

Uji Aktivitas Senyawa Bahan Alam terhadap Enzim Mpro pada SARS-CoV-2 Secara *In Silico*

The In Silico Study of Natural Compounds Activity against Mpro in SARS-CoV-2

Syahrul Hidayat*, Afifah Cahyohartoto, Ayu Utami Dewi, Izzah Al Mukminah, Oktavia Sabetta Sigalingging
Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

*Corresponding author: syahrul17001@mail.unpad.ac.id

Submitted: 31 December 2020

Accepted: 9 June 2021

Published: 30 November 2021

Abstract

Background: More than 200 countries have experienced more than 30 million positive cases of COVID-19, with a death rate of over 1 million. More than 300 thousand cases of COVID-19 have been confirmed in Indonesia, with 11 thousand deaths recorded in September 2020. The drugs currently used include azithromycin, remdesivir, oseltamivir, and nelfinavir. However, these drugs are reported to have shortcomings, so further research is needed to find the active compounds to suppress COVID-19 effectively. In terms of finding active compounds that can act as antiviral agents for SARS-CoV-2, phytochemical studies of compounds from natural ingredients are continuously being carried out. Phentermin, luteoline-7-galactoside, maslinic acid, glizirizinic acid, plantaricin, terpineol, guaiol, linalool, scutellarine-7-galactoside, and galocatechin have been shown to inhibit the ACE-2 protein which is the entry point for SARS-CoV-2 in the epithelial cells of the human respiratory system. **Objective:** The study was conducted to discover the other potential of these natural compounds against the virus through interactions with the Mpro enzyme as an essential part of viral replication and transcription. **Methods:** The study was conducted with a molecular docking simulation of the test compound against the Mpro enzyme (<http://www.rcsb.org>, PDB ID: 6LU7). **Results:** Maslinic acid is the compound with the most potential interaction with Mpro with a Gibbs free energy of -8.73 kcal/mol, inhibition constant of 0.40 μM , and hydrogen bond interaction with the catalytic residue of Mpro, Cys145. **Conclusion:** Maslinic acid is the compound with the highest potentials for the Mpro in SARS-CoV-2.

Keywords: COVID-19, in silico, Mpro, molecular docking simulation

Abstrak

Pendahuluan: Lebih dari 200 negara telah mengalami 30 juta lebih kasus positif COVID-19 dengan angka kematian di atas 1 juta. Di Indonesia, telah terkonfirmasi 300 ribu lebih kasus COVID-19 dengan 11 ribu kasus kematian tercatat pada September 2020. Obat-obatan yang saat ini dijadikan pedoman terapi di antaranya, azitromisin, remdesivir, oseltamivir, dan nelfinavir. Akan tetapi, obat-obatan tersebut dilaporkan memiliki kekurangan sehingga penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menemukan senyawa aktif untuk menekan COVID-19 secara efektif dan efisien. Dalam hal pencarian senyawa aktif yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2, studi fitokimia terhadap senyawa-senyawa bahan alam terus dilakukan. Senyawa fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glizirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelar-7-galaktosida, dan galokatekin telah diketahui dapat menghambat protein ACE-2 yang merupakan tempat masuk SARS-CoV-2 pada sel epitel sistem pernapasan manusia. **Tujuan:** Penelitian dilakukan untuk menemukan potensi interaksi lain senyawa bahan alam tersebut terhadap tubuh virus melalui interaksi dengan enzim Mpro sebagai komponen penting dalam replikasi dan transkripsi virus. **Metode:** Penelitian dilakukan dengan simulasi penambatan molekuler senyawa uji terhadap enzim Mpro (<http://www.rcsb.org>, PDB ID: 6LU7). **Hasil:** Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, asam maslinat merupakan senyawa dengan interaksi terhadap Mpro paling potensial dengan energi bebas Gibbs sebesar -8,73 kkal/mol dan konstanta inhibisi 0,40 μM dan interaksi ikatan hidrogen dengan residu katalitik Mpro

Cys145. **Kesimpulan:** Asam maslinat merupakan senyawa dengan potensi aktivitas dan afinitas paling tinggi terhadap enzim Mpro pada SARS-CoV-2.

