

Review Paper

Investigating the Mechanism of Action of SARS-CoV-2 Virus for Drug Designing



Fatemeh Shabani¹, Alireza Farasat², Peyman Namdar³, *Nematollah Gheibi²

1. Department of Biochemistry, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.
3. Department of Surgery, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.



Citation Shabani F, Farasat A, Namdar P, Gheibi N. Investigating the Mechanism of Action of SARS-CoV-2 Virus for Drug Designing. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2020; 24(2):158-177. <https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.2.708.3>

doi <https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.2.708.3>



Received: 18 Apr 2020

Accepted: 05 May 2020

Available Online: 01 Jun 2020

Keywords:

Novel coronavirus, Coronavirus disease 2019, COVID-19, SARS-CoV-2, Pneumonia

ABSTRACT

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is a viral pneumonia emerged in December 2019 in Wuhan, China. Its cause is a new virus from the coronavirus family scientifically named Coronavirus Acute Respiratory Syndrome 2 (SARS-CoV-2). In this review study, articles published in English until March 23, 2020 on new coronavirus infection were reviewed. These articles are obtained by searching in PubMed, Scopus and Google scholar databases using keywords "SARS-CoV-2", "COVID-19" and "Coronavirus". The latest COVID-19 statistics and information were extracted from the websites of World Health Organization and the Centers for Disease Control and Prevention. We investigated the effect of different compounds on the key macromolecules in promoting SARS-CoV-2 infection using computational methods and bioinformatics analysis that can be considered as the best targets for designing inhibitory drugs. The most important macromolecules were Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) and Transmembrane Protease Serine 2 (TMPRSS2) receptors of the host cell surface and the structural and non-structural proteins of the virus. The most important structural protein was Spike, playing an important role in binding the virus to the ACE2 receptor of the host cell and the entry of the virus genome into it, while the key non-structural proteins were 3-Chymotrypsin-like protease (3CLpro), RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), Papain-like cysteine proteinase (PLpro), and non-structural protein 13 (nsp13) helicase which are involved in viral genome replication and the virus' release from the host cell.

Extended Abstract

1. Introduction

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is viral pneumonia that was initiated in December 2019 in Wuhan, China. The disease is caused by a new virus from the coronavirus family, which was named Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-

CoV-2) by the International Commission on Taxonomy of Viruses (ICTV) on February 11, 2020. It appears to have a higher prevalence and transmission than other members of the coronavirus family, such as SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) and MERS (Middle East Respiratory Syndrome). However, the mortality rate of the new coronavirus is much lower than other coronaviruses. It is mainly transmitted via inhalation of respiratory droplets or secretions expelled by infected people. Fever, cough, shortness of breath, muscle pain, and fatigue are the most

* Corresponding Author:

Nematollah Gheibi

Address: Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Tel: +98 (28) 33324970

E-Mail: ngheibi@qums.ac.ir

common clinical symptoms of this infection [23]. In this review study, the effect of different compounds on essential macromolecules in promoting SARS-CoV-2 infection was investigated using computational methods and bioinformatics analysis that can be considered as the best targets for designing inhibitory drugs.

2. Materials and Methods

In this review study, the articles published in English by March 23, 2020, on new coronavirus infection were reviewed. These articles were obtained by searching in PubMed, Scopus, and Google Scholar databases using keywords "SARS-CoV-2", "COVID-19," and "Coronavirus". The world's reputable online sources in the field of health information, such as the websites of World Health Organization (WHO) and The Centers for Disease Control and Prevention (CDC), were used to collect the latest statistics and information about the COVID-19.

3. Results

Among the most important macromolecules in promotion of SARS-CoV-2 infection are the Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) and Transmembrane Protease Serine 2 (TMPRSS2) receptors of the host cell surface and the structural and non-structural proteins of the virus. The most important structural protein is Spike protein which plays a vital role in binding the virus to the host cell ACE2 receptor and the entry of the virus genome into it. The important non-structural proteins of the virus include 3-Chymotrypsin-like protease (3CLpro), RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), Papain-like cysteine proteinase (PLpro), and non-structural protein 13 (nsp13) helicase, which are involved in viral genome replication and the virus' release from the host cell [12].

Mechanism of action of SARS-CoV-2 is dependent on a glycoprotein of a vital structure called Spike, which is located on the surface of its membrane and has a high affinity for binding to the ACE2 receptor found mainly in cells of the lower respiratory tract. Therefore, since the cells of the lower respiratory tract are the most suitable hosts for this virus, the SARS-CoV-2 has destructive effects on them. Production of new compounds that affect this protein-protein interaction has therapeutic potential. In fact, blocking this protein-protein interaction inhibits viral entry into the host cell and stops the viral infection without damaging the host cell. The ACE2 receptor has recently become an important therapeutic target. Several compounds have been introduced that show a high binding tendency to ACE2 while showing a low tendency to bind to the Spike-ACE2 protein complex [36].

Researchers have developed a specific antibody against this receptor that covers its surface and prevents direct contact of the virus with the spike protein [37, 38]. In addition to antibodies, synthetic compounds may also be able to bind to this receptor and prevent the coronavirus from binding. To date, the most important research in this field is related to the production of a ACE2 variant called "human recombinant soluble ACE2" (hrsACE2) which can significantly inhibit COVID-19 infection in the early stages, while it has no toxic effect on human cells. The hrsACE2 protein acts as a competitive inhibitor of ACE2. It tends to bind to the virus with a high tendency, and to prevent the virus from binding to the ACE2 receptor at the surface of host cells and from the entering into cells and, eventually, developing COVID-19 disease.

The spike protein is cleaved by transmembrane proteases such as TMPRSS2 in the host cell to form two subunits S1 and S2. The primary function of S1 is to bind to a receptor on the host cell surface, and the S2 subunit fuses the virus membrane and the host cell membrane [26]. Studies have shown that inhibition of TMPRSS2 enzyme activity can prevent coronaviruses from entering host cells. Therefore, this enzyme can also be considered as a suitable drug target. Spike protein on the virus surface is another option that has been considered as a suitable drug target. Any compound that can bind to this protein with a high affinity can prevent the virus from binding to the host cell and thus prevent viral infection.

The best compound that tends to bind to and inhibit the formation of the Spike-ACE2 complex is the Hesperidin. The best drug targets are available before the virus enters the host cell, because it will cause the least damage to the host cell. After the virus enters the host cell, virus-specific proteins that play an essential role in virus replication can also be considered as drug targets. They include proteins involved in transcribing virus RNA, translating and synthesizing virus proteins, processing and modifying them and, finally, replicating and releasing the virus from the host cell and spreading the viral infection [12].

4. Conclusion

Researchers around the world have introduced drug compounds to control COVID-19 infection, which are currently in the phase of clinical trials. Due to strictures on their production and their long and time-consuming process, it is essential to prioritize public care especially care for the elderly and sick people until these drugs are made available.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All ethical principles are considered in this article.

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

Authors' contributions

All authors contributed in preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors appreciate by the Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences for their scientific support and help.

بررسی مکانیسم عمل ویروس SARS-CoV-2 در بیماری نوظهور COVID-19 با هدف طراحی دارو

فاطمه شعبانی^۱، علیرضا فراست^۲، پیمان نامدار^۳، نعمت‌اله غیبی^{۲*}

۱. گروه بیوشیمی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.
۳. گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

چکیده

بیماری کروناویروس ۲۰۱۹ یا COVID-19 نوعی ذات‌الریه ویروسی است که در دسامبر سال ۲۰۱۹ در ووهان چین شیوع یافت و عامل آن ویروس جدیدی از خانواده کروناویروس با نام علمی کروناویروس سندرم تنفسی حاد شدید ۲ یا SARS-CoV-2 اعلام شد. در این مطالعه مروری، مقالات چاپ‌شده تا ۲۳ مارس ۲۰۲۰ به زبان انگلیسی در زمینه عفونت کروناویروس جدید مورد بررسی قرار گرفتند. این مقالات از طریق جست‌وجو در پایگاه‌های اطلاعاتی اسکوپوس، پابمد و گوگل اسکالر با استفاده از کلیدواژه‌هایی نظیر، SARS-CoV-2، COVID-19 و Coronavirus به دست آمده‌اند. همچنین از وبسایت‌های معتبر جهان در زمینه بهداشت نظیر سازمان بهداشت جهانی و مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری (CDC) برای دریافت آخرین آمار و اطلاعات پیرامون بیماری COVID-19 استفاده شده است. در این مطالعه اثر ترکیبات مختلف بر ماکرومولکول‌های مهم در پیشبرد عفونت ویروس SARS-CoV-2، با استفاده روش‌های محاسباتی و آنالیزهای بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفته است که می‌توانند به عنوان بهترین اهداف جهت طراحی داروهای مهارکننده در نظر گرفته شوند. از جمله مهم‌ترین این ماکرومولکول‌ها گیرنده ACE2 و TMPRSS2 در سطح سلول میزبان و پروتئین‌های ساختاری و غیرساختاری ویروس هستند. مهم‌ترین پروتئین ساختاری ویروس اسپایک نام دارد که نقش مهمی در اتصال ویروس به گیرنده ACE2 سلول میزبان و ورود ژنوم ویروس به داخل آن دارد و از پروتئین‌های غیرساختاری کلیدی ویروس می‌توان به پروتئین‌های CLp3 و RdRp، و Helicase Nsp13 اشاره کرد که در فرایندهای تکثیر ژنوم ویروس و رهاسازی آن از سلول میزبان نقش دارند.

