

# SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup>抑制剂的设计、合成及分子对接研究

黄云, 司小宝, 何昕琦, 赵慧宇, 亓振凯, 聂木子\*

武汉工程大学, 化工与制药学院, 湖北 武汉

收稿日期: 2022年10月2日; 录用日期: 2022年10月18日; 发布日期: 2022年11月24日

## 摘要

本研究以结构简单且活性优异的SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup>抑制剂1为先导化合物, 基于生物电子等排体原理设计了一系列新型吲哚苯酯衍生物。所有化合物均经一步酯化反应合成得到, 利用<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR和HR-MS确定了其结构。分子对接结果显示部分化合物的打分高于先导化合物, 这表明吲哚苯酯衍生物有望被开发为新型SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup>抑制剂。

## 关键词

SARS-CoV-2抑制剂, 生物电子等排体原理, 合成, 分子对接

# Design, Synthesis and Molecular Docking of SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup> Inhibitors

Yun Huang, Xiaobao Si, Xinyu He, Huiyu Zhao, Zhenkai Qi, Muzi Nie\*

School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan Hubei

Received: Oct. 2<sup>nd</sup>, 2022; accepted: Oct. 18<sup>th</sup>, 2022; published: Nov. 24<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

In this study, SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup> inhibitor 1 with a simple structure and potent antiviral activity was used as the lead compound to design a novel series of indolyl phenyl ester derivatives based on bioisosterism. All compounds were synthesized by one-step esterification, and their structures were characterized by <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR and HR-MS. Molecular docking results showed that some compounds displayed higher scores than the lead compound, indicating that indolyl phenyl ester

\*通讯作者。

derivatives could be developed as a novel SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup> inhibitors.

## Keywords

SARS-CoV-2 Inhibitors, Bioisosterism, Synthesis, Molecular Docking

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

新型冠状病毒肺炎(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)是由新型冠状病毒(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2)引起的重大传染性疾病[1]。COVID-19自2020年爆发以来,严重威胁人类生命健康,制约社会发展[2]。现有的疫苗能够预防病毒感染,但随着SARS-CoV-2突变株的不断出现,临床亟需安全有效的抗病毒疗法[3][4]。目前国内外被批准用于临床治疗COVID-19的小分子化学药物包括Remdesivir、Molnupiravir、Paxlovid、Renmindevir、Baricitinib和Azvudine[5]。它们在降低患者住院死亡率方面发挥了巨大的作用,极大地提升了人们战胜病毒的信心。

SARS-CoV-2主蛋白酶(Main Protease, M<sup>pro</sup>, 3CL<sup>pro</sup>)是胰凝乳蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶,能够将病毒新合成的氨基酸片段切割成多个独立起作用的非结构蛋白,在病毒的复制和增殖过程中发挥着重要作用[6][7]。2021年9月,Ghosh研究团队报道了一系列吡啶啉酯类SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup>抑制剂;其中,化合物**1**具有优异的3CL<sup>pro</sup>抑制活性(IC<sub>50</sub> = 0.25 μM)和细胞水平抗SARS-CoV-2(EC<sub>50</sub> = 2.8 μM in VeroE6 cells)活性[8],其作用机理为:3CL<sup>pro</sup>中His41残基夺取Cys145残基上巯基的氢,Cys145残基对化合物**1**进行亲核进攻形成四面体中间体**2**,随后氯吡啶基团离去,化合物**1**与Cys145残基形成共价硫酯加合物,从而抑制3CL<sup>pro</sup>的生物活性(图1)。当前,COVID-19仍在蔓延,研究与开发出新型、安全、有效且药代动力学良好的SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup>抑制剂迫在眉睫[9]。本研究设计并合成了一系列新型SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup>抑制剂,旨在给今后SARS-CoV-2抑制剂的研发提供新思路。

