

Aktivitas Quercetin sebagai Penghambat Sar-Cov2 Kajian Molekular Docking pada 3CLpro, PLpro, DAN NSP3.

The Sar-Cov2 Inhibitor of Quercetin Activity. A Docking Molecular Studies on 3CLpro, PLpro, AND NSP3.

Ika Fajrin Kurnia Aryanti⁽¹⁾, Jatmiko Susilo⁽¹⁾

⁽¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo, Ungaran, Indonesia.

E-mail: jmikosusilo@gmail.com

ABSTRAK

Wabah COVID-19 terbukti menjadi bencana melanda seluruh dunia dan belum ada pengobatan antivirus khusus yang direkomendasikan untuk COVID-19. Upaya pengembangan inhibitor baru, spektrum luas, dengan toksisitas rendah sangat dibutuhkan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis afinitas *docking* quercetin pada 3CLpro, PLpro dan NSP3. Penelitian *in silico* dengan pemodelan quercetin sebagai senyawa atau kandidat obat antivirus Covid-19 (SARS-CoV-2) yang dievaluasi afinitas *docking* pada 3CLpro, PLpro dan NSP3 secara kimia komputasi menggunakan software PLANTS dan YASARA. Hasil: Afinitas *docking* dalam penelitian kami terhadap protein target 3CLpro, PLpro dan NSP3 masing-masing RMSD: 70,3590; -79,1524, dan -87,3134 kurang dari 2 Å yang menunjukkan memiliki potensi sebagai kandidat obat. Quercetin berpotensi dapat dikembangkan sebagai kandidat inhibitor SAR-CoV-2, dan senyawa ini dapat diperoleh dari berbagai etnofarmakologi yang banyak tumbuh dan telah digunakan secara empiris turun temurun oleh masyarakat Indonesia.

Kata kunci: *quercetin; PLpro; 3CLpro; NSP3; SAR-Cov-2*

ABSTRACT

The COVID-19 outbreak is proving to be a worldwide disaster and there is no specific antiviral treatment recommended for COVID-19. Efforts to develop new, broad-spectrum, low-toxicity inhibitors are urgently needed. This study aimed to analyze the binding affinity of quercetin on 3CLpro, PLpro and NSP3 proteins. In silico research by modeling Quercetin as a candidate compound or drug for the Covid-19 antiviral (SARS-CoV-2) evaluated for its binding affinity to 3CLpro, PLpro and NSP3 proteins in computational chemistry using PLANTS and YASARA software. Results: The tethering affinity in our study for the target proteins 3CLpro, PLpro and NSP3, RMSD: -70.3590; -79.1524; and -87.3134 respectively were less than 2 Å which indicated they had potential as drug candidates. Quercetin has the potential to be developed as a candidate for SAR-CoV-2 inhibitor, and this compound can be obtained from a variety of ethnopharmacology that is widely grown and has been used empirically for generations by the Indonesian people.

Keywords: *quercetin, PLpro; 3CLpro; NSP3; SAR-Cov-2.*

PENDAHULUAN

Wabah *coronavirus disease 2019* (COVID-19) terbukti menjadi bencana

terutama di negara-negara China, Italia, Iran dan Amerika Serikat dalam semua aspek, terutama kesehatan, sosial dan ekonomi

(WHO, 2020). Tidak ada pengobatan antivirus khusus yang direkomendasikan untuk COVID-19, dan saat ini belum tersedia vaksin (Wang, *et al*, 2020). Pengobatan bersifat simptomatik, dan suportif dengan oksigen untuk pasien dengan infeksi berat. (Wang *et al*, 2020) Interferon (IFN) rekombinan dengan ribavirin hanya memiliki efek terbatas terhadap infeksi CoVs. (Cinatl *et al*, 2003). Pencegahan merupakan cara terbaik untuk mengurangi dampak COVID-19 (CDCP, 2020)

Untuk pengembangan obat *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) -CoV-2 antara lain dengan menemukan molekul potensial dari obat melalui analisa bioinformatika protein yang dikodekan oleh gen virus *Corona*. Pemodelan homologi untuk membangun semua kemungkinan struktur protein virus, seperti *Papain Like protease* (PLpro), *main protease* (Mpro, 3-*Chymotrypsin-Like protease* atau 3CLpro), *Non Structural Protein* (NSPs), *RNA-dependent RNA-polymerase*, *helicase*, *spike*, dan lain-lain (Wu *et al*, 2020).

Skrining virtual berbasis struktur (*Structural Based Virtual Screening*, SBVS) menjadi teknik penting untuk penemuan obat modern (Santiago *et al*, 2012 ; Scior *et al*, 2012). *Docking* molekular banyak digunakan dalam *structure-based virtual screening* (SBVS), yang mengeksplorasi informasi struktural dari situs pengikatan target molekular untuk menilai basis data protein dan memprediksi pengikatan senyawa.

