), protein *membrane* (M) dan protein *envelop* (E). Virus Corona kadang juga mengandung *hemagglutinin esterase* (HE). Protein M dan E berperan dalam membentuk struktur virus. Sedangkan protein S berperan sebagai mediator dalam berinteraksi dengan sel inang (*host*) dan menentukan jenis-jenis inang tersebut (Belouzard *et al.*, 2012). Struktur SARS-CoV-2 dapat dilihat pada Gambar 1.

Saat ini belum tersedia vaksin atau antivirus SARS-COV-2 tersebut. Penelitian untuk menemukan agen antivirus atau vaksin ini pun terus dilakukan. Berbagai protein struktural maupun nonstruktural dijadikan target kerja calon antivirus ini.

METODE PENELITIAN

Penulisan *review* diawali dengan pengumpulan jurnal yang akan direview. Jurnal yang digunakan adalah jurnal yang berasal dari database PubMed dengan tahun terbit 2015-2020. Kata kunci yang digunakan dalam pencarian ini adalah "SARS-CoV-2 *drug target*". Jurnal-jurnal tersebut kemudian diskринing berdasarkan judul dan abstrak, diikuti dengan pengkajian abstrak, dan terakhir pengkajian jurnal secara utuh. *Review* jurnal ini ditulis berdasarkan semua jurnal yang dikaji secara utuh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelusuran pustaka dengan kata kunci "SARS-CoV-2 *drug target*" dalam database PubMed menghasilkan 130 jurnal. Proses skrining terhadap judul dan abstrak tersebut menyisakan 83 artikel, dan setelah dilakukan kajian terhadap abstrak, maka diperoleh 80 jurnal yang dinilai relevan untuk direview.

Saat ini telah diketahui setidaknya ada 21 target yang potensial sebagai target kerja obat COVID-19. Dua target diantaranya terdapat pada manusia. Dan saat ini terdapat sekurang-kurangnya 78 molekul yang sedang diuji secara klinis sebagai antivirus COVID-19 (Wu *et al.*, 2020). Wu dkk (2020) melakukan prediksi struktur dan pemodelan homologi terhadap semua protein yang dikode oleh SARS-CoV-2. Target kerja obat antivirus COVID-19 dapat

dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Target Kerja Obat COVID-19

Protein	Sifat/Peran	Terdapat pada	Referensi
NSP1 (<i>nonstructural protein 1</i>)	Faktor virulensi, dan agen persebaran	SARS-CoV-2	(Emameh, Nosrati and Taheri, 2020)(Wu <i>et al.</i> , 2020)
NSP3 (<i>nonstructural protein 3</i>): - NSP3b - NSP3c - PLpro (<i>papain like cysteine protease</i>) - NSP3e	Replikasi virus	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)(Rut <i>et al.</i> , 2020)
Kompleks NSP7-NSP8	Kofaktor pada RdRp	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020) (Subissi <i>et al.</i> , 2014)
NSP9-NSP10		SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
NSP14-NSP16		SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
3CLpro atau M ^{pro}	Replikasi virus	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
<i>E-channel</i> (E protein)	Morfogenesis virus	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020) (Venkatagopalan <i>et al.</i> , 2015)
ORF7a	Protein transmembran tipe 1 yang belum diketahui fungsinya	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
Protein M	Mempertahankan struktur virus	SARS-CoV-2	(Schoeman and Fielding, 2019)
Protein <i>spike</i>	Berikatan dengan reseptor ACE2 pada manusia	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
ACE2 (<i>angiotensin converting enzyme 2</i>)	Terikatnya protein S SARS-CoV-2 Pada manusia berfungsi dalam pengaturan tekanan darah	Manusia	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
C-terminal RNA <i>binding domain</i> (CRBD)		SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
N-terminal RNA <i>binding domain</i> (NRBD)		SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
Helicase	Replikasi virus	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
RdRp (NSP12 atau <i>polymerase</i>)	Replikasi virus	SARS-CoV-2	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
TMPRSS2	Peran pada manusia belum diketahui. Terhadap SARS-CoV-2 protein ini mengaktifasi Protein S	Manusia	(Fujii and Hitomi, 1981)(Hoffmann, Kleine-Weber, <i>et al.</i> , 2020)

Protein Spike (S)

Protein S SARS-CoV-2 sebagaimana pada SARS-CoV merupakan bagian struktur yang memperantarai masuknya virus tersebut kedalam tubuh manusia (inang). Virus ini memasuki sel manusia dengan cara membentuk ikatan antara protein S dengan *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2). Afinitas ikatan SARS-CoV-2 pada ACE2 hampir

sama dengan SARS-CoV. Protein ini memiliki 2 subunit fungsional, yaitu: S1 dan S2. S1 berperan membentuk ikatan dengan reseptor ACE2 pada sel inang, S2 kemudian menggabungkan virus dengan membran sel inang. Pada umumnya, S membelah diantara subunit S1 dan S2 (Walls *et al.*, 2020). Diperkirakan SARS-CoV-2 berinteraksi dengan ACE2 lebih lemah dibanding SARS-CoV

(Morse *et al.*, 2020). Namun, SARS-CoV-2 dapat mengenali ACE2 secara lebih efisien (Wan *et al.*, 2020). Glu394 protein S SARS-CoV-2 sesuai dengan residu479 protein S SARS-CoV yang dapat berinteraksi dengan Lys31 pada ACE2 (Wu *et al.*, 2012). S disisipkan ke dalam E dan memediasi masuknya virus ke dalam sel. Protein S ini sangat tergantung pada enzim *transmembrane protease serine 2* (TMPRSS2) yang membelah dan mengaktifasi S (Hoffmann, Schroeder, *et al.*, 2020)(Hoffmann, Kleine-Weber, *et al.*, 2020).

