

Применение технологий виртуального скрининга и молекулярного моделирования для идентификации потенциальных ингибиторов основной протеазы коронавируса SARS-CoV-2

**Андрианов А.М.^{*1}, Фурс К.В.², Гончар А.В.², Асланян Л.А.³,
Тузиков А.В.²**

¹*Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Объединенный институт проблем информатики, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

³*Институт проблем информатики и автоматизации Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, Армения*

Аннотация. Проведен виртуальный скрининг молекулярной библиотеки биологически активных соединений, направленный на идентификацию потенциальных ингибиторов основной протеазы (Mpro) SARS-CoV-2, играющей важную роль в процессе репликации вируса. Методами молекулярного докинга и молекулярной динамики выполнена оценка энергии связывания этих соединений с каталитическим сайтом фермента, в результате которой идентифицированы шесть молекул, проявляющих высокое химическое сродство к Mpro SARS-CoV-2. Об этом свидетельствуют низкие значения свободной энергии образования комплексов лиганд/Mpro, сопоставимые с величинами, предсказанными для мощного нековалентного ингибитора Mpro SARS-CoV-2 с использованием идентичного вычислительного протокола. На основе полученных данных сделан вывод о том, что найденные соединения обладают хорошим терапевтическим потенциалом для ингибирования каталитической активности фермента и формируют перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных препаратов против COVID-19.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, основная протеаза, виртуальный скрининг, молекулярный докинг, молекулярная динамика, противовирусные препараты.

ВВЕДЕНИЕ

SARS-CoV-2, впервые обнаруженный в конце 2019 года в Ухане (Китай), является седьмым выявленным высокопатогенным коронавирусом человека и причиной вспышки коронавирусной инфекции COVID-19 [1, 2]. Поскольку число новых случаев продолжало значительно расти, 30 января 2020 г. ВОЗ объявила чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения, имеющую международное значение. Симптомы заболевания COVID-19 неспецифичны и охватывают широкий клинический спектр, что затрудняет его диагностику без проведения ПЦР теста. Частыми симптомами COVID-19 являются лихорадка, кашель и anosmia; однако многие инфицированные пациенты остаются бессимптомными и, наряду с пациентами в симптоматической стадии заболевания, могут передавать вирус [1, 2].

* alexande.andriano@yandex.ru

Пандемия COVID-19 обусловила острую необходимость в быстрой разработке вакцин и специфических противовирусных препаратов [3–9]. С начала 2020 г. было начато множество клинических и доклинических исследований для изучения возможных вариантов лечения пациентов с COVID-19. Многие из этих исследований были основаны на перепрофилировании лицензированных лекарств или оценке экспериментальных препаратов, которые находятся на различных стадиях клинических испытаний. В результате проведенных исследований в настоящее время существует большое количество информации о фармакологии и токсичности различных видов потенциальной терапии, для изучения безопасности и эффективности которых против COVID-19 необходимо учитывать все имеющиеся экспериментальные данные [8, 9].

В качестве наиболее перспективных терапевтически мишеней коронавируса рассматривают шиповидный белок S, РНК-зависимую РНК-полимеразу, НТФазу/хеликазу, папаиноподобную протеазу (PLpro) и 3-химотрипсиноподобную протеазу (3CLpro), также известную как основная протеаза (Mpro) [10]. После вспышки в начале 2000-х годов коронавирусной инфекции SARS-CoV – предшественника SARS-CoV-2, среди этих мишеней наибольшее внимание уделялось основной протеазе Mpro [11]. Ген репликазы SARS-CoV-2 кодирует два перекрывающихся белка – pp1a и pp1ab, которые подвергаются интенсивному протеолитическому процессингу цистеиновыми протеазами PLpro и Mpro [12]. При этом основная протеаза Mpro, вырезанная за счет собственной аутолитической активности из белков pp1a и pp1ab, “переваривает” их в не менее чем 11 консервативных сайтах [11, 12]. Это свидетельствует о чрезвычайно важной роли Mpro в жизненном цикле вируса и делает данный фермент одной из наиболее привлекательных мишеней для разработки эффективных противовирусных препаратов [11].

В ряде исследований была предпринята попытка идентифицировать потенциальные ингибиторы Mpro SARS-CoV-2 путем скрининга лекарственных препаратов, одобренных управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) [3]. В частности, в результате проведенных исследований было показано, что совместное использование противомаларийных средств хлорохин/гидроксихлорохин [13] и ремдесивир/фавипиравир [14] сопровождается синергетическим эффектом, и их комбинация является одной из наиболее известных рекомендаций для лечения инфицированных пациентов [5]. Авторы работы [15] предложили в качестве потенциальных средств для терапии COVID-19 ингибиторы нейраминидазы, ремдесивир, абидол, ингибиторы синтеза РНК (ТДФ и 3ТС), противовоспалительные препараты (гормоны и другие молекулы) и китайскую традиционную медицину. После тестирования одобренных FDA лекарств на противовирусную активность в качестве потенциальных ингибиторов Mpro SARS-CoV-2 были предложены синкалид, ритонавир, фитонадион и пентагастрин [5, 15]. Перспективные кандидаты в лекарства были обнаружены путем виртуального скрининга библиотеки фитохимических веществ и китайских лекарственных средств, обладающих противовирусными свойствами против Mpro SARS-CoV-2 [16]. Кроме того, исследования природных ингибиторов Mpro из растений, морских организмов и микроорганизмов, ковалентных пептидомиметиков и малых молекул позволили выявить соединения, проявляющие анти-SARS-CoV-2 активность в инфицированных клетках человека [3–5]. Исследования препарата Паксловид, представляющего собой комбинацию двух противовирусных агентов – нирматрелвира и ритонавира, показали [17], что он блокирует репликацию SARS-CoV-2 путем связывания с Mpro, эффективен при пероральном применении и имеет хорошие профили селективности и безопасности. Паксловид также ингибирует и другие коронавирусы, в том числе вирусы атипичной пневмонии SARS-CoV и ближневосточного респираторного синдрома MERSCoV [17]. По данным промежуточного анализа фазы II/III клинических исследований, Паксловид значительно снизил количество госпитализаций и смертей. В

связи с этим, разработчик препарата компания Pfizer прекратила клинические испытания досрочно, и в ноябре 2021 года FDA выдало разрешение на его экстренное использование для лечения COVID-19 легкой или средней степени тяжести [18].

Таким образом, за последние три года достигнут значительный прогресс в разработке новых ингибиторов Mpro SARS-CoV-2. Однако мутации генома коронавируса, ведущие к появлению новых вариантов COVID-19, потенциально устойчивых к используемым в клинике препаратам, обуславливают необходимость разработки новых противовирусных соединений, способных ингибировать каталитическую активность фермента. Подробная информация о текущих разработках новых ингибиторов этого важнейшего белка COVID-19 представлена в недавних обзорных статьях [3–5].

Настоящая работа продолжает начатые нами ранее [19] исследования по разработке новых ингибиторов Mpro SARS-CoV-2 и посвящена виртуальному скринингу баз данных химических соединений, направленному на идентификацию малых молекул, потенциально активных по отношению к Mpro SARS-CoV-2. Для этого были проведены исследования, которые включали:

- 1) создание молекулярной библиотеки, содержащей химические соединения, которые находятся на стадиях лабораторных исследований, клинических испытаний или использования в медицинской практике;
- 2) молекулярный докинг этих соединений с Mpro SARS-CoV-2;
- 3) предсказание аффинности связывания комплексов лиганд/Mpro;
- 4) молекулярную динамику комплексов лиганд/Mpro и отбор соединений, перспективных для тестирования на моделях *in vitro*.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Формирование виртуальной библиотеки биологически активных соединений

При формировании библиотеки биологически активных молекул учитывали следующие критерии: свободный академический доступ к данным, наличие структур соединений в формате файлов химических данных SDF (Structure Data File) (<https://www.fda.gov/media/151718/download>) [20], активная поддержка баз данных и наличие информация о возможности синтеза и покупки молекулы. В соответствии с этими критериями были выбраны следующие базы данных со свободным доступом:

- DrugBank – база данных, содержащая подробную информацию о более чем 10 000 лекарств (<https://go.drugbank.com/>) [21];
- ZINC15 – база данных, включающая несколько сотен миллионов коммерчески доступных соединений для виртуального скрининга потенциальных лекарств (<https://zinc.docking.org/>) [22];
- Selleck Chemicals – база данных, содержащая более 120 000 ингибиторов, используемых в исследованиях сигнальных путей клеток (<https://www.selleckchem.com/>).