Penelitian ini bertujuan menganalisa dan membandingkan kekuatan pengikatan Quercetin terhadap protein PLpro, 3CLpro dan NSP3, yang diharapkan *quercetin* dapat dikembangkan sebagai kandidat inhibitor SAR-CoV-2.

METODE PENELITIAN

Penelitian *in silico* dengan pemodelan *quercetin* sebagai model kandidat antivirus

Covid-19 (SARS-CoV-2) dievaluasi secara kimia komputasi menggunakan metode *molecular docking*. *Docking score* pada protein 3CLpro, PLpro dan NSP3 menggunakan *software* PLANTS dan YASARA,

1. Alat dan bahan

Alat: Laptop 32 bit, internet, *software* Co-Pendrive linux-KDE (<http://www.pendrivelinux.com/run-pendrivelinux-2009-in-windows/>), PLANTS (<http://www.tcd.uni-konstanz.de/research/plants.php>), YASARA (<http://www.yasara.org/viewdl.html>) dan aplikasi ChemAxon (<http://www.chemaxon.com/marvin/download-user.html>)

Bahan : Struktur protein PLpro (kode PDB atau PDB ID : 3E9S), *Quercetin* dan ligan asli *Junctional Face Membrane* (JFM), *Tripartite Tricarboxylate Transporters* (TTT), dan *Adenosine-5-Diphosphoribose* (APR) dan yang sudah teruji sebagai inhibitor 3CLpro, PLpro, dan NSP3.

2. Metode Penelitian

a. Preparasi Validasi

Preparasi protein dan *ref_ligand* dilakukan dengan cara mengunduh kode PDB (*Protein Data Bank*) melalui <http://www.rcsb.org/pdb>. Selanjutnya, kode PDB dibuka dengan menggunakan aplikasi YASARA, ligan asli dihapus dan menyisakan protein target. Hasil ini disimpan sebagai protein.mol2. Tahap terakhir preparasi protein dan *ref_ligand* dengan dibuat file mol2 yang hanya berisi ligan asli.

b. Proses Validasi

Struktur senyawa ligan asli dibuka di jendela MarvinSketch. File ligan_2D.mrv dibuka di jendela MarvinSketch baru. Hasilnya disimpan sebagai ligan.mol2 di folder C:/docking_plants (File > Save as...). Dilakukan tambat-ulang (*redocking*),

melalui *PendriveLinux*. Proses *docking* menggunakan PLANTS dijalankan dan ditunggu hingga selesai dan disimpan sebagai YASARA *scene* di folder C:/PLANTS dengan nama *align.sce*. Selanjutnya nilai RMSD hasil *docking* dihitung.

c. Docking molekul Uji

Quercetin dipersiapkan menggunakan MarvinSketch dengan prosedur seperti pada tahap preparasi ligan saat melakukan validasi, kemudian *quercetin* ditambahkan pada PLpro, 3CLpro dan NSP3.

d. Analisa Interaksi Molekular

Visualisasi hasil *docking* masing-masing kode PDB menggunakan *software* YASARA yang dibantu oleh LigPlot+ dan PyMol untuk melihat interaksi 3D yang terjadi antara ligan asli dan *quercetin* pada PLpro dan asam amino yang berikatan (Purnomo, 2013).

e. Evaluasi Afinitas Ikatan

Afinitas ikatan ligan asli dan *quercetin* dinyatakan sebagai *docking scores*, yaitu. antara ligan asli dan *quercetin* pada PLpro, 3CLpro dan NSP3.

f. Analisa Data

Data *docking score* antara ligan asli dan *quercetin* yang berikatan dengan 3CLpro, PLpro dan NSP3 diuji *Annova* satu jalan dilanjutkan uji beda *Post Hoc*, dan Uji T

RNA untai tunggal) yang termasuk dalam keluarga Coronaviridae dan dibagi menjadi empat genera: alpha, beta, gamma, dan delta coronavirus (Yang & Leibowitz, 2015). Di antara coronavirus, beberapa memicu beberapa penyakit pernapasan, seperti SARS-CoV (Drosten *et al*, 2003), coronavirus sindrom pernafasan Timur Tengah (MERS-CoV) (Zaki *et al*, 2012), dan pandemi COVID-19 (Rabi *et al*, 2020). SARS-CoV-2 adalah beta coronavirus (Rabi *et al*, 2020) dengan gejala yang biasanya menyerupai infeksi virus pernapasan lainnya seperti influenza dan rhinovirus (Hsieh *et al*, 2020).