تاریخ دریافت: ۳۰ فروردین ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۱۶ اردیبهشت ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۲ خرداد ۱۳۹۹

کلیدواژه‌ها:

کروناویروس جدید
۲۰۱۹، کروناویروس
۲۰۱۹، کووید - ۱۹،
سارس کروناویروس - ۲،
پنومونی کروناویروسی

مقدمه

به وجود آورد. کروناویروس‌ها از ابتدای قرن بیست‌ویکم باعث شیوع عمده پنومونی کشنده انسان شده‌اند. سندرم حاد شدید تنفسی کروناویروس یا SARS-CoV در سال ۲۰۰۳ با نسبت مرگ‌ومیر ۱۰ درصد در پنج قاره دنیا گسترش یافت و سندرم تنفسی خاورمیانه^۴ در شبه‌جزیره عربستان در سال ۲۰۱۲ با نرخ مرگ‌ومیر ۳۵ درصد شیوع یافت [۱].

به نظر می‌رسد SARS-CoV-2 دارای قابلیت شیوع و انتقال بالاتری از دیگر اعضای خانواده کروناویروس مانند SARS و MERS است، به این معنی که تعداد متوسط بیشتری از افراد آلوده با شخصی که اخیراً آلوده بوده است، ارتباط داشته‌اند. اگرچه نرخ مرگ‌ومیر ناشی از کروناویروس جدید بسیار پایین‌تر از سایر کروناویروس‌هاست. یک مؤلفه بسیار مهم در ارتباط با سرایت

بیماری کروناویروس ۲۰۱۹ (COVID-19) نوعی ذات‌الریه ویروسی است که در دسامبر سال ۲۰۱۹ در ووهان چین شیوع یافت. این بیماری، ویروس جدیدی از خانواده کروناویروس به وجود آمده است که کمیسیون بین‌المللی طبقه‌بندی ویروس^۲ در ۱۱ فوریه ۲۰۲۰ نام علمی کروناویروس سندرم تنفسی حاد شدید ۲ را برای آن در نظر گرفت. در اوایل سال ۲۰۲۰ میلادی سازمان بهداشت جهانی نیز طی اطلاعیه‌هایی، شیوع این ویروس را عامل وضعیت اضطراری بهداشت عمومی در سرتاسر جهان اعلام کرد و گسترش بسیار سریع این بیماری در چین و سپس در جهان نگرانی و وحشت زیادی را در بین مردم جهان

1. Coronavirus Disease 2019
2. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)
3. Severe acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)

4. The Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)

* نویسنده مسئول:

نعمت‌اله غیبی

نشانی: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی.

تلفن: ۳۳۳۲۴۹۷۰ (۲۸) +۹۸

رایانامه: ngheibi@qums.ac.ir

شدن توالی ژنومی کروناویروس انسانی جدید SARS-CoV-2، این ویروس نیز در جنس بتا کروناویروس قرار داده شده‌اند. کروناویروس‌ها دارای ژنومی تک‌رشته‌ای از نوع ریبونوکلوئیک اسید (RNA) مثبت بزرگی (26-32 kb) در بخش دورنی و پروتئین‌های تیغه‌مانندی در سطح خود هستند که باعث می‌شوند مانند تاج به نظر برسند؛ از این رو نام Coronavirus، با توجه به اینکه کلمه crown در لاتین به معنی «تاج» است، برای آن‌ها انتخاب شده است [۶].

ژنوم ویروس SARS-CoV-2

اولین توالی ژنومی SARS-CoV-2 توسط ژانگ^۶ و دانشمندان دیگر در دانشگاه فودان شانگهای به صورت آنلاین ارائه شد [۷] و متعاقباً پنج توالی ژنومی دیگر از این ویروس توسط انستیتوهای مختلف در سرتاسر چین؛ انستیتو ویروس‌شناسی ووهان و آکادمی علوم پزشکی چین روی دیتابیس GSAID قرار داده شد [۸]. ویروس SARS-CoV-2 یک ویروس پوشش‌دار با ژنومی از نوع ریبونوکلوئیک اسید به طول ۲۹/۸ کیلوباز است. ژنوم این ویروس دارای حداقل ۱۰ قالب باز خواندن^۷ است و ۲۷ پروتئین را کد می‌کند [۹]. ژن‌های orf1a و orf1ab که در انتهای ۵' ژنوم قرار دارند و به ترتیب پروتئین‌های pp1a و pp1ab را کد می‌کنند که پس از شکافته شدن توسط دو پروتئاز، به صورت کلی ۱۶ پروتئین غیرساختاری ویروس^۸ (nsP1-16) را به وجود می‌آورند که عملکرد مهمی در رونویسی و تکثیر RNAهای ویروسی دارند [۱۰، ۱۱].

از سوی دیگر در انتهای ۳' ژنوم، ORF2-10 وجود دارد که پروتئین‌های دیگر ویروس از جمله چهار پروتئین ساختاری شامل پروتئین سطحی اسپایک^۹ (S)، پروتئین پاکت نامه^{۱۰} (E)، پروتئین غشایی^{۱۱} (M) و پروتئین نوکلئوکسپید^{۱۲} (N) را کدگذاری می‌کند. پروتئین‌های S، M، E در شکل‌گیری پوشش ویروسی نقش دارند و پروتئین N در بسته‌بندی ژنوم RNA نقش دارد (شکل شماره ۱) [۱۲، ۱۳].

مکانیسم اتصال SARS-CoV-2 به سلول‌های میزبان

ویروس‌ها برای تکثیر خود احتیاج به سیستم حیاتی یک سلول زنده دارند، بنابراین یافتن یک میزبان مناسب و ورود به آن مهم‌ترین مرحله یک عفونت ویروسی است. مکانیسم عمل ویروس SARS-CoV-2 وابسته به یک گلیکوپروتئین ساختاری مهم به نام اسپایک است که در سطح غشای آن قرار دارد و تمایل بالایی در

ویروس فاکتور نرخ تولید مثل^۵ است که بیانگر تعداد میانگین افرادی است که از طریق شخص آلوده، در معرض خطر ابتلا به بیماری قرار دارند؛ با این فرض که هیچ‌کدام در برابر ویروس ایمن‌سازی نشده‌اند. برآوردهای R0 برای SARS-CoV-2 از میانگین ۱/۹۵ داده‌شده توسط WHO، تا یک میانگین ۲/۲۸ یا ۲/۷۹ (با دامنه ۱/۶-۴/۲) پیشنهاد شده توسط سایر مطالعات متغیر است. مقدار R0 کمتر از یک، بدان معنی است که این عفونت به ازای یک بیمار به کمتر از یک نفر دیگر منتقل می‌شود. در این مواقع این مؤلفه بیانگر این است که بیماری در حال کاهش است. وقتی که R0 برابر یک است، یعنی که بیماری به ثبات نسبی رسیده است و وقتی این عدد بزرگ‌تر از یک باشد، یعنی بیماری در حال گسترش است [۲، ۳].

میزان مرگ‌ومیر این ویروس در سالمندان و افراد مبتلا به بیماری‌های زمینه‌ای در مقایسه با افراد سالم به میزان قابل ملاحظه‌ای بالاتر است. گروه‌های پرخطر برای این بیماری به ترتیب شامل بیماران قلبی-عروقی، دیابتی، مبتلایان به بیماری‌های تنفسی مزمن و فشار خون بالا هستند [۴].

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری، مقالات چاپ‌شده تا ۲۳ مارس ۲۰۲۰ به زبان انگلیسی در زمینه عفونت کروناویروس جدید مورد بررسی قرار گرفتند. این مقالات از طریق جست‌وجو در پایگاه‌های اطلاعاتی اسکوپوس، پایمد و گوگل اسکالر با استفاده از کلیدواژه‌هایی نظیر COVID-19، SARS-CoV-2، Corona- و SARS-CoV-2 به دست آمده‌اند. همچنین از وبسایت‌های معتبر جهان در زمینه بهداشت نظیر سازمان بهداشت جهانی و مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری برای دریافت آخرین آمار و اطلاعات پیرامون بیماری COVID-19 استفاده شده است.

خانواده کروناویروس

کروناویروس‌ها در میان حیوانات بسیار متداول هستند. انواع مختلف کروناویروس‌ها می‌توانند اثرات مختلفی از خفیف تا شدید داشته باشند. کروناویروسه شامل چهار جنس آلفا کروناویروس، بتا کروناویروس، گاما کروناویروس و دلتا کروناویروس (کروناویروس‌های α ، β ، γ و δ) است. در کل تاکنون هفت نوع کروناویروس انسانی شناسایی شده است که دو مورد آن یعنی کروناویروس‌های NL-63 و 229E در جنس آلفا کروناویروس و پنج مورد دیگر آن در جنس بتا کروناویروس قرار دارند که مهم‌ترین آن‌ها MERS و SARS هستند [۵].