При сборке молекулярной библиотеки из приведенных баз данных были отобраны и загружены в формате SDF химические соединения, находящиеся на стадиях лабораторных исследований, клинических испытаний или применения в медицинской практике. В результате собранная виртуальная библиотека включала 28 806 соединений, потенциальную активность которых по отношению к Mpro SARS-CoV-2 оценивали методами молекулярного докинга.

Молекулярный докинг

Молекулярный докинг Mpro SARS-CoV-2 с соединениями из сформированной молекулярной библиотеки выполняли с помощью программы AutoDock Vina [23] в

приближении жесткого рецептора и гибких лигандов. Для учета конформационной подвижности Mpro SARS-CoV-2 использовали две модели белка в кристалле, представляющие его структуры в свободном и связанном состояниях (коды структур в банке данных белков Protein Data Bank – 6Y84 и 6W63 соответственно). Атомы водорода добавляли к рентгеновским структурам Mpro с использованием программного пакета AutoDockTools (<http://autodock.scripps.edu/resources/adt>) [23]. Ячейка для докинга включала каталитический сайт белка и имела следующие параметры: $\Delta X = 19 \text{ \AA}$, $\Delta Y = 21 \text{ \AA}$, $\Delta Z = 23 \text{ \AA}$ с центром при $X = -20 \text{ \AA}$, $Y = 19 \text{ \AA}$, $Z = -26 \text{ \AA}$. Параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), задавали равным 100.

Оценка аффинности связывания комплексов лиганд/Mpro на основе данных молекулярного докинга

После проведения молекулярного докинга с помощью трех оценочных функций (ОФ) – Vina [23], RFScore4 (<https://pjballester.wordpress.com/software/>) [24] и NNScore 2.0 (<https://git.durrantlab.pitt.edu/jdurrant/nnscore2>) [25] – рассчитывали энергию связывания комплексов лиганд/Mpro, построенных для структур фермента в свободном и связанном состояниях. При этом в обоих случаях проводили ранжирование лигандов по аффинности связывания с Mpro и отбирали соединения, входящие в 5 % лучших по значениям всех трех ОФ, а затем для каждого соединения вычисляли функцию экспоненциального консенсусного ранжирования (ECR) [26]:

$$ECR = \sum_{sf} \frac{1}{\sigma_{sf}} \cdot \exp \left\{ -\frac{rank_{sf}}{\sigma_{sf}} \right\},$$

где $rank_{sf}$ – ранг соединения согласно оценочной функции sf , σ_{sf} – параметр, контролирующий влияние оценочной функции sf на результаты консенсусного отбора (при расчетах ECR для всех рассматриваемых ОФ значение σ_{sf} задавали равным 10, предполагая, что их вклады в суммарную величину ECR одинаковы). В результате консенсусного ранжирования были отобраны 38 соединений, комплексы которых с Mpro SARS-CoV-2 в свободном состоянии исследовали методами молекулярной динамики.

Молекулярная динамика

Молекулярную динамику комплексов лиганд/Mpro в воде выполняли в программном пакете Amber18 с использованием силовых полей Amber ff14SB (белок) и GAFF (лиганды) [27]. Для задания парциальных зарядов атомов (модель AM1-BCC) использовали модуль Antechamber. Атомы водорода добавляли с помощью программы reduce. Комплексы помещали в кубическую коробку, заполняли растворителем (модель воды TIP3P) [28] и добавляли ионы Na^+ и Cl^- до значения ионной силы, равного 0.15 М. Систему минимизировали методами наискорейшего спуска (500 шагов) и сопряженных градиентов (500 шагов), нагревали от 0 до 300 К в течение 50 пс в рамках статистического ансамбля NVT и термостата Ланжевена, а затем уравнивали в течение 50 пс при давлении 1.0 атм (ансамбль NPT, баростат Берендсена). На заключительном шаге систему уравнивали в течение 0.5 нс при постоянном объеме и проводили молекулярную динамику длительностью 200 нс в изобарно-изотермических условиях при температуре 300 К и давлении 1 атм. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма «leap-frog» с шагом интегрирования 2.0 фс. Для фиксации длин связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE [29]. Максимальное расстояние, на

котором учитывали электростатические взаимодействия, задавали равным 8.0 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда [30].

Анализ межмолекулярных взаимодействий и аффинности связывания

Водородные связи, катион-р взаимодействия и ван-дер-ваальсовы контакты, реализующиеся в статических моделях комплексов лиганд/Мpro, идентифицировали с помощью программы BINANA [31]. Средние значения энергии связывания для динамических моделей комплексов лиганд/Мpro рассчитывали с помощью метода MM/GBSA [32] в программном пакете AMBER 18 [27]. При расчете свободной энергии первые 50 нс молекулярно-динамического (МД) моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Энергию связывания вычисляли для 150 комплексов МД траектории, разделенных временным интервалом 1 нс. Для расчета полярной составляющей энергии сольватации использовали континуальную модель растворителя Пуассона–Больцмана с ионной силой 0.15 М. Неполярные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю. Энтропийную компоненту свободной энергии Гиббса рассчитывали с использованием программного модуля Nmode [27]. Анализ МД траекторий выполняли с помощью программного модуля CPPTRAJ пакета AmberTools 18 для последних 150 нс временного интервала .

В качестве контрольного соединения в расчетах использовали мощный нековалентный ингибитор Мpro SARS-CoV-2 со значением концентрации полумаксимального ингибирования IC₅₀, равным 20 ± 5 нМ (соединение под номером 23 в работе [33]).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных молекулярного моделирования позволил идентифицировать шесть соединений, которые характеризуются низкими значениями свободной энергии связывания с Мpro SARS-CoV-2, рассчитанными как для статических, так и для динамических моделей комплексов лиганд/Мpro. Химические структуры этих соединений показаны на рисунке 1, а в таблице 1 приведены их физико-химические параметры, обычно используемые в качестве основных фильтров для скрининга потенциальных кандидатов в лекарственные препараты. Данные таблицы 1 показывают, что лиганды I и II полностью удовлетворяют требованиям, предъявляемым к потенциальному лекарству «правилом пяти» Липинского, которое задает ограничения на такие важные фармакокинетические характеристики, как абсорбция, распределение, метаболизм и экскреция, и помогает определить, обладает ли химическое соединение свойствами, сохраняющими его фармакологическую активность при пероральном применении [34]. Для лигандов IV–VI анализ данных таблицы 1 обнаруживает лишь одно допустимое этим правилом нарушение, связанное с небольшим превышением их молекулярной массы. В то же время, для соединения III кроме нарушения ограничения по молекулярной массе, расчеты предсказывают также незначительное превышение коэффициента липофильности LogP. Однако, учитывая погрешность расчетов и небольшие нарушения задаваемых «правилом пяти» ограничений, полученные для соединения III данные (табл. 1) позволяют предположить, что и оно может быть перорально активным лекарственным препаратом.

