

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.14.009

基于 SARS-CoV-2 RdRp 潜在变构位点小分子拟肽类抑制剂的筛选*

毛 辉¹, 储春霞², 朱秋莎², 孟 诗², 周 雪², 顾明星², 费 翔³, 袁 月^{2Δ}

(1. 金华职业技术学院, 浙江 金华 321007; 2. 南京盛德瑞尔医药科技有限公司, 江苏 南京 210047;
3. 韩国嘉泉大学, 仁川 21936)

摘要:目的 建立筛选新型冠状病毒(SARS-CoV-2)RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RdRp)蛋白抑制剂的分子对接技术。方法 以 SARS-CoV-2 RdRp 蛋白为靶点,检测 RdRp 潜在的变构位点;以 FTmap 在线平台和 Maestro 软件预测结合位点;以 Maestro 软件实现高通量分子对接,获得具有潜在抗 SARS-CoV-2 活性的拟肽化合物。结果与结论 通过分子对接筛选得到活性最强的拟肽分子为 AR00455,为后期抗 SARS-CoV-2 药物的设计及研发提供了新路径。

关键词:冠状病毒;虚拟筛选;拟肽类化合物;变构位点;RNA 依赖性 RNA 聚合酶

中图分类号:R966;R978.7

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)14-0033-05

Screening of Small-Molecule Peptidomimetic Inhibitors Based on the Potential Allosteric Sites of SARS-CoV-2 RdRp

MAO Hui¹, CHU Chunxia², ZHU Qiusha², MENG Shi², ZHOU Xue², GU Mingxing², FEI Xiang³, YUAN Yue²

(1. Jinhua Polytechnic, Jinhua, Zhejiang, China 321007; 2. Nanjing Ascend - Rare Therapeutics LLC, Nanjing, Jiangsu, China 210047; 3. Gachon University, Incheon, Korea 21936)

Abstract: Objective To establish a molecular docking technique for screening severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2) RNA dependent RNA polymerase(RdRp) protein inhibitors. **Methods** Taking SARS-CoV-2 RdRp protein as the target, the potential allosteric sites of RdRp were detected. FTmap online platform and Maestro software were used to predict the binding sites, and Maestro software was used to achieve high-throughput molecular docking to obtain potential anti-SARS-CoV-2 peptidomimetic compounds. **Results and Conclusion** The most active peptidomimetic molecule was AR00455 discovered by molecular docking screen, which provides a new route for the future design and development of antiviral drugs for SARS-CoV-2.

Key words: coronavirus; virtual screening; peptidomimetic compounds; allosteric sites; RNA dependent RNA polymerase

冠状病毒(CoV)是一类广泛存在的、对人类和家畜均有重大潜在威胁的病原微生物,最初于1937年在鸡的感染组织中被发现。2003年暴发的重症急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)疫情在全球共有约8000例感染病例,死亡率约为10%,高致死率及特效药物的缺乏引起了全球恐慌。2019年12月暴发的新型冠状病毒

肺炎(COVID-19)疫情由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起, SARS-CoV-2与SARS-CoV具有高度同源性,截至2020年6月10日,全球已有确诊病例超过700万,死亡病例超过40万^[1-3]。SARS-CoV-2的主要传播途径是呼吸道飞沫传播和接触传染,但目前尚无专门针对SARS-CoV和SARS-CoV-2的治疗药物。

*基金项目:浙江省金华市新型冠状病毒感染肺炎疫情应急防治科研攻关项目[2020XG-11];浙江省自然科学基金[LQ19B020003]。

第一作者:毛辉,男,博士,副教授,研究方向为有机化学与药物化学,(电子信箱)maohui1988@126.com。

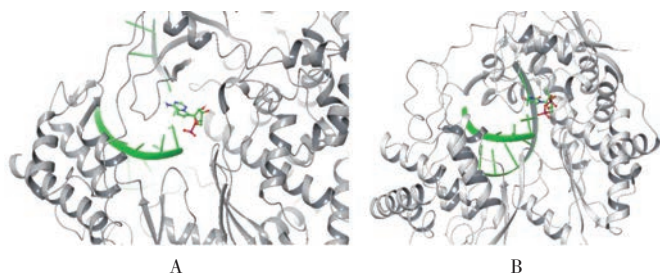
Δ通信作者:袁月,男,博士,高级工程师,研究方向为药物化学与药理学,电话:15751348867,(电子信箱)yuanyue@ascend-bio.com。