Karena protein S merupakan bagian CoV yang berperan menghantarkan masuknya virus ke dalam tubuh inang, maka protein ini dapat menjadi target utama dalam netralisasi antibodi (Abs) infeksi, terapi dan desain vaksin. Protein S merupakan trimer yang dilengkapi sejumlah glikan yang terhubung pada -N yang berperan dalam pelipatan protein (Wan *et al.*, 2020)(Wrapp *et al.*, 2020). Vaksin sebaiknya didesain berbasis protein S pada subunit S1 (Zhang, Lin, Sun, Curth, *et al.*, 2020).

Basit dkk (2020) membuktikan bahwa potongan enzim ACE2 manusia (*truncated human ACE2* (tACE2)) merupakan inhibitor kompetitif yang potensial pada protein S SARS-CoV-2. tACE2 terdiri dari asam amino 21-119 ACE2 manusia. tACE2 ini merupakan bagian yang terlibat dalam pengikatan dengan *receptor binding domain* (RBD) SAR-CoV-2. Studi penambatan dan dinamika molekul protein-protein menunjukkan bahwa tACE2 memiliki afinitas lebih tinggi terhadap RBD dibanding ACE2. Kompleks tACE2-RBD juga lebih stabil daripada ACE2-RBD (Basit, Ali and Rehman, 2020).

Struktur kristal protein S SARS-CoV-2 dapat diunduh pada *website Protein Data Bank* (PDB) dengan ID: 6VSB (Wrapp *et al.*, 2020), 6VXX (Walls *et al.*, 2020), 6X6P (Chen *et al.*, 2011), 7BYR (Cao *et al.*, 2020), 6WPT dan 6WPS (Pinto *et al.*, 2020). Struktur protein S dapat dilihat pada Gambar 2.

Protein Envelop (E)

Protein E berperan dalam morfogenesis virus (Venkatagopalan *et al.*, 2015). Kurangnya protein E menyebabkan titer virus yang rendah, immatur dan progeni yang tidak efisien (Kuo, Hurst and Masters, 2007)(Schoeman and Fielding, 2019). Protein E juga merupakan faktor virulensi virus. Strukturnya sangat beragam di antara semua famili virus Corona (Venkatagopalan *et al.*, 2015). CoV yang

kekurangan protein E merupakan kandidat vaksin yang menjanjikan (Schoeman and Fielding, 2019).

Protein Membrane (M)

Protein M (*membrane*) merupakan protein yang paling melimpah pada CoV, berfungsi mempertahankan struktur virus (Schoeman and Fielding, 2019) dan mensensitisasi inang (Wang and Liu, 2016). Tikus yang divaksinasi dengan protein M SARS-CoV menunjukkan adanya respon imun (Okada *et al.*, 2005).

Main Protease

Main protease (M^{pro}) disebut juga *3C-like protease* (3CLpro) (Zhang, Lin, Sun, Curth, *et al.*, 2020), dikenal juga sebagai NSP5 (Wu *et al.*, 2020). Enzim ini merupakan salah satu enzim yang penting dalam menentukan kelangsungan hidup CoV, dengan memediasi replikasi dan transkripsi protein-protein pada virus. Pentingnya peran M^{pro} ini menjadikannya salah satu target penting dalam mendesain antivirus COVID-19. Enzim ini teridentifikasi memiliki bobot molekul 33,797 kDa yang ditetapkan melalui spektroskopi massa. Efisiensi katalitiknya (*Kcat/Km*) pada SARS-CoV-2 sebesar 28.500 M⁻¹S⁻¹ (Jin, Du, *et al.*, 2020) sedikit lebih besar dibandingkan pada SARS-CoV yaitu 26.500 M⁻¹S⁻¹(Xue *et al.*, 2007), namun jauh lebih besar dibandingkan *human rhinovirus 3C Protease* yang hanya sebesar 920 M⁻¹S⁻¹ (Wang *et al.*, 1997)(Jin, Du, *et al.*, 2020). M^{pro} memiliki lebih dari 11 situs pembelahan. Inhibisi aktivitas enzim ini akan menyebabkan terhambatnya replikasi virus. Manusia tidak memiliki enzim protease yang sama dengan M^{pro} virus ini, maka inhibitor M^{pro} tidak akan menghasilkan efek toksik pada manusia (Zhang, Lin, Sun, Curth, *et al.*, 2020).