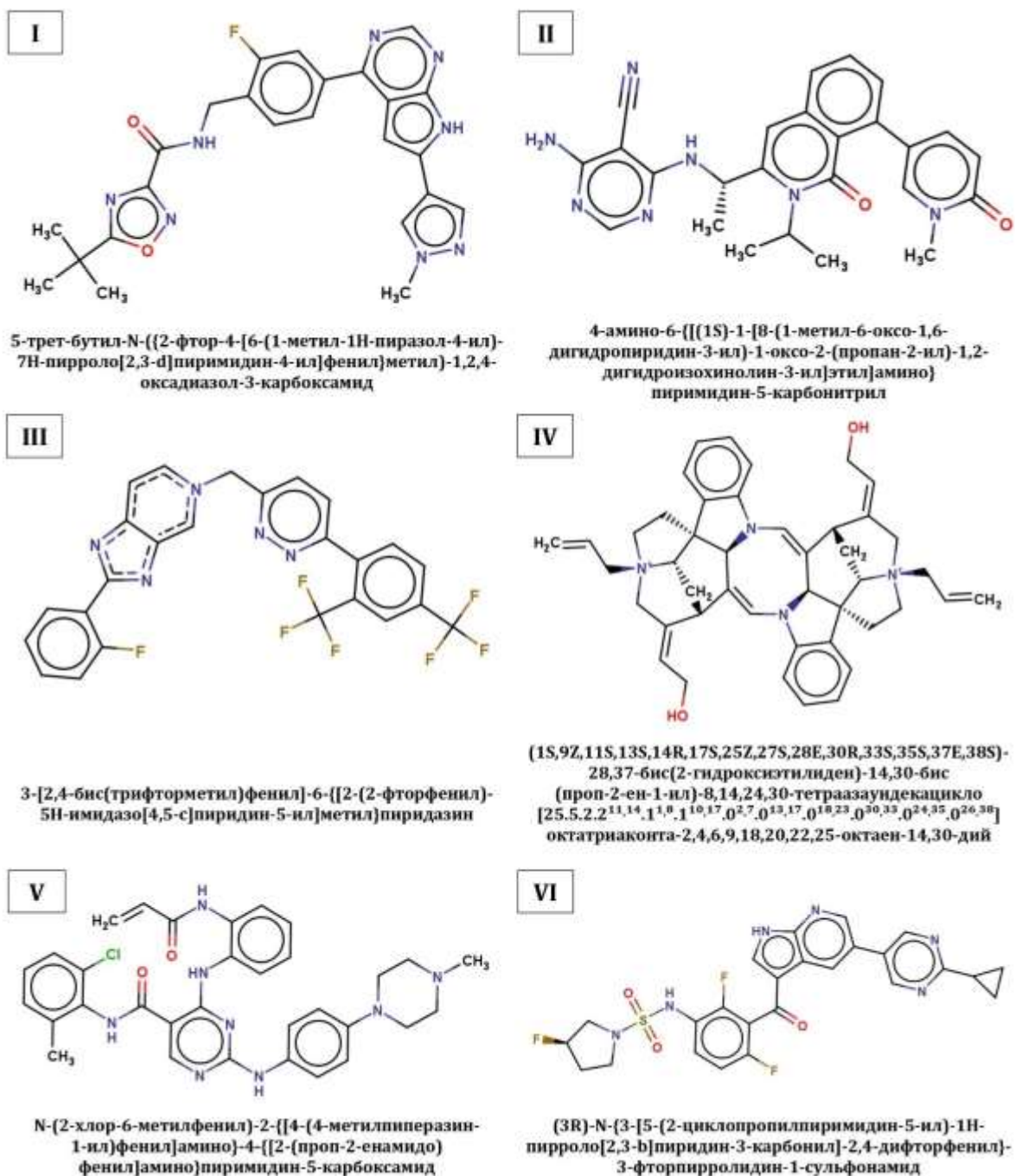


Рис. 1. Химические структуры идентифицированных соединений. Приведены названия соединений согласно систематической номенклатуре IUPAC. [Открыть в полном размере](#)

В таблице 2 представлен профиль межмолекулярных взаимодействий, реализующихся в статических моделях комплексов идентифицированных соединений с каталитическим сайтом Mpro SARS-CoV-2. Исследование интерфейса взаимодействий этих соединений с Mpro показывает (табл. 2, рис. 2), что они образуют широкую сеть ван-дер-ваальсовых контактов с участием функционально важных остатков фермента, таких как His-41 (соединения I–III, VI), Met-49, Met-165 (соединения II, IV, V), Glu-166 и Gln-189 (соединения III–VI). Наряду с ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, анализируемые соединения формируют водородные связи с Glu-166 (лиганды I, V и VI), Thr-26 и His-163 (лиганд II), His-164 и Gln-189 (лиганд V) (табл. 2, рис. 2). Кроме того, соединения II и VI участвуют в специфических катион-π-взаимодействиях с

His-41, а π -сопряженная система соединения VI образует также π -стэкинг с боковой цепью этой аминокислоты, которая является частью каталитической диады Mpro, образованной остатками His-41 и Cys-145 [35]. При этом доминирующую роль в энергетической стабилизации структурных комплексов лиганд/Mpro играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия, в которые вовлечены остатки, важные для обеспечения каталитической активности фермента (табл. 2).

Таблица 1. Физико-химические параметры идентифицированных соединений – потенциальных ингибиторов Mpro SARS-CoV-2

Лиганд	Химическая формула	Молекулярная масса (Да)	LogP	Число доноров водородной связи	Число акцепторов водородной связи
I	C ₂₄ H ₂₃ FN ₈ O ₂	474.5	3.47	2	8
II	C ₂₅ H ₂₅ N ₇ O ₂	455.5	2.63	2	5
III	C ₂₅ H ₁₄ F ₇ N ₅	517.4	5.93	0	11
IV	C ₄₄ H ₅₀ N ₄ O ₂	666.9	-0.14	2	2
V	C ₃₂ H ₃₃ ClN ₈ O ₂	597.1	3.94	4	5
VI	C ₂₅ H ₂₁ F ₃ N ₆ O ₃ S	542.5	3.58	2	10

Примечание: приведенные данные получены с помощью веб-сервера SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) [36]; LogP – липофильность соединения.

Таблица 2. Межмолекулярные взаимодействия, предсказанные для структурных комплексов идентифицированных соединений с Mpro SARS-CoV-2

Лиганд	Катион- π взаимодействия ¹	π - π стэкинг ²	Ван-дер-ваальсовы контакты ³	Водородные связи ⁴
I	-	-	T25(7), M49(4), E166(4), L141(2), T24(1), T26(1), G143(1), H41(1), N142(1)	O...*HN[E166], N...**HN[E166]
II	H41	-	T25(5), M165(4), E166(3), S46(1), M49(1), H41(1), L141(1), N142(1)	N...*HN[T26], O...**HN[H163]
III	-	-	M49(5), T25(3), H41(2), E166(2), Q189(2), T45(1)	-
IV	-	-	E166(3), N142(2), S46(2), T25(2), M165(2), Q189(1), L167(1), P168(1), T24(1), C44(1), T45(1), M49(1)	-
V	-	-	Q189(7), E166(7), P168(3), M165(2), M49(1), L141(1), T25(1), N142(1)	N...*HN[E166], N...**HN[Q189], NH...*O[H164], N...*HN[E166]
VI	H41	H41	Q189(5), M49(5), E166(3), T190(2), L27(2), P168(1), T25(1), H41(1)	O...*HN[E166]

¹Аминокислотные остатки белка Mpro, участвующие в катион- π взаимодействиях

²Остатки, образующие π -стэкинг с лигандами

³Аминокислотные остатки белка, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с лигандами. Количество контактов указано в круглых скобках

⁴Первыми приведены доноры/акцепторы водородной связи лигандов, а затем соответствующие атомы и функциональные группы белка. Аминокислотные остатки Mpro представлены в скобках в однобуквенном коде. Символ * обозначает атомы основной цепи, а символ ** – атомы боковой цепи