Setelah virion masuk ke sel inang, ترجمان kerangka baca terbuka 5'-terminal (*Open Read Frame*, ORF1a dan ORF1ab) dimulai untuk menghasilkan dua poliprotein besar, pp1a dan pp1ab, yang kemudian diproses oleh PLpro, dan 3CLpro (Mielech *et al*, 2015). Pemrosesan ini sangat penting untuk pelepasan 16 protein non-struktural (NSPs1–16).

Strategi *in silico* (misalnya, skrining virtual dan desain obat berbasis struktur) sangat efektif mengidentifikasi perancah aktif baru untuk target yang divalidasi. Oleh karena itu, pemilihan agen target tunggal atau multitarget obat merupakan titik awal kunci untuk penemuan obat.

Pada SARS-CoV-2, 3CLpro, PLpro dan NSp3 menampilkan berbagai konformasi untuk tulang punggung dan rantai samping dari loop fleksibel dengan nilai RMSD (*Root Mean Deviation Square*) masing-masing 1.9986 ; 0.4801 dan 0.3322, semua nilai RMSD <2 Å (Amstrong).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Coronavirus termasuk dalam keluarga besar genom single-stranded RNA (ssRNA,

Tabel 1. Nilai RMSD ligan asli dan *quercetin* terhadap 3CLpro, PLpro dan NSP3

JFM : Junctional Face Membrane

No.	Kode PDB	Ligan Asli (Å)		
		JFM (3CLpro)	TTT (PLpro)	APR (NSP3)
1	5R7Y	1.9986		
2	3E9S		0.4801	
3	6WOJ			0.3322

TTT :
Tripartite

Tricarboxylate Transporters

APR : Adenosine-5-Diphosphoribose

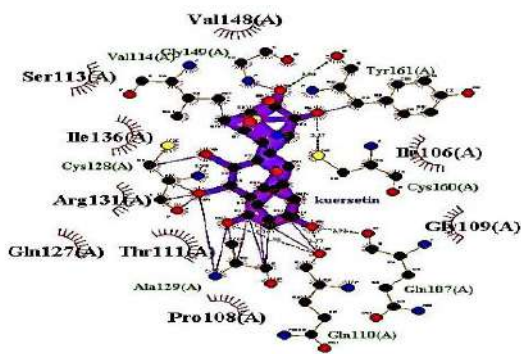
Tabel 2. Docking score ligan asli dan quercetin terhadap 3CLpro, PLpro dan NSP3

No.	Kode PDB	Ligan Asli (mean±SD)			Quercetin
		JFM (3CLpro)	TTT (PLpro)	APR (NSP3)	
1	5R7Y	-62,25± 0,676			-70,359 ± 0,328
2	3E9S		-110,335 ± 0,2605		-79,152 ± 0,497
3	6WOJ			-110,335±0,260	-79,152 ± 0,497

5R7Y : Struktur Kristal dari protease utama COVID-19 dalam kompleks dengan Z45617795

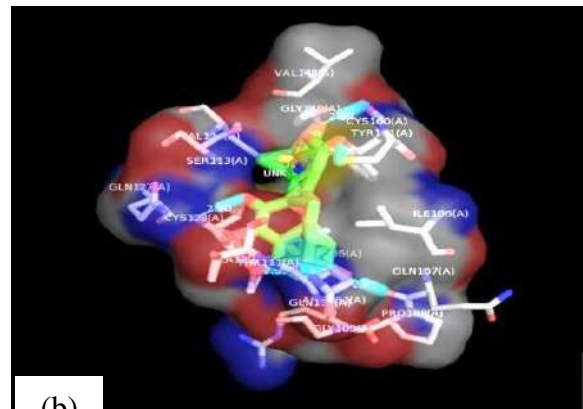
3E9S : Kelas baru penghambat protease/deubiquitinase seperti papain memblokir replikasi virus SARS

6 WOJ : Struktur makrodomain SARS-CoV-2 (NSP3) dalam kompleks dengan ADP-ribosa



(a)

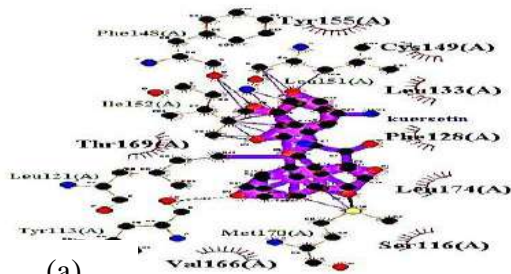
kuercetin_5r7y



(b)

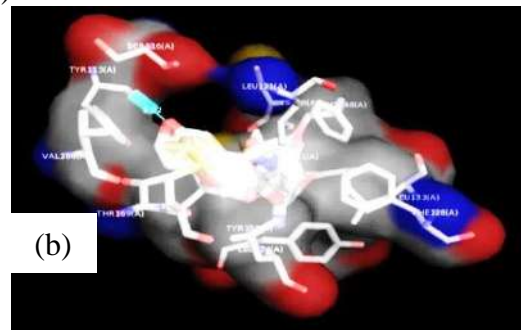
Gambar 1 Visualisasi interaksi quercetin dan ligan asli pada 3CLpro.

