

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2021.02.020

# 基于虚拟筛选方法从中药中发现 SARS-CoV-2 抑制剂

温泽宇<sup>1</sup>, 宋 昱<sup>1</sup>, 官美娜<sup>1</sup>, 刘伊彤<sup>2</sup>, 曹洪玉<sup>1</sup>, 史丽颖<sup>1</sup>

(1.大连大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116622)

(2.中国医学科学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

**[摘要]** 主蛋白酶(Mpro)在 SARS-CoV-2 病毒自我复制过程中发挥重要作用,以蛋白酶 Mpro 为靶标的药物可以有效地治疗 SARS-CoV-2 病毒感染.因此,本研究对中药数据库 TCMD 进行虚拟筛选,筛选得到的化合物满足 Lipinski 规则与 Veber 规则,且通过 TOPKAT 预测,筛选得到的化合物具有良好的成药性.研究分子对接下的互作模式以及通过自由结合能验证复合物体系的稳定性.结果显示,化合物 1(ZINC33830770,灵芝属三萜类化合物)和化合物 4(ZINC1335889,杭菊中的不饱和脂肪酸异丁基酰胺)与阳性对照药物 Talampicillin 类似,在蛋白酶 Mpro 的活性口袋中,均表现出较强的亲和力以及稳定性.因此化合物 1 和化合物 4 可以通过抑制蛋白酶 Mpro 对 COVID-19 发挥潜在的防治作用.

**[关键词]** SARS-CoV-2,分子对接,虚拟筛选,构效关系

**[中图分类号]**R284.1 **[文献标志码]**A **[文章编号]**1001-4616(2021)02-0141-08

## Discovery of SARS-CoV-2 Inhibitor from Traditional Chinese Medicine Based on Virtual Screening

Wen Zeyu<sup>1</sup>, Song Yu<sup>1</sup>, Gong Meina<sup>1</sup>, Liu Yitong<sup>2</sup>, Cao Hongyu<sup>1</sup>, Shi Liying<sup>1</sup>

(1.School of Life Sciences and Biotechnology, Dalian University, Dalian 116622, China)

(2.Institute of Medical Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

**Abstract:** The main protease(Mpro) of the SARS-CoV-2 plays an important role in the self-replication process, and drugs targeting the main protease can treat SARS-CoV-2 infections. Therefore, it was conducted a virtual screening on the traditional Chinese medicine database;TCMD, and the compounds obtained by the screening meet the Lipinski rule and the Veber rule, and the compounds obtained by the TOPKAT prediction. The compounds obtained by the screening have good pharmaceutical properties. Studying the interaction mode under molecular docking and verifying the stability of the complex system through free binding energy. The results showed that the compound 1(ZINC33830770, triterpenes from *Ganoderma lucidum*) and the compound 4(ZINC13358899, isobutylamides of unsaturated fatty acids from *chrysanthemum morifolium*) were confirmed to be similar to the positive control drug Talampicillin, shows strong affinity and stability in the active pocket of the main protease. Therefore, compound 1 and compound 4 can play a potential preventive effect on COVID-19 by inhibiting the Mpro.

**Key words:** SARS-CoV-2, molecular docking, virtual screening, structure activity relationship

2020年2月3日世界卫生组织(World Health Organization, WHO)发布了《国际社会的战略防范和应对计划》<sup>[1]</sup>,将新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease-2019, COVID-19)疫情列为国际关注的突发公共卫生事件.截止2020年7月,新型冠状病毒已在世界多个国家地区爆发,累积确诊人数达1400万余人,累计死亡人数多达60万余人<sup>[2]</sup>,疫情导致数百万人被强制隔离,疫情严重地区被封锁,这给人们的生活以及世界经济带来了巨大的冲击与挑战.面临全球每日破万的新增病例,针对SARS-COV-2的疫苗以及特效药的研制仍在进行中.

SARS-CoV-2属于 $\beta$ 型冠状病毒,基因组测序表明,人类严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)与

收稿日期:2020-07-31.

基金项目:辽宁省科学技术计划项目(2019-ZD-0564).

通讯作者:史丽颖,博士,副教授,研究方向:天然活性物质的研究. E-mail:shiliying@dlu.edu.cn

SARS-CoV-2 病毒具有 79% 的序列相似性, 序列同源性较高. 同时, 这种致病性冠状病毒与蝙蝠冠状病毒同源性达 96.2%<sup>[3-5]</sup>. 主蛋白酶(Mpro) 作为目前的研究热点被认为在 SARS-CoV-2 病毒感染人体过程中发挥着重要作用, Mpro 蛋白酶属于木瓜蛋白酶, SARS-CoV-2 的 Mpro 蛋白酶与 SARS-CoV 的 Mpro 蛋白酶具有较高的序列同源性和结构相似性<sup>[6-7]</sup>. 活性 Mpro 蛋白酶含有两个结构域, 参与病毒复制酶的成熟与加工. 因此 Mpro 蛋白酶抑制剂可以抑制病毒的复制, 增加宿主对 SARS-COV-2 病毒的抗感染能力<sup>[8-10]</sup>. 此外, Mpro 蛋白酶与人体内的蛋白酶相似性很低, 所以 Mpro 蛋白酶抑制剂对人体的毒性作用很小<sup>[11]</sup>.