Kata kunci: COVID-19, *in silico*, Mpro, senyawa bahan alam, simulasi penambatan molekuler

PENDAHULUAN

Pada 14 September 2020, sebanyak 216 negara mengalami kasus positif COVID-19 dengan setidaknya sebanyak 37.152.125 jiwa terpengaruh dan menyebabkan kematian pada 1.073.323 penduduk dunia. Di Indonesia, kasus COVID-19 terkonfirmasi sebanyak 328.952 kasus positif, jumlah pasien yang telah sembuh sebanyak 251.481 serta 11.765 kasus kematian (WHO, 2020a).

COVID-19 merupakan penyakit infeksi pernapasan yang disebabkan oleh *severe acute respiratory syndrome coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (Wan dkk., 2020). SARS-CoV-2 merupakan virus golongan coronaviridae dari subgenus sarbecovirus yang dapat menginfeksi manusia serta beberapa spesies hewan (Wong dkk., 2020). Pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 mengalami gejala ringan sampai berat bahkan tidak mengalami gejala sama sekali. Gejala akibat infeksi ini di antaranya: demam, batuk kering, dan sesak napas (CDC, 2020; Chen dkk., 2020; Hui dkk., 2020; Tressler, 2020; WHO, 2020b).

Obat-obatan yang saat ini dijadikan pedoman terapi di antaranya, azitromisin, remdesivir, oseltamivir, dan nelfinavir. Akan tetapi, obat-obatan tersebut dilaporkan memiliki permasalahan terkait kardiotoxicitas serta inkompatibilitas terhadap obat antituberkulosis sedangkan disfungsi jantung serta tuberkulosis merupakan komorbid dari COVID-19. Oleh karena itu, pemberian obat-obatan ini memiliki risiko tinggi jika diberikan pada pasien dengan komorbid disfungsi jantung dan tuberkulosis (Chang & Sun, 2020; Chen dkk., 2006). Akibatnya, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menemukan senyawa aktif agar angka infeksi SARS-CoV-2 penyebab COVID-19 ini dapat diturunkan secara efektif dan efisien.

Dalam hal pencarian senyawa aktif yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2, studi fitokimia terhadap senyawa-senyawa bahan alam terus dilakukan. Beberapa senyawa bahan alam dari seluruh dunia seperti fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glizirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelarlin-7-galaktosida, dan galokatekin telah diketahui memiliki aktivitas terhadap protein ACE-2 pada manusia yang merupakan tempat masuk SARS-CoV-2 pada sel epitel nasofaring manusia (Iheagwam

& Rotimi, 2020; Vardhan & Sahoo, 2020, Anwar dkk., 2020; My dkk., 2020; Sharma & Shanavas, 2020). Kesepuluh senyawa tersebut memiliki potensi afinitas pada protein yang terdapat pada sel inang. Oleh karena itu, penemuan potensi kesepuluh senyawa tersebut terhadap tubuh SARS-CoV-2 perlu diketahui untuk memunculkan potensi terapi multitarget dari kesepuluh senyawa tersebut. Penelaahan potensi multitarget senyawa uji dilakukan untuk meningkatkan potensi aktivitas senyawa dalam mengeliminasi COVID-19 untuk meningkatkan efektivitas terapi COVID-19. Potensi terapi multitarget difokuskan pada protein target Mpro atau *main protease* yang merupakan alat untuk transkripsi dan replikasi SARS-CoV-2 (Xu dkk., 2020). *Main protease* merupakan protein nonstruktural yang memiliki ikatan peptida pada asam amino glutamin serta memiliki dyad katalitik pada residu asam amino Cys145 dan His41 (Almasi & Mohammadipناه, 2020). Protein Mpro tidak memiliki homolog pada manusia sehingga protein ini tepat untuk dijadikan target terapi multitarget kesepuluh senyawa terpilih (Pillaiyar dkk., 2016).