(a) Visualisasi 2D PDB 5R7Y; (b) Visualisasi 3D PDB 5R7Y



(a)

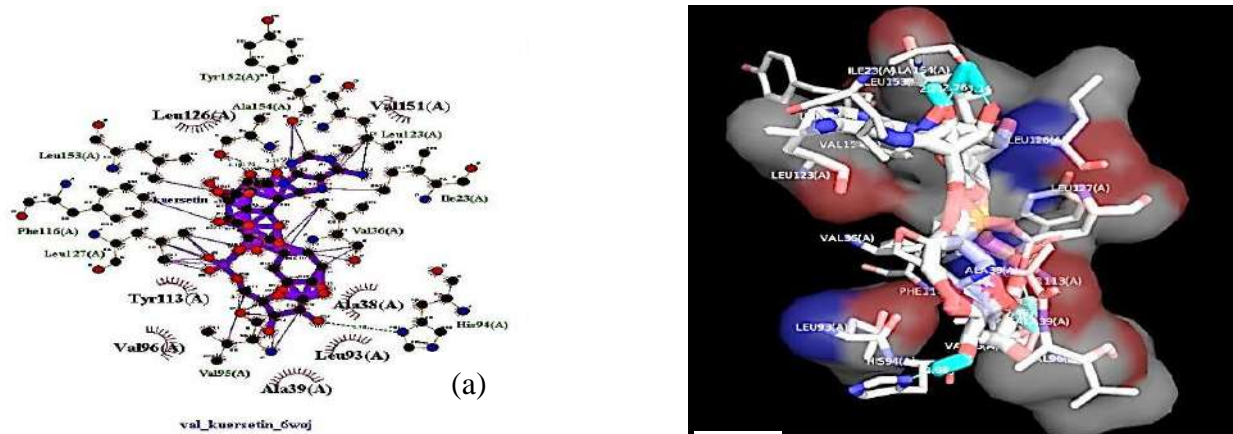
kuercetin_3e9s



(b)

Gambar 2. Visualisasi interaksi quercetin dan ligan asli pada PLpro.

(a) Visualisasi 2D PDB 3E9S; (b) Visualisasi 3D PDB 3E9S



Gambar 3. Visualisasi interaksi *quercetin* (b) ligan asli pada NSP3.
(a) Visualisasi 2D PDB 6WOJ; (b) Visualisasi 3D PDB 6WOJ

Tabel 3. Residu asam amino pada 3CLpro, PLpro, dan NSP3 dengan ligan asli dan *quercetin*

No.	Residu Asam Amino pada 3CLpro	Residu Asam Amino pada PLpro	Residu Asam Amino pada NSP3
1	VAL 148	TYR 155	LEU 153
2	GLY 149	CYS 149	PHE 116
3	VAL 114	LEU 133	LEU 127
4	SER 113	PHE 128	TYR 152
5	ILE 136	LEU 174	ALA 154
6	CYS 128	SER 116	LEU 126
7	ARG 131	LEU 151	TYR 113
8	GLN 127	MET 170	VAL 196
9	THR 111	VAL 166	VAL 195
10	ALA 129	PHE 148	ALA 39
11	PRO 108	ILE 152	LEU 93
12	GLN 110	THR 169	ALA 38
13	GLN 107	LEU 121	HIS 94
14	GLY 109	TYR 113	VAL 36
15	CYS 160		ILE 23
16	ILE 106		LEU 123
17	TYR 161		VAL 151

Tabel 4 *Docking score* antara *quercetin* dengan ligan asli, 3CLpro, PLpro, dan NSP3.

No		<i>Quercetin_5R</i> 7Y	ligan_3E 9S	<i>Quercetin_3E</i> 9S	ligan_6W OJ	<i>Quercetin_6W</i> OJ
1	Ligan_5R7Y	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
2	Quercetin_5R 7Y		<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
3	Ligan_3E9S			<0,001*	<0,001*	<0,001*
4	Quercetin_3E 9S				<0,001*	<0,001*

No	Quercetin_5R 7Y	ligan_3E 9S	Quercetin_3E 9S	ligan_6W OJ	Quercetin_6W OJ
5	Ligan_6WOJ				<0,001*

*Significant difference : 0,05

Uji Anava satu jalan, F_{hitung} : 2732,309
> F_{tabel} : 2,92., hal ini menunjukkan ada perbedaan bermakna *docking score* antara

quercetin, ligan asli, 3CLpro, PLpro, dan NSP3 ($p < 0,001$).

