

---

# 《科学》：中德解析新冠主要蛋白酶晶体结构，有助抑制剂研发

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/8849.html>

*本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！*

《科学》：中德解析新冠主要蛋白酶晶体结构，有助抑制剂研发。自新型冠状病毒引起的疫情暴发以来，科学家们一直在努力寻找有效的病毒抑制剂。当地时间3月20日，顶级学术期刊《科学》在线发表了一篇题为Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors的研究报告，科学家们用X射线以1.75埃分辨率解析了新冠病毒Mpro的晶体结构。新冠病毒中的主要蛋白酶（Mpro，又称为3CLpro）是一个重要的潜在药物靶标，对抑制病毒的复制至关重要。

此外，该研究探讨了一种  $\alpha$ -酮酰胺抑制剂的作用。通过优化结构，研究人员将先导化合物开发成为SARS-CoV-2 Mpro的有效抑制剂。优化抑制剂的药代动力学特征显示出明显的肺向性，并且适用于通过吸入途径给药。

由于尚无具有类似裂解特异性的人蛋白酶，该抑制剂不太可能具有毒性。在新冠病毒仍在全球肆虐的当下，该研究有利于推动相关抑制剂的设计，促进治疗方法的形成。

该文章的作者主要由德国科研团队组成，包括德国吕贝克大学、德国汉诺威医学院、柏林大学附属夏里特医院、马尔堡大学、赫尔姆霍兹感染研究中心、中国长春吉大天元化学技术股份有限公司等，通讯作者为德国吕贝克大学生物化学研究所Rolf Hilgenfeld。

结构生物学家Rolf Hilgenfeld团队自2002-2003年严重急性呼吸系统综合征（SARS）暴发以来，就一直在尝试开发治疗冠状病毒的方法。当前，Hilgenfeld希望对新型冠状病毒感染的动物进行两种抑制剂化合物的测试，以期尽快开发出针对未来冠状病毒暴发的治疗方法。

新冠病毒是一种单链RNA正链包膜乙型冠状病毒。与引起SARS（严重急性呼吸系统综合症）和MERS（中东呼吸系统综合症）的另两种冠状病毒类似，它的基因组编码为非结构蛋白、结构蛋白和辅助蛋白。

非结构蛋白包括3-胰凝乳蛋白酶样蛋白酶（3-chymotrypsin-like protease, 3CLpro）、木瓜蛋白酶样蛋白酶（papain-like protease）、解旋酶（helicase）、和RNA依赖性RNA聚合酶（RNA-dependent RNA polymerase, RdRp）。结构蛋白则包括刺突糖蛋白（spike glycoprotein）。

冠状病毒中最具特征的药物靶标之一是上述的3-胰凝乳蛋白酶样蛋白酶，即主要蛋白酶（Mpro

---

，也称为3CLpro)。与木瓜蛋白酶一样，这种酶在大型多蛋白1ab上的不少于11个切割位点上运行，对于加工从病毒RNA翻译的多蛋白是必不可少的，因此，抑制这种酶的活性将阻止病毒复制。

此前，研究人员已经设计并合成了拟肽 - 酮酰胺，作为 冠状病毒和 冠状病毒的主要蛋白酶以及肠病毒的3CLpro的广谱抑制剂。

上述抑制剂化合物对MERS-CoV中东呼吸系统综合征冠状病毒、SARS-CoV（严重急性呼吸系统综合征冠状病毒）和肠道病毒均具有抗病毒作用，但其活性似乎在很大程度上取决于实验中使用的细胞类型。

为了优化它以延长化合物在血浆中的半衰期，研究人员将P3-P2酰胺键隐藏在吡啶酮环中，修饰了现有的化合物11r，以期这能够阻止细胞蛋白酶接近该键并使其裂解。

此外，为增加化合物在血浆中的溶解度并减少其与血浆蛋白的结合阻力，研究人员用疏水性稍差的Boc基团代替了疏水的肉桂酰基部分，得到13a这种化合物。

为了检查13a中引入的吡啶酮环是否与靶标的三维结构兼容，研究人员确定了SARS-CoV-2主要蛋白酶的晶体结构（分辨率为1.75 Å）。

研究人员发现，新冠病毒主要蛋白酶的三维结构与SARS-CoV主要蛋白酶的三维结构高度相似，序列同一性达96%。

其中，胰凝乳蛋白酶和小核糖核酸病毒3C蛋白酶样结构域I和II形成六链反平行 桶，在它们之间带有底物结合位点。结构域III是五个螺旋的球形簇，主要通过2个前体间盐桥相互作用参与调节Mpro的二聚化。

SARS-CoV-2的Mpro形成的紧密二聚体具有一个接触界面，主要位于分子A的结构域II与分子B的NH<sub>2</sub>末端残之间。

研究人员使用蛋白酶的晶体结构来对接 -酮酰胺抑制剂13a。他们发现，与11r相比，13a在小鼠中的血浆半衰期增加了约3倍（从0.3小时到1.0小时），体外动力学血浆溶解度提高了约19倍，同时热动力学溶解度提高了约13倍。但是，与11r相比，结构的调整导致其对SARS-CoV-2主要蛋白酶和肠病毒3C蛋白酶的抑制活性有所减少。

事实上，包括新冠病毒在内的 冠状病毒Mpro的S2口袋具有显著的可塑性，使其能够狡猾地适应较小抑制剂的形状。因此为了增强针对进化枝b的 冠状病毒的抗病毒活性，研究人员牺牲了抑制剂广谱活性的目标，用较小的环丙基取代了13a的P2环己基部分，得到化合物13b。

研究人员使用20 mg / kg的剂量对小鼠进行皮下途径的药代动力学研究发现，化合物13a在小鼠血浆中的平均停留时间为约1.6小时，停留时间最多为约4小时，通过尿液排出的时间最多为24小时。血管外给药后药物在血浆中的最高浓度值（峰浓度，C<sub>max</sub>）为334.5ng/mL。

尽管13a从血浆中消失的速度非常快，但24小时后它在肺中的浓度为135ng/g，在小鼠支气管肺泡灌洗液（BALF）中的浓度为52.7ng/mL，这表明它已经被组织吸收。

---

接下来，研究人员对13b的有效性进行了测试，他们发现，13b与人血浆蛋白的结合度达到90%。

同样对小鼠进行皮下注射时，研究人员用了更少的剂量（3 mg/kg），发现13b的C<sub>max</sub>为126.2 ng/mL，这大约是13a的峰浓度值的37%，但所用的化合物剂量大约降低了7倍。

同时，13b在血浆中的平均停留时间延长至2.7小时，半衰期约为1.8小时。与13a相比，13b在血浆中的清除速度较慢。

研究人员发现，4小时后，13b在小鼠肺组织中浓度仍达到约13ng/g。由于新冠病毒疾病对肺部有较大影响，13a和13b体现出的这种肺向性是有益的。

除皮下给药外，研究人员还使用吸入装置以3mg/kg对小鼠进行了雾化13b给药。24小时后，小鼠肺组织中存在13b的浓度为33ng/g。

小鼠对于抑制剂的吸入耐受良好，未显示任何不良反应，研究者们认为这表明将该化合物直接施用于肺部是可能的。

作者们最后写道，鉴于这些有利的药代动力学结果，此次研究为含吡啶酮的抗冠状病毒药物研发提供了有用的框架。

相关专题：聚焦新冠肺炎疫情  
作者：张若婷 来源：澎湃新闻

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发