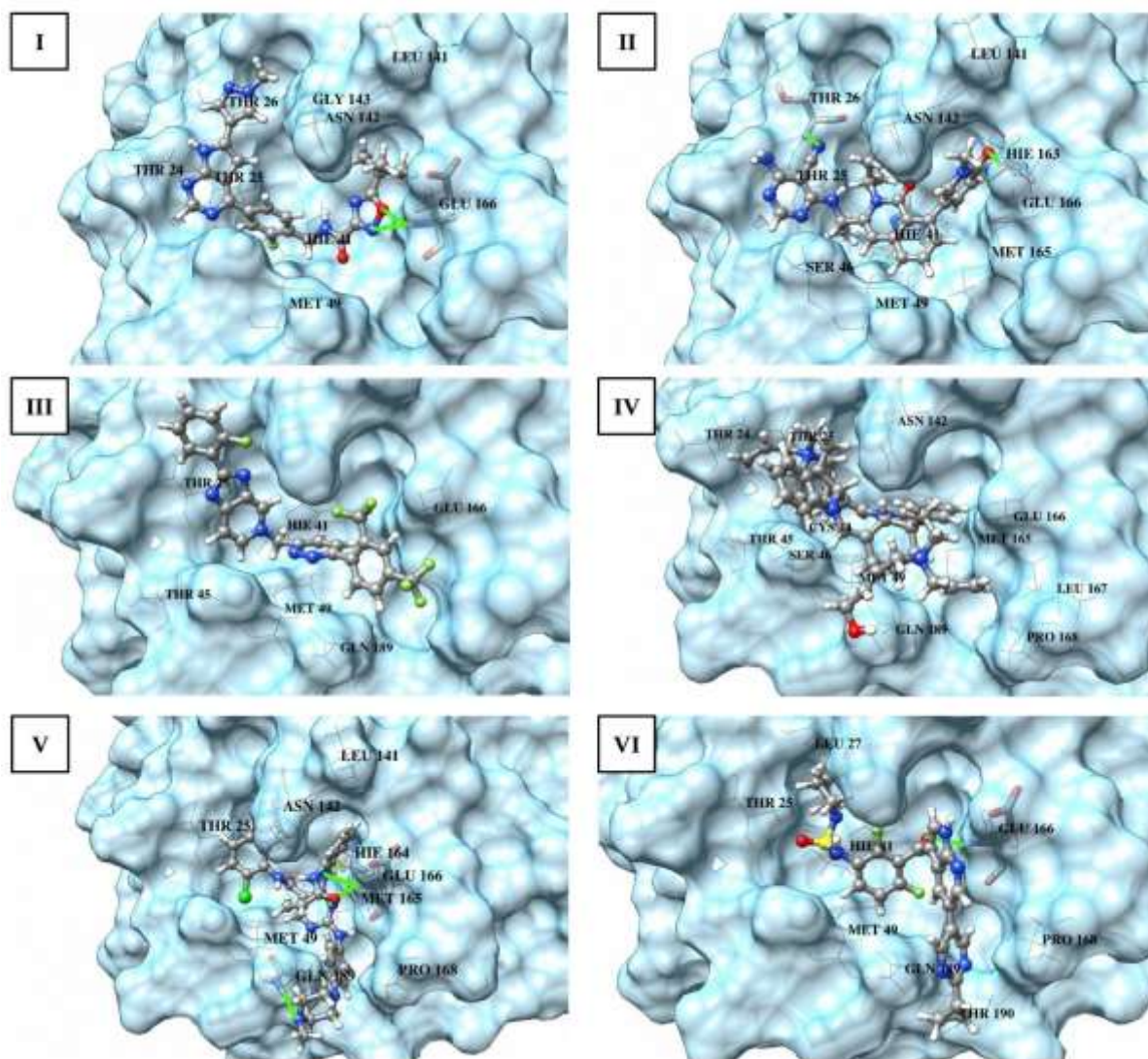


Рис. 2. Структурные комплексы идентифицированных соединений с Mpro SARS-CoV-2, построенные методом молекулярного докинга. Соединения представлены моделью «шарик-палочка-шарик». Остатки Mpro, участвующие в водородных связях, обозначены палочковой моделью. Водородные связи показаны сплошными зелеными линиями. Проволочная модель использована для обозначения остатков Mpro, образующих ван-дер-ваальсовы контакты. [Открыть в полном размере](#)

Эффективность межмолекулярных взаимодействий, реализующихся в комплексах лиганд/Mpro, подтверждается низкими значениями свободной энергии связывания и констант диссоциации, свидетельствующими о высоком химическом сродстве анализируемых соединений с каталитическим сайтом Mpro (табл. 3).

Анализ данных таблицы 3 позволяет предположить, что эти величины, рассчитанные с использованием трех различных оценочных функций, сопоставимы со значениями, полученными с помощью идентичного вычислительного протокола для контрольного ингибитора Mpro SARS-CoV-2. Это предположение согласуется с результатами анализа динамических моделей комплексов лиганд/Mpro, указывающими на их относительную стабильность во временном интервале 150 нс: средние значения свободной энергии связывания с учетом стандартной ошибки метода MM/GBSA (~ 3 ккал/моль) [32] сравнимы с соответствующей величиной, полученной для ингибитора Mpro SARS-CoV-2, использованного в расчетах в качестве позитивного контроля (табл. 4). Результаты расчетов, приведенные в таблицах 3 и 4, подтверждают данные о временных зависимостях среднеквадратичных отклонений (RMSD, Root-Mean-Square

Deviations) положений атомов между динамическими структурами комплексов и их исходными статическими моделями (рис. 3). Для предсказанных соединений средние значения RMSD, равные $1.89 \pm 0.22 \text{ \AA}$ (соединение I), $2.24 \pm 0.29 \text{ \AA}$ (соединение II), $2.32 \pm 0.26 \text{ \AA}$ (соединение III), $2.25 \pm 0.34 \text{ \AA}$ (соединение IV), $1.93 \pm 0.26 \text{ \AA}$ (соединение V) и $2.21 \pm 0.25 \text{ \AA}$ (соединение VI), близки к величине $1.99 \pm 0.27 \text{ \AA}$, рассчитанной для контрольного ингибитора Mpro (рис. 3). В то же время средняя величина RMSD для Mpro SARS-CoV-2 в свободном состоянии, составляющая $1.89 \pm 0.30 \text{ \AA}$ (рис. 3), близка к значениям, рассчитанным для предсказанных соединений, связанных с ферментом, что является дополнительным подтверждением конформационной устойчивости комплексов лиганд/Mpro на их МД траекториях. О стабильности анализируемых комплексов свидетельствуют также графики временных зависимостей значений свободной энергии связывания, которые не обнаруживают тенденции к увеличению во времени (рис. 4), а также приведенные в таблице 5 данные о межмолекулярных водородных связях, реализующихся в динамических структурах комплексов лиганд/Mpro.

Таблица 3. Значения свободной энергии связывания ΔG и констант диссоциации K_d , рассчитанные для статических моделей комплексов лиганд/Mpro с помощью ОФ Vina, RFScore4 и NNScore 2.0

Лиганд	ΔG_{Vina} , ккал/моль	$K_{d\text{Vina}}$, нМ	$\Delta G_{\text{RFScore4}}$, ккал/моль	$K_{d\text{RFScore4}}$, нМ	$\Delta G_{\text{NNScore2.0}}$, ккал/моль	$K_{d\text{NNScore2.0}}$, нМ
I	-8.6	865	-10.6	33.9	-10.99	17.8
II	-8.7	735	-10.2	64.6	-11.84	4.5
III	-9.1	384	-10.89	20.9	-13.74	0.204
IV	-9.2	326	-11.13	14.1	-12.01	3.4
V	-8.7	735	-10.75	26.3	-10.31	53.6
VI	-9.3	278	-10.89	20.9	-11.81	4.7
Контрольный ингибитор	-8.5	1017	-11.09	15.1	-8.08	2000

Таблица 4. Средние значения свободной энергии связывания $\langle \Delta G \rangle$ и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD} , рассчитанные для динамических моделей комплексов лиганд/Mpro

Лиганд	$\langle \Delta H \rangle$, ккал/моль	ΔH_{STD} , ккал/моль	$\langle T\Delta S \rangle$, ккал/моль	$(T\Delta S)_{\text{STD}}$, ккал/моль	$\langle \Delta G \rangle$, ккал/моль	ΔG_{STD} , ккал/моль
I	-39.67	3.81	-24.05	4.99	-15.63	6.21
II	-44.19	5.48	-26.54	4.48	-17.65	7.16
III	-33.88	4.31	-22.54	4.83	-11.34	6.48
IV	-38.59	5.26	-26.98	5.16	-11.61	7.32
V	-41.78	4.93	-26.62	4.13	-15.15	6.01
VI	-33.99	3.21	-22.54	4.1	-11.44	4.69
Контрольный ингибитор	-38.98	4.07	-24.53	4.52	-14.45	6.43

Примечание: $\langle \Delta H \rangle$ и $\langle T\Delta S \rangle$ – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии; ΔH_{STD} и $(T\Delta S)_{\text{STD}}$ – соответствующие этим значениям стандартные отклонения.

