

# 三种七叶一枝花活性成分抗新型冠状病毒的分子对接预测

司 淑<sup>1,2</sup>, 王 纠<sup>3</sup>, 张 亮<sup>1,2</sup>, 刘雪文<sup>2,4</sup>, 刘 莹<sup>1,2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>湖北医药学院 基础医学院; <sup>2</sup>湖北医药学院 胚胎干细胞湖北省重点实验室;

<sup>3</sup>湖北医药学院 武当特色中药研究湖北省重点实验室; <sup>4</sup>湖北医药学院 生物医药研究院, 十堰 442000

**摘要:**以分子对接法探索中草药七叶一枝花治疗新型冠状病毒 SARS-CoV-2 的活性化合物。SARS-CoV-2 主要通过其 S 蛋白与人体细胞表面的 Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) 受体结合。本研究通过分子对接模拟预测了七叶一枝花中富含的 3 种重楼皂苷(I、VI、VII)与 ACE2 的结合亲和力。结果表明:三种重楼皂苷均能够与 ACE2 结合,结合自由能均低于-8 kcal/mol。三种化合物共同结合的氨基酸残基包括:Pro-346、Thr-347、Ala-348、Asp-350、Asn-394、His-401、Glu-402。三种药物结合以上位点的结构主要是共同的母核结构起着关键作用。另外,重楼皂苷 I 与 ACE2 结合所需能量最低,而重楼皂苷 VI 与靶蛋白作用的关键氨基酸数量最多及形成的氢键数量最多。因此,基于这三种有效成分进行结构设计有望获得高效的 SARS-CoV-2 抑制剂,以期为 COVID-19 治疗药物发现提供研究基础。

**关键词:**SARS-CoV-2; COVID-19; 重楼皂苷; 分子对接

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)7-1099-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.7.002

## Molecular docking prediction of three active components of *Paris polyphylla* against SARS-CoV-2

SI Yuan<sup>1,2</sup>, WANG Jiu<sup>3</sup>, ZHANG Liang<sup>1,2</sup>, LIU Xue-wen<sup>2,4</sup>, LIU Ying<sup>1,2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>School of Basic Medical Sciences;

<sup>2</sup>Hubei Key Laboratory of Embryonic Stem Cell Research;

<sup>3</sup>Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research and Institute of Medicinal Chemistry;

<sup>4</sup>Biomedical Research Institute, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China

**Abstract:**To explore the active compounds of Chinese herbal medicine *Paris polyphylla* in the treatment of SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 mainly binds to the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor on the surface of human cells through its S protein. In this study, the molecular docking simulation method was used to predict the binding affinity of ACE2 and three kinds of polyphyllin (I, VI, VII) rich in *Paris polyphylla*. The results show that the three polyphyllin can bind well with ACE2, and the binding free energy is lower than -8 kcal/mol. The amino acid residues combined by the three compounds include: Pro-346, Thr-347, Ala-348, Asp-350, Asn-394, His-401, Glu-402. The core structure shared by the three drugs plays a key role in binding the above sites. In addition, the energy required for the binding of polyphyllin I to ACE2 is the lowest, while the number of key amino acids and the number of hydrogen bonds formed by the interaction of polyphyllin VI with the target protein are the largest. Therefore, structural design based on these three active ingredients is expected to obtain highly effective SARS-CoV-2 inhibitors, in order to provide a research basis for the discovery of COVID-19 therapeutic drugs.

**Key words:**SARS-CoV-2; COVID-19; polyphyllin; molecular docking

2019 年 12 月, 新型冠状病毒 SARS-CoV-2 在湖

收稿日期:2020-04-03 接受日期:2020-07-08

基金项目:湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划(T201915);武当特色中药研究湖北省重点实验室开放课题(WDCM2019008);湖北医药学院 PI 项目(HBMUPI201806)

\*通信作者 Tel: 86-015071577382; E-mail: ying\_liu1002@163.com

北省武汉市迅速爆发<sup>[1]</sup>。截至 2020 年 6 月 22 日,我国共有 85 018 例新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 确诊病例,其中死亡患者 4 646 例。其后,美国、意大利、西班牙、英国、法国、德国、伊朗、瑞士、韩国、日本等全球 200 多个国家也报道了超过 897 万例感染病例。感染 SARS-CoV-2 的