به طور کلی آلفا و بتا کروناویروس‌ها عمدتاً پستانداران را آلوده کرده و بیماری‌های انسانی و حیوانی ایجاد می‌کنند. با مشخص

5. The basic reproduction number (R0)

6. Zhang
7. Open Reading Frame (ORF)
8. Non-Structural Proteins
9. Spike
10. Envelope
11. Membrane
12. Nucleocapsid

جدول ۱. داروهای موجود در دیتابیس ZINC که پتانسیل مهار پروتئین PLpro را دارند (ترکیبات موجود در جدول بر اساس امتیاز داکینگ خود مرتب شده است)

شماره	نام دارو	عملکرد دارویی
۱	Ribavirin	Anti-virus
۲	Valganciclovir	Anti-virus
۳	β -Thymidine	Anti-virus
۴	Aspartame	Non-carbohydrate sweetener
۵	Oxprenolol	Anti-hypertensive, anti-angina, anti-arrhythmic effects
۶	Doxycycline	Anti-bacterial effect
۷	Acetophenazine	Anti-psychotic effect
۸	Iopromide	Low osmolar, non-ionic contrast agent
۹	Riboflavin	Treatment of vitamin B2 deficiency
۱۰	Reproterol	Treatment of bronchial asthma
۱۱	2,2'-Cyclocytidine	Anti-tumor
۱۲	Chloramphenicol	Anti-bacterial effect
۱۳	Chlorphenesin carbamate	Muscle relaxant effect
۱۴	Levodropropizine	Anti-tussive effect
۱۵	Cefamandole	Anti-bacterial effect
۱۶	Floxuridine	Anti-tumor
۱۷	Tigecycline	Anti-bacterial
۱۸	Pemetrexed	Anti-tumor
۱۹	L(+)-Ascorbic acid	Anti-scorbutic
۲۰	Glutathione	Treatment of hepatic disease
۲۱	Hesperetin	Anti-oxidation, anti-virus, anti-bacteria
۲۲	Ademetionine	Cholagogue
۲۳	Masoprocol	Treatment of actinic keratosis
۲۴	Isotretinoin	Anti-tumor
۲۵	Dantrolene	Muscle relaxant
۲۶	Sulfasalazine	Anti-bacterial effect
۲۷	Silybin	Hepatoprotective effect
۲۸	Nicardipine	Anti-hypertensive effect
۲۹	Sildenafil	Treatment of erectile dysfunction

اتصال به گیرنده آنزیمی به نام آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین ۲ انسان^{۱۳} دارد که عمدتاً در سلول‌های مربوط به دستگاه تنفسی تحتانی یافت می‌شود؛ بنابراین از آنجایی که سلول‌های دستگاه تنفسی تحتانی مناسب‌ترین میزبان برای این ویروس هستند، ویروس SARS-CoV-2 تأثیرات مخربی بر دستگاه تنفسی تحتانی دارد. از آنجایی که مولکول ACE2 یک متالوپپتیداز وابسته به زینک است و همچنین وجود زینک برای فعالیت آنزیم هلیکاز ویروس ضروری است، استفاده از مکمل زینک بیش از نیاز روزانه توصیه نمی‌شود. (شکل شماره ۲) [۱۴، ۱۵]. نتایج الاینمنت توالی نشان می‌دهد همولوژی توالی دمین اتصال در گیرنده سلول میزبان - پروتئین اسپایک ویروس^{۱۴} بین دو ویروس SARS-CoV-2 و SARS-CoV برابر با ۷۶ درصد است. تحقیقات اخیر تخمین می‌زنند SARS-CoV-2 همچنین می‌تواند به ACE2 متصل شود و این با داکینگ محاسباتی و اندازه‌گیری الیزا تأیید شد [۱۶].

مطالعه ای نشان داده که ۸۳ درصد بیان ACE2 سلول‌ها مربوط به سلول‌های اپی تلیال آئوئول نوع ۱۱^{۱۵} در ریه بودند که نشان می‌دهد این سلول‌ها می‌توانند به عنوان میزبان اصلی ویروس عمل کنند. بیان گیرنده ACE2 در بسیاری از بافت‌های غیرریوی مانند قلب، کلیه و روده نیز یافت می‌شود. توزیع ACE2 در سایر ارگان‌ها می‌تواند عملکرد تخریب چند عضو طی این بیماری را توضیح دهد [۱۷]. توانایی ورود ویروس SARS-CoV-2 به سلول‌های عصبی می‌تواند مسئول حداقل بخشی از نارسایی تنفسی در بیماران COVID-19 باشد. مطالعات تجربی قبلی بر روی ویروس SARS-CoV و MERS-CoV نشان می‌دهند که وقتی این ویروس‌ها به صورت داخل بینی به موش داده شوند احتمالاً با درگیری عصب بویایی وارد سیستم مغز آن‌ها شده و قسمت‌های مختلف CNS خصوصاً سلول‌های ساقه مغز^{۱۶} را درگیر می‌کنند. همین‌طور شواهد دیگری نشان می‌دهد ویروس‌های خانواده کرونا می‌توانند با درگیری پایانه عصبی محیطی وارد CNS شوند؛ بنابراین با توجه به مشاهدات قبلی امکان این وجود دارد که ویروس جدید SARS-CoV-2 خصوصاً در کسانی که از طریق بینی آلوده شده‌اند، وارد CNS شده و پس از درگیری سیستم تنفسی در ساقه مغز باعث علائم تنفسی در بیمار شود. این مطالعه برای پیش‌گیری مهم‌ترین راه را استفاده از ماسک عنوان کرده است [۱۸، ۱۹].

مطالعات داکینگ در مورد سه ساختار Spike-RBD با ACE2 انسانی در سه نوع ویروس ذکر شده بررسی شدند. در میان آن‌ها، انرژی آزاد اتصال بین Spike-RBD SARS-CoV-2 و ACE2 انسانی ۳۳/۷۲- کیلوکالری بر مول، بین SARS-CoV و Spike-RBD ACE2 برابر با ۴۴/۲۲- کیلوکالری بر مول و بین Bat-CoV RaTG13 Spike-RBD و ACE2 برابر با ۳۱/۰۶- کیلوکالری در مول بود.

از نتایج داکینگ پروتئین به پروتئین می‌توان نتیجه گرفت که پروتئین اسپایک در SARS-CoV-2 میل اتصال قوی به ACE2 انسان دارد، اگرچه ضعیف‌تر از پروتئین اسپایک SARS-CoV است؛ بنابراین باید گیرنده‌های دیگری از SARS-CoV-2 یا مکانیسم‌های تسهیل کننده عفونت در میزبان انسان وجود داشته باشد. Spike-RBD SARS-CoV-2 ممکن است ساختارهایی با انرژی اتصال پایین‌تر و متفاوت با ساختارهای فعلی Spike-RBD SARS-CoV را پیدا کند که نیاز به بررسی بیشتر دارند [۲۰، ۲۱]. ویروس SARS-CoV همچنین می‌تواند به یک گیرنده نوع C به نام CD209L یا L-SIGN در سطح سلول‌های انسانی وصل شود. ویروس MERS-CoV نیز از طریق گیرنده‌ای به نام CD26 یا DPP4^{۱۷} به سلول‌های انسانی متصل می‌شود [۱۷].

علائم بالینی

به حداقل زمان بین مواجهه فرد با ویروس تا ظهور علائم بالینی، دوره کمون یا نهفتگی ویروس گفته می‌شود. در مطالعات گوناگون دوره کمون‌های متفاوتی برای بیماری COVID-19 بیان شده است. سازمان بهداشت جهانی عددی بین ۱ تا ۹ روز، کمیسیون سلامت ملی چین عددی بین ۱۰ تا ۱۴ روز و مرکز کنترل و پیشگیری بیماری آمریکا ۲ تا ۱۴ روز را برای این دوره مشخص کرده اند [۳]. کروناویروس^{۱۸} به سلول‌های واقع در دستگاه تنفسی تحتانی گرایش داشته و با تکثیر در این نواحی، منجر به ایجاد ضایعاتی در دستگاه تنفسی تحتانی خواهد شد. تقریباً ۸۰ درصد از بیمارانی که به کروناویروس مبتلا می‌شوند، علائم خفیف از SARS-CoV-2 نشان داده و در منزل بهبود می‌یابند. در ۱۴ درصد از موارد، فرد مبتلا علائم شدیدی را از خود نشان می‌دهد که شامل ذات‌الریه و تنگی نفس است. در ۵ درصد از موارد نیز وضعیت بیمار به سمت وخامت پیش رفته که با نارسایی تنفسی، شوک عفونی و نارسایی در سایر ارگان‌های بدن همراه است [۲۱، ۲۲].

علاوه بر این، همولوژی توالی Spike-RBD بین SARS-CoV-2 و Bat-CoV RaTG13 به اندازه ۹۵ درصد است. با وجود همولوژی بالای RaTG13 و SARS-CoV-2 در توالی Spike-RBD، تجزیه و تحلیل ما نشان داد چهار آمینواسید از بین پنج اسید آمینه مهم (D510، Y502، L495، L465 و H514) که به ACE2 در Bat-

13. Human Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2)
14. Spike-Receptor Binding Domain (RBD)
15. Alveolar type II epithelial cells (AECII)
16. Brain stem

17. Dipeptidyl peptidase 4
18. SARS-CoV-2

تهاجم ویروس به سلول می‌شود. این پروتئین همچنین در تعیین بافت ویروسی یا تروپیسزم میزبان نقش دارد؛ بنابراین پروتئین اسپایک تا حدودی دامنه سلول میزبان را تعیین می‌کند. پروتئین اسپایک با پروتئین‌های ترانس مبران در سلول میزبان مانند TM-PRSS2^{۱۹} برش خورده و دو بخش S1 و S2 را به وجود می‌آورد. عملکرد اصلی S1 اتصال به گیرنده‌های سطح سلول میزبان است و زیرواحد S2 موجب هم‌جوشی غشای ویروس و غشای سلول میزبان می‌شود [۲۶]. مطالعات نشان داده‌اند مهار فعالیت آنزیم TMPRSS2 می‌تواند از ورود کروناویروس‌ها به سلول‌های میزبان جلوگیری کند. مهارکننده‌های سرین پروتئازها مانند mesylate نیز می‌تواند با مهار آنزیم TMPRSS2 نقش درمانی ایفا کنند. علاوه بر این بسیاری از داروهای ضدباکتریایی (پیوآمپیسینین، هتاسیلین، سفوپرازون و کلیندامایسین) و ترکیبات طبیعی ضدویروس (فیلامبیسیلین G7، نئوآندوگرافولید، کوئچساید A) به عنوان مهارکننده‌های بالقوه TMPRSS2 هستند. راهکارهای درمانی برای جلوگیری از ورود کروناویروس به سلول‌های میزبان با هدف قرار دادن پروتئین‌های اسپایک یا گیرنده‌های خاص روی سطح سلول‌های میزبان برای تولید داروهای ضدویروسی بسیار باارزش است [۱۲].