Tabel 5. *Docking score* antara quersetin, dan ligan asli pada 3CLpro, PLpro dan NSP3

No.	Kode PDB	Ligan	<i>Docking score</i>		Hasil	
			Mean	SD	t_{hitung}	t_{tabel}
1	5R7Y	Native JFM	-62,25	0,68	34,13	2,88
	RMSD: 1,9986 Å	Kuersetin	-70,359	0,33		
2	3E9S	Native TTT	-110,33	0,26	-175,73	2,88
	RMSD: 0,4801 Å	Kuersetin	-79,154	0,50		
3	6WOJ	Native APR	-136,178	3,72	-40,83	2,88
	RMSD: 0,5758 Å	Kuersetin	-87,3134	0,70		

*Significant difference : 0,05

Pembahasan

Pada Tabel 1 menunjukkan representasi nilai RMSD terutama untuk menganalisis stabilitas protein dan memprediksi perubahan konformasi protein. Nilai RMSD tergantung pada interaksi pengikatan dan energi antara protein dan ligan. Juga protein yang dioptimalkan memiliki nilai RMSD terendah. Dalam hal RMSD rendah berhubungan dengan pose pengikatan (idealnya kurang dari 1,5 Å, atau bahkan lebih baik, kurang dari 1 Å). Ini mewakili reproduksi yang baik dari pose yang benar.

Tabel 2. menunjukkan *docking score* PLpro (-110,335 ± 0,2605), dan NSP3 (-10,335±0,260) lebih kecil dibandingkan dengan quercetin (-9,152 ± 0,497). Semakin kecil *docking score* semakin tinggi potensi sebagai inhibitor terhadap reseptor (Purnomo, 2013)

Docking score digunakan untuk memperkirakan afinitas ikatan antara dua molekul setelah ditambahkan, yaitu antara

molekul quercetin dengan molekul target biologis obat seperti reseptor 3CLpro, PLpro dan NSPs. (Jain, 2006). Fungsi penilaian juga telah dikembangkan untuk memprediksi kekuatan interaksi antar molekul antara dua protein (Lesink *et al*, 2007) atau antara protein dan DNA (Robertson & Varani, 2007).

Gambar 1 menunjukkan quercetin dan ligan asli JFM berada di *pocket* yang sama. Hal ini membuktikan quercetin memiliki potensi sebagai inhibitor 3CLpro yang dapat menghambat replikasi virus Corona. Studi *docking* molekular Park *et al*, (2017). menunjukkan kaemferol dan quercetin dapat berperan sebagai inhibitor Plpro.

Protein 3CLpro atau Mpro (Zhang, *et al*, 2020), juga sebagai NSP5 (Wu *et al*, 2020) berperan membantu proses perubahan polipeptida replikasi menjadi protein fungsional dalam perbanyakan virus, sehingga menjadikannya sebagai target antivirus (Septiana, 2020). 3CLpro memiliki

lebih dari 11 situs pembelahan, dengan menghambat aktivitas protein ini akan menyebabkan terhambatnya replikasi virus, (Zhang *et al*, 2020) dan transkripsi protein non struktural virus, sehingga mengakibatkan kematian virus (Jin, *et al*, 2020).

Pengembangan antivirus spektrum luas berdasarkan penghambatan 3CLpro melibatkan penghambat aktivitas protease (Liang, 2006) dan menargetkan dimerisasi reguler 3CLpro (Hu *et al*, 2009). Senyawa biasanya dirancang untuk menargetkan antarmuka dimer di sekitar situs aktif (St. John *et al*, 2015), termasuk penghambatan situs pengikatan di situs aktif (situs S1), dan dimerisasi normal 3CLpro.

Enzim 3CL pro sangat penting untuk pematangan poliprotein SARS-CoV-2, sehingga dianggap sebagai target obat utama untuk pengobatan penyakit ini. Studi ini memberikan kandidat untuk optimasi inhibitor 3CLpro kuat yang menunjukkan efek antivirus terhadap SARS-CoV-2.

Gambar 2 menunjukkan *quercetin* berada di *pocket* yang sama dengan ligan asli TTT. PLpro berperan penting untuk pelepasan NSP-3 dari poliprotein virus yang sangat diperlukan untuk replikasi, dan telah diamati secara negatif mengatur respon imun bawaan inang terhadap infeksi virus dengan efek *deubiquitinating* dan *deISGylating* (Clemente *et al*, 2020), sehingga diakui sebagai target penting menekan replikasi virus SARS-CoV-2 (Freitas *et al*, 2020).