患者的常见症状是发烧,咳嗽和肌痛或疲劳<sup>[2,3]</sup>。SARS-CoV-2 的 S 蛋白和 SARS-CoV 的 S 蛋白结构相似,并且均对人细胞表面的血管紧张素转化酶 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 具有显著的结合亲和力,通过 ACE2 的介导进入人体。ACE2 在肺,消化道,肾脏等组织细胞中广泛表达,目前认为是 SARS-CoV-2 进入宿主细胞的关键<sup>[4,5]</sup>。临床治疗表明,传统中药结合西药对 COVID-19 具有显著的治疗效果<sup>[6]</sup>。到目前为止,对 COVID-19 的治疗还缺乏特效药。因此,迫切需要找到有效的抗病毒药物来遏制这种疾病。

百合科重楼属植物七叶一枝花 (*Paris polyphylla*) 又名蚤休、草河车、白甘遂,其根茎称为重楼。重楼作为中草药药用历史悠久<sup>[7,8]</sup>,有抗炎、止血、杀菌、镇静、止痛、平喘、止咳的作用,民间还用于治疗

各种疮毒、痈疽、毒蛇咬伤等<sup>[9,10]</sup>。20世纪70年代以来,关于重楼中的活性成分的研究一直在继续。目前,已在重楼中发现了上百种化学成分,其中有70多种为甾体皂苷类化合物。而重楼中含量较多的甾体皂苷类化合物包括螺甾烷醇类的薯蓣皂苷和偏诺皂苷。重楼皂苷 I (polyphyllin I)、重楼皂苷 VI (polyphyllin VI) 和重楼皂苷 VII (polyphyllin VII) 均属于薯蓣皂苷(图1),在重楼中含量丰富,广泛用于多种疾病治疗研究,包括抗肿瘤,免疫调节,抑菌作用等。重楼皂苷为螺旋甾烷类皂苷;皂苷由苷元与糖、糖醛酸或其他有机酸组成。其结构上包含一个共有的母核(图1),母核由六个环,27个碳原子组成,其中 A、B、C、D 为甾体母核(环戊烷多氢菲)。甾体母核连接一个呋喃环 E 和一个吡喃环 F。并多以螺缩酮形式相连。

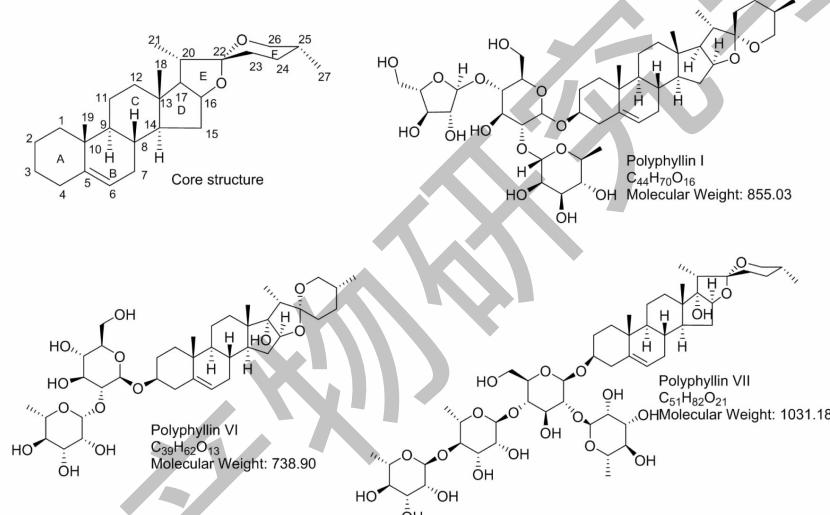


图 1 重楼中三种活性成分及其母核结构式

Fig. 1 The structure of three active ingredients in *Paris polyphylla* and their core structure