Untuk menemukan potensi multitarget tersebut, langkah-langkah yang dilakukan merupakan penelitian secara kimia komputasi atau *in silico*. Kimia komputasi juga dapat digunakan untuk simulasi sistem-sistem besar atau pada molekul protein, gas, padatan, cairan, dan Kristal cair serta menerapkan program tersebut pada sistem kimia nyata. Dengan kimia komputasi dapat memahami sifat dan perubahan dari molekul seperti energi, struktur, momen dipol, kepolaran, energi dan selisih energi (Prianto, 2008).

BAHAN DAN METODE

Perangkat keras dan perangkat lunak

Perangkat keras yang digunakan adalah personal computer dengan spesifikasi Intel® Core™ i5-6600 CPU @ 3,90 GHz (4CPUs), GPU Nvidia Geforce GTX 970 4 Gigabyte OC Edition, dan RAM 8 Gigabyte DDR4. Adapun pada pengujian secara *in silico* menggunakan perangkat lunak meliputi:

1. Program ChemOffice 2010 dan ChemDraw Ultra 12.0 (PerkinElmer Inc., diunduh di <http://www.cambridgesoft.com/>) yang digunakan untuk menggambar struktur 2D dan struktur 3D.

2. Program AutoDock 4.2.6 dan AutoDockTools 1.5.6 (The Scripps Research Institute, diunduh di <http://www.autodock.scripps.edu/>) untuk melakukan simulasi penambatan molekuler.
3. Program BIOVIA Discovery Studio 2017 yang diunduh di <http://www.accelrys.com/> untuk memvisualisasikan kompleks pdb, ikatan antara ligan dengan enzim Mpro, optimasi geometri, dan validasi.
4. Program Ligandscout untuk melakukan pemodelan farmakofor.

Akuisisi struktur kimia

Struktur 3D Mpro diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB) (<http://www.rcsb.org>, PDB ID: 6LU7). Sebagai hasil dari penggambaran kristalografi sinar-X, Mpro (6LU7) dikomplekskan dengan molekul N3. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan BIOVIA Discovery Studio 2017 R2 Klien. Struktur 3D senyawa uji digambar dan dioptimalkan menggunakan ChemOffice 2010, dan ChemDraw Ultra 12.0 (PerkinElmer Inc.). Nelfinavir dipilih sebagai senyawa pembanding. Struktur 3D nelvinafir diunduh dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Simulasi penambatan molekuler

AutodockTools 1.5.6 (*The Scripps research Institute, La Jolla*) digunakan untuk preparasi enzim dan ligan untuk penambatan molekuler. Hidrogen polar dan *Kollman charges* ditambahkan pada protein dan berkas disimpan sebagai PDBQT. *Gasteiger charges* ligan dihitung (Morris dkk., 2009; Weiner dkk., 1984). Ukuran kotak diatur pada $26 \times 52 \times 32$ pada koordinat $x = -9,732$; $y = 11,403$; dan $z = 68,925$ dengan jarak $0,375 \text{ \AA}$. *Genetic algorithm* diatur pada 100x pengulangan dan parameter lain diatur *default*. Autodock 4.2.6 digunakan untuk simulasi proses penambatan molekuler. Afinitas ikatan senyawa diteliti menggunakan *Discovery Studio Visualizer v17.2.0.1634* (BIOVIA, San Diego).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sejak Desember 2019, pandemi COVID-19 akibat SARS-CoV-2 telah menjadi permasalahan global yang utama (Sparrow, 2019). Hingga saat ini, obat untuk COVID-19 belum ditemukan, namun beberapa target obat yang potensial untuk menyembuhkan terapi COVID-19 telah diidentifikasi.