冠心病慢病患者的影响[J]. 中国药师,2017,20(8):1396-1399.
[24] 李 远,吴秋惠,陈燕华,等. 高血压病药物治疗管理实践综述[J]. 中南药学,2019,17(11):1894-1897.
[25] 王莺莺,吴秋惠,李 远,等. 慢性阻塞性肺疾病(COPD)药物治疗管理(MTM)实践[J]. 药学与临床研究,2018,26(6):452-455.
[26] 武明芬,朱 斌,柳 鑫,等. 药物治疗管理(MTM)门诊服务模式探索与实践[J]. 中南药学,2019,17(8):1336-1341.
[27] 马一平. 美国药物治疗管理服务项目的开展情况与药师服务模式[J]. 中国药房,2012,23(9):854-856.
[28] 李 歆,平其能. 美国药物治疗管理服务的应用现状及对我国的启示[J]. 医学与哲学,2011,32(1):71-73.

[29] 邱珊娇,任力杰,黄文静. 深圳市罗湖区老年2型糖尿病患者药物治疗管理模式探讨[J]. 中国医药科学,2018,8(15):223-226.
[30] 都丽萍,李喜西,杜小莉,等. 心力衰竭患者地高辛中毒的药物治疗管理[J]. 中国临床药理学杂志,2016,32(21):2000-2002.
[31] 余自成,刘皋林. 药物治疗管理服务:药学监护实践中新的机遇[J]. 中国临床药学杂志,2015,24(5):313-317.
[32] 蒙 龙,杨佳丹,宋 捷,等. 药师在社区开展慢性病管理的切入点及实践体会[J]. 中国药房,2018,29(19):2709-2712.
[33] 刘 宇,邱 峰,罗 玲,等. 社区糖尿病患者药学服务实施及效果评价[J]. 中国药学杂志,2016,51(21):1890-1894.

(收稿日期:2020-07-14;修回日期:2020-12-11)

本研究中探讨了 SARS-CoV-2 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RdRp)抑制剂的筛选。病毒 RdRp 主导完成 CoV 的基因组复制过程,可准确、高效地实现数万个核苷酸的合成。一线医护人员和科研工作者们在药物筛查中发现,抗埃博拉病毒的药物瑞德西韦(remdesivir)的直接作用靶点为 RdRp(见图 1 A)^[4]。吉利德公司研究发现的抗丙型肝炎病毒(HCV)药物索非布韦,为 NS5B 核苷类聚合酶抑制剂(NPI),竞争作用于 NS5B 的催化活性位点,插入到新合成的核苷酸链中以阻断 HCV 的生命周期(见图 1 B,来自 PDB 文件 4WTG)^[5]。但还有另一类非核苷类聚合酶抑制剂(NNPI),以非竞争方式与 NS5B 聚合酶催化部位的变构位点结合,导致蛋白重要构象发生改变,干扰病毒的体内复制过程,目前至少有 5 个变构位点可作为 NNPI 药物的靶点(NNPI-1~NNPI-5,见图 2,分别来自 PDB 文件 1OS5, 1YVF, 2BRK, 3FQL, 1GX6)^[6]。故考虑,CoV RdRp 除了瑞德西韦所在结合位点外,可能也存在变构位点。