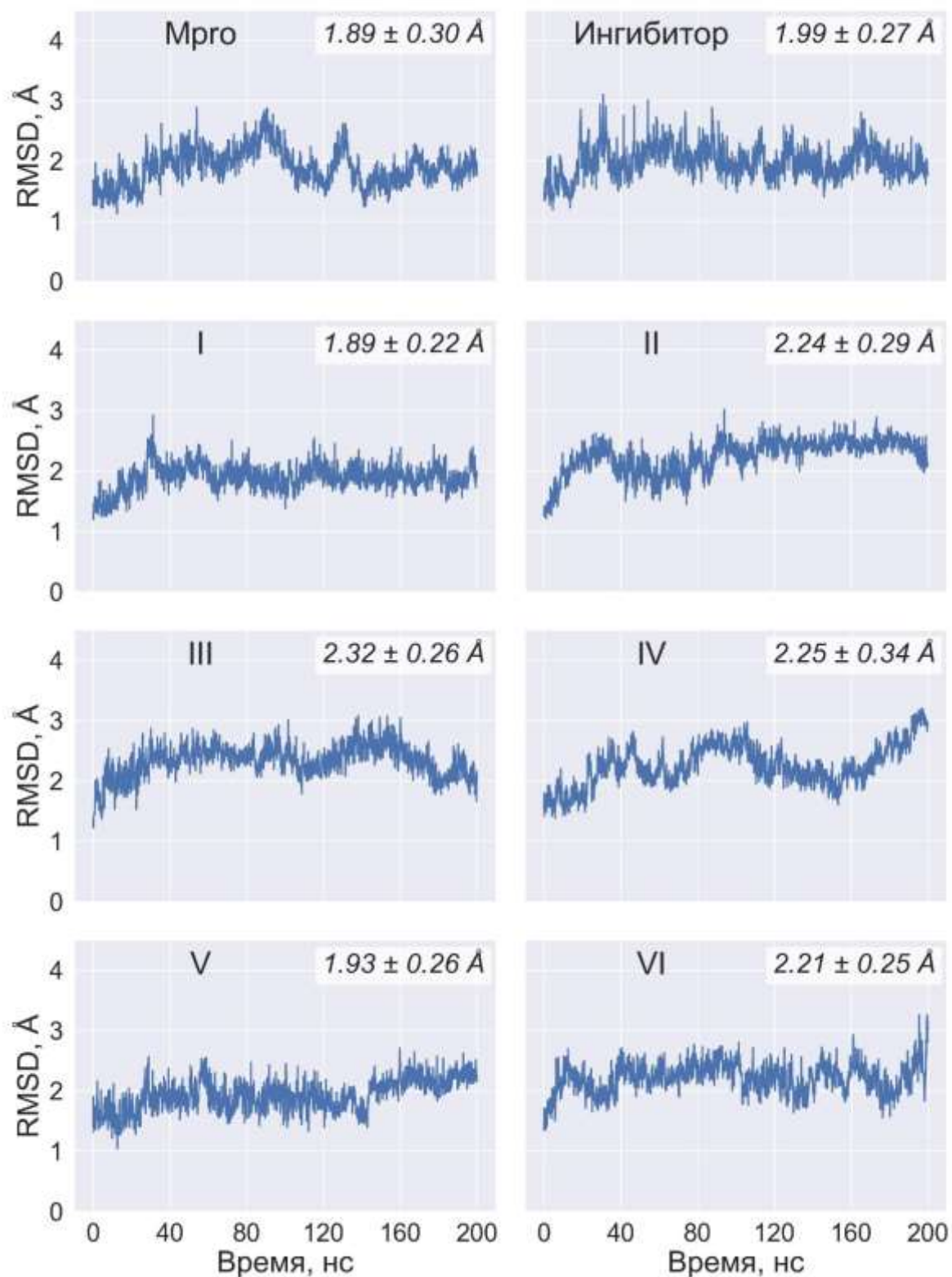


Рис. 3. Временные зависимости значений RMSD (Å), рассчитанных между всеми динамическими и стартовыми структурами комплексов лиганд/Mpro. В расчетах использовали атомы основной цепи белка Mpro. В правом верхнем углу указаны средние значения RMSD и соответствующие стандартные отклонения.

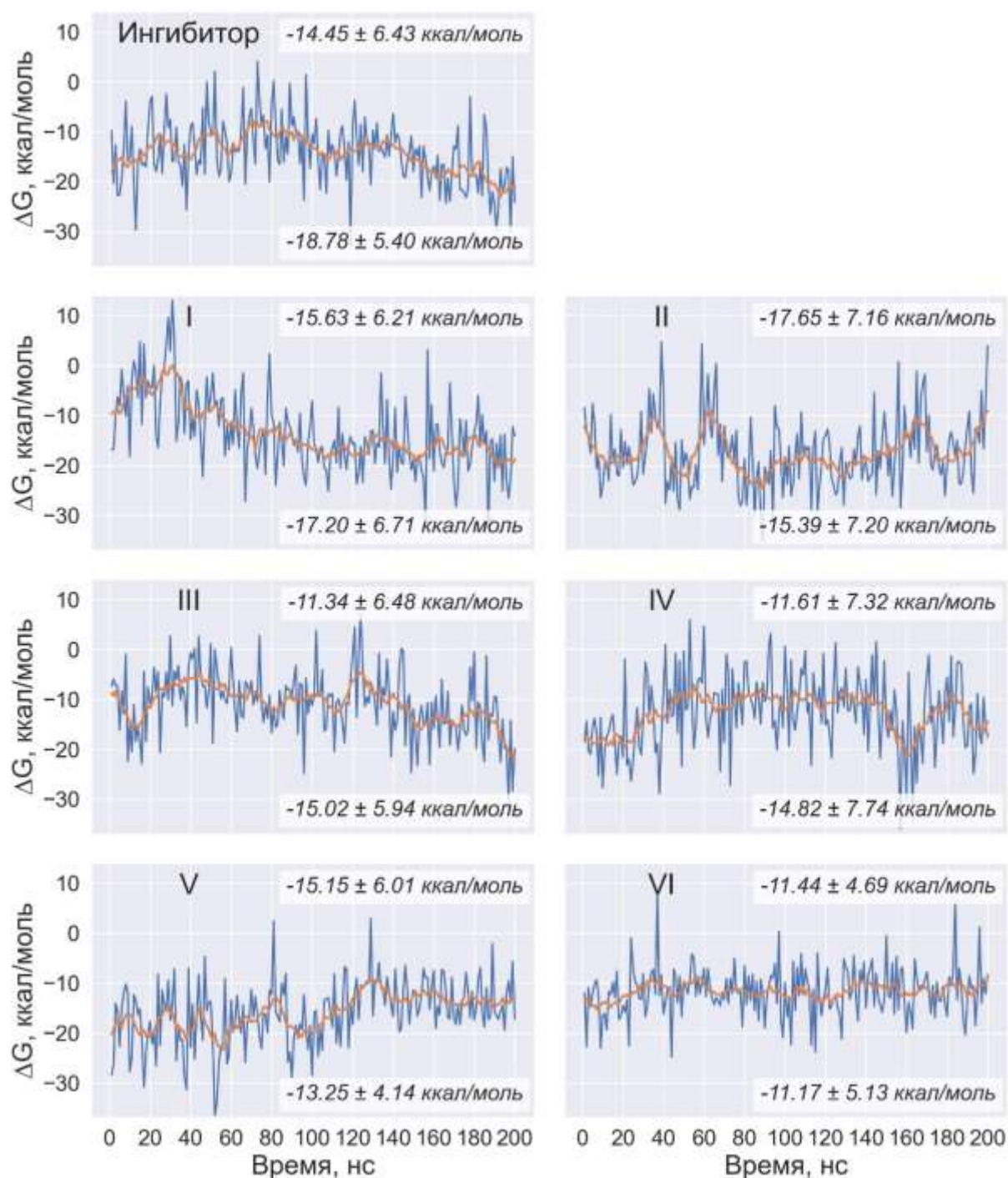


Рис. 4. Зависимости свободных энергий связывания для комплексов идентифицированных соединений с Mpro SARS-CoV-2 от времени. На графике оранжевая линия показывает простое скользящее среднее во временном диапазоне 11 нс. В правом верхнем углу указаны средние значения свободных энергий связывания и соответствующие им стандартные отклонения, рассчитанные для последних 150 нс МД траекторий. В правом нижнем углу приведены средние значения свободной энергии образования комплексов и соответствующие стандартные отклонения, вычисленные для конечного временного интервала 50 нс.