有研究报道重楼对亚洲 A 型流感病毒有抑制作用<sup>[11]</sup>。但目前国内外对研究仍主要集中于其抗肿瘤及免疫调节作用<sup>[12]</sup>,较少见其抗病毒方面的作用。为了研究重楼是否具有抗 SARS-CoV-2 的潜在作用,我们对 3 种主要重楼皂苷进行分子对接模拟,预测其结合 ACE2 的能力。通过结合自由能评估 3 种化合物与 ACE2 之间的相互作用,为 COVID-19 的药物发现提供研究思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

三种化合物结构见图 1。SARS-CoV-S/ACE2

复合蛋白的三维结构在蛋白质数据库 (Protein Data Bank) 中 PDB 的编号为 6ACG。

### 1.2 方法

**分子对接:**所有的对接实验运用 Autodock 4.2 程序。在 AutoDock 4.2 计算程序中,采用 0.375 间隔的  $70 \times 70 \times 70$  点阵模块。使用 Lamarckian 遗传算法进行对接计算,算法如下:150 的群体,最大值 2 500 万次能源评估,最高次数 2 000,交叉率 0.8,突变率 0.02,独立对接运行 50 次。使用公差为 2 的均方根偏差将对接构象聚类,并根据结合自由能评估最终对接结构。

## 2 结果

### 2.1 重楼皂苷 I 与 SARS-CoV-2 受体 ACE2 存在结合作用

分子对接结果表明,重楼皂苷 I 可能与 ACE2 酶具有最高的结合活性,结合自由能为-9.01 kcal/mol,潜在的结合位点包括 Phe-40、Arg-273、Phe-274、

Pro-346、Thr-347、Ala-348、Asp-350、Phe-390、Arg-393、Asn-394、His-401、Glu-402、Glu-406、Tyr-515、Arg-518 等氨基酸残基。重楼皂苷 I 的氢原子能够与 Glu-406 上的氧原子形成氢键,氢键键长为 2.2 Å(图 2)。

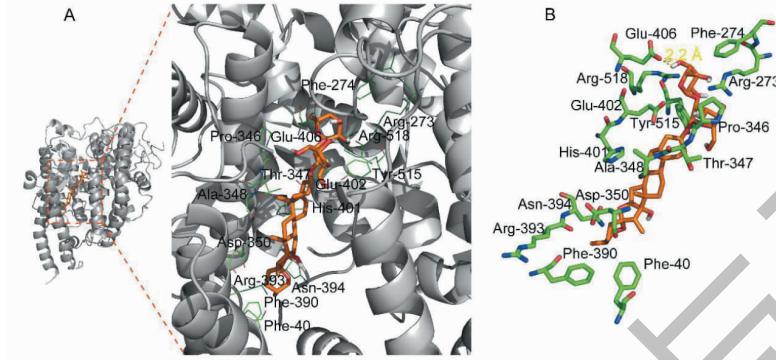


图 2 重楼皂苷 I 结合 SARS-CoV-2 受体 ACE2 的分子对接结果

Fig. 2 The molecular docking results of polyphyllin I binding SARS-CoV-2 receptor ACE2

注:(A)重楼皂苷 I 与 ACE2 的结合;(B)ACE2 上结合 polyphyllin I 的具体氨基酸残基位点及形成的氢键和键长。Note: (A) The combination of polyphyllin I and ACE2; (B) The specific amino acid residue and the formed hydrogen bond and bond length of polyphyllin I on ACE2.

### 2.2 重楼皂苷 VI 与 SARS-CoV-2 受体 ACE2 存在结合作用

重楼皂苷 VI 结合 ACE2 的自由能是-8.52 kcal/mol,潜在的结合位点包括 Leu-73、Ala-99、Gln-102、Pro-346、Thr-347、Ala-348、Asp-350、Glu-375、His-378、Asp-382、Tyr-385、Asn-394、Gly-395、Asn-397、

Glu-398、His-401、Glu-402、Arg-514 等氨基酸残基。重楼皂苷 VI 的氢原子能够与 Tyr-385 氨基酸上的氧原子形成氢键,氢键键长为 2.1 Å 和 2.2 Å;配体上的氢原子与 Glu-402 上的氧原子形成氢键,键长为 2.0 Å(图 3)。