A. 瑞德西韦 B. 索非布韦

图 1 抗病毒药物作用位点

A. Remdesivir B. Sofosbuvir

Fig. 1 Action sites of antiviral drugs

1 材料与方法

1.1 虚拟筛选软件与材料

本研究中虚拟筛选软件选用 Maestro(Schrodinger 2020-2),蛋白质晶体结构均来自 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org>),化合物结构来自 Npatla 公司

提供的化合物库,其为以细菌和真菌代谢产物为主体的拟肽化合物小分子库,共有 2.4 万个化合物。

1.2 方法

1.2.1 SARS-CoV-2-RdRp 蛋白晶体结构的处理

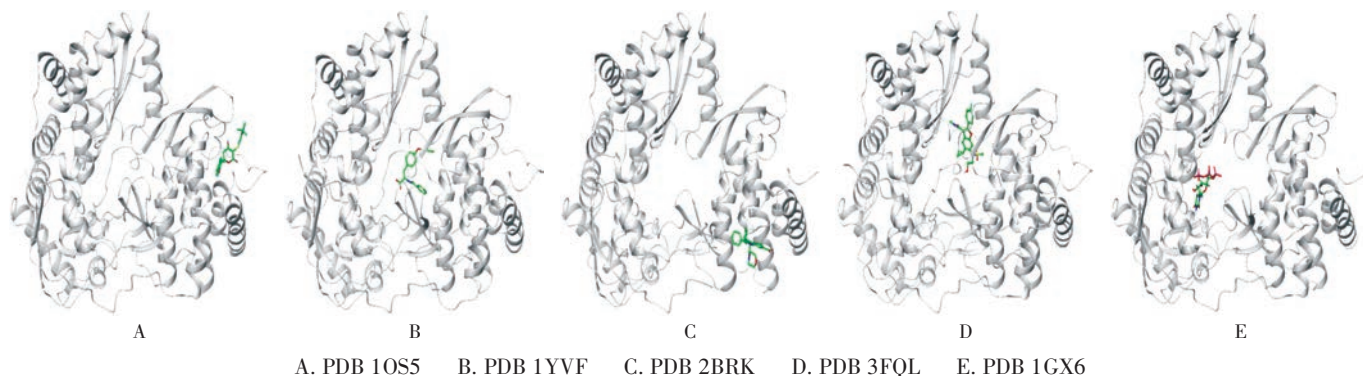
RdRp 蛋白的三维晶体结构可从 PDB 数据库下载获得,PDB 代码为 7BV2,晶体结构分辨率为 2.5 Å,为 nsp12-nsp7-nsp8 复合物,包含 RNA 链和磷酸形式的瑞德西韦结构。用 Maestro 软件的“protein preparation wizard”对 7BV2 结构进行修正化学键序,加氢,处理金属离子,补齐缺失的原子与氨基酸残基,删除多余的分子等,然后在 OPLS 力场条件下对蛋白进行能量优化,最终以此作为分子对接的受体。

1.2.2 药物结合位点

7BV2 是由 nsp12-nsp7-nsp8 复合物和模板引物 RNA 组成的复杂复合物,在处理蛋白时仅保留 nsp12 肽链。为了侦测 nsp12 潜在的结合位点,使用靶点预测在线平台 FTmap(<http://ftmap.bu.edu/login.php>)和 Maestro 中的 site map 模块侦测目标蛋白潜在的结合口袋。采用一致性高的预测结果,以提升靶点结合口袋预测的可靠性。其中 FTmap 在线平台产出可结合小分子抑制剂的潜在活性口袋,并进行打分排序,而 Maestro 软件中的 site map 可在预测小分子结合口袋并打分排序的同时,给出各活性口袋相关氢键供受体及疏水空间等信息。本研究中,Maestro 软件的 site map 及 FTmap 给出的预测结果一致性高,其中打分排名靠前的位点依次为位点 1、位点 2、位点 3(见图 3)。