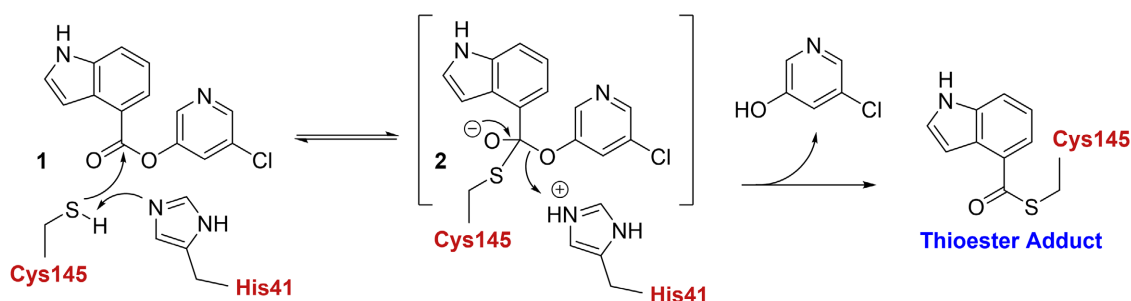


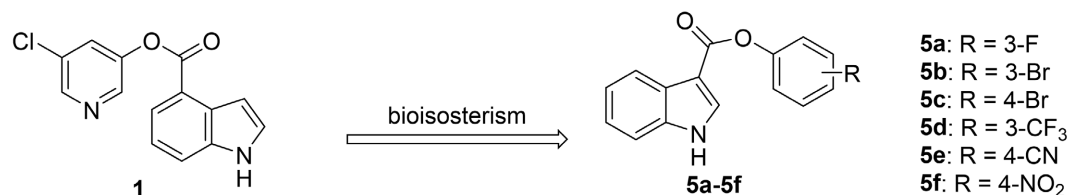
Figure 1. Action mechanism of compound 1

图1. 化合物1的作用机制

## 2. 目标化合物的分子设计

本研究以化合物**1**为先导化合物,通过生物电子等排体策略设计了一系列吡啶苯酯衍生物(**5a-5f**)[10],在离去部分引入吸电子基(卤素、氰基和硝基),增强离去基团的离去能力,以期提高目标化合物的

抗 SARS-CoV-2 活性(图 2)。



$IC_{50} = 0.25 \mu\text{M}$  (SARS-CoV-2 3CL<sup>PRO</sup>)  
 $EC_{50} = 2.8 \mu\text{M}$  (anti-SARS-CoV-2 in VeroE6 cells)