Salah satu target obat yang paling potensial dalam COVID-19 adalah enzim Mpro yang berperan penting dalam proses penerjemahan RNA virus menjadi poliprotein. Diperkirakan bahwa penghambatan enzim ini dapat menghentikan replikasi virus (Jin dkk., 2020).

Oleh karena itu, suatu studi kimia komputasi telah dilakukan untuk mengatasi wabah pandemi ini dengan cara menghambat protein Mpro dengan sepuluh senyawa uji, fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glisirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelarin-7-glukosida, dan galokatekin yang sebelumnya juga berpotensi terhadap protein ACE2 sebagai tempat masuk virus SARS-CoV-2 ke dalam sel epitel nasofaring inang (Hoffman dkk., 2020).

Kontrol penelitian simulasi penambatan molekuler digunakan untuk validasi parameter yang digunakan pada penelitian ini. Penambatan ulang senyawa N3 dari kompleks protein 6LU7 dilakukan pada situs ikatan Mpro. Nilai yang diukur berupa *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang menunjukkan simpangan dari pose ikatan yang terjadi pada ligan uji dibandingkan dengan pose ikatan referensi (hasil unduhan dari PDB). Semakin rendah nilai RMSD, semakin baik model yang ditambahkan pada struktur target (Sherman dkk., 2006).

Hasil validasi simulasi penambatan molekuler menunjukkan RMSD sebesar $2,19 \text{ \AA}$. Hasil validasi penambatan molekuler memenuhi syarat jika $\text{RMSD} \leq 3 \text{ \AA}$ (Jain & Nicholls, 2008). Hal ini menunjukkan simulasi penambatan molekuler yang dilakukan telah memenuhi kualifikasi metode.

Studi yang dilakukan pada sepuluh senyawa uji, seperti: fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glisirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelarin-7-galaktosida, dan galokatekin terhadap protein Mpro telah menghasilkan parameter-parameter yang mengukur aktivitas dan afinitas senyawa terhadap protein Mpro menggunakan simulasi penambatan molekuler. Hasil penambatan molekuler dibandingkan dengan nelfinavir yang memiliki mekanisme sebagai penghambat enzim *main protease* pada SARS-CoV-2 (Xu dkk., 2020). Terdapat empat parameter yang digunakan (Tabel 1), yaitu: energi Gibbs, konstanta inhibisi, dan interaksi ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada Mpro.

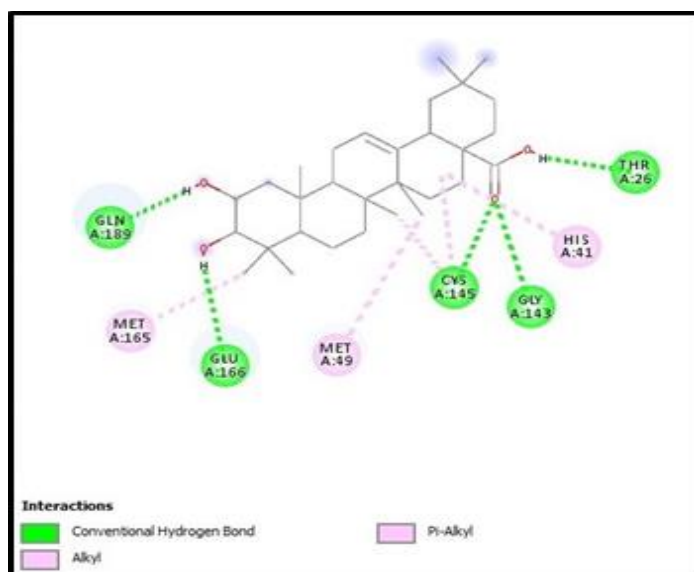
Tabel 1 Parameter penambatan molekuler senyawa uji dengan enzim Mpro