目前已有多种蛋白酶抑制剂用于治疗病毒引起的肺炎, 蛋白酶抑制剂洛匹那韦/利托那韦是人类免疫缺陷病毒(HIV) 常用药物, 初步研究表明可用于治疗 COVID-19 患者, 但在临床应用中, 这些药物并没有表现出对 SARS-COV-2 病毒很强的治疗效果<sup>[12-13]</sup>. 除此之外, 抗病毒药物氯喹被报道应用于治疗 SARS-COV-2 感染. 但蛋白酶抑制剂洛匹那韦/利托那韦以及氯喹类药物在治疗中使重度患者会出现消化道不适甚至肝肾功能损伤等不良反应<sup>[14-15]</sup>. 因此, 研发特异性高且安全的抗 SARS-COV-2 药物迫在眉睫. SARS-COV-2 病毒首先在中国被报道, 在世界疫情爆发式增长的环境下, 中国凭借独特的中西医结合治疗手法使疫情得到稳定控制. 针对“炎症因子风暴理论”中药对 SARS-CoV-2 病毒感染症状控制率达 81.3%, 除此之外中药治疗能够有效地降低轻症患者向重症转化的概率. 目前, 清肺排毒汤、连花清瘟胶囊以及疏肝解毒胶囊等中药处方及药剂在临床治疗中在重度患者身上取得了较好的疗效. 另外许多中药药方在预防 SARS-COV-2 病毒感染工作中被广泛应用<sup>[16-17]</sup>. 因此, 发挥中药的独特优势, 从传统中药中发现新型 SARS-COV-2 抑制剂有着重要的意义.

为了满足目前治疗 SARS-CoV-2 病毒感染药物的迫切需求, 本次研究中, 采取计算机辅助药物虚拟筛选的方法对中药数据库 TCMD 进行虚拟筛选, 酞氨苄西林(Talampicillin) 是前期研究发现与 Mpro 蛋白酶有较强亲和力的上市药物<sup>[18]</sup>. 对比 Talampicillin 与 Mpro 蛋白酶活性位点的结合方式进一步筛选出具有抑制 Mpro 蛋白酶作用的先导化合物, 为 Mpro 蛋白酶抑制剂的开发提供指导方向(图 1).

## 1 实验方法

所有分子对接模拟以及自由结合能计算工作通过 Insight II 和 Schrodinger 2019 完成, 利用 Paymol 软件进行视图操作.

### 1.1 中药数据库信息

中药化学数据库(traditional chinese medicines database, TCMD) 是中科院过程工程研究所分子设计课题组在长期从事药物设计方法研究的背景下, 对数据库工具的国内外需求进行分析, 经多年努力研制成功的科学数据库产品, 是一个支持新药研发和中药现代化研究的新型工具. 本研究中的虚拟筛选对象即为 TCMD 数据库中下载的 24 000 个中药分子.

### 1.2 靶蛋白及中药数据库筛选

Mpro 蛋白酶晶体结构已经在公共蛋白数据库发表, 从蛋白质数据库(<http://www.rcsb.org/pdb/>) 下载了 Mpro 蛋白酶晶体结构(PDB:6LU7)<sup>[19]</sup>. 按照 Lipinski 规则、Veber 规则以及 TOPKAT 预测对数据库进行初筛, 随后基于分子对接方法进一步筛选. 对筛选得到的化合物进行互作模式的分析以及自由结合能计算, 排除假阳性概率.

### 1.3 配体与蛋白预处理及分子对接

在 Insight II 软件将蛋白晶体结构中的水删掉, 对蛋白进行加氢以及对蛋白晶体结构中非完整氨基酸残基进行矫正. 中药数据库中的小分子全部添加氢原子, 使所有小分子统一产生三维结构, 以及生成异构