بر اساس مطالعات داکینگ روی مولکول‌های کوچک در مقابل پروتئین اسپایک، برخی از داروها میل به اتصال بالایی دارند (mfScore < -150 یا Score > -35)، مانند داروهای ضد فشارخون بالا (رستینامین، ایلوپروست و پازوزین)، داروهای ضدقارچی (پوزاکونازول و ایتراکونازول)، داروی ضدباکتریایی (سولفاسالازین، آزلوسیلین، پنی سیلین و سفسلودین)، داروی ضدانعقادی دیبگاتران اتگزیلات و برخی از فلاونوئیدهای طبیعی مانند لیکوفلاونول، نئوهسپریدین، مانگوستین، کئوستیساید D، اگزوکاریوتوکسین، فیلامبیسین G7 و پیکتاتانول تمایل اتصال بالایی به پروتئین اسپایک نشان می‌دهند، اما تنها ترکیبی که می‌تواند اتصال بین اسپایک و ACE2 را هدف قرار دهد، هسپریدین بود. پیش‌بینی می‌شود هسپریدین روی گودال کم‌عمق وسط در سطح RBD مربوط به پروتئین اسپایک قرار بگیرد؛ جایی که قسمت دی هیدروفلاونون ترکیب به طور موازی با صفحات β-6 ناحیه RBD قرار می‌گیرد و قسمت قندی در گودال کم‌عمق در سمت دور از ACE2 وارد می‌شود؛ جایی که چند اسیدآمینه آب‌گریز از جمله Leu442، Tyr440، Tyr436، Tyr481، Try475، Phe476، Phe443، و Tyr49 یک جیب کم‌عمق کم‌آب‌گریز تشکیل می‌دهند تا ترکیب را در خود جای دهد. پیوند هیدروژن بین Tyr440 و ترکیب هسپریدین پیش‌بینی شده است. با تغییر کمپلکس ACE2-RBD به کمپلکس hesperidin-RBD، یک هم‌پوشانی مجزا در هسپریدین با دخالت ACE2 مشاهده می‌شود و نشان می‌دهد هسپریدین

مطالعه‌ای که توسط هوآنگ^{۱۹} و همکاران روی ۴۱ مورد تأییدشده از عفونت با کروناویروس جدید بستری در بیمارستان ووهان به انجام رسید مشخص کرد تب (۹۸ درصد)، سرفه (۷۶ درصد)، تنگی نفس (۵۵ درصد) و درد عضله و خستگی (۴۴ درصد) به ترتیب شایع‌ترین علائم بالینی این عفونت بودند [۲۳]. با توجه به تحقیقات اخیر، مسیر اصلی انتقال این ویروس از طریق استنشاق قطرات تنفسی آلوده فرد مبتلا یا تماس با ترشحات فرد بیمار است. قطرات تنفسی آلوده از طریق عطسه یا سرفه فرد مبتلا در محیط منتشر شده و در دهان یا بینی افرادی که در نزدیکی فرد بیمار قرار دارند فرود آمده و سپس به داخل ریه آن‌ها منتقل می‌شود. احتمال ابتلای فرد از طریق لمس شی یا سطح آلوده به ویروس SARS-COV-2 نیز وجود دارد. بدین صورت که فرد پس از تماس با سطح آلوده و سپس لمس دهان، بینی و چشمان با دست آلوده، ویروس را وارد بدن خود می‌کند. بیشترین مقدار سرایت ویروس زمانی است که فرد دارای علائم بالینی است. با این حال برخی از بیماران قبل از ظهور علائم بالینی قادر به انتقال عفونت خود به دیگران هستند [۲۴، ۲۵].

مطالعات داکینگ جهت طراحی دارو

با استفاده از نرم‌افزار مدلینگ ICM ۳/۷/۳ اثر ترکیبات دارویی مختلف پایگاه اطلاعات ZINC و داروهای طبیعی در پایگاه اطلاعات طب سنتی چینی بر این پروتئین‌ها بررسی شده است. در این مقاله تعدادی از ترکیباتی که می‌توانند فعالیت ضدویروسی داشته باشند، از کتابخانه داروهای تأییدشده شناسایی شده است که در ادامه ذکر می‌شود. بر اساس نتایج غربالگری داکینگ روی پروتئین ACE2، پیش‌بینی می‌شود داروی ضد دیابت تروگلیتازون، داروی ضد فشار خون بالا لوزارتان، داروی ضد درد ضدآرگوتامین، داروی ضدباکتریایی سفمنوکسیم و داروی کبدی محافظت‌کننده سیلیبین با انرژی کم به ACE2 متصل شوند. ترکیبات طبیعی مانند فیلامبیسیلین G7، گزانتون، نئوهسپریدین و هسپریدین به طور بالقوه میل بالایی به پروتئین ACE2 نشان داده‌اند. با این حال هیچ‌یک از ترکیبات با تمایل بالای اتصال به ACE2 برای هدف قرار دادن رابط ACE2-RBD پیش‌بینی نشده است [۱۲].

یافته‌ها

پروتئین‌های ساختاری SARS-CoV-2

پروتئین اسپایک مهم‌ترین پروتئین ساختاری در ویروس SARS-CoV-2 است و به صورت تریمر در یک ساختار ویژه کروال^{۲۰} روی سطح ویروس جمع می‌شود. اسپایک پروتئین اصلی است که باعث اتصال ویروس به سلول میزبان و هم‌جوشی غشای ویروس و سلول میزبان در هنگام عفونت ویروس و موجب

19. Huang
20. Corolla structure

21. Type-II transmembrane protease serine

جدول ۲. داروهای موجود در دیتابیس محصولات طبیعی که پتانسیل مهار پروتئین PLpro را دارند

شماره	نام دارو	عملکرد دارویی	منبع
۱	Platycodin D	Anti-tumor, anti-inflammatory effect	Platycodon grandiflorus
۲	Chrysin	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Scutellaria baicalensis
۳	Neohesperidin	Anti-tumor, anti-allergic effect	Citrus aurantium L.
۴	Baicalin	Anti-tumor, anti-inflammatory, anti-bacterial, anti-virus effect	Scutellaria baicalensis
۵	Sugetriol-3,9-diacetate	Anti-HBV, Anti-HSV-1	Cyperus rotundus
۶	(-)-Epigallocatechin gallate	Anti-oxidation, anti-tumor, treatment of depression	Camellia sinensis
۷	Phaitanthrin D	Anti-virus	Isatis indigotica Fort.
۸	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-5,7-dihydroxy-2H-1-benzopyran-3-yloxy-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3,4,5,7-tetrol	Anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-tumor	Vitis vinifera
۹	2,2-Di(3-indolyl)-3-indolone	Anti-virus	Isatis indigotica Fort.
۱۰	(S)-(1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-Formamido-1,4a-dimethyl-6-methylene-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)ethenyl)decahydro-naphthalen-2-yl-2-amino-3-phenylpropanoate	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Andrographolide derivatives
۱۱	Piceatannol	Anti-tumor, anti-virus effect	Vitis vinifera
۱۲	Rosmarinic acid	Anti-virus, Anti-oxidant	Salvia verticillata L.
۱۳	Magnolol	Anti-tumor, Anti-microbial effect	Magnolia officinalis

جدول ۳. داروهای موجود در دیتابیس ZINC که پتانسیل مهار پروتئین 3CLpro را دارند

شماره	نام دارو	عملکرد دارویی
۱	Lymecycline	Anti-bacterial effect
۲	Chlorhexidine	Anti-bacterial effect
۳	Alfuzosin	Anti-hypertensive agent, benign prostatic hyperplasia
۴	Cilastatin	Renal peptidase inhibition
۵	Famotidine	Anti-ulcerative activity
۶	Almitrine	Treatment of cognitive and chronic sensory nerve impairment
۷	Progabide	Anti-epileptic effect
۸	Nepafenac	Treatment of pain and inflammation associated with cataract surgery
۹	Carvedilol	Vasodilator effect
۱۰	Amprenavir	HIV-1 protease inhibition
۱۱	Tigecycline	Anti-bacterial effect
۱۲	Demeclocycline	Anti-bacterial effect
۱۳	Montelukast	Anti-allergic, anti-asthmatic effects
۱۴	Carminic acid	Food additive
۱۵	Mimosine	Depilatory effect
۱۶	Flavin mononucleotide	Electron transference in biological oxidation
۱۷	Lutein	Vision protection, Anti-oxidation
۱۸	Cefpiramide	Anti-bacterial effect
۱۹	Phenethicillin	Anti-bacterial effect
۲۰	Candoxatril	Anti-hypertensive effect
۲۱	Nicardipine	Anti-hypertensive effect
۲۲	Estradiol valerate	Treatment of estrogen deficiency
۲۳	Pioglitazone	Anti-diabetic effect
۲۴	Conivaptan	Treatment of hyponatremia
۲۵	Telmisartan	Anti-hypertensive effect
۲۶	Doxycycline	Anti-bacterial effect
۲۷	Oxytetracycline	Anti-bacterial effect

مشخص شده بسیاری از داروهای ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدتوموری، ضدآسم و ضدالتهاب از پایگاه داده ZINC و پایگاه داده محصولات طبیعی میل نسبتاً خوبی به این اهداف دارند [۱۲].

پروتئین‌های غیرساختاری SARS-CoV-2

پروتئین‌های Nsp به عنوان پروتئین‌های عملکردی مهم در SARS-CoV-2 شناخته شده‌اند که در رونویسی RNA، ترجمه، سنتز پروتئین، پردازش و اصلاح، تکثیر ویروس و عفونت میزبان نقش دارد. در میان آن‌ها چهار پروتئین 3CLpro، PLpro، RdRp و helicase به دلیل عملکردهای بیولوژیکی واضح و جایگاه فعال آنزیمی، مهم‌ترین اهداف برای طراحی مهارکننده‌های دارویی هستند.

پروتئین PLpro^{۲۵} مسئول بُرش N ترمینال از پلی‌پروتئین رپلیکاز و آزاد سازی Nsp1، Nsp2، Nsp3 است که برای تکثیر ویروس ضروری هستند. همچنین تأیید شده که پروتئین PLpro برای تضعیف و مهار مصونیت ذاتی میزبان از اهمیت زیادی برخوردار است. PLpro به عنوان یک آنزیم ضروری در روند تکثیر کروناویروس و عفونت میزبان، یک هدف مهم برای مهار کننده‌های کروناویروس بوده است [۲۸].