其中,结合位点 1 为本研究使用的高通量虚拟筛选位点,结合位点 2 为底物位点,也是瑞德西韦活性代谢物的结合位点。位点 1、位点 3 未见相关报道。本研究中基于 FTmap 和 Maestro 一致性预测的结果,选择排名优先的位点 1 进行高通量筛选。后续研究中,计划探讨位点 3 作为靶点结合位点的可能性。

当图 1 中的位点确定后,以 Maestro 中 Grid Generation



A. PDB 1OS5 B. PDB 1YVF C. PDB 2BRK D. PDB 3FQL E. PDB 1GX6

图 2 NS5B 聚合酶的变构位点

A. PDB 1OS5 B. PDB 1YVF C. PDB 2BRK D. PDB 3FQL E. PDB 1GX6

Fig. 2 NS5B polymerase allosteric site

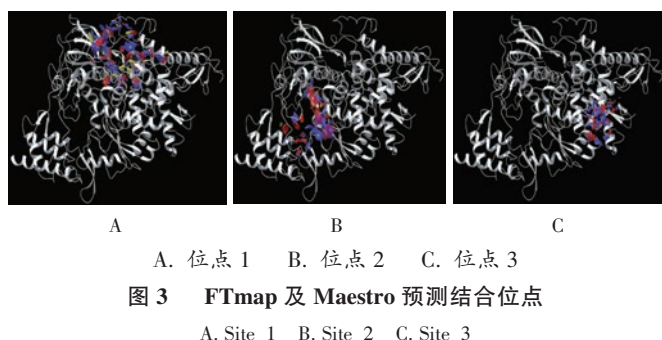


Fig. 3 Predicted binding sites by FTmap and Maestro

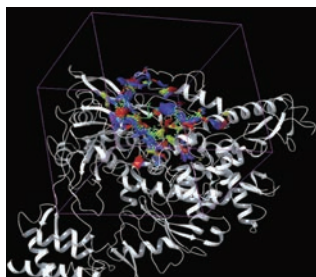


图 4 以预测位点为中心的对接网络

Fig. 4 The docking network established with the predicted sites as the center

模块,基于预测位点 1 中心处氨基酸残基为中心,建立边长为 20 Å 的网格,作为活性口袋对接中心,对接网络见图 4。

结果显示,存在 2 个主要结合位点,一是瑞德西韦代谢活性物结合位点,组成口袋的关键氨基酸残基为 LYS545, SER682, ASP623, THR687, SER759, ASP760, ASN691 等;二是靠近此位点边上的结合位点(潜在变构位点),组成该口袋的关键氨基酸残基为 PHE165, PRO169, ASP170, LEU172, ARG173, THR246, LEU247, ARG249, TYR265, THR319, PRO323, THR324, ARG349, LEU389, ASP390, LYS391, THR393, THR394, PHE396, ARG457, TYR458, LEU460, PRO461, THR462, PRO677 等。2 个结合位点的位置见图 5,本研究中主要阐述潜在的变构位点。

1.2.3 化合物库选择

最新(截至本文投稿时)几篇刊载于 Science 和 Nature 的文章指出,抗 SARS-CoV-2 的基本都是拟肽类化合

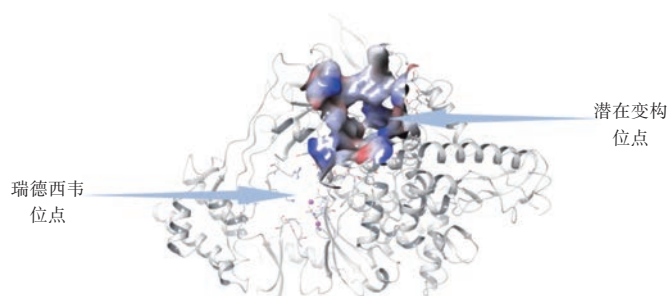


图 5 RdRp 蛋白上 2 个对接位点

Fig. 5 Two docking sites on RdRp protein

物^[4,7-8]。借助 Npatla 公司提供的化合物库建立了包含大量肽样化合物的以细菌和真菌的代谢产物为主体的化合物库,借助计算机辅助药物设计(CADD)方法,对 RdRp 抑制剂进行了分子对接研究。