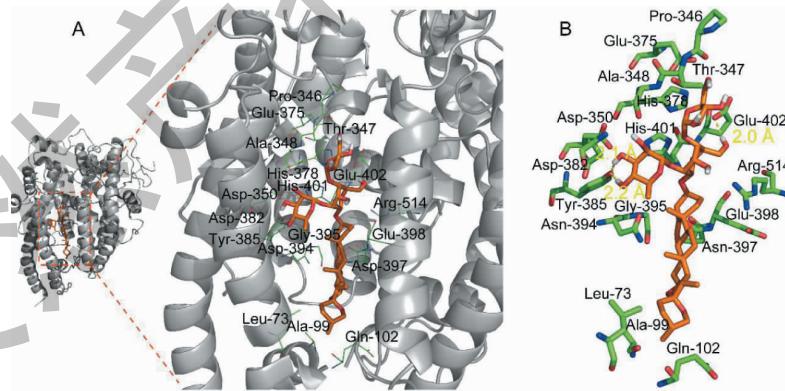


图 3 重楼皂苷 VI 结合 SARS-CoV-2 受体 ACE2 的分子对接结果

Fig. 3 The molecular docking results of polyphyllin VI binding SARS-CoV-2 receptor ACE2

注:(A)重楼皂苷 VI 与 ACE2 的结合;(B)ACE2 上结合重楼皂苷 VI 的具体氨基酸残基位点及形成的氢键和键长。Note: (A) The combination of polyphyllin VI and ACE2; (B) The specific amino acid residue and the formed hydrogen bond and bond length of polyphyllin VI on ACE2.

### 2.3 重楼皂苷 VII 与 SARS-CoV-2 受体 ACE2 存在结合作用

重楼皂苷 VII 结合 ACE2 的自由能是-8.21

kcal/mol,潜在的结合位点包括 Phe-40、Ser-44、Trp-69、Leu-73、Pro-346、Thr-347、Ala-348、Trp-349、Asp-350、Glu-375、His-378、Phe-390、Asn-394、His-401、

Glu-402、Glu-406、Tyr-515 等氨基酸残基。重楼皂苷

VII 的氢原子能够与 Ser-44 上的氧原子形成氢键，

氢键键长为 2.0 Å(图 4)。

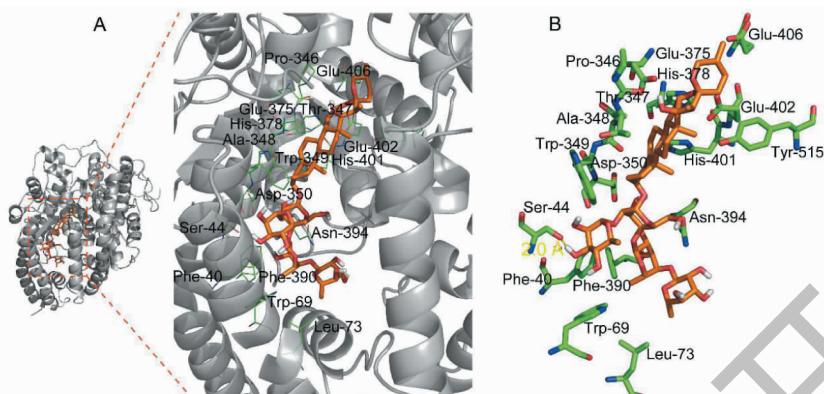


图 4 重楼皂苷 VII 结合 SARS-CoV-2 受体 ACE2 的分子对接结果

Fig. 4 The molecular docking results of polyphyllin VII binding SARS-CoV-2 receptor ACE2

注:(A)重楼皂苷 VII 与 ACE2 的结合;(B)ACE2 上结合重楼皂苷 VII 的具体氨基酸残基位点及形成的氢键和键长。Note: (A) The combination of polyphyllin VII and ACE2; (B) The specific amino acid residue and the formed hydrogen bond and bond length of polyphyllin VII on ACE2.