جدول‌های شماره ۱ و ۲ به ترتیب مهارکننده‌های خوب برای Plpro را نشان می‌دهد که ترتیب داروها بر اساس امتیاز کسب شده در داکینگ است. پیش‌بینی می‌شود ریبایورین داروی ضدویروسی

25. Papain-like proteinase

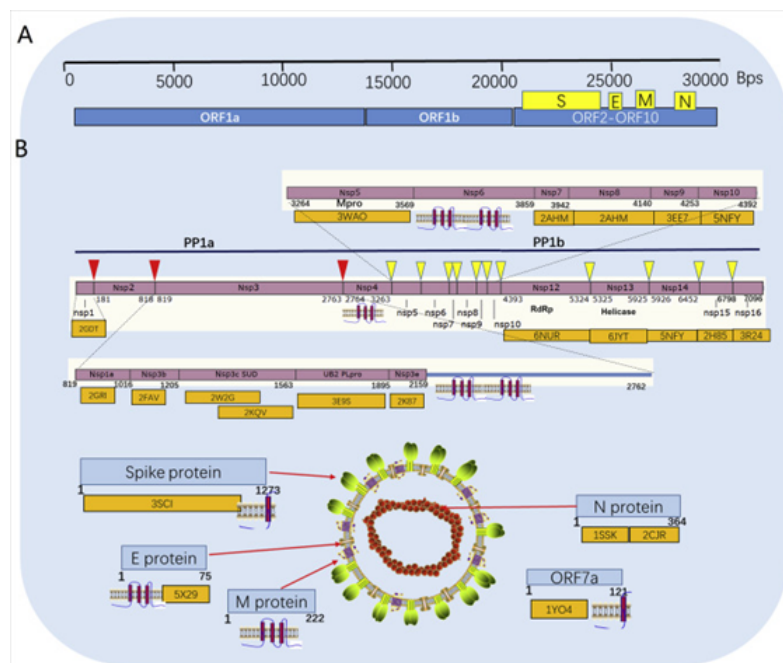
ممکن است تعامل ACE2 با RBD را مختل کند [۱۹، ۱۲]. در مطالعه میرعظیمی و همکاران اعلام شده است که محلول پروتئین نوترکیب ACE2 تحت عنوان hrsACE2^{۲۲} می‌تواند به طور قابل توجهی عفونت کووید-۱۹ را در مراحل اولیه مهار کند؛ در حالی که اثر سمیت روی سلول‌های انسانی ندارد. این نتایج در مورد نوع موشی پروتئین مشاهده نشده است. پروتئین hrsACE2 همانند یک مهارکننده رقابتی با ACE2 رفتار می‌کند و با تمایل اتصال بالایی، به ویروس متصل می‌شود و از اتصال ویروس به سلول‌های میزبان جلوگیری می‌کند. این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که ویروس SARS-CoV-2 می‌تواند به طور مستقیم ارگانوئیدهای عروق خونی و کلیه را نیز آلود کرده و تکثیر یابد در حالی که پروتئین hrsACE2 می‌تواند به صورت قابل توجهی، هزار تا پنج هزار برابر، موجب کاهش این ویروس و درواقع مهار تکثیر آن شود [۲۷].

علاوه بر پروتئین اسپایک، پروتئین E (کانال E) و پروتئین N دارای عملکردهای مهم بیولوژیکی برای ورود کروناویروس به سلول میزبان است. NRBD^{۲۳} و CRBD^{۲۴} برای اتصال پروتئین N از کروناویروس به پروتئین‌های N در سلول‌های میزبان لازم است تا با استفاده از آن، RNA کروناویروس به طور مؤثر به درون سلول میزبان منتقل شود. بنابراین، پروتئین E یا پروتئین N (دمین‌های NRBD و CRBD) می‌تواند به عنوان اهداف کشف داروهای ضدویروسی مورد استفاده قرار گیرند. از طریق مطالعات داکینگ،

22. Human recombinant soluble ACE2

23. N-terminal RNA binding domain

24. C-terminal RNA binding domain



شکل ۱. ژنوم ویروس SARS-CoV-2 دارای حداقل ۱۰ قالب باز خواندن یا ORF است و ۲۷ پروتئین را کد می‌کند

جدول ۴. داروهای موجود در دیتابیس محصولات طبیعی که پتانسیل مهار پروتئین 3CLpro را دارند

منبع	عملکرد دارویی	نام دارو	شماره
Andrographolide derivatives	Anti-virus, anti-inflammatory effect	(1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-Formamido-1,4a-dimethyl-6-methylene-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)ethenyl)decahydronaphthalen-2-yl 5-((R)-1,2-dithiolan-3-yl) pentanoate	۱
Cassine xylocarpa	Anti-HIV-1	Betulonal	۲
Scutellaria baicalensis	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Chrysin-7-O-β-glucuronide	۳
Andrographis paniculata	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Andrographiside	۴
Andrographolide derivatives	Anti-virus, anti-inflammatory effect	(1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-Formamido-1,4a-dimethyl-6-methylene-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)ethenyl)decahydronaphthalen-2-yl 2-nitrobenzoate	۵
Viola diffusa	Anti-virus	2β-Hydroxy-3, 4-seco-friedelolactone-27-oic acid	۶
Andrographolide derivatives	Anti-virus, anti-inflammatory effect	(S)-((1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-Formamido-1,4a-dimethyl-6-methylene-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)ethenyl)decahydronaphthalen-2-yl-2-amino-3-phenylpropanoate	۷
Viola diffusa	Anti-virus	Isodecortinol	۸
Viola diffusa	Anti-virus	Cerevisterol	۹
Citrus aurantium L.	Anti-inflammatory, anti-oxidant effect	Hesperidin	۱۰
Citrus aurantium L.	Anti-tumor, anti-allergic effect	Neohesperidin	۱۱
Andrographis paniculata	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Andrograpanin	۱۲
Andrographolide derivatives	Anti-virus, anti-inflammatory effect	2-((1R,5R,6R,8aS)-6-Hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,8a-dimethyl-2-methylenedecahydronaphthalen-1-yl)ethyl benzoate	۱۳
Scutellaria baicalensis	Anti-inflammatory, Anti-oxidant, anti-HIV effect	Cosmosiin	۱۴
Cleistocalyx operculatus	Anti-virus	Cleistocaltone A	۱۵
Isatis indigotica Fort.	Anti-virus	2,2-Di(3-indolyl)-3-indolone	۱۶
Ficus benjamina	Anti-virus	Biorobin	۱۷
Gnidia lamprantha	Anti-tumor	Gnidicin	۱۸
Phyllanthus emblica	Anti-virus	Phyllaemblinol	۱۹
Camellia sinensis	Anti-oxidant effect, anti-tumor, anti-virus	Theaflavin 3,3'-di-O-gallate	۲۰

منبع	عملکرد دارویی	نام دارو	شماره
Salvia verticillata L.	Anti-viral, Anti-oxidant	Rosmarinic acid	۲۱
Swertia kouitchensis	Anti-virus, anti-inflam- matory effect	Kouitchenside I	۲۲
Swertia kouitchensis	Anti-virus, anti-inflam- matory effect	Oleanolic acid	۲۳
Swertia binchuanensis	Anti-virus, anti-inflam- matory effect	Stigmast-5-en-3-ol	۲۴
Swertia macrosperma	Anti-virus, anti-inflam- matory effect	Deacetylcentapicrin	۲۵
Swertiabi maculate	Anti-virus, anti-inflam- matory effect	Berchemol	۲۶

مجله علمی
دانشگاه علوم پزشکی قزوین

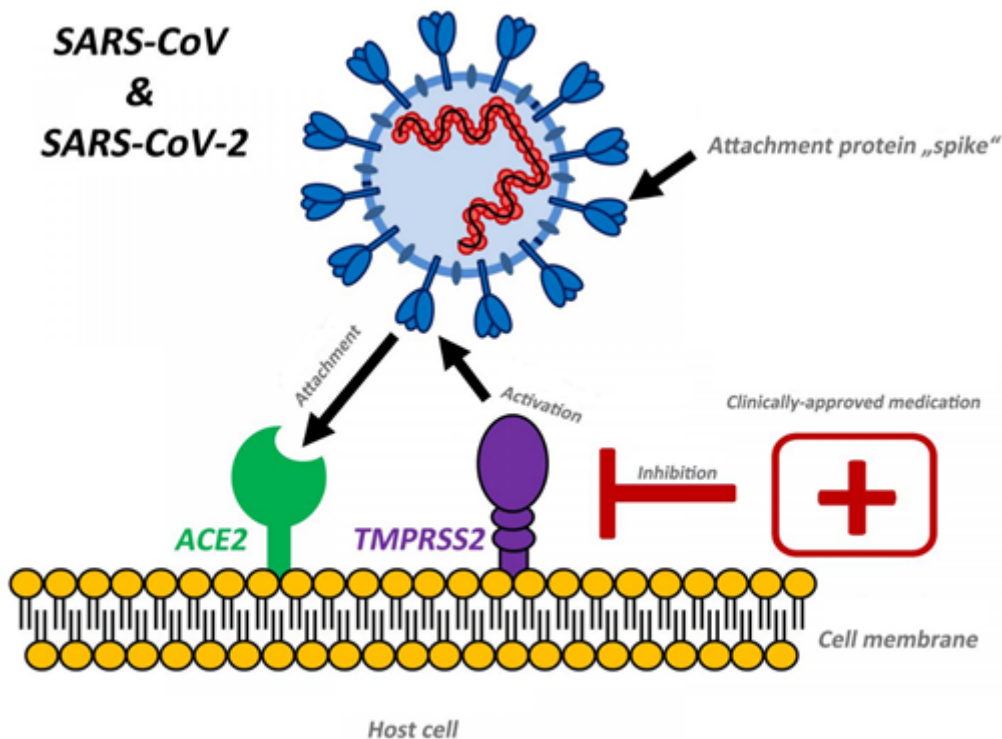
جدول ۵. داروهای موجود در دیتابیس ZINC که پتانسیل مهار پروتئین RdRp را دارند