No.	Senyawa	Energi Bebas (kkal/mol)	Ki (µM)	Interaksi Ikatan Hidrogen dengan Residu Asam Amino
1.	Nelfinavir	-13,02	0,00028	Gln189, Gly143, Glu166
2.	Fentermin	-5,18	159,92	Gln189
3.	Luteolin-7-galaktosida	-8,09	1,17	Thr190, Gly143, Ser144, Leu141, His163
4.	Asam maslinat	-8,73	0,40152	Gln189, Glu166, Cys145, Gly143, Thr26
5.	Asam glizirizinat	-5,91	46,28	Gly143, Cys145, Glu166, Gly170
6.	Plantarisin	-0,81	254,98	Gln192 dan Thr190
7.	Terpineol	-5,32	124,98	Glu166
8.	Guaiol	-7,14	5,82	Glu166
9.	Linalool	-3,96	1,26	Gln189
10.	Skutellarin-7-glikosida	-4,43	577,83	Asp187, His41, Glu166
11.	Galokatekin	-6,43	19,42	Asn142, Gln189, Arg188, Glu166, Gln192, Thr190

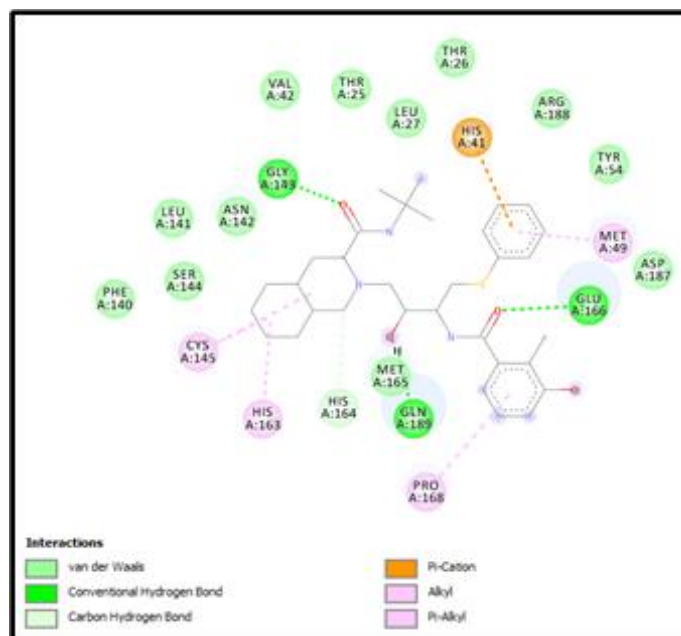
Berdasarkan hasil yang didapatkan (Tabel 1), senyawa asam maslinat memiliki energi Gibbs yang lebih besar dari senyawa uji lain, yaitu sebesar -8,73 kkal/mol yang mengindikasikan bahwa interaksi asam maslinat dengan Mpro berada pada tingkat yang lebih tinggi daripada senyawa uji yang lain. Semakin negatif energi Gibbs, semakin stabil ikatan yang terjadi sehingga afinitas senyawa terhadap protein target semakin baik (Kitchen dkk., 2004).

Parameter lain yang diukur adalah konstanta inhibisi (Ki). Nilai Ki yang kecil menunjukkan potensi kemampuan farmakologis senyawa uji dalam dosis yang lebih kecil (Du dkk., 2016). Asam maslinat memiliki nilai Ki 0,40 µM yang lebih kecil dari senyawa uji yang lain. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa asam maslinat memiliki potensi farmakologis yang lebih tinggi daripada senyawa uji lain.

Analisis hasil penambatan molekuler penting untuk meninjau kemampuan senyawa uji untuk berinteraksi dengan *Ligand Binding Domain* (LBD) dari protein target. Residu asam amino pada LBD enzim Mpro yang berperan sebagai situs katalitik adalah Cys145 dan His41 sehingga senyawa antagonistik yang mampu menghambat LBD melalui ikatan dengan residu asam amino ini dengan interaksi ikatan hidrogen menyebabkan replikasi virus tidak dapat terjadi (Tahir dkk., 2020; Tripathi dkk., 2020). Asam maslinat membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan residu Cys145 yang mengindikasikan bahwa asam maslinat berpotensi besar sebagai antagonis Mpro dalam penghambatan replikasi SARS-CoV-2 (Gambar 1) dibandingkan sembilan senyawa lainnya serta nelfinavir sebagai obat pembanding (tidak membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan situs katalitik) (Gambar 2).