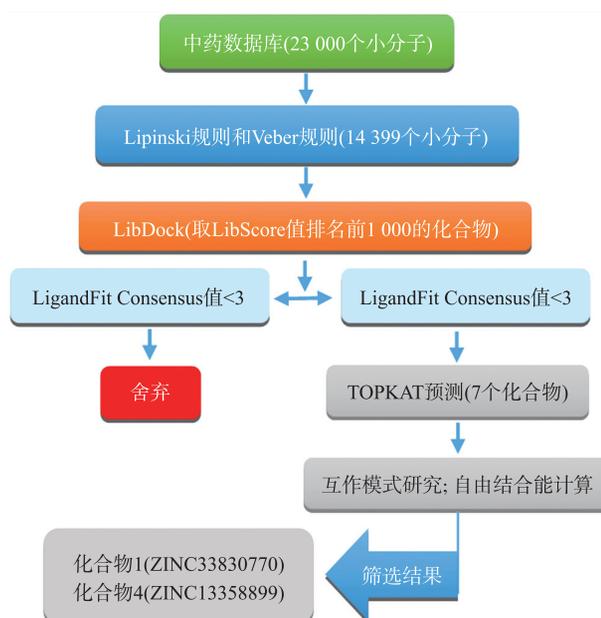


图 1 Mpro 蛋白酶抑制剂虚拟筛选流程图

Fig. 1 Flow chart of virtual screening of Mpro inhibitors

体,同时赋予 CHARMM 力场. 利用 Insight II 软件中的 LibDock 与 LigandFit 对数据库进行筛选,通过筛选得到的化合物同阳性对照组采用高精度对接方法 CDOCKER 进行对接分析.

#### 1.4 自由结合能计算

受体与配体之间的自由结合能( $\Delta G_{\text{bind}}$ )反应出复合物体系的稳定性,是判断化合物针对靶标蛋白是否有活性的重要参考依据. $\Delta G_{\text{bind}}$ 主要有三方面影响因素:气相自由能( $\Delta G_{\text{MM}}$ )、溶剂化自由能( $\Delta G_{\text{solv}}$ )和系统熵变化( $\Delta G_{\text{SA}}$ ),三者关系如下方程:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta G_{\text{MM}} + \Delta G_{\text{solv}} + \Delta G_{\text{SA}}$$

将 Mpro 蛋白酶晶体结构在 Schrodinger 2019 进行能量最小化处理,筛选得到的小分子配体于“LigPrep”默认参数下进行预处理. Prime MM-GBSA 功能可计算单个配体与受体蛋白的自由能,选择溶剂模型为 VSGB,采用系统对配体以及受体氨基酸位置、方向和构象采样方式(hierarchical sampling). 在 OPLS\_2005 力场下,逐一地对筛选后得到的药物以及阳性对照组计算自由结合能并分析比较.

## 2 结果与讨论

### 2.1 类药性筛选

中药数据库 TCMD 共含有 23 000 个中药分子,化合物的结构决定了其基本特征,基本特征决定了其物理化学和生物化学性质,后者最终决定了它的药理学和毒性. Lipinski 规则与 Veber 规则用于对数据库进行初步筛选,Lipinski 规则包含分子量不大于 500;氢键供体数目不超过 5;氢键受体数目不超过 10;脂水分配系数不超过 5;可旋转键的数量不超过 10 个五个原则. Veber 规则包含可旋转化学键不超过 10 个;极性表面积不超过  $140 \text{ \AA}^2$ ;氢键总数不超过 12 个三个原则. 化合物如果不满足以上规则中的任何一项,在生物利用度以及毒性方面就会存在问题<sup>[20]</sup>. 通过 Lipinski 规则和 Veber 规则对数据库进行初筛,可以摒弃那些不能够成药的化合物,从而大幅度降低筛选范围和药物研发成本,共 14 399 个小分子通过 Lipinski 规则和 Veber 规则.

### 2.2 基于分子对接筛选

初步筛选成功的化合物通过分子对接方法进一步筛选,分子对接是从整体上考虑配体与受体结合的效果,能够较好地避免其他方法中容易出现局部作用较好而整体结合欠佳的情况. N3 肽类抑制剂被证实可特异性抑制多种冠状病毒的 Mpro 蛋白,Xu 等研究人员对 SARS-CoV-2-Mpro 蛋白和 N3 肽类抑制剂复合物进行 X 晶体衍射,结构显示 Mpro 蛋白酶底物结合位点由催化结构域 I 和 II 组成,共晶配体 N3 作用于催化位点. 分子模拟实验和活性实验均证明 N3 可作为 Mpro 蛋白抑制剂<sup>[19]</sup>. 本次研究首先通过 LibDock 进行初筛,将 Mpro 蛋白晶体结构中 N3 作用位置定义为受体活性位点( $X = -10.712, Y = 12.411, Z = 68.831$ ),活性口袋大小为原配体中心半径为  $13 \text{ \AA}$  范围内的氨基酸. 计算得到热区图,包含极性和非极性部分,接着不同构象的配体分子分别刚性地叠合至热区图以形成比较合适的相互作用,然后进行能量优化,最后保留打分较高的对接构象. 14 399 个化合物保持其构象与 Mpro 蛋白酶进行刚性对接以进行快速筛选. 剩余的化合物在 LibDock 对接后,LibScore 值分布在 157~179. LibScore 值可以反应出化合物与蛋白受体的结合效果,将 LibScore 值由大到小排序后,考虑筛选化合物结构的多样性以及不同数值下化合物的数目、化合物与受体之间的作用力数量和类型的情况,决定取 LibScore 值排名前 1 000 的化合物进行 LigandFit 筛选.