عملکرد دارویی	نام دارو	شماره
Anti-virus	Valganciclovir	۱
Anti-bacterial effect	Chlorhexidine	۲
Anti-bacterial effect	Ceftibuten	۳
Treatment of bronchial asthma	Fenoterol	۴
Anti-tumor	Fludarabine	۵
Anti-fungal effect	Itraconazole	۶
Anti-bacterial effect	Cefuroxime	۷
Anti-malaria	Atovaquone	۸
Dissolving gallstones	Chenodeoxycholic acid	۹
Treatment of allergic asthma	Cromolyn	۱۰
Muscle relaxant effect	Pancuronium bromide	۱۱
Anti-allergic effect	Cortisone	۱۲
Contraceptive effect	Tibolone	۱۳
Anti-bacterial effect	Novobiocin	۱۴
Hepatoprotective effect	Silybin	۱۵
Anti-tumor	Idarubicin	۱۶
Treatment of amenorrhea	Bromocriptine	۱۷
Treatment of diarrhea and chronic enteritis	Diphenoxylate	۱۸
Skin-testing reagent to detect penicillin allergy	Benzylpenicilloyl G	۱۹
Anti-coagulant effect	Dabigatran etexilate	۲۰

مجله علمی
دانشگاه علوم پزشکی قزوین

جدول ۶. داروهای موجود در دیتابیس محصولات طبیعی که پتانسیل مهار پروتئین RdRp را دارند

شماره	نام دارو	عملکرد دارویی	منبع
۱	Betulonal	Anti-HIV-1	Cassine xylocarpa
۲	Gnidicin	Anti-tumor	Gnidia lamprantha
۳	2β,30β-Dihydroxy-3,4-seco-friedelolactone-27-lactone	Anti-virus	Viola diffusa
۴	14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Andrographis paniculata
۵	Gniditrin	Anti-tumor	Gnidia lamprantha
۶	Theaflavin 3,3'-di-O-gallate	Anti-oxidant, anti-tumor, anti-virus	Camellia sinensis
۷	(R)-((1R,5aS,6R,9aS)-1,5a-Dimethyl-7-methylene-3-oxo-6-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)ethenyl)decahydro-1H-benzo[c]azepin-1-yl)methyl 2-amino-3-phenylpropanoate	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Andrographolide derivatives
۸	2β-Hydroxy-3, 4-seco-friedelolactone-27-oic acid	Anti-virus	Viola diffusa
۹	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2'-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-5,7-dihydroxy-2H-1-benzopyran-3-yloxy-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3,4,5,7-tetrol	Anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-tumor	Vitis vinifera
۱۰	Phyllaemblicin B	Anti-virus	Phyllanthus emblica
۱۱	14-hydroxycyperotundone	Anti-HBV	Cyperus rotundus
۱۲	Andrographiside	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Androgra phispaniculata
۱۳	2-((1R,5R,6R,8aS)-6-Hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,8a-dimethyl-2-methylenedecahydronaphthalen-1-yl)ethyl benzoate	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Andrographolide derivatives
۱۴	Sugetriol-3,9-diacetate	Anti-HBV	Cyperus rotundus
۱۵	Baicalin	Anti-tumor, anti-inflammatory, anti-bacterial, anti-virus effect	Scutellaria baicalensis
۱۶	(1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-Formamido-1,4a-dimethyl-6-methylene-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)ethenyl)decahydronaphthalen-2-yl 5-((R)-1,2-dithiolan-3-yl) pentanoate	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Andrographolide derivatives
۱۷	1,7-Dihydroxy-3-methoxyxanthone	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Swertia pseudochinensis
۱۸	1,2,6-Trimethoxy-8-[(6-O-β-D-xylopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]-9H-xanthen-9-one	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Swertia musotii
۱۹	1,8-Dihydroxy-6-methoxy-2-[(6-O-β-D-xylopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]-9H-xanthen-9-one	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Swertia kouitchensis
۲۰	8-(β-D-Glucopyranosyloxy)-1,3,5-trihydroxy-9H-xanthen-9-one	Anti-virus, anti-inflammatory effect	Swertia musotii



شکل ۲. مکانیسم اتصال SARS-CoV-2 به سلول‌های میزبان

فعال 3CLpro در شکاف بین دمین‌های I و II قرار دارد و دارای یک ناحیه کاتالیزوری CysHis است (Cys145 و His41) [۳۰].

همان‌طور که در جدول‌های شماره ۳ و ۴ نشان داده شده است، داروهای ضدباکتریایی (لیمسیکلین، دمکلوسیکلین، دوکسی‌سکلین و اوگزیتتراسیکلین)، داروهای ضد فشار خون بالا (نیکاردیپین و تلمیزارتان) و داروی کانوپاپتان برای درمان هیپوناترمی (سطح پایین سدیم خون) حاوی بالاترین میل اتصال به 3CLpro هستند. چندین ترکیب طبیعی و مشتقات با اثرات ضد ویروس و ضد التهابی نیز دارای میل اتصال زیاد به 3CLpro هستند. داروی ضد آسم مونتلوکاست انرژی اتصال کم به 3CLpro نشان داد. مونتلوکاست به خوبی در پاکت آب‌گریزی در جایگاه فعال 3CLpro قرار می‌گیرد که در آن مقدار زیادی اسید آمینه آب‌گریز مانند Cys145، Phe140، His41، Leu27، Thr24، Pro168، Met165، His163 و His172 یک محیط نسبتاً آب‌گریز تشکیل می‌دهند تا ترکیب را در خود جای دهند و آن را تثبیت کنند. تشکیل پیوند هیدروژن بین اسید آمینه Asn142 آنزیم و گروه کربونیل دارو نیز قابل پیش‌بینی است [۱۲، ۳۰].

پروتئین 2^۳RdRp که با نام Nsp12 هم شناخته شده است یک آنزیم سازنده RNA از روی الگوی RNA است. Nsp12 یک پروتئین حفاظت‌شده در کروناویروس‌ها و آنزیمی حیاتی در کمپلکس همانندسازی / رونویسی است. دمین پلیمراز RdRp

27. RNA-dependent RNA polymerase

است که به آنزیم PLPro با انرژی اتصال اندک متصل شود (امتیاز = ۳۸/۵۸-). نتایج حاصل از مدل داکینگ نشان می‌دهد ریبویرین دارای تمایل بالایی برای اتصال به جایگاه فعال آنزیم است؛ بنابراین می‌تواند به عنوان یک مهارکننده مهم نقش ایفا کند. پیش‌بینی می‌شود که بین دارو و اسید آمینه‌های Gly164 و Gln270 Tyr274 Asp303، در آنزیم، پیوند هیدروژنی تشکیل شود. همچنین استاکینگ π-π بین Tyr265 آنزیم و حلقه تریازول دارو مشاهده شده است. پیوند هیدروژن و پیوند هیدروفوب قوی بین ریبویرین با آنزیم، حاکی از آن است که ریبویرین می‌تواند یک مهارکننده قوی برای PLpro باشد [۱۲، ۲۹].

پروتئین 3CLpro^{۲۶} که به نام Nsp5 هم شناخته شده است اولین آنزیمی است که به طور خودکار از پلی‌پروتئین اولیه برای تولید آنزیم‌های بالغ جدا می‌شود و سپس NPS‌های دیگر در پایین‌دست در ۱۱ جایگاه بُرش خورده و آزادسازی Nsp4-Nsp16 انجام می‌شود. این آنزیم در چرخه زندگی ویروس ضروری است. تحقیقات دقیق در مورد ساختار و مکانیسم عملکرد 3CLpro باعث می‌شود 3CLpro یک هدف مناسب برای توسعه داروهای ضد کروناویروس باشد. مونومر 3CLpro دارای سه دمین است: دمین I (اسد آمینه‌های ۸-۱۰۱)، دمین II (اسد آمینه‌های ۱۰۲-۱۸۴) دمین III (اسید آمینه‌های ۲۰۱-۳۰۳) و یک حلقه طولانی (اسید آمینه‌های ۱۸۵-۲۰۰) که دمین‌های II و III را به هم متصل می‌کند. جایگاه

26. 3C-like main protease

افزایش جذب فسفر و کلسیم از روده‌ها و کاهش دفع از کلیه به متابولیسم استخوان‌ها کمک می‌کند. نیاز روزانه برای این ویتامین برای هر فرد بالغ ۱۰ میکروگرم یا حداکثر دو هزار واحد در روز است. در دوران کودکی و پیری این میزان بالاتر است. در عفونت‌های ویروسی SARS-CoV، هم‌جوشی غشای ویروس و غشای سلول میزبان وابسته به کلسیم است و مشاهده شده است در غلظت‌های بالای کلسیم این عمل تسهیل می‌شود. از سوی دیگر آزاد شدن آنزیم‌های دخیل در همانندسازی ژنوم ویروس از سلول میزبان و همچنین عملکرد این آنزیم‌ها وابسته به کلسیم است و بالا بودن کلسیم کمک شایانی در عفونت ویروسی دارد [۳۴]. بنابراین افزایش غلظت ویتامین دی و در نتیجه افزایش غلظت کلسیم در سلول‌ها می‌تواند عفونت ویروسی را تسهیل کند. بنابراین استفاده از مکمل‌های غذایی ویتامین دی تنها در صورت کمبود ویتامین دی توصیه می‌شود. در صورتی که ویتامین دی فرد کمتر از ۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر باشد او دچار کمبود است و استفاده از مکمل‌های ویتامین دی برای او ضروری است و در غیر این صورت مضر است.