1.2.4 化合物结构处理

运用软件中的“Ligprep”模块对化合物分子进行优化处理。

1.2.5 分子对接

采用“Receptor Grid Generation”模块,以潜在变构位点为中心生成格点文件。以 7BV2 作为刚性受体,各配体分子作为柔性配体,进行半柔性对接。采用“Ligand Docking”模块进行高通量虚拟筛选,以 docking score 打分值作为初步筛选条件,再对打分靠前的化合物进行标准对接。

初筛以 Maestro 软件中提供的 HTVS 对接方式进行,该方法筛选速率较快,同时具备一定的对接精度。之后对于打分排序靠前的化合物,通过 Maestro 软件中的标准模式(SP)对接进行确认。因基于高通量筛选数据庞大,故未在文中一一列举。

2 结果

AR00455 小分子表现出极高的亲和力,化学结构见图 6。化合物 AR00455 是一种细菌素,最早是由从鱼内脏中分离出来的乳酸菌(肉食杆菌属 V41)的代谢产物中分离得到^[9]。该化合物 docking score 打分值为 -11.101 kcal/mol,能完美占据 RdRp 潜在的变构位点。AR00455 小分子的 Lys2-Tyr3 氨基酸片段伸向活性位点深处,其中 Lys2 被 PHE165, PRO169, ARG457, TYR458 等氨基酸残基包围, Tyr3 被 THR246, LEU247, LEU460, PRO461, THR462 等氨基酸残基包围;近肽链末端的 Tyr9 片段处于由 LEU389, ASP390, LYS391, THR393 等残基构成的口袋中; Tyr4-Gly5-Asn6-Gly7-Val8 肽链片段折叠在空腔表面;肽链末端的特殊含硫结构片段处于由 THR393, THR394, PHE396 等残基构成的口袋中(见图 7)。

AR00455 与 RdRp 蛋白复合物单个氨基酸残基能量分解分项值见表 1。可见,配体与大多数氨基酸残基之间的范德华力差异不大,范德华相互作用能主要由 A323, A319, A461, A460, A249, A396 等残基参与。A665

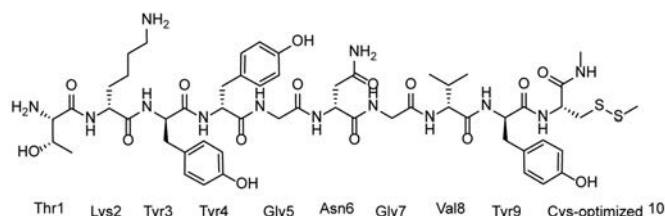


图 6 AK00455 小分子的化学结构

Fig. 6 Chemical structure of AK00455 small-molecule

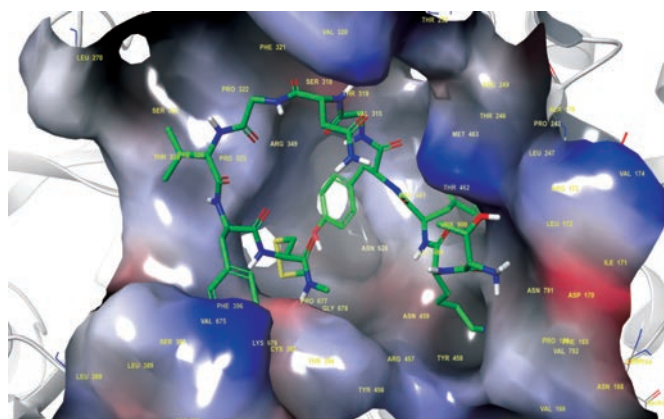


图7 AR00455抑制剂的化学结构和口袋模型

Fig. 7 Chemical structure and pocket model of AR00455 inhibitor

表1 AR00455与RdRp蛋白复合物单个氨基酸残基能量分解分项值

Tab. 1 The decomposed energy subentry value of per amino acid residue of AR00455 – RdRp protein complex