Ligandfit 具备了受体分子活性位点的自动寻找和确认、构象柔性的多配体对接以及基于力场的相互作用打分评价的功能. 1 000 个化合物置于 Mpro 蛋白酶活性位点中,LigandFit 按照几何互补、能量互补以及化学环境互补的原则对其构象进行调整,找到配体与受体的最佳结合模式. 采用 LigScore1、LigScore2、PLP1、PLP2、Jain、PMF 6 种打分函数对过滤后的化合物进行一致性打分评价,一致性评分后,Consensus 值可反应对接 Pose 与蛋白结合效果,将 Consensus 值按照由大到小顺序排列后,取该值大于等于 3 的化合物. 基于分子对接筛选后,获得 235 个化合物.

### 2.3 基于毒理性预测筛选

TOPKAT 预测原理是通过建立 QSTR(定量化合物片段结构-毒性关系)模型,该模型不仅可以预测药物毒性,还可以评价药物到达治疗靶点的药理活性浓度. 预测过程中采用“最佳预测空间”评估验证技术

来提高预测的可靠性,并且预测结果会返回相似化合物的毒性特性,可从相似化合物的角度来综合判定预测结果. 从致畸性、致突变性、致癌性 3 个方面对剩余化合物进行筛选,选择具有较低啮齿动物致癌性、较低 Ames 致突变性以及较低发育毒性的化合物用于下一步互作模式研究. 最终 7 个化合物被预测为无致癌性、致畸性和致突变性风险,通过 TOPKAT 测试,认为这 7 个化合物是潜在的 Mpro 抑制剂的先导化合物. 这 7 个化合物详细的理化信息见表 1. 最后对中药数据库筛选后得到的这些化合物进行分子对接研究以及自由结合能的计算以排除这些化合物中的假阳性概率.

表 1 7 个化合物的理化信息

Table 1 Physical and chemical information of 7 compounds

化合物	ZINC ID	来源药材	Molecular weight <sup>a</sup>	HBA <sup>b</sup>	HBD <sup>c</sup>	Rotatable bonds <sup>d</sup>	AlogP <sup>e</sup>	Polar SurfaceArea <sup>f</sup>
1	ZINC33830770	灵芝	482.695	4	2	6	4.828	74.59
2	ZINC5925649	红桦皮	430.706	2	2	6	7.049	40.46
3	ZINC14722314	山椒	273.413	2	1	9	4.449	29.1
4	ZINC13358899	杭菊	269.381	2	1	9	4.694	29.1
5	ZINC85996577	同形裂片胡枝子	464.507	7	3	7	6.493	109.36
6	ZINC14610510	蒙桑	446.578	4	3	9	8.727	73.83
7	ZINC95913803	穆库尔没药	458.716	3	2	10	7.118	57.53

注:a 分子量;b 氢键受体数目;c 氢键供体数目;d 可旋转化学键个数;e 油水分配系数;f 极性表面积.

### 2.4 配体-蛋白互作模式

酞氨苄西林(Talampicillin)是一种抗革兰氏阴性菌类上市药物. Elmezayen 等通过分子对接筛选 Mpro 蛋白抑制剂,结果显示 Talampicillin 与 Mpro 蛋白酶有较高的亲和力<sup>[18]</sup>. 本次研究将 Talampicillin 以及 7 个先导化合物通过 CDOCKER 与 Mpro 蛋白酶实现精确对接,通过分析 Talampicillin 在 Mpro 蛋白酶活性口袋的互作模式,对比 7 个先导化合物的作用模式,进一步筛选出具有潜在活性的 Mpro 蛋白酶抑制剂.