### 3 讨论

以上对接结果表明,3 个甾体皂苷和 ACE2 均存在较强的结合作用,而其中重楼皂苷 I 和 ACE2 结合所需的能量最低。能量越低表明更易于结合 ACE2。通过结合位点汇总分析,三种化合物共同结合 ACE2 蛋白的残基有 7 个,分别是 Pro-346、Thr-347、Ala-348、Asp-350、Asn-394、His-401、和 Glu-402(图 5)。同时,从图中可以看出重楼皂苷 I 和重楼

皂苷 VI 结合活性位点取向相同,但是由于空间位阻原因,重楼皂苷 VI 无法像重楼皂苷 I 呈直线排布。重楼皂苷 I 和重楼皂苷 VII 的空间位阻类似,但是取向相反。三种药物结合活性位点的结构主要是母核起着关键作用,与其相作用的氨基酸位点大部分以疏水作用氨基酸(His、Ala、Pro)为主,其次是起到氢键作用的氨基酸。含有羟基的氨基酸(Glu、Thr、Asp 等)可以更好的容纳糖环。

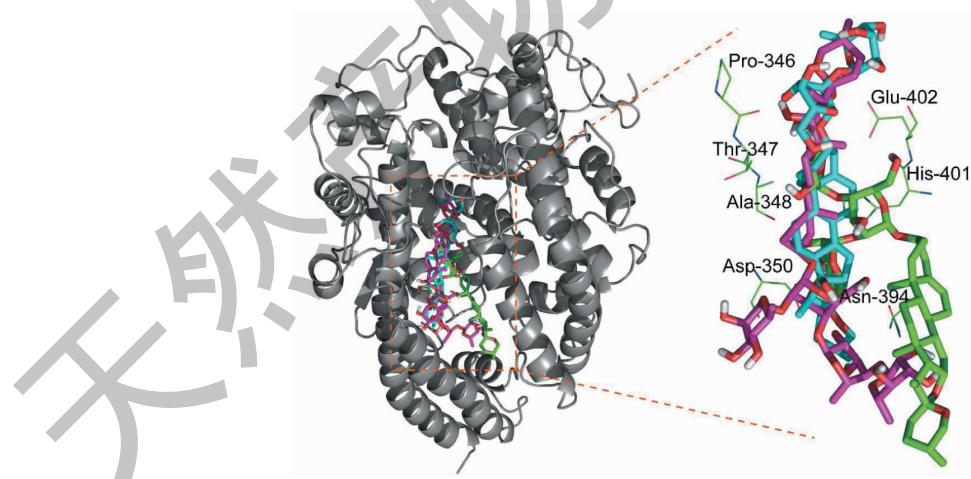


图 5 三种重楼皂苷结合 SARS-CoV-2 受体 ACE2 的分子对接总图及共同结合的氨基酸残基位点

Fig. 5 The general molecular docking of the three Polyphyllin binding to the SARS-CoV-2 receptor ACE2 and the amino acid residues

注:蓝色:重楼皂苷 I;绿色:重楼皂苷 VI;紫色:重楼皂苷 VII。Note: Blue: Polyphyllin I; Green: Polyphyllin VI; Purple: Polyphyllin VII.