氨基酸残基	能量贡献值(kJ/mol)		氨基酸残基	能量贡献值(kJ/mol)	
	范德华力 ΔE_{vdw}	静电能 ΔE_{coul}		范德华力 ΔE_{vdw}	静电能 ΔE_{coul}
A679	-0.022	0.261	A395	-2.440	-1.964
A666	-0.030	-0.133	A394	-2.411	-3.567
A352	-0.006	0.001	A350	-0.072	-17.487
A351	-0.010	0.176	A349	-2.143	17.969
A328	-0.012	-0.108	A348	-0.031	0.256
A268	-0.211	-0.287	A347	-0.036	-0.160
A252	-0.700	0.129	A346	-0.019	-0.036
A678	-0.115	-0.433	A327	-0.019	0.141
A677	-2.160	0.941	A326	-0.280	-0.062
A676	-0.215	20.020	A325	-0.105	0.214
A675	-0.432	-0.662	A324	-1.628	0.167
A674	-0.170	1.083	A323	-4.821	-0.282
A665	-0.025	-17.284	A322	-1.372	-0.207
A664	-0.053	0.215	A321	-0.549	0.169
A663	-0.037	-0.613	A320	-0.583	0.327
A628	-0.120	0.019	A319	-3.030	0.817
A462	-0.804	-0.150	A318	-0.450	0.713
A461	-4.807	-3.821	A317	-0.088	-0.043
A460	-5.388	0.681	A316	-0.156	-0.446
A459	-0.928	-3.008	A315	-0.206	-0.363
A457	-1.292	35.324	A314	-0.036	-0.131
A456	-0.290	-0.289	A279	-0.025	13.708
A453	-0.123	-1.034	A275	-0.048	-0.094
A398	-0.100	-0.177	A255	-0.954	-0.478
A397	-0.818	0.417	A249	-5.885	17.845
A396	-5.183	0.478	A246	-0.700	0.409

和 A350 的静电能项是负值,且值较大,有助于配体和受体相互作用,其余尤其是 A676, A457, A349 的静电相互作用能对复合物的结合有阻碍作用。

3 讨论

对于 COVID-19,目前仍无特效药,治疗药物的选择多基于 SARS 或其他流感病毒的治疗经验,安全、有效和经济的抗病毒药物研发迫在眉睫^[10]。

SARS-CoV-2 靶标众多,研发人员目前研究较多的靶点是血管紧张素转换酶 2(ACE2)、主蛋白酶(Mpro)3CL 和 RdRp。SARS-CoV-2 识别宿主细胞是通过 S 蛋白的受体结合区(RBD)与宿主表面特异表达的受体分子的识别来实现的。研究表明,ACE2 为 CoV S 蛋白的受体,在病毒进入宿主细胞前 S 蛋白会被宿主表面蛋白酶 TMPRSS2 水解成 S1 和 S2 两段, S1 负责识别 ACE2, S2 负责融合宿主细胞^[11]。所以在 CoV 入侵过程中,寄主细胞表面的 ACE2 和 TMPRSS2 蛋白扮演了重要角色。但 ACE2 在人体内有同源性蛋白,且广泛分布于心脏、肾脏、睾丸、脂肪组织、脑组织、血管平滑肌细胞、胃肠道等,在治疗过程中,抑制 ACE2 蛋白类药物可能会对人體造成不可估计的副作用^[12]。