Berbagai studi *in silico* telah dilakukan untuk menemukan calon molekul yang efektif menghambat *main protease* SARS-CoV-2 ini. Inhibisi *main protease* akan menyebabkan terganggunya replikasi dan transkripsi protein non struktural virus, sehingga mengakibatkan kematian virus. Jin dkk, membuktikan bahwa N3 merupakan salah inhibitor ireversibel M^{pro} tersebut. Model protein enzim diperoleh melalui *homology modelling* (Jin, Du, *et al.*, 2020).

Umesh dkk juga melakukan studi penambatan molekul terhadap target M^{pro}. Studi ini dilakukan dengan menskrining senyawa-senyawa yang terdapat dalam rempah-rempah di India melalui penambatan molekul. Struktur kristal M^{pro} diunduh dari PDB dengan ID 6Y84.

Dalam studinya diketahui bahwa *carosol* dan *arjunglucoside-I* menunjukkan aktivitas penghambatan M^{pro} yang cukup kuat (Umesh *et al.*, 2020). Data molekul-molekul yang telah teruji menghambat M^{pro} dapat dilihat pada Tabel 3.

Protein Data Bank ID untuk M^{pro} antara lain: 6Y84 (Mirza and Froeyen, 2020), 6Y2G (Zhang, Lin, Sun, Rox, *et al.*, 2020), 6LU7 (Jin, Zhao, *et al.*, 2020), 7BUY (Huang *et al.*, 2020).

Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2)

ACE2 setidaknya memiliki 3 fungsi fisiologis, yaitu *negative regulator* pada sistem renin-angiotensin, fasilitator transport asam amino dan reseptor tempat terikatnya SARS-CoV maupun SARS-CoV-2 (Gheblawi *et al.*, 2020). ACE2 tersebar luas dalam paru-paru, sistem kardiovaskuler, usus, ginjal, sistem saraf pusat dan jaringan adipose (Gheblawi *et al.*, 2020). Dalam sebuah studinya, Zhou *et al.* menunjukkan bahwa overekspresi sel HeLa dengan ACE2 manusia, babi dan musang menyebabkan terjadinya infeksi SARS-CoV-2. Hal ini membuktikan bahwa ACE2 merupakan target masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel (Zhou *et al.*, 2020). Situs pengikatan antara ACE2 dan SARS-CoV-2 telah teridentifikasi

sehingga memungkinkan untuk mendesain molekul blokernya. Bloker ACE2 dapat berupa antibodi maupun molekul kecil (Zhang and Baker, 2017).

Dalam kasus infeksi virus ini, ACE2 dapat berperan sebagai target kerja sekaligus sebagai obat itu sendiri. SARS-CoV menurunkan regulasi protein ACE2 dengan cara berikatan dengan protein S sehingga menyebabkan cedera paru-paru. Pemberian ACE2 terlarut, akan menyebabkan konsentrasi ACE2 berlebih, sehingga terjadi kompetisi pengikatan dengan protein S dari SARS-CoV-2. ACE2 akan memberikan efek antiatripi, antifibrosis, antiinflamasi, antioksidan dan vasodilatasi, sehingga memberikan perlindungan terhadap jaringan (Imai *et al.*, 2005)(Yu *et al.*, 2016). Dan kini telah tersedia ACE2 rekombinan manusia (rhACE2; APN01, GSK2586881). Produk ACE2 tersebut tidak menghasilkan efek hemodinamik negatif baik pada sukarelawan maupun pada pasien dengan ARDS (Haschke *et al.*, 2013)(Khan *et al.*, 2017)(Zhang and Baker, 2017).

Infeksi SARS-CoV-2 dapat memicu kerusakan berbagai organ, seperti: jantung, paru-paru dan ginjal (Oudit *et al.*, 2009)(Ferrario and Mullick, 2017)(Antoniak *et al.*, 2017).

Tabel 3. Calon molekul obat yang teruji memberikan aktivitas sebagai anti SARS-CoV-2 yang bekerja sebagai inhibitor M^{pro}

Senyawa	Metode pengujian	Referensi
Atazanavir, remdesivir, efavirenz, ritonavir, dolutegravir	<i>Drug-target interaction deep learning model</i>	(Lu <i>et al.</i> , 2020)
Lopinavir, ritonavir	<i>Simulasi dinamika molekul</i>	(Nutho <i>et al.</i> , 2020)
Montelukast	<i>Virtual screening</i>	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
64 obat dari 1,485.144 obat yang diskriminasi terbukti mampu menghambat M ^{pro} , diantaranya: Lobendazole, Betamissin, Benaxibine	<i>Virtual screening</i> dari database ChEMBL	(Tsuji, 2020)
17 senyawa dari database Marine Natural Products dapat menghambat M ^{pro} , antara lain: heftaludanol A, phloretopentafuhalol B, pseudopentafuhalol C, dll	<i>Virtual screening</i> dan <i>molecular modelling</i>	(Davies <i>et al.</i> , 2004)
Glecaprevir dan maraviroc	<i>Molecular docking</i>	(Shamsi <i>et al.</i> , 2020)
Andrographolide	<i>Molecular docking</i>	(Enmozhi <i>et al.</i> , 2020)
δ-viniferin, myricitrin, taiwanhomoflavone A, lactucopicrin 15-oxalate, nympholide A, afzelin, biorobin, hesperidin and phyllaemblicin B	<i>phylogenetic and Sequence Similarity Network analysis</i>	(Joshi <i>et al.</i> , 2020)
Perampanel, Carprofen, Celecoxib, Alprazolam, Trovafloxacin, Sarafloxacin and ethyl biscoumacetate	<i>Virtual screening</i>	(Gimeno <i>et al.</i> , 2020)