**Figure 2.** Molecular design of target compounds (**5a-5f**)

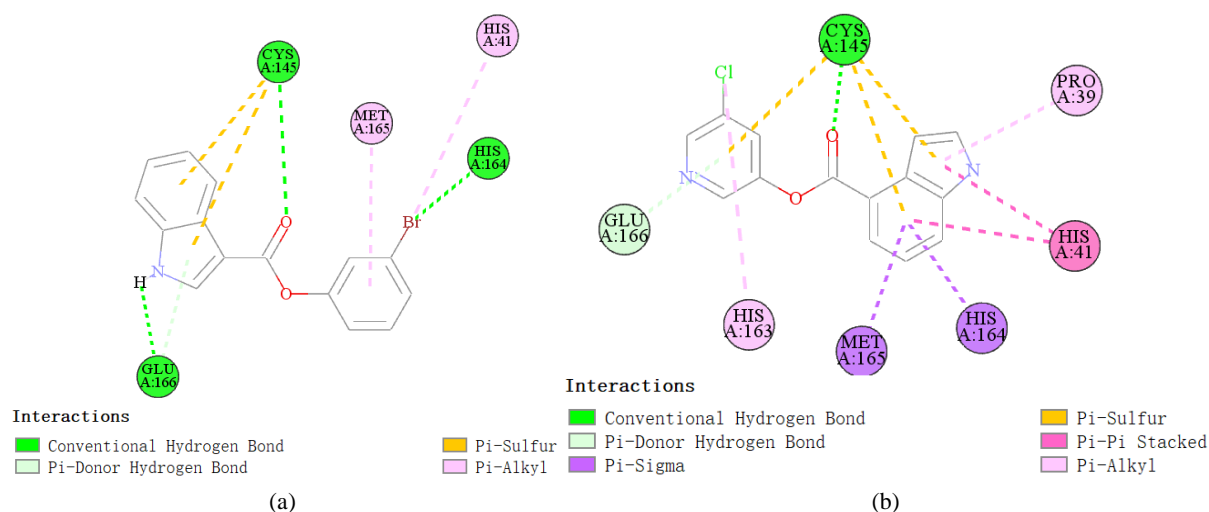
**图 2.** 目标化合物(**5a-5f**)的分子设计

为了从理论上验证设计的合理性,本研究利用 Discovery Studio 2021 程序作为分子对接软件,将目标化合物 **5b** 对接到 1/SARS-CoV-2 3CL<sup>PRO</sup> 复合物结构(PDB: 7RBZ)中(图 3) [8]。结果显示大部分化合物的打分结果高于先导化合物 **1**, 其中 **5b** 的打分结果最佳(表 1), 表明咪唑苯酯衍生物(**5a-5f**)具有优秀的潜在抗 SARS-CoV-2 活性。**5b** 和 **1** 与 SARS-CoV-2 3CL<sup>PRO</sup> 的分子对接相互作用图分别见图 3(a)与图 3(b)。对接结果显示, **5b** 和先导化合物 **1** 一样, 均能与 SARS-CoV-2 3CL<sup>PRO</sup> 形成多种相互作用力, 这对化合物保持活性非常重要。

**Table 1.** Molecular docking scores

**表 1.** 分子对接打分结果

Compound	LibDockScore	Compound	LibDockScore
<b>1</b>	76.14	<b>5d</b>	77.64
<b>5a</b>	77.72	<b>5e</b>	76.43
<b>5b</b>	79.29	<b>5f</b>	76.13
<b>5c</b>	74.29		



**Figure 3.** Molecular docking interaction diagrams of **5b**(a) and **1**(b)

**图 3.** **5b**(a)和 **1**(b)的分子对接相互作用图

### 3. 材料与合成

#### 3.1. 材料

$^1\text{H}$  NMR 和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱采用 Bruker AVIII-400 MHz 型核磁共振仪测定;所用化学试剂除特殊说明外,均为市售分析纯或化学纯,未经特殊处理直接使用。

#### 3.2. 合成方法

以 3-吲哚甲酸(**3**)与取代苯酚(**4a-4f**)为起始原料,经一步酯化反应得到目标化合物(**5a-5f**),其合成路线见图 4。



Figure 4. Synthetic route of **5a-5f**

图 4. **5a-5f** 的合成路线

##### 3.2.1. 3-氟苯基-3-吲哚甲酸酯(**5a**)的合成

将 3-吲哚甲酸(0.51 g, 3.15 mmol)、3-氟苯酚(0.42 g, 3.72 mmol)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDCI) (0.72 g, 3.73 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(DMAP) (0.38 g, 3.14 mmol)溶解于 20 mL 二氯甲烷中,室温反应 8 h。减压除去溶剂,残余物经硅胶柱层析(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯 = 4/1, V/V)纯化得白色固体 0.68 g,收率 86.3%, m.p. 151°C~153°C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.22 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.04 (dd, *J* = 6.6, 2.5 Hz, 1H), 7.58~7.53 (m, 1H), 7.53~7.46 (m, 1H), 7.30~7.22 (m, 3H), 7.16 (dtd, *J* = 6.6, 4.7, 2.6 Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  162.66, 152.14, 136.98, 134.59, 131.14, 131.04, 126.20, 123.26, 122.24, 120.76, 118.95, 118.92, 113.08, 110.45, 105.43; HR-MS (ESI) *m/z*: calcd for C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>FNNaO<sub>2</sub> {[M + Na]<sup>+</sup>} 278.0593 found 278.0585.

##### 3.2.2. 3-溴苯基-3-吲哚甲酸酯(**5b**)的合成

将 3-吲哚甲酸(0.51 g, 3.15 mmol)、3-溴苯酚(0.64 g, 3.72 mmol)、EDCI (0.72 g, 3.73 mmol)和 DMAP (0.38 g, 3.14 mmol)溶解于 20 mL 二氯甲烷中,室温反应 8 h。减压除去溶剂,残余物经硅胶柱层析(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯 = 4/1, V/V)纯化得白色固体 0.77 g,收率 78.5%, m.p. 180°C~181°C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.23 (s, 1H), 8.37 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.07~8.01 (m, 1H), 7.65~7.53 (m, 2H), 7.53~7.48 (m, 1H), 7.44 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.33 (dd, *J* = 7.4, 1.8 Hz, 1H), 7.26 (tt, *J* = 7.2, 5.6 Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  162.67, 151.98, 137.01, 134.64, 131.58, 128.86, 126.25, 125.83, 123.23, 122.22, 122.00, 121.89, 120.80, 113.08, 105.41; HR-MS (ESI) *m/z*: calcd for C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>BrNNaO<sub>2</sub> {[M + Na]<sup>+</sup>} 339.9793 found 339.9762.