PLPro tidak hanya bertanggung jawab untuk memproses poliprotein virus, dan terlibat dalam respon imun terhadap virus sehingga berfungsi sebagai faktor virulensi bagi virus (Septiana, 2020), serta bertanggung jawab dalam proses translasi dan perbanyakan materi genetik (Zavoronkov *et al*, 2020).

Penelitian *in vitro* telah menemukan antivirus sintetis seperti Ribavirin sebagai

PLpro inhibitor dengan metode pengujian *virtual screening* dan *molecular docking*, namun efek samping yang berbahaya bagi kesehatan (Wu *et al*, 2020). Penelitian senyawa *Hesperetin*, dalam kulit jeruk (*Citrus aurantium*) mempunyai aktivitas penghambatan PLpro dari SARS-CoV (Park *et al*, 2017).

Quercetin berpotensi sebagai inhibitor RdRp melalui uji *docking* molekular (Felipe *et al*, 2020). Hal ini sejalan dengan penelitian Lung *et al*, (2020) obat tradisional Tiongkok mampu melawan aktivitas *RNA dependent RNA polymerase* (RdRp) SARS-CoV-2.

Quercetin dan kaempferol dalam daun jambu biji dapat berperan sebagai inhibitor PLpro (Park *et al*, 2017). Penemuan inhibitor efisien aktivitas protease atau penghambat aktivitas *deubiquitinating* yang merupakan salah satu pengembangan obat antivirus. (Park *et al*, 20012; Kemp, 2016) Studi Park *et al*. (2012), *tanshinones* (produk alami) mengikat lambat protease sistein SARS-CoV (3CLpro dan PLpro) namun lebih kuat daripada sistein virus yang diturunkan dari peptida dan molekul kecil inhibitor protease

PLpro merupakan target senyawa antivirus yang efektif (Septiana, 2020), karena fungsinya sebagai faktor virulensi bagi virus (Park *et al*, 2017). Penelitian ini membuktikan bahwa *quercetin* memiliki potensi sebagai inhibitor PLpro yang dapat menghambat replikasi virus *Corona*.

Gambar 3 menunjukkan visualisasi *quercetin* terhadap inhibitor NSP3 berada di *pocket* yang sama. Pembentukan kompleks replika penting untuk replikasi genom virus bergantung pada NSPs (Fehr & Perlman, 2015).

Protein fungsional *Coronavirus* atau NSPs terlibat dalam transkripsi RNA, translasi, sintesis protein, pemrosesan dan modifikasi, replikasi virus, dan infeksi inang. NSP3 merupakan komponen penting

replikasi / transkripsi virus Covid-19 (Lei *et al.*, 2018).

NSP3 berperan dalam proses replikasi virus SARS-CoV-2 (Wu *et al.*, 2020). Domain makro virus di NSP3 merupakan modul protein tersebar luas dengan berbagai fungsi, seperti mengikat ADP-ribosa (Makrynitsa *et al.*, 2019) dan menghilangkannya dari protein (Cho *et al.*, 2016). *Quercetin* berpotensi menghambat replikasi virus corona dengan aktivitas sebagai inhibitor NSP3.

Tabel 3 menunjukkan residu asam amino 3CLpro, PLpro dan NSP3. Residu asam amino merupakan rantai karbon yang mengandung gugus amino (NH_3^+), gugus karboksil (COOH), dan rantai samping karbon. Asam amino dihubungkan oleh gugus karboksil pada satu asam amino mengikat gugus amino pada asam amino lain dalam ikatan peptida. residu asam amino berperan penting memegang struktur spasial tertentu, atau untuk aktivitas spesifiknya.

Tabel 5 membuktikan ada perbedaan yang bermakna quercetin dengan 3CLpro, PLpro dan NSP3 ($p\text{val} < 0,001$). Uji beda (uji t) antara *quercetin*, ligan asli yang ditambahkan dengan ketiga protein menunjukkan ada perbedaan bermakna *docking score* masing-masing PDB (5R7Y, 3E9S dan 6WOJ) dengan ligan asli (JFM, TTT dan APR) dan quercetin, yaitu $t_{\text{hitung}}: 34,13; -175,73 \text{ dan } -40,83 > t_{\text{tabel}}: 2,88$ (CI: 95%).