Carprofen dan celecoxib	<i>In vitro</i>	(Gimeno <i>et al.</i> , 2020)
Bonducellpin D	<i>Virtual screening</i>	(Gurung <i>et al.</i> , 2020)
Statin: pitavastatin, rosuvastatin, lovastatin dan rosuvastatin	<i>Molecular docking</i>	(Reiner <i>et al.</i> , 2020)
(-)-taxifolin dan rhamnetin	<i>Virtual screening</i>	(Cicerale <i>et al.</i> , 2009)
Rubitecan, loprazolam, ZINC00015988935 dan ZINC000103558522	<i>Virtual screening</i>	(Elmezayen <i>et al.</i> , 2020)
<i>2-methyl-2,4-pentanediol</i>	<i>Virtual screening</i>	(Plewczynski <i>et al.</i> , 2007)
Carnosol dan arjunglucoside-I	<i>Molecular docking</i>	(Umesh <i>et al.</i> , 2020)

Protein Transmembrane Protease Serin 2 (TMPRSS2)

TMPRSS2 berperan mengaktifasi protein S, sehingga virus dapat memasuki sel inang (Hoffmann, Schroeder, *et al.*, 2020). Protein ini juga sangat penting dalam proses persebaran SARS-CoV dan MERS-CoV pada *rodent* (Iwata-Yoshikawa *et al.*, 2019)(Zhou *et al.*, 2010). Hal ini menjadikan TMPRSS2 sebagai target yang potensial obat antivirus COVID-19 (Hoffmann, Schroeder, *et al.*, 2020). TMPRSS2 merupakan protein pada manusia yang belum diketahui dengan jelas fungsinya (Kupferschmidt, 2020).

Camostat mesilat yang merupakan sebuah inhibitor serin protease yang juga menunjukkan aktivitasnya terhadap TMPRSS2 (Hoffmann, Kleine-Weber, *et al.*, 2020). Molekul ini sedang diuji klinis sebagai antivirus SARS-CoV-2 (Kupferschmidt, 2020). Selain camostat mesilat, diuji pula gabexat mesilat dan nafamostat mesilat (Fujii and Hitomi, 1981). Ketiga senyawa tersebut telah diijinkan penggunaannya di Jepang (Yamamoto *et al.*, 2016).

RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)

Proses replikasi SARS-CoV-2 sangat tergantung pada enzim *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). Remdesivir merupakan contoh antivirus yang bekerja pada target tersebut (Gordon *et al.*, 2020). RdRp disebut juga NSP12 (*non structural protein 12*) (Gao *et al.*, 2020). RdRp mengkatalisis sintesis RNA yang kemudian berperan dalam proses transkripsi dan replikasi virus. NSP7 dan NSP8 diduga berperan sebagai kofaktor dalam proses tersebut (Subissi *et al.*, 2014). Sehingga, RdRp merupakan target utama inhibitor analog nukleosida, seperti remdesivir (Wang *et al.*,

2018)(Holshue *et al.*, 2020)(Gao *et al.*, 2020). Remdesivir telah teruji cukup efektif untuk terapi COVID-19 (Wang *et al.*, 2020)(Holshue *et al.*, 2020). Beberapa obat yang telah ada seperti antijamur itrakonazol dan antibakteri novobiosin juga menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap RdRp (Wu *et al.*, 2020).

Helicase (NSP13)

Helicase atau NSP13 merupakan protein multifungsi yang terdiri dari *N-terminal metal binding domain* (NMBD) dan *helicase domain* (Hel) (Ivanov and Ziebuhr, 2004). NSP13 merupakan komponen penting dalam replikasi virus, sehingga dapat menjadi target yang potensial obat antivirus COVID-19 (Shum and Tanner, 2008).

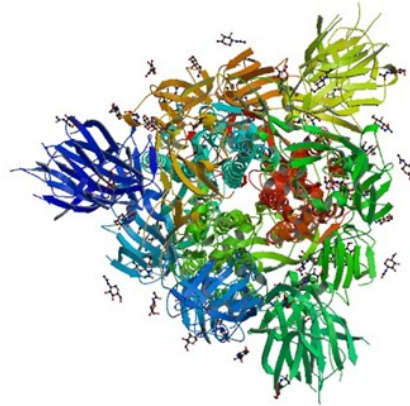
Papain-like proteinase (PLpro)

PLpro berperan dalam pembelahan terminal N polyprotein (pp) untuk melepas NSP1, NSP2 dan NSP3 yang penting dalam proses replikasi virus (Harcourt *et al.*, 2004). PLpro juga secara signifikan mengantagonis imunitas bawaan inang (Chen *et al.*, 2014)(Yuan *et al.*, 2015)(Li *et al.*, 2016)(Wu *et al.*, 2020).