如图 2b 所示,Talampicillin 在 Mpro 蛋白酶活性口袋中占据 S1、S2 以及 S3 3 个位点,Talampicillin 与 GLU166 形成经典的氢键作用,HIS164、HIS41 以及 PRO168 与 Talampicillin 形成碳氢键作用. 除氢键作用外,观察到 Mpro 蛋白酶与 Talampicillin 还存在着广泛的疏水作用. 如图 2a 所示,MET49 与 Talampicillin 结构中 S1'片段的苯环存在  $\pi$ -Alky 作用,HIS41 与苯环形成  $\pi$ - $\pi$  共轭作用,氨基酸 PRO168 与 Talampicillin 中 S2'片段的苯环形成  $\pi$ -Alkyl 作用,同时还可以看到 Talampicillin 与 Mpro 蛋白酶活性口袋周围的多个氨基酸存在范德华力作用. 保留相同参数设置,将筛选得到的 7 个先导化合物依次对接于 Mpro 蛋白酶活性口袋,并与 Talampicillin 的作用方式进行比较(图 2). 如表 2 所示,7 个先导化合物同 Talampicillin 都与 Mpro 蛋白酶活性口袋周围的氨基酸存在着较多的范德华作用. 7 个化合物形成的氢键数目各不相同,对比 Talampicillin 氢键作用方式,与 CYS143 形成经典的氢键作用是先导化合物之间存在共同作用模式. 不同于 Talampicillin,先导化合物中碳氢作用仅存在于部分化合物(化合物 1、3、4 和 6),且与其作用的氨基酸各不相同. 对比 Talampicillin 与先导化合物发现,与 HIS41、PRO168 之间的疏水作用方式为两者共同作

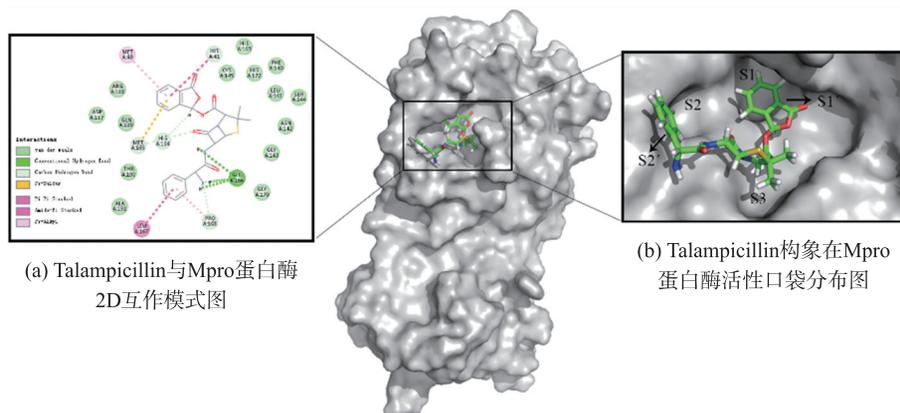
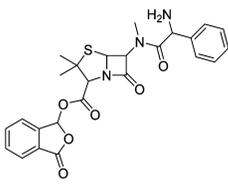
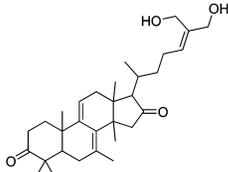
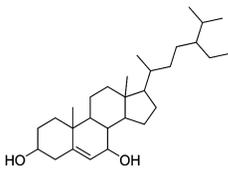
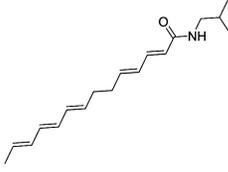
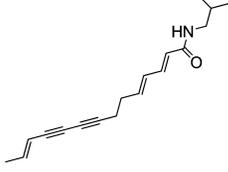
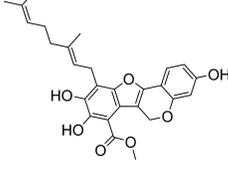
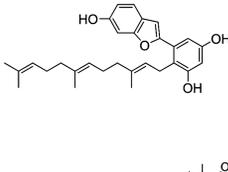
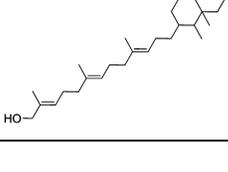


图 2 Talampicillin 与 Mpro 蛋白酶互作模式  
Fig. 2 Interaction mode between Talampicillin and Mpro

用方式. 化合物 5 与 Talampicillin 类似,与 PRO168 形成  $\pi$ -Alkyl 作用,另外化合物 5 中的苯环与 HIS41 形成  $\pi$ - $\pi$  共轭作用. 综上所述,Talampicillin 和先导化合物与 Mpro 蛋白酶互作模式相似. 化合物与 Talampicillin 都有较多的范德华作用力,先导化合物间产生经典氢键作用最多的氨基酸为 CYS143,产生疏水作用最多的氨基酸为 HIS41、PRO168.