Gambar 1. Interaksi asam maslinat dengan enzim Mpro



Gambar 2. Interaksi nelfinavir dengan enzim Mpro

KESIMPULAN

Berdasarkan studi yang telah dilakukan, dari sepuluh senyawa uji, asam maslinat memiliki potensi afinitas dan aktivitas paling tinggi terhadap enzim Mpro pada SARS-CoV-2. Asam maslinat memiliki energi bebas Gibbs sebesar $-8,73$ kkal/mol dan konstanta inhibisi $0,40$ μ M yang menunjukkan potensi ikatan dan farmakologis yang tinggi terhadap Mpro. Asam maslinat membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan residu katalitik Mpro Cys145 yang menunjukkan potensi penghambatan pada Mpro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran yang telah membantu dalam memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Almasi, F. & Mohammadipannah, F. (2020). Hypothetical Targets and Plausible Drugs of Coronavirus Infection Caused by SARS-CoV-2. *Transboundary and Emerging Diseases*; 68; 318-332.

Anwar, F., Altayb, H. N., Al-Abbasi, F. A., Al-Malki, A. L., Kamal, M. A. & Kumar, V. (2020). Antiviral Effects of Probiotic Metabolites on COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*; 2020; 1–10.

CDC. (2020). Symptoms of Coronavirus. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/symptoms-testing/symptoms.html>. Accessed: 20 Oktober 2020.

Chang, R. & Sun, W, Z. (2020). Repositioning Chloroquine as Antiviral Prophylaxis against COVID-19: Potential and Challenges. *Drug Discov Today*; 25; 1786-1792.

Chen, C. Y., Wang, F. L. & Lin, C. C. (2006). Chronic Hydroxychloroquine Use Associated with QT Prolongation and Refractory Ventricular Arrhythmia. *Clinical Toxicology*; 44; 173-175.

Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X. & Zhang, L. (2020). Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia in Wuhan, China: a Descriptive study. *Lancet*; 395; 507–513.

Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., Ji, X. L. & Liu, S. Q. (2016). Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *International Journal of Molecular Sciences*; 17; 1-34.

Hui, D. S., Azhar, E., Madani, T. A., Ntoumi, F., Kock, R., Dar, O., Ippolito, G., Mchugh, T. D., Memish, Z. A., Drosten, C., Zumla, A. & Petersen, E. (2020). The Continuing 2019-nCoV Epidemic Threat of Novel Coronaviruses to Global Health - the Latest 2019 Novel Coronavirus Outbreak in Wuhan, China. *International Journal of Infectious Diseases*; 91; 264–266.