Setelah menentukan struktur protein dalam SARS-CoV-2, Canrong dkk (2020) juga melakukan *virtual screening* terhadap sejumlah database senyawa obat yang telah ada terhadap PLpro ini. Molekul obat yang potensial sebagai inhibitor PLpro dapat dilihat pada Tabel 4. Beberapa molekul calon obat diantaranya juga menunjukkan aktivitas pada berbagai target kerja, sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan target kerja yang tersedia, obat antivirus COVID-19 dapat didesain dengan mekanisme kerja sebagai berikut:

- a. Menghambat aktivitas protein fungsional atau enzim dari virus, sehingga proses sintesis dan replikasi RNA virus terhambat
- b. Bekerja pada protein S virus, sehingga memblok pengikatan antara virus dan reseptor sel manusia
- c. Menghasilkan faktor virulensi untuk mengembalikan imunitas bawaan inang
- d. Bekerja pada enzim atau reseptor spesifik pada inang untuk mencegah masuknya virus ke dalam sel inang (Wu *et al.*, 2020).



Gambar 2. Struktur kristal Protein S SARS-CoV-2 dengan PDB ID: 6VSB (Wrapp *et al.*, 2020)

Tabel 4. Molekul Obat Yang Aktif Sebagai Inhibitor PLpro

Golongan obat	Molekul obat	Metode pengujian	Referensi
Antivirus	Ribavirin Valgaciclovir Thymidine	<i>Virtual screening, molecular docking</i>	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
Antibakteri	Kloramfenikol Cefamandole Tigecycline	<i>Virtual screening, molecular docking</i>	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
Relaksan otot	Klorfenesin karbamat	<i>Virtual screening, molecular docking</i>	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
Antitusiv	Levodropizine	<i>Virtual screening, molecular docking</i>	(Wu <i>et al.</i> , 2020)
	VIR250 VIR251	Penentuan struktur kristal kompleks molekul uji dengan PLpro	(Rut <i>et al.</i> , 2020)

Tabel 5. Molekul Calon Obat Yang Teridentifikasi Berinteraksi Dengan Beberapa Target Pada SARS-CoV-2

Senyawa	Metode Pengujian	Target Kerja	Referensi
<ul style="list-style-type: none"> • Alkaloid furniquinazoline: scedapin C (15), quinadoline B (19), norquinadoline A (20) • polyketide isochaetochromin D1 • terpenoid 11a-dehydroxyisoterreulactone A 	<i>Molecular docking, molecular dynamic simulation</i>	<i>papain-like protease (PLpro), chymotrypsin-like protease (3CLpro), RNA-directed RNA polymerase (RdRp), non-structural protein 15 (nsp15), dan spike binding domain pada GRP78</i>	(Quimque <i>et al.</i> , 2020)
Elbasvir	<i>Virtual screening</i>	RdRp, PLpro, helicase	(Meenakshisundaram and Robert, 2020)

Berdasarkan studi ini, penulis dapat menyimpulkan bahwa *main protease* (M^{pro}) dan ACE2 merupakan target kerja yang sangat prospektif. Penghambatan M^{pro} berpotensi efektif sebagai obat COVID-19 karena akan menyebabkan hilangnya kemampuan replikasi dan transkripsi virus, sehingga virus tersebut tidak mampu bertahan hidup. ACE2 juga sangat menarik, tidak hanya sebagai target kerja namun dapat juga menjadi bagian dari obat itu sendiri. Namun karena ACE2 merupakan protein fisiologis pada manusia, maka menjadikannya sebagai target kerja berpotensi menghasilkan efek yang mungkin tidak diharapkan pada manusia, sehingga penulis lebih tertarik pada M^{pro} untuk dijadikan target kerja obat COVID-19 ini.