表 2 Mpro 蛋白酶活性位点内的相互作用  
Table 2 Interactions within the Mpro active site

化合物	结构式	碳氢键作用	经典氢键作用	疏水作用	
				Alkyl	$\pi$ -Alkyl
Talampicillin		HIS164、 PRO168	GLU166		MET49、PRO168
1		ASN142	THR26、 GLY143	MET49	HIS41、CYS145
2			THR26、 LEU141	MET49、MET165、 CYS145、LEU167、 PRO168	HIS41
3		LEU141	GLY143		HIS163、HIS172
4		LEU141、 HIS163	GLY143	PRO168	HIS163、HIS172
5			CYS145	MET49	PRO168
6		ASN142、 GLY143	PHE140	PRO168	ALA191
7			SER144	PRO168、MET165、 LEU167	HIS163

### 2.5 自由结合能的计算

通过对 Talampicillin 和先导化合物与 Mpro 蛋白酶相互作用模式研究,发现两者的作用方式相似. 与阳性对照组相似的作用模式并不能完全证实 7 个化合物可作为潜在的 Mro 抑制剂的先导化合物. 所以通过进一步分析 Talampicillin 和先导化合物与 Mpro 蛋白酶复合物的自由结合能,证实复合物体系的稳定性,排除假阳性概率. 如表 3 所示,Talampicillin 自由结合能  $\Delta G_{\text{bind}} = -58.13$  kcal/mol. 从数据可以看出与氨基酸的范德华力作用( $\Delta G_{\text{bind}}^{\text{vdW}} = -50.60$  kcal/mol)对维持 Talampicillin 与 Mpro 蛋白酶复合物体系稳定有很关键的作用,除此之外库伦能( $\Delta G_{\text{bind}}^{\text{Coulomb}} = -15.78$ )以及亲脂性结合( $\Delta G_{\text{bind}}^{\text{Lipo}} = -12.25$ )也稳定持续地维持复合物的稳定性. 先导化合物与 Mpro 蛋白酶复合物自由结合能从  $-38.83$  kcal/mol 至  $-59.06$  kcal/mol 不等. 自由结合能分析得出,化合物 1-5 自由结合能的分布同阳性对照组相似,范德华力为复合物体系的稳定提供主要的能量,库伦能以及亲脂性结合能贡献虽比范德华能量低,但依然持续地维持体系的稳定. 其中化合物 1(ZINC33830770)与化合物 4(ZINC13358899)数据显示出两者与 Mpro 蛋白酶复合物的稳定性较强. 在 Mpro 蛋白酶活性口袋中化合物 1 和化合物 4 同 Talampicillin 构象相似(图 3a-i),配体结构骨架深入活性口袋并占据口袋 S1、S2 和 S3 位点. 不同于 Talampicillin 氢键作用方式,化合物 1 与 THR26 和 CYS143 存在经典氢键作用. 与 Talampicillin 类似,化合物 1 与 His41 存在疏水作用外,与 MET49 和 CYS145 存在  $\pi$ -Alky 作用. 化合物 4 与 CYS143 存在经典氢键作用,与 HIS163 和 LEU141 存在碳氢键作用. 与 Talampicillin 相比,两者都与 PRO168 存在疏水作用. 除此之外,化合物 4 与 HIS163 和 HIS172 存在  $\pi$ -Alky 作用.

表 3 Mpro 蛋白酶结合配体 MM-GBSA 自由结合能计算

Table 3 MM-GBSA free energy calculations(in kcal/mol) of ligands bound to Mpro

化合物	$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{a}}$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{Coulomb}^{\text{b}}}$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{Covalent}^{\text{c}}}$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{Hbond}^{\text{d}}}$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{Lipo}^{\text{e}}}$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{vdW}^{\text{f}}}$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{solvGB}^{\text{g}}}$
Talampicillin	-58.13	-15.78	2.33	-1.59	-15.25	-50.60	24.92
1	-58.91	-21.66	6.15	-1.33	-15.67	-48.96	22.56
2	-54.52	-21.55	5.15	-2.05	-16.42	-40.21	20.55
3	-55.99	-18.88	4.71	-0.65	-17.79	-44.99	21.63
4	-59.06	-20.73	5.52	-0.63	-17.05	-48.46	22.29
5	-50.06	-13.86	2.57	-0.87	-11.41	-44.97	20.82
6	-57.05	-37.63	3.23	-2.63	-13.34	-30.41	25.65
7	-38.83	-12.26	4.40	-0.53	-11.26	-38.18	19.00

注:a.自由结合能;b.库伦能对自由结合能的影响;c.共价键能对自由结合能的影响;d.氢键键能对自由结合能的影响;e.亲脂性结合能对自由结合能的影响;f.范德华力对自由结合能的影响;g.静电溶剂化能对自由结合能的影响.