Таблица 5. Межмолекулярные водородные связи, реализующиеся в динамических структурах идентифицированных соединений в комплексах с Mpro SARS-CoV-2

Лиганд	Водородная связь *
I	O...HN[ARG 188; 59.78%]; N...HN[CYS 145; 57.55%]; N...HN[GLY 143; 32.89%]; O...HN[ARG 188; 26.67%]
II	O...HN[HIS 163; 78.75%]; O...HN[GLY 143; 78.65%]; N..HN[SER 46; 71.79%]; NH..O[THR 25; 67.1%] O..HN[ASN 142; 26.58%]
III	–
IV	OH..O[HIS 164; 43.63%]
V	NH..O[GLU 166; 98.83%]; N..HN[GLU 166; 83.09%]; N..HN[GLN 189; 26.75%]; O..HN[ASN 142; 21.47%]; O..HN[GLY 143; 21.45%]
VI	O..HN[GLY 143; 90.39%]; O..HN[CYS 145; 76.59%]; F..HN[GLU 166; 75.47%]; O..HN[HIS 163; 72.11%]

*Первыми приведены доноры/акцепторы водородных связей, относящиеся к лигандам, за которыми следуют соответствующие функциональные группы аминокислотных остатков Mpro. В квадратных скобках указаны остатки фермента и процент реализации водородных связей на МД траекториях комплексов лиганд/Mpro. Представлены данные для водородных связей, реализация которых превышает 20 %.

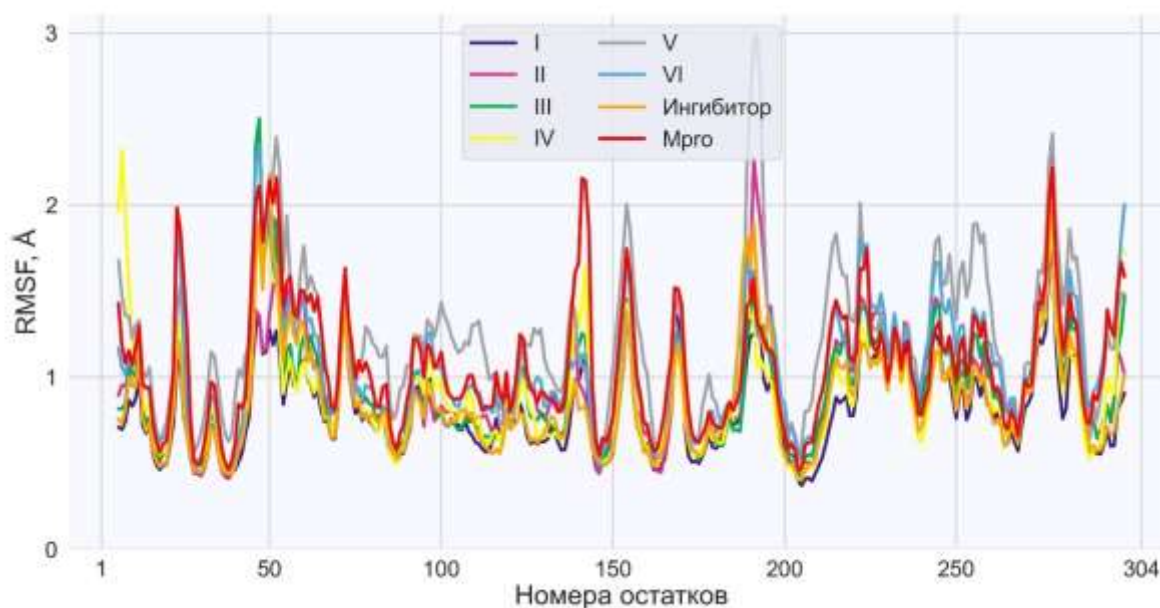


Рис. 5. Значения RMSF (Å) для каждого остатка аминокислотной последовательности белка Mpro SARS-CoV-2. Пять остатков N-конца и C-конца не указаны, так как обладают высокой конформационной лабильностью. [Открыть в полном размере](#)

Расчет среднеквадратичных флуктуаций (RMSF, Root-Mean-Square Fluctuations) остатков Mpro, свидетельствующих об их гибкости на MD траектории, показывает, что большинство аминокислот фермента демонстрируют небольшие структурные колебания (рис. 5). Причем это наблюдение относится как к остаткам Mpro в свободном состоянии, так и в комплексах с предсказанными соединениями и контрольным ингибитором (рис. 5). Средние значения RMSF для фермента в несвязанной форме и в комплексах с лигандами близки и находятся в интервале от 0.5 до 2.2 Å. Важно отметить, что остатки Mpro, доминирующие в интерфейсе лиганд/Mpro, также пространственно ограничены (табл. 7). Для этих остатков значения RMSF не превышают 2.2 Å, а в большинстве случаев они меньше 1.5 Å (табл. 7). В то же время

значения RMSF, рассчитанные для этих “горячих точек” фермента, связанного с идентифицированными соединениями и контрольным ингибитором, близки друг к другу (табл. 7), что подтверждает их ключевую роль во взаимодействии с лигандами.

Таблица 6. Средние значения и стандартные отклонения энтальпии связывания для индивидуальных аминокислотных остатков Mpro SARS-CoV-2 в комплексах с соединениями I–VI и ингибитором

Остаток	Ингибитор	Лиганд					
		I	II	III	IV	V	VI
Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль)							
THR 24	–	–	–0.6 ± 0.4	–	–	–	–
THR 25	–0.6 ± 0.4	–	–2.6 ± 0.9	–0.5 ± 0.3	–	–	–
LEU 27	–1.2 ± 0.4	–1.2 ± 0.2	–0.5 ± 0.1	–0.8 ± 0.6	–	–0.6 ± 0.3	–0.9 ± 0.3
HIS 41	–1.4 ± 0.4	–1.9 ± 0.3	–0.6 ± 0.3	–2.2 ± 0.5	–1.1 ± 0.4	–1.3 ± 0.8	–
CYS 44	–	–1.0 ± 0.3	–	–0.6 ± 0.7	–	–	–
THR 45	–	–	–2.0 ± 1.0	–	–	–	–
SER 46	–	–	–1.5 ± 0.6	–	–	–	–
MET 49	–0.9 ± 0.6	–3.4 ± 0.6	–1.3 ± 0.3	–2.0 ± 0.5	–1.3 ± 0.7	–1.3 ± 0.7	–0.5 ± 0.4
LEU 50	–	–1.2 ± 0.5	–	–	–0.6 ± 0.6	–	–
PHE 140	–0.6 ± 0.2	–	–0.9 ± 0.4	–	–	–	–0.6 ± 0.3
LEU 141	–0.5 ± 0.3	–	–	–	–	–	–1.5 ± 0.4
ASN 142	–2.5 ± 0.6	–0.5 ± 0.4	–3.6 ± 0.9	–	–0.6 ± 1.0	–1.9 ± 0.9	–2.5 ± 0.7
GLY 143	–2.3 ± 0.5	–1.2 ± 0.4	–1.5 ± 0.5	–	–	–0.8 ± 0.7	–2.5 ± 0.5
SER 144	–1.0 ± 0.4	–0.7 ± 0.3	–0.9 ± 0.6	–	–	–0.6 ± 0.4	–1.2 ± 0.3
CYS 145	–1.6 ± 0.5	–2.0 ± 0.4	–0.6 ± 0.3	–0.6 ± 0.6	–	–1.5 ± 0.7	–2.9 ± 0.5
HIS 163	–1.7 ± 0.4	–	–2.3 ± 0.6	–	–	–	–1.7 ± 0.3
MET 165	–2.6 ± 0.7	–	–1.7 ± 0.4	–1.7 ± 0.4	–3.0 ± 0.6	–3.7 ± 0.5	–1.6 ± 0.3
GLU 166	–1.2 ± 0.7	–	–0.6 ± 0.5	–	–	–2.9 ± 0.7	–
PRO 168	–	–	–	–	–1.0 ± 0.7	–1.2 ± 0.4	–
ASP 187	–0.7 ± 0.9	–	–	–1.3 ± 0.6	–0.7 ± 0.7	–	–
ARG 188	–	–3.1 ± 0.8	–	–1.3 ± 0.6	–	–	–
GLN 189	–1.3 ± 0.6	–1.1 ± 0.4	–	–2.0 ± 0.8	–2.2 ± 1.0	–2.4 ± 1.3	–
THR 190	–	–0.6 ± 0.4	–	–	–	–	–
ALA 191	–	–	–	–	–	–0.6 ± 0.4	–