KESIMPULAN

Seluruh protein struktural dan nonstruktural dalam virus SARS-CoV-2 sangat potensial untuk dijadikan target kerja obat COVID-19. M^{pro} dan ACE2 merupakan protein yang lebih prospektif dibandingkan protein-protein lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Antoniak, S. *et al.* 2017. Protease-Activated Receptor 1 Contributes to Angiotensin II-Induced Cardiovascular Remodeling and Inflammation. *Cardiology (Switzerland)*. doi: 10.1159/000452269.
- Basit, A., Ali, T. and Rehman, S. U. 2020. Truncated human Angiotensin Converting Enzyme 2; a potential inhibitor of SARS-CoV-2 spike glycoprotein and potent COVID-19 therapeutic agent. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. doi: 10.1080/07391102.2020.1768150.
- Belouzard, S. *et al.* 2012. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*. doi: 10.3390/v4061011.
- Cao, Y. *et al.* 2020. Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients B cells. *Cell*. doi: 10.1016/j.cell.2020.05.025.
- Channappanavar, R. and Perlman, S. 2017. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Seminars in Immunopathology*. doi: 10.1007/s00281-017-0629-x.
- Chen, X. *et al.* 2014. SARS coronavirus papain-like protease inhibits the type I interferon signaling pathway through interaction with the STING-TRAF3-TBK1 complex. *Protein and Cell*. doi: 10.1007/s13238-014-0026-3.
- Chen, Y. *et al.* 2011. 'Biochemical and structural insights into the mechanisms of sars coronavirus RNA ribose 2'-O-methylation by nsp16/nsp10 protein complex. *PLoS Pathogens*. doi: 10.1371/journal.ppat.1002294.
- Cicerale, S. *et al.* 2009. Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. doi: 10.1080/10408390701856223.
- Davies, J. *et al.* 2004. Quantitative structure-activity relationship modeling of acute toxicity of quaternary alkylammonium sulfobetaines to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(9), pp. 2111–2115. doi: 10.1897/03-312.
- Elmezayen, A. D. *et al.* 2020. Drug repurposing for coronavirus (COVID-19): in silico screening of known drugs against coronavirus 3CL hydrolase and protease enzymes. *Journal of biomolecular structure & dynamics*. doi: 10.1080/07391102.2020.1758791.
- Emameh, R. Z., Nosrati, H. and Taheri, R. A. 2020. Combination of biodata mining and computational modelling in identification and characterization of ORF1ab polyprotein of SARS-CoV-2 isolated from oronasopharynx of an Iranian patient. *Biological Procedures Online*. doi: 10.1186/s12575-020-00121-9.
- Enmozhi, S. K. *et al.* 2020. Andrographolide As a Potential Inhibitor of SARS-CoV-2 Main Protease: An In Silico Approach. *Journal of biomolecular structure & dynamics*. doi: 10.1080/07391102.2020.1760136.
- Ferrario, C. M. and Mullick, A. E. 2017. Renin angiotensin aldosterone inhibition in the treatment of cardiovascular disease. *Pharmacological Research*. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.020.
- Fujii, S. and Hitomi, Y. 1981. New synthetic inhibitors of C1r, C1 esterase, thrombin, plasmin, kallikrein and trypsin. *BBA - Enzymology*. doi: 10.1016/0005-2744(81)90023-1.
- Gao, Y. *et al.* 2020. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*. doi:

- 10.1126/science.abb7498.
- Gheblawi, M. *et al.* 2020. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circulation research*. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.
- Gimeno, A. *et al.* (2020) 'Prediction of Novel Inhibitors of the Main Protease (M-pro) of SARS-CoV-2 through Consensus Docking and Drug Reposition.', *International journal of molecular sciences*, 21(11). doi: 10.3390/ijms21113793.
- Gordon, C. J. *et al.* 2020. Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. *Journal of Biological Chemistry*. doi: 10.1074/jbc.ra120.013679.
- Gurung, A. B. *et al.* 2020. Unravelling lead antiviral phytochemicals for the inhibition of SARS-CoV-2 Mpro enzyme through in silico approach. *Life Sciences*. Elsevier, 255(May), p. 117831. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117831.
- Harcourt, B. H. *et al.* 2004. Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Replicase Products and Characterization of Papain-Like Protease Activity. *Journal of Virology*. doi: 10.1128/jvi.78.24.13600-13612.2004.
- Haschke, M. *et al.* 2013. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in healthy human subjects. *Clinical Pharmacokinetics*. doi: 10.1007/s40262-013-0072-7.
- Hilgenfeld, R. 2014. From SARS to MERS: crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design. *The FEBS journal*. doi: 10.1111/febs.12936.
- Hoffmann, M., Schroeder, S., *et al.* 2020. Nafamostat mesylate blocks activation of SARS-CoV-2: New treatment option for COVID-19. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. doi: 10.1128/AAC.00754-20.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., *et al.* 2020. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- Holshue, M. L. *et al.* 2020. First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *New England Journal of Medicine*. doi: 10.1056/NEJMoa2001191.
- Huang, C. *et al.* 2020. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- Hudson, C. B. and Beaudette, F. R. 1932. Infection of the cloaca with the virus of infectious bronchitis. *Science*. doi: 10.1126/science.76.1958.34-a.
- Imai, Y. *et al.* 2005. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*. doi: 10.1038/nature03712.
- Ivanov, K. A. and Ziebuhr, J. 2004. Human Coronavirus 229E Nonstructural Protein 13: Characterization of Duplex-Unwinding, Nucleoside Triphosphatase, and RNA 5'-Triphosphatase Activities. *Journal of Virology*. doi: 10.1128/jvi.78.14.7833-7838.2004.
- Iwata-Yoshikawa, N. *et al.* 2019. TMPRSS2 Contributes to Virus Spread and Immunopathology in the Airways of Murine Models after Coronavirus Infection. *Journal of Virology*. doi: 10.1128/jvi.01815-18.
- Jin, Z., Zhao, Y., *et al.* 2020. Structural basis for the inhibition of SARS-CoV-2 main protease by antineoplastic drug carmofur. *Nature structural & molecular biology*. doi: 10.1038/s41594-020-0440-6.
- Jin, Z., Du, X., *et al.* 2020. Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *Nature*. Springer US. doi: 10.1038/s41586-020-2223-y.
- Joshi, R. S. *et al.* 2020. Discovery of Potential Multi-Target-Directed Ligands by Targeting Host-specific SARS-CoV-2 Structurally Conserved Main Protease\$. *Journal of biomolecular structure & dynamics*. doi: 10.1080/07391102.2020.1760137.
- Khan, A. *et al.* 2017. A pilot clinical trial of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome. *Critical Care*. doi: 10.1186/s13054-017-1823-x.
- Kuo, L., Hurst, K. R. and Masters, P. S. 2007. Exceptional Flexibility in the Sequence Requirements for Coronavirus Small Envelope Protein Function. *Journal of Virology*. doi: 10.1128/jvi.01577-06.
- Kupferschmidt, K. 2020. These drugs don't target the coronavirus—they target us. *Science*. doi: 10.1126/science.abc0405.
- Li, S. W. *et al.* 2016. SARS coronavirus papain-like protease inhibits the TLR7 signaling pathway through removing Lys63-linked polyubiquitination of TRAF3 and TRAF6.