Mpro 属半胱氨酸水解酶,是 CoV 的主要蛋白酶之一,负责切割病毒基因组翻译的蛋白前体,得到多个非结构蛋白,由这些非结构蛋白组装形成病毒的复制-转录酶复合体,病毒才能完成正常的转录和复制,是抗 CoV 药物设计过程中的重要靶标^[13]。国内外学者已对此做了大量研究。NAÛN^[14]团队筛选发现,美国食品和药物管理局批准的硫醇反应药物中,抗酒精药物戒酒硫及其巯基反应衍生物与靶点蛋白 3CL pro 亲和力最高,且与 CYS145 发生氢键作用,具有病毒临床治疗潜力。朱云鹏^[15]通过体外抑制活性试验筛选获得 5 个抑制 SARS-CoV 主蛋白酶活性较强的化合物,并运用抑制动力学研究及分子对接等方法探讨其抑制机制,结果发现,其中 4 个化合物能与 SARS-CoV-Mpro 催化活性中心的 Cys-145 形成共价键,为不可逆抑制剂,1 个化合物能与 SARS-CoV-Mpro 的 Asn-142, Gly-143, Gln-189 形成氢键,以非共价键的方式与蛋白结合。刘妍如等^[16]运用分子对接技术模拟预测 TCMS 数据库中药成分对 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的作用,共筛选得到 60 个化合物,且所筛选化合物主要归属药材为甘草、桑白皮、满山红、虎杖、车前草等。马青云等^[17]以 3CL 水解酶为靶蛋白,筛选出 66 个药代动力学性质良好的天然小分子抑制剂,优选出 12 味中药单味药,2 个中药药对及 12 个中药处方作为抗 CoV 的候选方案。

本研究基于高通量虚拟筛选技术,对拟肽化合物库进行了关于 SARS-CoV-2 RdRp 抑制剂的初步虚拟筛选,发现分子 AR00455 与 RdRp 潜在变构位点具有高度亲和力,结合能为 -11.101 kcal/mol,潜在抑制活性较强,并给出了 AR00455 分子与 RdRp 的结合模型。通

过能量贡献值分析发现, SARS-CoV-2 RdRp 变构活性位点口袋中的 A323, A319, A461, A460, A249, A396, A665, A350 等关键氨基酸残基对其与 AR00455 分子的相互作用力贡献较大, 这为后期基于此位点的拟肽小分子结构改造提供了方向和理论参考。

鉴于 AR00455 分子中各氨基酸残基化学性质的差异, 可对其进行以下修饰: 一方面, 肽链中 Thr1 和 Asn6 为极性不带电氨基酸, 可替换成同为极性不带电氨基酸的 Ser, Thr, Asn, Gln 等; Lys2 为带正电氨基酸, 可替换成 Arg 或 His 等带正电氨基酸; Tyr3, Tyr4, Val8, Tyr9 为非极性氨基酸, 可替换成 Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Tyr, Trp 等非极性氨基酸。

另一方面, 活性口袋处 Asp170 是极性带负电氨基酸残基, 最靠近肽链 Thr1 片段, 可考虑将 Thr1 替换成 Arg, His, Lys 等极性带正电氨基酸; Tyr458 是非极性氨基酸残基, 最靠近肽链 Lys2 片段, 可考虑将 Lys2 替换成 Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Tyr, Trp 等非极性氨基酸; THR246, LEU247, LEU460, THR462 等氨基酸残基包围着肽链片段 Tyr3, 可将 Tyr3 替换成 Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Trp 等非极性氨基酸或 Ser, Thr, Asn, Gln 等极性不带电氨基酸; LEU460 是非极性氨基酸残基, 最靠近 Tyr4 肽链片段, 可将 Tyr4 替换成 Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Trp 等非极性氨基酸; Gly5-Asn6-Gly7 肽链片段最靠近 Tyr265 非极性氨基酸残基, 可将 Gly5-Asn6-Gly7 肽链片段替换成由 Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Tyr, Trp 等组成; Thr324 是极性不带电氨基酸, 最靠近 Val8 肽链片段, 可将 Val8 替换成 Ser, Thr, Asn, Gln 等极性不带电氨基酸; LEU389 是非极性氨基酸, LYS391 是极性带正电氨基酸, 二者都靠近 Tyr9 肽链片段, 可将 Thr9 替换成 Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Tyr, Trp 等非极性氨基酸, 或 Arg 和 His 等极性带负电氨基酸。