Примечание: Приведены данные для остатков Mpro с энтальпией ≤ –0.5 ккал/моль. Жирным шрифтом выделены остатки, вносящие значительный вклад в энтальпию связывания.

Таким образом, данные об энергиях связывания идентифицированных соединений с Mpro SARS-CoV-2, полученные методами молекулярного докинга и молекулярной динамики (табл. 3 и 4), согласуются друг с другом и свидетельствуют о высоком химическом сродстве этих молекул к каталитическому сайту фермента. Это говорит о том, что использованный нами вычислительный подход позволил избежать ложноположительных результатов и правильно оценить силу межмолекулярных

взаимодействий. Данное предположение косвенно подтверждается результатами недавнего исследования [37], в котором показано, что использование оценочной функции машинного обучения NNScore 2.0 в сочетании с 1–4 классическими оценочными функциями обеспечивает наилучшую точность прогнозирования аффинности связывания потенциальных лигандов с терапевтической мишенью. В совокупности полученные данные дают основания предполагать, что предсказанные соединения могут иметь значения свободной энергии связывания, близкие к величине, рассчитанной для контрольного ингибитора Mpro SARS-CoV-2 [33]. На основании этих данных можно ожидать, что соединения I–VI (рис. 1) обладают хорошим терапевтическим потенциалом для ингибирования каталитической активности фермента.

Таблица 7. Значения RMSF для аминокислотных остатков белка Mpro, образующих “горячие точки” связывания с соединениями I–VI и контрольным ингибитором SARS-CoV-2 (табл. 6)

Остаток	Лиганд						Ингибитор
	I	II	III	IV	V	VI	
	Значения RMSF (Å)						
HIS 41	0.5	0.6	0.6	0.6	1	0.6	0.6
MET 49	1.1	1.2	1.9	1.8	1.8	1.8	2
ASN 142	1.1	0.9	1.2	1.6	1	1.1	0.8
GLY 143	0.8	0.8	1	0.9	0.9	0.9	0.7
CYS 145	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.5
MET 165	0.5	0.5	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6
GLN 189	1.1	1.2	1.2	1.5	2.2	1.7	1.8

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Виртуальный скрининг библиотеки биологически активных соединений позволил выявить шесть молекул, проявляющих высокую аффинность связывания с каталитическим сайтом Mpro SARS-CoV-2. Анализ статических и динамических моделей комплексов лиганд/Mpro показал, что все найденные соединения способны специфически и эффективно блокировать активный центр фермента, о чем свидетельствуют низкие значения констант диссоциации и энергий связывания, которые сопоставимы с величиной, предсказанной для мощного нековалентного ингибитора Mpro SARS-CoV-2 с использованием идентичного вычислительного протокола. Химическое сродство этих соединений к Mpro обеспечивается главным образом водородными связями и ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями с функционально важными остатками фермента, которые выполняют роль “горячих точек” связывания, помогающих этим молекулам эффективно взаимодействовать с активным центром белка. В совокупности полученные данные показывают, что идентифицированные молекулы формируют перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных препаратов против COVID-19.

Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект Ф21АРМГ-001) и Союзом международных научных организаций ANSO (ANSO-CR-PP-2021-04).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., Wang W., Song H., Huang B., Zhu N. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020. V. 395. P. 565–574. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
2. Chan J.F.-W., Yuan S., Kok K.-H., To K. K.-W., Chu H., Yang J., Xing F., Liu J., Yip C. C.-Y., Poon R. W.-S., et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*. 2020. V. 395. P. 514–523. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9)
3. Yan F., Gao F. An overview of potential inhibitors targeting non-structural proteins 3 (PL^{pro} and Mac1) and 5 (3CL^{pro}/M^{pro}) of SARS-CoV-2. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2021. V. 19. P. 4868–4883. doi: [10.1016/j.csbj.2021.08.036](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.08.036)
4. Ullrich S., Nitsche C. The SARS-CoV-2 main protease as drug target. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2020. V. 30. Article No. 127377. doi: [10.1016/j.bmcl.2020.127377](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127377)
5. Katre S.G., Asnani A.J., Pratyush K., Sakharkar N.G., Bhope A.G., Sawarkar K.T., Nimbekar V.S. Review on development of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (M^{Pro}). *Futur. J. Pharm. Sci.* 2022. V. 8. Article No. 36. doi: [10.1186/s43094-022-00423-7](https://doi.org/10.1186/s43094-022-00423-7)
6. Xia S., Chan J. F.-W., Wang L, Jiao F., Chik K. K.-H., Chu H., Lan Q., Xu W., Wang Q., Wang C., Yuen K.-Y., Lu L., Jiang S. Peptide-based pan-CoV fusion inhibitors maintain high potency against SARS-CoV-2 Omicron variant. *Cell Res.* 2022. V. 32. P. 404–406. doi: [10.1038/s41422-022-00617-x](https://doi.org/10.1038/s41422-022-00617-x)
7. Xia S., Liu M., Wang C., Xu W., Lan Q., Feng S., Qi F., Bao L., Du L., Liu S., Qin C., Sun F., Shi Z., Zhu Y., Jiang S., Lu L. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res.* 2020. V. 30. P. 343–355. doi: [10.1038/s41422-020-0305-x](https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x)
8. Tao K., Tzou P.L., Nouhin J., Bonilla H., Jagannathan P., Shafer R.W. SARS-CoV-2 antiviral therapy. *Clin. Microbiol. Rev.* 2022. V. 34. № 4. Article No. e0010921. doi: [10.1128/CMR.00109-21](https://doi.org/10.1128/CMR.00109-21)
9. Niknam Z., Jafari A., Golchin A., Pouya F.D., Nemati M., Rezaei-Tavirani M., Rasmi Y. Potential therapeutic options for COVID-19: an update on current evidence. *Eur. J. Med. Res.* 2022. V. 27. Article No. 6. doi: [10.1186/s40001-021-00626-3](https://doi.org/10.1186/s40001-021-00626-3)
10. Zhang Y., Ye T., Xi H., Juhas M., Li J. Deep learning driven drug discovery: Tackling Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Front. Microbiol.* 2021. doi: [10.3389/fmicb.2021.739684](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.739684)
11. Pillaiyar T., Manickam M., Namasivayam V.M., Hayashi Y., Jung S. H. An overview of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: Peptidomimetics and small molecule chemotherapy. *J. Med. Chem.* 2016. V. 59. P. 6595–6628. doi: [10.1021/acs.jmedchem.5b01461](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01461)
12. Chen Y., Liu Q., Guo D. Coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* 2020. V. 92. № 4. P. 418–423. doi: [10.1002/jmv.25681](https://doi.org/10.1002/jmv.25681)
13. Colson P., Rolain J.M., Lagier J.C., Brouqui P., Raoult D. Chloroquine and hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. *Int. J. Antimicrob Agents.* 2020. V. 55. № 4. Article No. 105932. doi: [10.1016/j.ijantimicag.2020.105932](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105932)
14. Dong L.Y., Hu S.S., Gao J.J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *DD & T.* 2020. V. 14. № 1. P. 58–60. doi: [10.5582/ddt.2020.01012](https://doi.org/10.5582/ddt.2020.01012)