- International Journal of Molecular Sciences*. doi: 10.3390/ijms17050678.
- Li, X. *et al.* 2020. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Elsevier Ltd, 10(2), pp. 102–108. doi: 10.1016/j.jpha.2020.03.001.
- Lu, R. *et al.* 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- Luk, H. K. H. *et al.* 2019. Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. *Infection, Genetics and Evolution*. doi: 10.1016/j.meegid.2019.03.001.
- McBride, R., van Zyl, M. and Fielding, B. C. 2014. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses*. doi: 10.3390/v6082991.
- Meenakshisundaram, B. and Robert, S. R. 2020. Computational Target-Based Drug Repurposing of Elbasvir, an Antiviral Drug Predicted to Bind Multiple SARS-CoV-2 Proteins. *chemRxiv*. doi: 10.26434/chemrxiv.12084822.v1.
- Mirza, M. U. and Froeyen, M. 2020. Structural elucidation of SARS-CoV-2 vital proteins: Computational methods reveal potential drug candidates against main protease, Nsp12 polymerase and Nsp13 helicase. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. doi: 10.1016/j.jpha.2020.04.008.
- Morse, J. S. *et al.* 2020. Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-nCoV. *ChemBioChem*. doi: 10.1002/cbic.202000047.
- Nutho, B. *et al.* 2020. Why are lopinavir and ritonavir effective against the newly emerged coronavirus 2019? Atomistic insights into the inhibitory mechanisms. *Biochemistry*. doi: 10.1021/acs.biochem.0c00160.
- Okada, M. *et al.* 2005. The development of vaccines against SARS corona virus in mice and SCID-PBL/hu mice. *Vaccine*, 23(17–18), pp. 2269–2272. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.01.036.
- Oudit, G. Y. *et al.* 2009. SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS. *European Journal of Clinical Investigation*. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02153.x.
- Pinto, D. *et al.* 2020. Structural and functional analysis of a potent sarbecovirus neutralizing antibody. *bioRxiv*. doi: 10.1101/2020.04.07.023903.
- Plewczynski, D. *et al.* 2007. In silico prediction of SARS protease inhibitors by virtual high throughput screening. *Chemical Biology and Drug Design*. doi: 10.1111/j.1747-0285.2007.00475.x.
- Prajapat, M. *et al.* 2020. Drug targets for corona virus: A systematic review. *Indian Journal of Pharmacology*. doi: 10.4103/ijp.IJP_115_20.
- Quimque, M. T. J. *et al.* 2020. Not One, But Five: Virtual Screening-Driven Drug Discovery of SARS-CoV2 Enzyme Inhibitors Targeting Viral Attachment, Replication and Post-Translational Infection Mechanisms. *ChemRxiv*. doi: 10.26434/chemrxiv.12170424.v1.
- Reiner, Ž. *et al.* 2020. Statins and the COVID-19 main protease: in silico evidence on direct interaction. *Archives of Medical Science*. doi: 10.5114/aoms.2020.94655.
- Rut, W. *et al.* 2020. Activity profiling of SARS-CoV-2-PLpro protease provides structural framework for anti-COVID-19 drug design. *bioRxiv*. doi: 10.1101/2020.04.29.068890.
- Schoeman, D. and Fielding, B. C. 2019. Coronavirus envelope protein: Current knowledge. *Virology Journal*. doi: 10.1186/s12985-019-1182-0.
- Shamsi, A. *et al.* 2020. Glecaprevir and Maraviroc are high-affinity inhibitors of SARS-CoV-2 main protease: Possible therapeutic implication in COVID-19. *Bioscience reports*, 0(June), pp. 1–8. doi: 10.1042/BSR20201256.
- Shum, K. T. and Tanner, J. A. 2008. Differential inhibitory activities and stabilisation of DNA aptamers against the SARS coronavirus helicase. *ChemBiochem: a European journal of chemical biology*. doi: 10.1002/cbic.200800491.
- Simmons, G. *et al.* 2004. Characterization of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) spike glycoprotein-mediated viral entry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. doi: 10.1073/pnas.0306446101.
- Subissi, L. *et al.* 2014. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America*. doi: 10.1073/pnas.1323705111.
- Tsuji, M. 2020. Potential anti-SARS-CoV-2 drug candidates identified through virtual screening of the ChEMBL database for compounds that target the main coronavirus protease. *FEBS open bio*. doi: 10.1002/2211-5463.12875.