由于 SARS-CoV-2 是一种新发现的病毒,目前还没有确定或可用的特效药物。而经济有效的治疗

策略是利用现有药物。临床治疗表明,中药结合西药对 COVID-19 具有显著的治疗效果<sup>[6]</sup>。因而筛选

从中草药中提取的现有药物不失是一项有效策略。已有研究发现氯喹(chloroquine)在体外控制SARS-CoV-2感染方面非常有效。氯喹是一种4-氨基喹啉,除了主要作为抗疟药物,还能够通过减少ACE2受体的末端糖基化,干扰SARS-CoV-2与ACE2受体结合来发挥抑制病毒复制的作用<sup>[13]</sup>。Cheng等<sup>[14]</sup>使用分子对接来计算氯喹与ACE2结合能。结果发现氯喹具有与ACE2的潜在结合能力,结合自由能为-5.70 kcal/mol,结合位点为Leu-95、Gln-58、Gln-102。与氯喹相比,三种重楼皂苷与ACE2的对接结合自由能更低。近期,随着SARS-CoV-2感染的全球化扩散,越来越多的研究者投入到抗SARS-CoV-2药物的筛选中。Yan等<sup>[15]</sup>通过分子对接对38种中国专利药物进行针对ACE(PDB:1R4L)及病毒主要M蛋白酶(PDB:6LU7)的对接筛选,发现了包括青蒿素、芦丁、甘草甜素、葛根素、穿心莲内酯、苦参碱等10种潜在抗SARS-CoV-2药物。Liu等<sup>[16]</sup>基于网络药理学和分子对接研究发现木犀草素(-26.78 kJ/mol)、槲皮素(-26.36 kJ/mol)、去甲脱水淫羊藿黄素(-25.94 kJ/mol)与SARS-CoV-2 3CL水解酶存在结合作用。可能有些药物与ACE2对接活性较低,但这并不意味着它们不适用COVID-19治疗,因为对接模拟仅是提供一个前期研究的参考。此外,制定中药处方的原则包括消除病原入侵和增强机体抵抗力。因此,我们不能排除有些药物通过调节免疫系统对COVID-19起作用。有必要进行进一步的实验,以验证这些甾体皂苷类化合物是否可以靶向ACE2并预防细胞培养模型和实验动物中SARS-CoV-2的感染。

## 参考文献

- Ding Z, Xie L, Guan A, et al. Global COVID-19: warnings and suggestions based on experience of China [J]. J Glob Health, 2020, 10:011005.
- Velavan TP, Meyer CG. The COVID-19 epidemic [J]. Trop Med Int Health, 2020, 25:278-280.
- Lake MA. What we know so far: COVID-19 current clinical knowledge and research [J]. Clin Med, 2020, 20:124-127.
- Zu ZY, Jiang MD, Xu PP, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a perspective from China [J]. Radiology, 2020:200490.
- Pan F, Ye T, Sun P, et al. Time course of lung changes on chest CT during recovery from 2019 novel coronavirus(COV-ID-19) pneumonia [J]. Radiology, 2020, 13:200370.
- Xia L, Wu H, Liu P, et al. Analysis on clinical efficacy and liver injury of 100 cases of COVID-19 treated by integrated traditional Chinese and western medicine [J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2020, 54:21-26.
- Zhang H, Du HH, Guo DQ, et al. Effects of inoculation with different AM fungi on functional gene expression in seedlings of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:318-324.
- Ding LS, Zhao M, Li YM, et al. Study on the anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of the extract of aerial part and rhizome of *Paris polyphylla* var. *chinensis* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30:832-839.
- Liu XW, Sun ZT, Deng JK, et al. Polyphyllin I inhibits invasion and epithelial-mesenchymal transition via CIP2A/PP2A/ERK signaling in prostate cancer [J]. Int J Oncol, 2018, 53:1279-1288.
- Zhang YF, Huang P, Liu XW, et al. Polyphyllin I inhibits growth and invasion of cisplatin-resistant gastric cancer cells by partially inhibiting CIP2A/PP2A/Akt signaling axis [J]. J Pharmacol Sci, 2018, 137:305-312.
- Pu XY, Liu Y, Li Y, et al. Preparation of *Polyphylla* saponins and their antiviral effect on influenza A virus [J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 2013, 27:187-192.
- Xiang YC, Yang R, Zhou T, et al. Polyphyllin I inhibits prostate cancer metastasis by CIP2A/PP2A/ERK signaling pathway [J]. J Hubei Univ Med(湖北医药学院学报), 2019, 38:201-208.
- Colson P, Rolain JM, Raoult D. Chloroquine for the 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2 [J]. Int J Antimicrob Agents, 2020, 55:105923.
- Cheng LP, Zheng WK, Li M, et al. Citrus fruits are rich in flavonoids for immunoregulation and potential targeting ACE2 [J]. Preprints, 2020, 2020020313[2020-02-23].
- Yan YM, Shen X, Cao YK, et al. Discovery of anti-2019-nCoV agents from 38 Chinese patent drugs toward respiratory diseases via docking screening [J]. Preprints, 2020, 2020020254[2020-02-23](doi:10.20944/preprints202002.0254.v2).
- Liu Q, He ZX, Yang H, et al. Exploration on active compounds of Feiduqing for treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51:1713-1722.