##### 3.2.3. 4-溴苯基-3-吲哚甲酸酯(**5c**)的合成

将 3-吲哚甲酸(0.50 g, 3.13 mmol)、4-溴苯酚(0.65 g, 3.76 mmol)、EDCI (0.71 g, 3.71 mmol)和 DMAP (0.38 g, 3.14 mmol)溶解于 20 mL 二氯甲烷中,室温反应 8 h。减压除去溶剂,残余物经硅胶柱层析(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯 = 4/1, V/V)纯化得白色固体 0.93 g,收率 94.8%, m.p. 208°C~209°C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.29~12.14 (m, 1H), 8.36 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 8.03 (dd, *J* = 6.8, 2.1 Hz, 1H), 7.69~7.60 (m, 2H),

7.59~7.52 (m, 1H), 7.32~7.20 (m, 4H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.73, 150.45, 136.99, 134.57, 132.72, 126.23, 125.01, 123.22, 122.20, 120.77, 118.09, 113.07, 105.48; HR-MS (ESI)  $m/z$ : calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{BrNNaO}_2$  {[M + Na] $^+$ } 339.9793 found 339.9763.

#### 3.2.4. 3-三氟甲基苯基-3-吡啶甲酸酯(5d)的合成

将 3-吡啶甲酸(0.51 g, 3.15 mmol)、3-三氟甲基苯酚(0.60 g, 3.72 mmol)、EDCI (0.72 g, 3.73 mmol)和 DMAP (0.39 g, 3.15 mmol)溶解于 20 mL 二氯甲烷中, 室温反应 8 h。减压除去溶剂, 残余物经硅胶柱层析(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯 = 4/1, V/V)纯化得白色固体 0.84 g, 收率 88.3%, m.p. 147°C~149°C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.23 (s, 1H), 8.39 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 8.08~7.99 (m, 1H), 7.69 (q,  $J$  = 7.8 Hz, 3H), 7.65~7.61 (m, 1H), 7.58~7.53 (m, 1H), 7.26 (tt,  $J$  = 7.2, 5.5 Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.67, 151.47, 137.01, 134.78, 131.19, 130.80, 127.10, 126.24, 125.57, 123.26, 122.86, 122.62, 122.25, 120.78, 113.09, 105.31; HR-MS (ESI)  $m/z$ : calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{F}_3\text{NNaO}_2$  {[M + Na] $^+$ } 328.0561 found 328.0555.

#### 3.2.5. 4-氰基苯基-3-吡啶甲酸酯(5e)的合成

将 3-吡啶甲酸(0.50 g, 3.13 mmol)、4-羟基苯甲腈(0.45 g, 3.78 mmol)、EDCI (0.71 g, 3.71 mmol)和 DMAP (0.38 g, 3.14 mmol)溶解于 20 mL 二氯甲烷中, 室温反应 8 h。减压除去溶剂, 残余物经硅胶柱层析(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯 = 4/1, V/V)纯化得白色固体 0.69 g, 收率 85.2%, m.p. 202°C~203°C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.27 (s, 1H), 8.40 (d,  $J$  = 3.1 Hz, 1H), 8.03 (dd,  $J$  = 6.6, 2.3 Hz, 1H), 7.99~7.94 (m, 2H), 7.55 (tt,  $J$  = 9.1, 2.3 Hz, 3H), 7.26 (tt,  $J$  = 7.2, 5.6 Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.24, 154.81, 137.03, 134.96, 134.40, 126.21, 123.99, 123.32, 122.32, 120.75, 118.97, 113.14, 108.66, 105.16; HR-MS (ESI)  $m/z$ : calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{NaO}_2$  {[M + Na] $^+$ } 285.0640 found 285.0633.