AR00455 分子是乳酸菌代谢产物中分离得到的一种细菌素, 后续可多关注该类肽类化合物, 以寻找新的有价值的活性小分子。鉴于虚拟筛选结果的局限性, 后期还需通过体外和体内等活性试验来验证本研究结果, 以期拟肽类药物的研发提供更为准确、可靠的试验依据。

参考文献

- [1] 李广平, 何清秀, 郭海琼, 等. 靶向木瓜样蛋白酶抗 SARS-CoV-2 药物虚拟筛选[J]. 重庆理工大学学报(自然科学版), 2020, 34(4): 66-75.
- [2] Johns Hopkins University. COVID-19 Case Tracker [EB/OL]. (2020-04-27) [2020-07-01]. https://coronavirus.jhu.edu/?utm_source=jhu_properties&utm_medium=dig_link&utm_content=ow_jhuhomepage&utm_campaign=jh20.

- [3] XU X, CHEN P, WANG J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission[J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(3): 457-460.
- [4] YIN WC, MAO CY, LUAN XD, et al. Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir[J]. *Science*, 2020, 368(6498): 1499-1504.
- [5] 王靖, 何小羊. 抗丙型肝炎病毒药物研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2015, 42(5): 551-560.
- [6] MEMBRENO FE, LAWITZ EJ. The HCV NS5B nucleoside and nonnucleoside inhibitors[J]. *Clin Liver Dis*, 2011, 15(3): 611-626.
- [7] DAI WH, ZHANG B, JIANG XM, et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease[J]. *Science*, 2020, 368(6497): 1331-1335.
- [8] JIN ZM, DU XY, XU YC, et al. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 virus and discovery of its inhibitors[J]. *Nature*, 2020, 582(7811): 289-293.
- [9] METIVIER A, PILET MF, DOUSSET X, et al. Divercin V41, a new bacteriocin with two disulphide bonds produced by *Carnobacterium divergens* V41: Primary structure and genomic organization[J]. *Microbiology*, 1998, 144(Pt 10): 2837-2844.
- [10] 陈勇川. 新型冠状病毒肺炎治疗药物研发现状[J]. 中国药业, 2020, 29(6): 1-7.
- [11] LI F, LI WH, FARZAN M, et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor[J]. *Science*, 2005, 309(5742): 1864-1868.
- [12] BOTTCHE E, MATROSOVICH T, BEYERLE M, et al. Proteolytic activation of influenza viruses by serine proteases TMPRSS2 and HAT from human airway epithelium[J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(19): 9896-9898.
- [13] 唐小龙, 江振友, 林晨, 等. SARS 相关冠状病毒的基因组和主要蛋白酶的研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2004, 25(3): 272-276.
- [14] NAÚN LG, MANUEL TL, ALEJANDRO MM, et al. FDA-approved thiol-reacting drugs that potentially bind into the SARS-CoV-2 main protease, essential for viral replication[J]. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2021, 39(9): 3419-3427.
- [15] 朱云鹏. SARS 冠状病毒主蛋白酶抑制剂的筛选及研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2016.
- [16] 刘妍如, 唐志书, 王梅, 等. 基于 TCMSP 数据库中中药成分的新型冠状病毒 3CL 水解酶抑制剂虚拟筛选[J]. 中草药, 2020, 51(7): 1694-1703.
- [17] 马青云, 刘辰, 杜海涛, 等. 基于高通量分子对接虚拟筛选 SARS-CoV-2 3CL 水解酶中药小分子抑制剂及抗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的中药及其复方预测[J]. 中草药, 2020, 51(6): 1397-1405.

(收稿日期: 2020-07-09; 修回日期: 2020-12-10)