- Umesh *et al.* 2020. Identification of new anti-nCoV drug chemical compounds from Indian spices exploiting SARS-CoV-2 main protease as target. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. Taylor & Francis, 0(0), pp. 1–9. doi: 10.1080/07391102.2020.1763202.
- Venkatagopalan, P. *et al.* 2015. Coronavirus envelope (E) protein remains at the site of assembly. *Virology*. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.005.
- Walls, A. C. *et al.* 2020. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
- Wan, Y. *et al.* 2020 Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*. doi: 10.1128/jvi.00127-20.
- Wang, M. *et al.* 2020. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Research*. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0.
- Wang, M. Y. *et al.* 2018. A comprehensive in silico method to study the QSTR of the aconitine alkaloids for designing novel drugs. *Molecules*. doi: 10.3390/molecules23092385.
- Wang, Q. M. *et al.* 1997 A continuous colorimetric assay for rhinovirus-14 3C protease using peptide p-nitroanilides as substrates. *Analytical Biochemistry*. doi: 10.1006/abio.1997.2315.
- Wang, Y. and Liu, L. 2016. The membrane protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus functions as a novel cytosolic pathogen-associated molecular pattern to promote beta interferon induction via a toll-like-receptor-related TRAF3-independent mechanism. *mBio*. doi: 10.1128/mBio.01872-15.
- Weiss, S. R. and Leibowitz, J. L. 2011. *Coronavirus pathogenesis*. 1st edn, *Advances in Virus Research*. 1st edn. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2.
- Williams, A. E. and Chambers, R. C. 2014. The mercurial nature of neutrophils: Still an enigma in ARDS?. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*. doi: 10.1152/ajplung.00311.2013.
- De Wit, E. *et al.* 2016. SARS and MERS: Recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*. doi: 10.1038/nrmicro.2016.81.
- Wrapp, D. *et al.* 2020. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. doi: 10.1126/science.aax0902.
- Wu, C. *et al.* 2020. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. doi: 10.1016/j.apsb.2020.02.008.
- Wu, K. *et al.* 2012. Mechanisms of host receptor adaptation by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of Biological Chemistry*. doi: 10.1074/jbc.M111.325803.
- Xu, Z. *et al.* 2020. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- Xue, X. *et al.* 2007. Production of Authentic SARS-CoV Mpro with Enhanced Activity: Application as a Novel Tag-cleavage Endopeptidase for Protein Overproduction. *Journal of Molecular Biology*. doi: 10.1016/j.jmb.2006.11.073.
- Yamamoto, M. *et al.* 2016. Identification of nafamostat as a potent inhibitor of middle east respiratory syndrome Coronavirus s protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. doi: 10.1128/AAC.01043-16.
- Yang, H., Bartlam, M. and Rao, Z. 2006. Drug Design Targeting the Main Protease, the Achilles Heel of Coronaviruses', *Current Pharmaceutical Design*. doi: 10.2174/138161206779010369.
- Yu, L. *et al.* 2016. Angiotensin-(1-5), an active mediator of renin-angiotensin system, stimulates ANP secretion via Mas receptor. *Peptides*. doi: 10.1016/j.peptides.2016.09.009.
- Yuan, L. *et al.* 2015. P53 degradation by a coronavirus papain-like protease suppresses type I interferon signaling.

- Journal of Biological Chemistry*. doi: 10.1074/jbc.M114.619890.
- Zhang, H. and Baker, A. 2017. Recombinant human ACE2: Acing out angiotensin II in ARDS therapy. *Critical Care*. doi: 10.1186/s13054-017-1882-z.
- Zhang, L., Lin, D., Sun, X., Curth, U., *et al.* 2020. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science*. doi: 10.1126/science.abb3405.
- Zhang, L., Lin, D., Sun, X., Rox, K., *et al.* 2020. X-ray Structure of Main Protease of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2 Enables Design of α -Ketoamide Inhibitors. *bioRxiv*. doi: 10.1101/2020.02.17.952879.
- Zhou, P. *et al.* 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. Springer US, 579(7798), pp. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- Zhou, Y. *et al.* 2010. A Single Asparagine-Linked Glycosylation Site of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Glycoprotein Facilitates Inhibition by Mannose-Binding Lectin through Multiple Mechanisms. *Journal of Virology*. doi: 10.1128/jvi.00554-10.