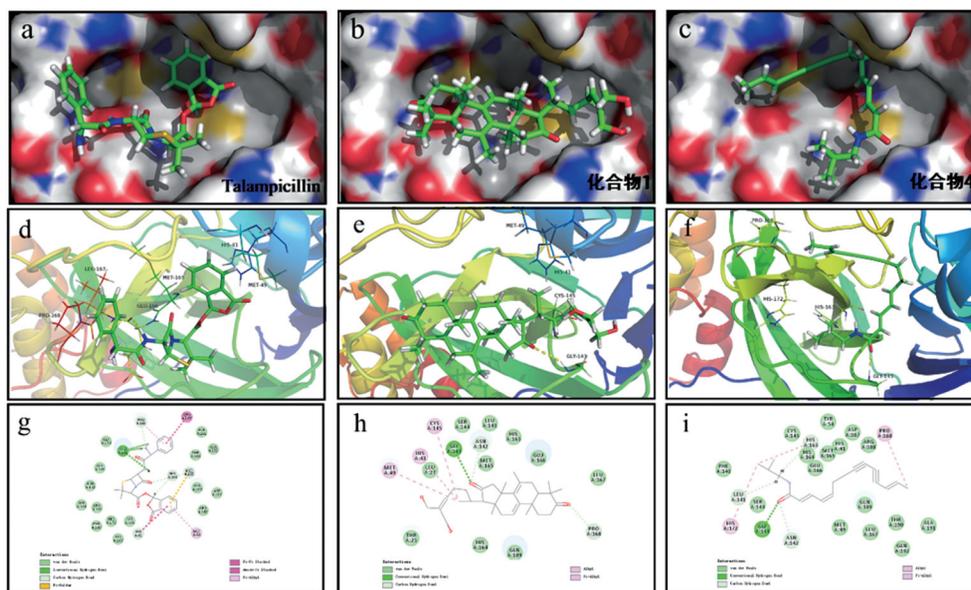


图 3 SARS-CoV-2 与 Talampicillin(a, d, g)、化合物 1(b, e, h)和化合物 4(c, f, i)二维及三维作用模式图

Fig. 3 2D and 3D interaction mode of SARS-CoV-2 and Talampicillin(a, d, g), compound 1(b, e, h) and compound 4(c, f, i)

化合物 1 为灵芝属三萜类化合物,中药材灵芝具有免疫刺激作用,可加强人体对新冠病毒的抗感染能力. 研究报道该三萜化合物同时具有抗 HIV-1 蛋白酶活性<sup>[21]</sup>. 而 HIV-1 蛋白酶抑制剂被报道用于治疗新冠肺炎. 化合物 4 为杭菊中的活性成分<sup>[22]</sup>,杭菊具有抗菌、抗炎与神经保护等多种活性功能<sup>[23]</sup>. 中医中杭菊可用于疏散风热以及治疗温邪犯肺引起的症状. 最后互作模式与自由结合能的分析增加了筛选结果的可信度,同时揭示了化合物 1 与化合物 4 具有作为 Mpro 蛋白酶抑制剂先导化合物的潜力.

### 3 结论

中药治疗在这次严峻的全球疫情下取得了良好的疗效. 本次研究以 Mpro 蛋白酶为靶标蛋白,从中药数据库 TCMD 筛选得到的灵芝属三萜化合物 1(ZINC33830770)与杭菊中的活性化合物 4(ZINC13358899)具有较高的活性,且成药性良好. 化合物 1 与化合物 4 与 Mpro 蛋白酶活性位点作用模式和阳性对照组 Talampicillin 相似,存在氢键、疏水作用以及广泛的范德华力,两者与 Mpro 蛋白酶有较强的亲和力. 自由结合能的计算也揭示了化合物 1 与化合物 4 与 Mpro 蛋白酶复合体系的稳定性较高. 因此,化合物 1 与化合物 4 可作为 Mpro 蛋白酶抑制剂先导化合物进行开发利用.