اثر ویتامین C بر بیماری کووید - ۱۹

ویتامین C که از جمله ویتامین‌های محلول در آب و از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌هاست، در واکنش‌های شیمیایی بدن یک حمل‌کننده الکترون است که نقش مهمی در سلامتی بدن و دستگاه ایمنی دارد. هر فرد به طور طبیعی به ۶۰ میلی‌گرم ویتامین C نیاز دارد که با مصرف انواع سبزیجات و مرکبات به راحتی تأمین می‌شود. اخیراً مطالعه‌ای نشان داده است که ویتامین C منجر به کاهش آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین (ACE) می‌شود که گیرنده اصلی ویروس‌های SARS-CoV و SARS-CoV-2 در سطح سلول‌های میزبان است [۳۵]. از آنجایی که این ویتامین محلول در آب است و مازاد نیاز روزانه در ادرار دفع می‌شود، بنابراین مصرف خوراکی آن اثر محسوسی بر افزایش غلظت آن ندارد، اما شاید بتوان تزریق وریدی ویتامین C را به عنوان یکی از روش‌های درمانی عفونت ویروسی SARS-CoV-2 در نظر گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه ماکرومولکول‌های مهم در موفقیت عفونت ویروسی SARS-CoV-2 با استفاده از نرم‌افزارهای شبیه‌سازی و روش‌های محاسباتی و آنالیزهای بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفتند که به طور کلی شامل عوامل مربوط به سلول میزبان مانند گیرنده ACE2 و TMPRSS2 و عوامل مربوط به ویروس مانند پروتئین‌های ساختاری و غیرساختاری هستند. پروتئین ساختاری ویروس با نام اسپایک که نقش مهمی در اتصال ویروس به سلول میزبان دارد و پروتئین‌های غیرساختاری ویروس با نام‌های PLpro، RdRp، CLpro3 و Helicase Nsp13 که در

در C ترمینال آن قرار دارد و دارای موتیف حفاظت‌شده Ser-Asp-Asp است. Nsp8 می‌تواند به صورت de novo تا طول ۶ نوکلئوتید سنتز کند که این قطعه می‌تواند به عنوان پرایمر برای آنزیم Nsp12-RdRp در سنتز RNA استفاده شود. علاوه بر این، کمپلکس Nsp7-Nsp8 اتصال Nsp12 به RNA را افزایش می‌دهد و فعالیت آنزیمی RdRps آن را تقویت می‌کند [۳۱].

در مطالعات مربوط به مهارکننده‌های SARS-CoV و MERS-CoV، از Nsp12-RdRp به عنوان یک هدف دارویی بسیار مهم استفاده شده است. در اصل مهار هدف‌مند Nsp12-RdRp نمی‌تواند باعث سمیت و عوارض جانبی قابل توجهی روی سلول‌های میزبان شود. با توجه به جدول‌های شماره ۵ و ۶ نتایج مطالعات داکینگ نشان داد برخی داروها با mfScores پایین‌تر از ۱۱۰- می‌توانند مهارکننده بالقوه‌ای برای RdRps باشند، مانند داروی ضدقارچ ایتراکونازول، داروی ضدباکتریایی نوبیویوسین، داروی حل‌کننده سنگ کیسه صفرا (اسید فنیلدوکسیکولیک)، داروی ضدحساسیت کورتیزون، داروی ضدتومور ایداروبیسین، داروی محافظت‌کننده کبدی سیلیبین و داروی آرامش‌بخش عضله پانکراوریم برومید. محصولات طبیعی و مشتقات آن‌ها مانند ترکیبات آنتی‌ویروس، ضدالتهاب و ضدتوموری نیز میل اتصال زیادی به RdRp نشان دادند [۱۲، ۳۱].

هلیکاز یا Nsp13 یک پروتئین چندمنظوره شامل دمین اتصال به فلز (MBD) در انتهای N ترمینال و دمین هلیکاز (Hel) در انتهای C ترمینال است. دمین MBD شامل ۲۶ باقی‌مانده سیستئین برای تشکیل یک ناحیه اتصال Zn²⁺ و دمین Hel نیز دارای یک موتیف حفاظت‌شده است [۳۲]. Nsp13 می‌تواند هر دو ساختار DNA و RNA دورشته‌ای را در جهت ۵' به ۳' باز کند. همچنین گزارش شده است که توالی Nsp13 در SARS حفاظت شده است و یک مؤلفه ضروری برای تکثیر کروناویروس‌هاست [۳۳]. بنابراین به عنوان یک هدف برای طراحی داروهای ضدویروسی شناخته شده است، اما در مورد مهارکننده‌های Nsp13 مطالعات اندکی وجود دارد. با توجه به جدول‌های شماره ۵ و ۶ براساس مدل‌سازی ساختار پروتئین هلیکاز، پیش‌بینی می‌شود داروهای ضدباکتریایی (لیمسیکلین، سفسلودین و رولیتیتراسلکین)، داروی ضدقارچ ایتراکونازول، داروی نقص ایمنی ضدویروس-۱ (HIV-1) ساکیونایر، داروی ضدانعقاد دبیگاتران و داروی افزایش‌دهنده ادرار (دیورتیک) اسید کانژونیک مهارکننده‌های هلیکاز با امتیاز بالا از طریق مطالعات مدلینگ هستند [۱۲].

اثر ویتامین‌های D بر بیماری کووید - ۱۹

ویتامین D یکی از ویتامین‌های لازم برای بدن و از ویتامین‌های محلول در چربی است که به رشد و استحکام استخوان‌ها از طریق کنترل تعادل کلسیم و فسفر کمک می‌کند. این ویتامین با ایجاد

دارد؛ بنابراین این آزمون نیز می‌تواند به عنوان یک هدف دارویی مناسب در نظر گرفته شود [۲۰]. پروتئین اسپایک موجود در سطح ویروس نیز از گزینه‌های دیگری است که به صورت منفرد به عنوان یک هدف دارویی مناسب مورد توجه قرار گرفته است. هر ترکیبی که بتواند با تمایل بالا به این پروتئین متصل شود می‌تواند مانع اتصال ویروس به سلول میزبان و در نتیجه ممانعت از عفونت ویروسی شود.

بهترین ترکیبی که تمایل به اتصال به آن و مهار تشکیل کمپلکس Spike-ACE2 را نشان داد ترکیب طبیعی هسپریدین است. بهترین اهداف دارویی مربوط به قبل از ورود ویروس به سلول میزبان است، زیرا کمترین آسیب به سلول میزبان را به همراه خواهد داشت. اما پس از مرحله ورود ویروس به داخل سلول میزبان هم می‌توان پروتئین‌های اختصاصی ویروس که نقش مهمی در تکثیر ویروس ایفا می‌کنند را نیز به عنوان اهداف دارویی مورد بررسی قرار داد. پروتئین‌هایی که در رونویسی RNA ویروس، ترجمه، سنتز پروتئین‌های ویروس، پردازش و اصلاح آن‌ها و در نهایت تکثیر و خروج و رهاسازی ویروس از سلول میزبان و گسترش عفونت ویروسی نقش دارد از این جمله هستند [۱۲].

در حال حاضر محققان در نقاط مختلف دنیا ترکیبات دارویی‌ای برای مهار عفونت ویروسی COVID-19 معرفی کرده‌اند که در مراحل بررسی‌های بالینی قرار دارند. با توجه به سخت‌گیری‌های حاکم بر این مراحل و طولانی و زمان‌بر بودن آن‌ها، ضروری است تا زمان عرضه این داروها مراقبت‌های همگانی، به‌ویژه مراقبت از افراد مسن و بیماران در اولویت قرار گیرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

با توجه به مروری بودن مطالعه حاضر، نیازی به ارائه کد اخلاق نبوده است.

حامی مالی

این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمانی‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌کنند هیچ‌گونه تعارض منافع وجود ندارد.

فرایندهای تکثیر ژنوم ویروس و رهاسازی آن از سلول میزبان نقش دارند به صورت جزئی مورد بررسی قرار گرفته است.

سیستم ویژه امتیازدهی دوگانه ICM-Pro به ما امکان می‌دهد که ارزیابی و نتیجه‌گیری دقیق‌تر انجام شود. امتیاز نرم‌افزار ICM با توجه به عملکرد تجربی و بر اساس میان‌کنش‌های فیزیکی قابل پیش‌بینی محاسبه شده است؛ در حالی که mfscore یا میانگین امتیاز نیروی پتانسیل عملکردها به صورت دانش‌محور و با توجه به مطالعات آماری مجموعه لیگاند - گیرنده در PDB محاسبه شده است. داروهای موجود در دو بانک اطلاعاتی ZINC با نزدیک به سه هزار ترکیب و بانک اطلاعاتی ترکیبات طبیعی با بیش از هزار ترکیب مورد بررسی قرار گرفته است که ترکیبات ضدویروسی، ضدباکتریایی و ضدالتهاب بیشترین تمایل برای اتصال به پروتئین‌های هدف مختلف را نشان می‌دهند [۱۲].

از دیدگاه مولکولی یکی از مراحل مهم در آلودگی سلول به وسیله ویروس کرونا برهم‌کنش پروتئین تاجی شکل موسوم به اسپایک در سطح ویروس با گیرنده غشایی در سطح سلول‌های میزبان موسوم به ACE2 است. ساخت ترکیبات جدیدی که این برهم‌کنش پروتئین - پروتئین را متاثر می‌کند، به طور بالقوه قابلیت درمانی دارند. در واقع ممانعت از این برهم‌کنش پروتئین - پروتئین ورود ویروس به داخل سلول میزبان را مهار کرده و بدون اینکه آسیبی به سلول میزبان وارد شود، عفونت ویروسی متوقف خواهد شد. گیرنده ACE2 نیز اخیراً به صورت منفرد به یکی از اهداف مهم درمانی تبدیل شده است. چندین ترکیب معرفی شده است که تمایل بالایی به آن نشان می‌دهند، در حالی که همین ترکیبات تمایل پایینی برای اتصال به مجموعه پروتئینی Spike-ACE2 نشان داده‌اند [۳۶].