15. Balakrishnan V., Lakshminarayanan K. Screening of FDA Approved Drugs Against SARS-CoV-2 Main Protease: Coronavirus Disease. *Int. J. Pept. Res. Ther.* 2021. V. 27. № 1. P. 651–658. doi: 10.1007/s10989-020-10115-6
16. Pendyala B., Patras A. In silico screening of food bioactive compounds to predict potential inhibitors of COVID-19 main protease (Mpro) and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). *ChemRxiv*. 2022. doi: [10.26434/CHEMRXIV.12051927.V2](https://doi.org/10.26434/CHEMRXIV.12051927.V2)
17. Owen D.R., Allerton C.M., Anderson A.S., Aschenbrenner L., Avery M., Berritt S., Boras B., Cardin R.D., Carlo A., Coffman K.J. et al. An oral SARS-CoV-2 Mpro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. *Science*. 2021. V. 374. № 6575. P. 1586–1593. doi: [10.1126/science.abl4784](https://doi.org/10.1126/science.abl4784)
18. *U.S. Food and Drug Administration*. URL: <https://www.fda.gov/> (accessed 10.02.2023).
19. Шульдов Н.А., Юшкевич А.М., Фурс К.В., Тузиков А.В., Андрианов А.М. Разработка генеративной нейронной сети глубокого обучения для компьютерного дизайна потенциальных ингибиторов коронавируса SARS-CoV-2. *Математическая биология и биоинформатика*. 2022. Т. 17. № 2. С. 188–207. doi: [10.17537/2022.17.188](https://doi.org/10.17537/2022.17.188)
20. Dalby A., Nourse J.G., Hounshell W.D., Gushurst A.K.I., Grier D.L., Leland B.A., Laufer J. Description of several chemical structure file formats used by computer programs developed at Molecular Design Limited. *J. Chem. Inf. Comp. Sc.* 1992. V. 32. № 3. P. 244–255. doi: [10.1021/ci00007a012](https://doi.org/10.1021/ci00007a012)
21. Wishart D.S., Feunang Y.D., Guo A.C., Lo E.J., Marcu A., Grant J.R., Sajed T., Johnson D., Li C., Sayeeda Z. et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucl. Acids Res.* 2017. V. 46. P. D1074–D1082. doi: [10.1093/nar/gkx1037](https://doi.org/10.1093/nar/gkx1037)
22. Sterling T., Irwin J.J. ZINC 15 – Ligand discovery for everyone. *J. Chem. Inf. Model.* 2015. V. 55. № 11. P. 2324–2337. doi: [10.1021/acs.jcim.5b00559](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00559)
23. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comp. Chem.* 2010. V. 31. P. 455–461. doi: [10.1002/jcc.21334](https://doi.org/10.1002/jcc.21334)
24. Wójcikowski M., Ballester P., Siedlecki P. Performance of machine-learning scoring functions in structure-based virtual screening. *Sci. Rep.* 2017. V. 7. Article No. 46710. doi: [10.1038/srep46710](https://doi.org/10.1038/srep46710)
25. Durrant J.D., McCammon J.A. NNScore 2.0: A neural-network receptor–ligand scoring function. *J. Chem. Inf. Model.* 2011. V. 51. № 11. P. 2897–2903. doi: [10.1021/ci2003889](https://doi.org/10.1021/ci2003889)
26. Palacio-Rodríguez K., Lans I., Cavasotto C.N., Cossio P. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking. *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. Article No. 5142. doi: [10.1038/s41598-019-41594-3](https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3)
27. D.A. Case, I.Y. Ben-Shalom, S.R. Brozell, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, R.E. Duke, D. Ghoreishi, M.K. Gilson et al. *AMBER 2018*. University of California, 2018.
28. Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein, M.L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* 1983. V. 79. № 2. P. 926–935. doi: [10.1063/1.445869](https://doi.org/10.1063/1.445869)
29. Ryckaert J.P., Ciccotti G., Berendsen H.J.C. Numerical integration of the Cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J. Comput. Phys.* 1977. V. 23. № 3. P. 327–341. doi: [10.1016/0021-9991\(77\)90098-5](https://doi.org/10.1016/0021-9991(77)90098-5)
30. Essmann U., Perera L., Berkowitz M.L., Darden T., Lee H., Pedersen L.G. A smooth particle mesh Ewald method. *J. Chem. Phys.* 1995. V. 103. P. 8577–8593. doi: [10.1063/1.470117](https://doi.org/10.1063/1.470117)

31. Durrant J.D., McCammon, J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. *J. Mol. Graph. Model.* 2011. V. 29. № 6. P. 888–893. doi: [10.1016/j.jmgm.2011.01.004](https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2011.01.004)
32. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinity. *Expert Opin. Drug Discov.* 2015. V. 10. № 5. P. 449–461. doi: [10.1517/17460441.2015.1032936](https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936)
33. Zhang C.H., Stone E.A., Deshmukh M., Ippolito J.A., Ghahremanpour M.M., Tirado-Rives J., Spasov K.A., Zhang S., Takeo Y., Kudalkar S.N. et al. Potent noncovalent inhibitors of the Main Protease of SARS-CoV-2 from molecular sculpting of the drug perampanel guided by free energy perturbation calculations. *ACS Cent Sci.* 2021. V. 7. № 3. P. 467–475. doi: [10.1021/acscentsci.1c00039](https://doi.org/10.1021/acscentsci.1c00039)
34. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001. V. 46. P. 3–26.
35. Qamar M.T., Alqahtani S.M., Alamri M.A., Chen L.-L. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *J. Pharm. Anal.* 2020. V. 10. № 4. P. 313–319. doi: [10.1016/j.jpha.2020.03.009](https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009)
36. Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 2017. V. 7. Article No. 42717. doi: [10.1038/srep42717](https://doi.org/10.1038/srep42717)
37. Shen C., Hu Y., Wang Z., Zhong H., Zhang H., Zhong H., Wang G., Yao X., Xu L., Cao D., Hou T. Can machine learning consistently improve the scoring power of classical scoring functions? Insights into the role of machine learning in scoring functions. *Brief. Bioinf.* 2021. V. 22. № 1. P. 497–514. doi: [10.1093/bib/bbz173](https://doi.org/10.1093/bib/bbz173)

Рукопись поступила в редакцию 27.01.2023, переработанный вариант поступил 12.02.2023.
Дата опубликования 22.02.2023.

===== BIOINFORMATICS =====

Application of Virtual Screening and Molecular Modeling Technologies to Identify Potential SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitors

**Andrianov A.M.¹, Furs K.V.², Gonchar A.V.², Aslanyan L.H.³,
Tuzikov A.V.²**

¹*Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*United Institute of Informatics Problems, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

³*Institute for Informatics and Automation Problems of National Academy of Sciences of Republic of Armenia, Yerevan, Armenia*

Abstract. A virtual screening of the molecular library of biologically active compounds was carried out to identify potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (Mpro) which plays an important role in the process of virus replication. Using molecular docking and molecular dynamics, the binding energy of these compounds to the catalytic site of the enzyme was assessed, resulting in six

molecules that exhibited high chemical affinity for SARS-CoV-2 Mpro. This is evidenced by the low values of the binding free energy of the ligand/Mpro complexes comparable with those predicted for the potent non-covalent SARS-CoV-2 Mpro inhibitor using the identical computational protocol. Based on the data obtained, it was concluded that the identified compounds have a good therapeutic potential for inhibiting the catalytic activity of the enzyme and form promising basic structures for the development of new effective drugs against COVID-19.

Key words: *SARS-CoV-2, main protease, virtual screening, molecular docking, molecular dynamics, antiviral drugs.*