#### [参考文献]

- [1] JEE Y. WHO International Health Regulations Emergency Committee for the COVID-19 outbreak[J]. *Epidemiol health*, 2020,42:e2020013.
- [2] HSIEH C C, LIN C H, WANG W Y C, et al. The outcome and implications of public precautionary measures in taiwan-declining respiratory disease cases in the COVID-19 pandemic[J]. *International journal of environmental research and public health*, 2020,17(13):4877.
- [3] LU R, ZHAO X, LI J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding[J]. *Lancet*, 2020,395(10224):565–574.
- [4] DAI Y, CHEN S R, CHAI L, et al. Overview of pharmacological activities of *Andrographis paniculata* and its major compound andrographolide[J]. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2019,59(sup1):S17–S29.
- [5] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. *Nature*, 2020,579(7798):270–273.
- [6] WU C, LIU Y, YANG Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods[J]. *Acta pharmaceutica sinica B*, 2020,10(5):766–788.
- [7] LI W, XU C, HAO C, et al. Inhibition of herpes simplex virus by myricetin through targeting viral gD protein and cellular EGFR/PI3K/Akt pathway[J]. *Antiviral research*, 2020,177:104714.
- [8] ANAND K, PALM G J, MESTERS J R, et al. Structure of coronavirus main proteinase reveals combination of a chymotrypsin fold with an extra alpha-helical domain[J]. *The embo journal*, 2002,21(13):3213–3224.
- [9] ZHOU J, FANG L, YANG Z, et al. Identification of novel proteolytically inactive mutations in coronavirus 3C-like protease using a combined approach[J]. *The faseb journal*, 2019,33(12):14575–14587.
- [10] ANAND K, ZIEBUHR J, WADHWANI P, et al. Coronavirus main proteinase(3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs[J]. *Science*, 2003,300(5626):1763–1767.
- [11] PILLAIYAR T, MANICKAM M, NAMASIVAYAM V, et al. An overview of severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: peptidomimetics and small molecule chemotherapy[J]. *Journal of medicinal chemistry*, 2016,59(14):6595–6628.
- [12] DONG L, HU S, GAO J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019(COVID-19)[J]. *Drug discoveries & therapeutics*, 2020,14(1):58–60.
- [13] CAO B, WANG Y, WEN D, et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19[J]. *New England journal of medicine*, 2020,382(19):1787–1799.
- [14] 陈军, 凌云, 席秀红. 洛匹那韦利托那韦和阿比多尔用于治疗新型冠状病毒肺炎的有效性研究[J]. *中华传染病杂志*, 2020(2):86–89.
- [15] VINCENT M J, BERGERON E, BENJANNET S, et al. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread[J]. *Virology journal*, 2005,2:69.

- [16] 于明坤,柴倩云,梁昌昊,等. 新型冠状病毒肺炎中医预防及诊疗方案汇总分析[J]. 中医杂志,2020,61(5):383-387.
- [17] 姜皓,赵士博,张艺馨,等. 新冠肺炎中医药诊治预防及地区治疗特色研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2020,40(17):1896-1901.
- [18] ELMZAYEN A D, AL-OBAIDI A, ŞAHIN A T, et al. Drug repurposing for coronavirus (COVID-19): in silico screening of known drugs against coronavirus 3CL hydrolase and protease enzymes[J]. Journal of biomolecular structure and dynamics, 2021,29(8):2980-2992.
- [19] JIN Z, DU X, XU Y, et al. Structure of M (pro) from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors [J]. Nature, 2020, 582(7811):289-293.
- [20] LIPINSKI C A. Chris Lipinski discusses life and chemistry after the Rule of Five[J]. Drug discovery today,2003,8(1):12-16.
- [21] 林志彬,罗俊. 灵芝三萜类化合物药理作用研究进展[J]. 药学学报,2002,34(7):574-578.
- [22] TSAO R, ATTYGALLE A B, SCHROEDER F C, et al. Isobutylamides of unsaturated fatty acids from Chrysanthemum morifolium associated with host-plant resistance against the western flower thrips[J]. Journal of natural products,2003,66(9):1229-1231.
- [23] YUAN H, JIANG S, LIU Y, et al. The flower head of Chrysanthemum morifolium Ramat. (Juhua): A paradigm of flowers serving as Chinese dietary herbal medicine[J]. Journal of ethnopharmacology,2020,261:113043.

[责任编辑:黄敏]

(上接第84页)

- [14] World Health Organization. Expert Committee on Physical Status; the use and interpretation of anthropometry. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO expert committee[J]. Geneva Switzerland WHO,1995,854(6):1-452.
- [15] 郑连斌,陆舜华,丁博,等. 云南蒙古族体质特征[J]. 人类学学报,2011,30(1):84-96.
- [16] 胡莹,郑连斌,张兴华,等. 四川邛崃汉族农村成年人皮褶厚度变化研究[J]. 天津师范大学学报(自然科学版),2012,7(3):81-84.
- [17] 李咏兰,郑连斌,包金萍,等. 云南西双版纳州傣族成人的皮褶厚度[J]. 解剖学杂志,2015,38(1):86-89.
- [18] 宇克莉,郑连斌,赵大鹏,等. 安徽汉族成人皮褶厚度的研究[J]. 人类学学报,2014,33(2):214-220.
- [19] GHELLER B J F, RIDDLE E S, LEM M R, et al. Understanding age-related changes in skeletal muscle metabolism: differences between females and males[J]. Annual review of nutrition,2016,36(1):129-156.
- [20] WELLS J C K. Ecogeographical associations between climate and human body composition: analyses based on anthropometry and skinfolds[J]. American journal of physical anthropology,2012,147(2):169-186.

[责任编辑:黄敏]