#### 3.2.6. 4-硝基苯基-3-吡啶甲酸酯(5f)的合成

将 3-吡啶甲酸(0.50 g, 3.13 mmol)、4-硝基苯甲腈(0.52 g, 3.78 mmol)、EDCI (0.72 g, 3.73 mmol)和 DMAP (0.38 g, 3.14 mmol)溶解于 20 mL 二氯甲烷中, 室温反应 8 h。减压除去溶剂, 残余物经硅胶柱层析(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯 = 4/1, V/V)纯化得白色固体 0.73 g, 收率 83.7%, m.p. 215°C~216°C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.31 (s, 1H), 8.44 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 8.38~8.32 (m, 2H), 8.09~8.02 (m, 1H), 7.60 (dd,  $J$  = 8.9, 6.7 Hz, 3H), 7.28 (tt,  $J$  = 7.2, 5.6 Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.09, 156.33, 145.03, 137.06, 135.08, 126.22, 125.61, 123.69, 123.35, 122.36, 120.75, 113.16, 105.07; HR-MS (ESI)  $m/z$ : calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{NaO}_4$  {[M + Na] $^+$ } 305.0538 found 305.0531.

## 4. 结论

以结构简单且活性优异的 SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup> 抑制剂 **1** 为先导化合物, 基于生物电子等排体原理设计了一系列新型吡啶苯酯衍生物, 采用 Discovery Studio 2021 程序进行分子对接验证了设计的合理性。**5b** 的分子对接打分结果最佳, 这表明 **5b** 是潜在的 SARS-CoV-2 抑制剂。所有化合物均经一步酯化反应制备, 采用核磁共振氢谱( $^1\text{H}$  NMR)、核磁共振碳谱( $^{13}\text{C}$  NMR)和高分辨质谱(HR-MS)表征了其结构。所有化合物的抗 SARS-CoV-2 活性研究将在中国科学院武汉病毒研究所进行。

## 基金项目

武汉工程大学第十六期大学生校长基金(No. 2021083)。

## 参考文献

- [1] Joshee, W.J. and Prescott, H.C. (2020) What Is COVID-19? *The Journal of the American Medical Association*, **324**,

816. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.12984>
- [2] Lamers, M.M. and Haagmans, B.L. (2022) SARS-CoV-2 Pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, **20**, 270-284. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00713-0>
- [3] Zhang, X.T., Zhang, H. and He, X. (2022) SARS-CoV-2 Omicron: A New Challenge for Pandemic and Vaccine. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **7**, Article No. 211. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01088-7>
- [4] Yan, W.Z., Zheng, Y.H., Zeng, X.T., He, B. and Cheng, W. (2022) Structural Biology of SARS-CoV-2: Open the Door for Novel Therapies. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **7**, Article No. 26. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00884-5>
- [5] Zhong, W. Brancalone, V. and Sultana, J. (2022) Editorial: The Mechanisms of Action of Anti-SARS-CoV-2 Drugs. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article ID: 894310. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.894310>
- [6] Mengist, H.M., Fan, X.J. and Jin, T.C. (2020) Designing of Improved Drugs for COVID-19: Crystal Structure of SARS-CoV-2 Main Protease M<sup>pro</sup>. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **5**, Article No. 67. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0178-y>
- [7] Chen, Y., Wang, G. and Ouyang, L. (2020) Promising Inhibitors Targeting M<sup>pro</sup>: An Ideal Strategy for Anti-SARS-CoV-2 Drug Discovery. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **5**, Article No. 173. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00291-8>
- [8] Ghosh, A.K., Raghavaiah, J., Shahabi, D., Yadav, M., Anson, B.J., Lendy, E.K., Hattori, S.I., Higashi-Kuwata, N., Mitsuya, H. and Mesecar, A.D. (2021) Indole Chloropyridinyl Ester-Derived SARS-CoV-2 3CLpro Inhibitors: Enzyme Inhibition, Antiviral Efficacy, Structure-Activity Relationship, and X-ray Structural Studies. *Journal of Medicinal Chemistry*, **64**, 14702-14714. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01214>
- [9] Zhou, J., Saha, A., Huang, Z.W. and Warshel, A. (2022) Fast and Effective Prediction of the Absolute Binding Free Energies of Covalent Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease and 20S Proteasome. *Journal of the American Chemical Society*, **144**, 7568-7572. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c00853>
- [10] Subbaiah, M.A.M. and Meanwell, N.A. (2021) Bioisosteres of the Phenyl Ring: Recent Strategic Applications in Lead Optimization and Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry*, **64**, 14046-14128. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01215>