SIMPULAN

Quercetine dari berbagai macam tumbuhan berpotensi sebagai inhibitor protein 3CLpro, PLpro, dan NSP3 SARS-CoV-2

Saat ini, terapi yang telah disetujui belum tersedia untuk pengobatan infeksi virus corona, oleh karena itu, pengembangan inhibitor baru, spektrum luas, toksisitas rendah sangat dibutuhkan. *Quercetin* perlu

dilakukan uji lebih lanjut untuk mengembangkan dengan uji *in vitro* dan *in vivo*

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis melaporkan tidak ada pernyataan kepentingan dan tidak memiliki afiliasi atau keterlibatan keuangan lain yang relevan dengan organisasi atau entitas mana pun.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada sejawat Hadi Purnomo yang telah berkenan memberikan masukan dan arahan dalam proses *docking* ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Freitas, B. T., Durie, I. A., Murray, J., Longo, J. E., Miller, H. C., Crich, D., Hogan, R. J., *et al.*, (2020). Characterization and Noncovalent Inhibition of the Deubiquitinase and deISGylase Activity of SARS-CoV-2 Papain-Like Protease. *ACS Infect. Dis.*, 6(8), 2099–2109. <https://doi.org/10.1021/acinfecdis.0c00168>
- Centers for Disease Control and Prevention (2019) Novel Coronavirus, Wuhan, China. 2020. Available online: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/prevention.html> (accessed on 13 April 2020).
- Cho, C.C., Lin, M. H., Chuang, C. Y., & Hsu, C. H. (2016). Macro Domain from Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) Is an Efficient ADP-ribose Binding Module: Crystal structure and biochemical studies. *J. Biol. Chem.*, 291(10), 4894–4902. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.700542>
- Cinatl, J., Morgenstern, B., Bauer, G., Chandra, P., Rabenau, H., & Doerr, H.

- W. (2003). Treatment of SARS with human interferons. *Lancet (London, England)*, 362(9380), 293–294. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)13973-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13973-6)
- Clemente, V., D'Arcy, P., & Bazzaro, M. (2020). Deubiquitinating Enzymes in Coronaviruses and Possible Therapeutic Opportunities for COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(10), 3492. <https://doi.org/10.3390/ijms21103492>
- Drosten, C., Günther, S., Preiser, W., van der Werf, S., Brodt, H. R., Becker, S., et al, (2020). Flavonoid Glycosides and Their Putative Human Metabolites as Potential Inhibitors of the SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and RNA-dependent RNA Polymerase (RdRp). *Brasil. Int J Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*; 115: e200-207. <https://doi.org/10.1590/0074-02760200207>
- Fehr, A.R., & Perlman, S. (2015). “Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis,” in *Coronaviruses: Methods and Protocols*, eds H. J. Maier, E. Bickerton and P. Britton (New York, NY: Springer New York), 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
- Hsieh, W. H., Cheng, M. Y., Ho, M. W., Chou, C. H., Lin, P. C., Chi, C. Y., et al, (2020). Featuring COVID-19 cases via screening symptomatic patients with epidemiologic link during flu season in a medical center of central Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 53(3), 459–466. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.008>
- Hu, T., Zhang, Y., Li, L., Wang, K., Chen, S., Chen, J., et al, (2009). Two adjacent mutations on the dimer interface of SARS coronavirus 3C-like protease cause different conformational changes in crystal structure. *Virology*, 388(2), 324–334. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.03.034>
- Jain, A. N. (2006). Scoring functions for protein-ligand docking. *Current protein & peptide science*, 7(5), 407–420. <https://doi.org/10.2174/138920306778559395>
- Jin, Z., Zhao, Y., Sun, Y., Zhang, B., Wang, H., Wu, Y., et al, (2020). Structural Basis for the Inhibition of SARS-CoV-2 main Protease by Antineoplastic drug carmofur. *J. Nat Struct Mol Biol*. <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0440-6>
- Kemp M. (2016). Recent Advances in the Discovery of Deubiquitinating Enzyme Inhibitors. *Prog. Med. Chem.*, 55, 149–192. <https://doi.org/10.1016/bs.pmch.2015.10.002>
- Lei, J., Kusov, Y., & Hilgenfeld, R. (2018). Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *J. Antiviral Res*, 149, 58–74. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.001>
- Lensink, M. F., Méndez, R., & Wodak, S. J. (2007). Docking and scoring protein complexes: CAPRI 3rd Edition. *Proteins*, 69(4), 704–718. <https://doi.org/10.1002/prot.21804>
- Liang P.H. (2006). Characterization and inhibition of SARS-coronavirus main protease. *Curr. Top. Med. Chem.*, 6 (4), 361–376. <https://doi.org/10.2174/156802606776287090>
- Lung, J., Lin, Y. S., Yang, Y. H., Chou, Y. L., Shu, L. H., Cheng, Y. C., et al, (2020). The potential chemical