- Iheagwam, F. N., Rotimi, S. O. (2020). Computer-Aided Analysis of Multiple SARS-CoV-2 Therapeutic Targets: Identification of Potent Molecules from African Medicinal Plants. *Scientifica*; 2020; 1-25.
- Jain, A. N. & Nicholls, A. (2008). Recommendations for Evaluation of Computational Methods. *Journal of Computer-aided Molecular Design*; 22; 133-139.
- Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., Zhang, B., Li, X. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature*; 582; 289-293.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R. & Bajorath, J. (2004). Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications. *Nature Reviews. Drug Discovery*; 3; 935–949.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry*; 30; 2785–2791.
- My, T., Loan, H. T. P., Hai, N. T. T., Hieu, L. T., Hoa, T. T., Thuy, B. T. P., Quang, D. T., Triet, N. T., Anh, T. T. V., Dieu, N. T. X., Trung, N. T., Hue, N. V., Tat, P. V., Tung, V. T. & Nhung, N. T. A. (2020). Evaluation of the Inhibitory Activities of COVID-19 of Melaleuca Cajuputi Oil Using Docking Simulation. *Chemistry Select*; 5; 6312-6320.
- Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V., Hayashi, Y. & Jung, S. (2016). An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome–Coronavirus (SARS-CoV) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy. *Journal of Medicinal Chemistry*; 59; 6595–6628.
- Prianto, B. (2008). Peran Kimia Komputasi dalam Mempelajari Mekanisme Reaksi Proses Elektrolisis NaCl Menjadi NaClO₄. *Berita Dirgantara*; 9; 79-82.
- Sharma, P. & Shanavas, A. (2020). Natural Derivatives with Dual Binding Potential against SARS-CoV-2 Main Protease and Human ACE2 Possess Low Oral Bioavailability: A Brief Computational Analysis. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*; 39; 1–12.
- Sherman, W., Beard, H. S. & Farid, R. (2006). Use of an Induced Fit Receptor Structure in Virtual Screening. *Chemical Biology & Drug Design*; 67; 83-84.
- Sparrow A. (2020). How China’s Coronavirus Is Spreading-and How to Stop It. <https://foreignpolicy.com/2020/01/26/2019-ncov-china-epidemic-pandemic-the-wuhan-coronavirus-a-tentative-clinical-profile/>. Accessed: 20 Oktober 2020.
- Tahir, Q. M., Alqahtani, S. M., Alamri, M. A., et al. (2020). Structural Basis of SARS-CoV-2 3CLpro and Anti-COVID-19 Drug Discovery from Medicinal Plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*; .
- Tressler Hessen, M. (2020). Novel Coronavirus Information Center: Expert Guidance and Commentary. <https://www.elsevier.com/connect/coronavirus-information-center>. Accessed: 20 Oktober 2020.
- Tripathi, M. K., Singh, P., Sharma, S., Singh, T. J., Ethayathulla, A. S. & Kaur, P. (2020). Identification of Bioactive Molecules from *Withania somnifera* (Ashwagandha) as SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitor. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*; 39; 1-14.
- Vardhan, S. & Sahoo, S. K. (2020). In Silico ADMET and Molecular Docking Study on Searching Potential Inhibitors from Limonoids and Triterpenoids for COVID-19. *Computers in Biology and Medicine*; 124; 1-12.
- Wan, Y., Shanga, J., Grahamb, R., Baricb, R. S. & Li, F. (2020). Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*; 94; 1-9.
- Weiner, S. J., Kollman, P. A., Case, D. A., Singh, U. C., Ghio, C., Alagona, G., Profeta, S. & Weiner, W. (1984). A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins. *Journal of the American Chemical Society*; 106; 765–784.
- WHO. (2020a). Clinical Management of Severe Acute Respiratory Infection (SARI) When COVID-19 Disease is Suspected. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf>. Accessed: 10 Oktober 2020.
- WHO. (2020b). Coronavirus Disease (COVID-19) Pandemic. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Accessed: 20 Oktober 2020.
- Wieder, M., Perricone, U., Seidel, T., Boesch, S. & Langer, T. (2016). Comparing Pharmacophore

Models Derived from Crsytal Structures and from Molecular Dynamics Simulations. *Monatshefte für Chemie*; 147; 553-563.

Wong, G., Bi, Y. B., Wang, Q. H., Chen, X. W., Zhang, Z. G. & Yao, Y. G. (2020). Zoonotic Origins of Human Coronavirus 2019 (HCoV-19/SARS-CoV-2): why is this work important?. *Zoological Research*, 41; 213–219.

Xu Z, Peng C, Shi Y., Zhu, Z., Mu, K., Wang, X. & Zhu, W. (2020). Nelfinavir was Predicted to be a Potential Inhibitor of 2019-nCov Main Protease by an Integrative Approach Combining Homology Modelling, Molecular Docking and Binding Free Energy Calculation. New York: BioRxiv.