محققان علیه این گیرنده آنتی‌بادی اختصاصی طراحی کرده‌اند که سطح آن را می‌پوشاند و از تماس مستقیم پروتئین اسپایک ویروس با آن جلوگیری می‌کند [۳۷، ۳۸]. علاوه بر آنتی‌بادی، ترکیبات سنتزی نیز احتمالاً قابلیت اتصال به این گیرنده و ممانعت از اتصال ویروس کرونا را خواهند داشت که تا به امروز مهم‌ترین پژوهش در این زمینه مربوط به تولید پروتئین محلول و نوترکیب ACE2 تحت عنوان hrsACE2 است و همان‌طور که اشاره شد می‌تواند به طور قابل توجهی عفونت کووید - ۱۹ را در مراحل اولیه مهار کند، در حالی که اثر سمیت بر روی سلول‌های انسانی ندارد.

پروتئین hrsACE2 همانند یک مهارکننده رقابتی با ACE2 عمل کرده، با تمایل اتصال بالایی به ویروس متصل می‌شود و از اتصال ویروس به گیرنده ACE2 در سطح سلول‌های میزبان جلوگیری می‌کند و مانع ورود ویروس به سلول‌ها و بیماری CO-VID-19 می‌شود. TMPRSS2 هم یک پروتئاز ترانس ممبران در سلول میزبان است که نقش مهمی در اتصال پروتئین تاجی شکل اسپایک به گیرنده ACE2 و در نتیجه عفونت ویروسی

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بابت حمایت‌های علمی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین سپاس گزار هستند.

References

- [1] Li YC, Bai WZ, Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may be at least partially responsible for the respiratory failure of COVID-19 patients. *J Med Virol.* 2020; 92(6):552-5. [DOI:10.1002/jmv.25728] [PMID] [PMCID]
- [2] Liu Y, Gayle AA, Wilder-Smith A, Rocklöv J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *J Travel Med.* 2020; 27(2):taaa021. [DOI:10.1093/jtm/taaa021] [PMID] [PMCID]
- [3] Tavakoli A, Vahdat K, Keshavarz M. Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): An emerging infectious disease in the 21st century. *Iran South Med J.* 2020; 22(6):432-50. [In Persian] [DOI:10.29252/ismj.22.6.432]
- [4] Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* 2020; 30(3):269-71. [DOI:10.1038/s41422-020-0282-0] [PMID] [PMCID]
- [5] Memish ZA, Zumla AI, Al-Hakeem RF, Al-Rabeeh AA, Stephens GM. Family cluster of Middle East respiratory syndrome coronavirus infections. *N Engl J Med.* 2013; 368(26):2487-94. [DOI:10.1056/NEJMoa1303729] [PMID]
- [6] Brian DA, Baric RS. Coronavirus genome structure and replication. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2005; 287:1-30. [DOI:10.1007/3-540-26765-4_1] [PMID] [PMCID]
- [7] Holmes EC. Novel 2019 coronavirus genome [Internet]. 2020. [Updated 2020 January 10]. Available from: <https://virological.org/t/novel-2019-coronavirus-genome/319>
- [8] GSAID. 2020 Coronavirus [Internet]. 2020 [Updated 2020]. Available from: <https://www.gisaid.org/>
- [9] Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host Microbe.* 2020; 27(3):325-8. [DOI:10.1016/j.chom.2020.02.001] [PMID] [PMCID]
- [10] Subissi L, Imbert I, Ferron F, Collet A, Coutard B, Decroly E, et al. SARS-CoV ORF1b-encoded nonstructural proteins 12-16: Replicative enzymes as antiviral targets. *Antiviral Res.* 2014; 101:122-30. [DOI:10.1016/j.antiviral.2013.11.006] [PMID] [PMCID]
- [11] Chu CK, Gadthula S, Chen X, Choo H, Olgen S, Barnard DL, et al. Antiviral activity of nucleoside analogues against SARS-coronavirus (SARS-CoV). *Antivir Chem Chemother.* 2006; 17(5):285-9. [DOI:10.1177/095632020601700506] [PMID]
- [12] Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm Sin B.* 2020; 10(5):766-88. [DOI:10.1016/j.apsb.2020.02.008] [PMID] [PMCID]
- [13] Wu YC, Chen CS, Chan YJ. Overview of the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV): The pathogen of Severe Specific Contagious Pneumonia (SSCP). *J Chin Med Assoc.* 2020; February. <http://tools.ovid.com/coronavirus/oft/02118582-900000000-99813.pdf>
- [14] Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal.* 2020; 10(2):102-8. [DOI:10.1016/j.jpha.2020.03.001] [PMID] [PMCID]
- [15] Ge XY, Li JL, Yang XL, Chmura AA, Zhu G, Epstein JH, et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature.* 2013; 503(7477):535-8. [DOI:10.1038/nature12711] [PMID] [PMCID]
- [16] Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol.* 2020; 94(7):e00127-20. [DOI:10.1128/JVI.00127-20] [PMID] [PMCID]
- [17] Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 2020; 46(4):586-90. [DOI:10.1007/s00134-020-05985-9] [PMID] [PMCID]
- [18] Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9(1):382-5. [DOI:10.1080/22221751.2020.1729069] [PMID] [PMCID]
- [19] Li F, Li W, Farzan M, Harrison SC. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science.* 2005; 309(5742):1864-8. [DOI:10.1126/science.1116480] [PMID]
- [20] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020; 181(2):271-80. [DOI:10.1016/j.cell.2020.02.052] [PMID] [PMCID]
- [21] Zu ZY, Jiang MD, Xu PP, Chen W, Ni QQ, Lu GM, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A perspective from China. *Radiology.* 2020; 296(2):E15-25. [DOI:10.1148/radiol.20200490] [PMID] [PMCID]
- [22] Yang Y, Lu Q, Liu M, Wang Y, Zhang A, Jalali N, et al. Epidemiological and clinical features of the 2019 novel coronavirus outbreak in China. *medRxiv.* 2020. [DOI:10.1101/2020.02.10.20021675]
- [23] Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395(10223):497-506. [DOI:10.1016/S0140-6736(20)30183-5]
- [24] Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: A retrospective review of medical records. *Lancet.* 2020; 395(10226):809-15. [DOI:10.1016/S0140-6736(20)30360-3]
- [25] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *medRxiv.* 2020. [DOI:10.1101/2020.02.06.20020974]
- [26] Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus*

- Res. 2015; 202:120-34. [DOI:10.1016/j.virusres.2014.11.021] [PMID] [PMCID]
- [27] Monteil V, Kwon H, Prado P, Hagelkrüys A, Wimmer RA, Stahl M, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell*. 2020; 181(4):905-13. [DOI:10.1016/j.cell.2020.04.004] [PMID] [PMCID]
- [28] Harcourt BH, Jukneliene D, Kanjanahaluethai A, Bechill J, Severson KM, Smith CM, et al. Identification of severe acute respiratory syndrome coronavirus replicase products and characterization of papain-like protease activity. *J Virol*. 2004; 78(24):13600-12. [DOI:10.1128/JVI.78.24.13600-13612.2004] [PMID] [PMCID]
- [29] Li SW, Wang CY, Jou YJ, Huang SH, Hsiao LH, Wan L, et al. SARS coronavirus papain-like protease inhibits the TLR7 signaling pathway through removing Lys63-linked polyubiquitination of TRAF3 and TRAF6. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(5):678. [DOI:10.3390/ijms17050678] [PMID] [PMCID]
- [30] Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V, Hayashi Y, Jung SH. An overview of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: Peptidomimetics and small molecule chemotherapy. *J Med Chem*. 2016; 59(14):6595-628. [DOI:10.1021/acs.jmedchem.5b01461] [PMID] [PMCID]
- [31] Imbert I, Guillemot JC, Bourhis JM, Bussetta C, Coutard B, Egloff MP, et al. A second, non-canonical RNA-dependent RNA polymerase in SARS Coronavirus. *EMBO J*. 2006; 25(20):4933-42. [DOI:10.1038/sj.emboj.7601368] [PMID] [PMCID]
- [32] Jang KJ, Lee NR, Yeo WS, Jeong YJ, Kim DE. Isolation of inhibitory RNA aptamers against Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) coronavirus NTPase/Helicase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 366(3):738-44. [DOI:10.1016/j.bbrc.2007.12.020] [PMID] [PMCID]
- [33] Shum KT, Tanner JA. Differential inhibitory activities and stabilisation of DNA aptamers against the SARS coronavirus helicase. *Chembiochem*. 2008; 9(18):3037-45. [DOI:10.1002/cbic.200800491] [PMID] [PMCID]
- [34] Lai AL, Millet JK, Daniel S, Freed JH, Whittaker GR. The SARS-CoV fusion peptide forms an extended bipartite fusion platform that perturbs membrane order in a calcium-dependent manner. *J Mol Bio*. 2017; 429(24):3875-92. [DOI:10.1016/j.jmb.2017.10.017] [PMID] [PMCID]
- [35] Wang J, Yin N, Deng Y, Wei Y, Huang Y, Pu X, et al. Ascorbic acid protects against hypertension through downregulation of ACE1 gene expression mediated by histone deacetylation in prenatal inflammation-induced offspring. *Scientific Rep*. 2016; 6:39469. [DOI:10.1038/srep39469] [PMID] [PMCID]
- [36] Liu Z, Xiao X, Wei X, Li J, Yang J, Tan H, et al. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J Med Virol*. 2020; 92(6):595-601. [DOI:10.1002/jmv.25726] [PMID] [PMCID]
- [37] Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *bioRxiv*. 2020. [DOI:10.1101/2020.02.19.956581]
- [38] Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020; ciaa344. [DOI:10.1093/cid/ciaa344] [PMID] [PMCID]