- structure of anti-SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. *J. Med. Virol*, 92(6), 693–697. <https://doi.org/10.1002/jmv.25761>
- Makrynitsa, G.I., Ntonti, D., Marousis, K.D., Birkou, M., Matsoukas, M. T., Asami, S., *et al*, (2019). Conformational plasticity of the VEEV macro domain is important for binding of ADP-ribose. *J. Struct Biol*, 206(1), 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2019.02.008>
- Mielech, A. M., Deng, X., Chen, Y., Kindler, E., Wheeler, D. L., Mesecar, A. D., *et al*, (2015). Murine coronavirus ubiquitin-like domain is important for papain-like protease stability and viral pathogenesis. *J. Virol*, 89(9), 4907–4917. <https://doi.org/10.1128/JVI.00338-15>
- Omrani, A. S., Saad, M. M., Baig, K., Bahloul, A., Abdul-Matin, M., Alaidaroos, A. Y., *et al*, (2014). Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a retrospective cohort study. *Lancet. Infect. Dis*, 14(11), 1090–1095. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70920-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70920-X)
- Park, J.Y., Yuk, H.J., Ryu, H.W., Lim, S.H., Kim, K.S., Park, K.H., *et al*, (2017). Evaluation of polyphenols from *Broussonetia papyrifera* as coronavirus protease inhibitors. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*. 32(1), 504–515. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1265519>
- Park, J.Y., Kim, J.H., Kim, Y.M., Jeong, H.J., Kim, D. W., Park, K. H., *et al*, (2012). Tanshinones as selective and slow-binding inhibitors for SARS-CoV cysteine proteases. *Bioorg. Med. Chem*, 20(19), 5928–5935. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.07.038>
- Purnomo, H., 2013. *Kimia Komputasi Untuk Farmasi dan Ilmu Terkait – Uji In Silico Senyawa Antikanker*, Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Rabi, F. A., Al Zoubi, M. S., Kasasbeh, G. A., Salameh, D. M., & Al-Nasser, A. D. (2020). SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(3), 231. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030231>
- Rabenau, H., Panning, M., Kolesnikova, L., Fouchier, R. A., Berger, A., Burguière, A. M., *et al*, (2003). Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl. Med*, 348(20), 1967–1976. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030747>
- Robertson, T.A., & Varani, G. (2007). An all-atom, distance-dependent scoring function for the prediction of protein-DNA interactions from structure. *Proteins*, 66(2), 359–374. <https://doi.org/10.1002/prot.21162>
- Santiago, D.N., Pevzner, Y., Durand, A.A., Tran, M., Scheerer, R. R., Daniel, K., *et al*, (2012). Virtual target screening: validation using kinase inhibitors. *J. Chem. Inf. Model*, 52(8), 2192–2203. <https://doi.org/10.1021/ci300073m>
- Scior, T., Bender, A., Tresadern, G., Medina-Franco, J. L., Martínez-Mayorga, K., Langer, T., *et al*, (2012). Recognizing pitfalls in virtual screening: a critical review. *J. Chem. Inf. Model*, 52(4), 867–881. <https://doi.org/10.1021/ci200528d>
- Septiana, E. 2020. Prospek Senyawa Bahan Alam Sebagai Antivirus Dalam Menghambat SARS-CoV-2. Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI. *J BioTrends* Vol.11 No.1 Tahun 2020.
- St John, S. E., Therkelsen, M. D.,

- Nyalapatla, P. R., Osswald, H. L., Ghosh, A. K., & Mesecar, A. D. (2015). X-ray structure and inhibition of the feline infectious peritonitis virus 3C-like protease: Structural implications for drug design. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 25(22), 5072–5077. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.10.023>
- Wang, H., Wang, S., & Yu, K. (2020). COVID-19 infection epidemic: the medical management strategies in Heilongjiang Province, China. *Critical care (London, England)*, 24(1), 107. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-2832-8>
- World Health Organization Novel Coronavirus (2019-nCoV), Situation Report 1. 21 January 2020. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf> (accessed on 25 March 2020)
- Wu, C., Liu, Y., Yang, Y., Zhang, P., Zhong, W., Wang, Y., *et al*, (2020). Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *J Acta Pharmaceut Sin. B*, 10(5), 766–788. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.02.008>
- Yang, D., & Leibowitz, J. L. (2015). The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. *Virus research*, 206, 120–133. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.02.025>
- Zhang, H., Penninger, J.M., Li, Y., Zhong, N., & Slutsky, A.S. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Inten Care Med*, 46(4), 586–590. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9>
- Zaki, A. M., van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D., & Fouchier, R. A. (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl. J. Med*, 367(19), 1814–1820. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>
- Zhavoronkov, A, Aladinskiy, V., Zhebrak A, Aladinskiy, V., Terentiev, V., Vanhaelen, Q., *et al*, (2020). Potential COVID-2019 3C-Like Protease Inhibitors Designed Using Generative Deep Learning Approaches, ChemRxiv. <https://doi.10.26434/chemrxiv.118291.02.v2>