

以次黄嘌呤脱氢酶为靶点的抗病毒化合物的虚拟筛选及活性研究

寇世博, 高荣梅, 易红, 孙连奇, 李玉环, 李卓荣*

(中国医学科学院、北京协和医学院, 医药生物技术研究所, 北京 100050)

摘要: 次黄嘌呤脱氢酶 (inosine 5'-monophosphate dehydrogenase, IMPDH) 是催化生物体内核苷酸从头合成途径限速步骤的关键酶。近年来, 它已成为抗病毒、抗癌、抗菌、抗寄生虫等多种疾病的治疗靶标。研究表明, IMPDH 抑制剂可以通过耗竭宿主细胞内病毒复制所需原料鸟苷酸 (GMP), 有效抑制病毒在宿主细胞的增殖, 具有广谱抗病毒特性。为了寻找和发现新型冠状病毒药物, 本研究基于 IMPDH 蛋白结构, 利用分子对接与 ROC 计算进行虚拟筛选, 从 70 000 个天然小分子库中筛选出 22 个潜在的 IMPDH 抑制剂。以利巴韦林为阳性对照药, 采用 Huh7 细胞、H460 细胞模型, 对筛选出来的 22 个目标化合物的抗冠状病毒 HCoV-229E 和 HCoV-OC43 活性进行验证, 其中化合物 **11**、**12**、**15**、**16** 对 HCoV-229E 毒株有抑制活性; 化合物 **4**、**12**、**13**、**15** 对 HCoV-OC43 毒株具有不同程度的抑制活性。化合物 **12** 和 **15** 对两种实验病毒株都有明显的抑制活性, 药效与利巴韦林相当, 可以作为 IMPDH 抑制剂先导化合物进行深入研究。

关键词: 次黄嘌呤脱氢酶; 抑制剂; 分子对接; 冠状病毒; 活性筛选

中图分类号: R967 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)10-3011-08

Virtual screening and activity study of antiviral compounds targeting inosine 5'-monophosphate dehydrogenase

KOU Shi-bo, GAO Rong-mei, YI Hong, SUN Lian-qi, LI Yu-huan, LI Zhuo-rong*

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) is a key enzyme catalyzing the rate-limiting step of *de novo* nucleotide synthesis *in vivo*. In recent years, it has become a therapeutic target for anti-virus, anti-bacterial, anti-cancer, anti-parasitic and other diseases. IMPDH inhibitors have been shown to inhibit viral proliferation in host cells by depleting guanosine 5'-monophosphate (GMP), the raw material required for viral replication in host cells, with broad-spectrum antiviral properties. In order to find novel anti-coronavirus drugs, this study screened 22 potential IMPDH inhibitors from 70 000 natural small molecule libraries based on IMPDH protein structure using molecular docking and ROC calculation for virtual screening. With ribavirin as the positive control drug, Huh7 cell and H460 cell models were used to verify the anti-coronavirus HCoV-229E and HCoV-OC43 activities of 22 selected target compounds. Among them, compounds **11**, **12**, **15** and **16** showed inhibitory activity against coronavirus HCoV-229E. The compounds **4**, **12**, **13** and **15** showed inhibitory activities against coronavirus HCoV-OC43. **12** and **15** showed significant inhibitory activity against both two coronaviruses, and their efficacy was similar to ribavirin at the same dose, which can be further studied as a lead compound for IMPDH inhibitors.

Key words: inosine 5'-monophosphate dehydrogenase; inhibitor; molecular docking; coronavirus; activity screening

收稿日期: 2022-05-25; 修回日期: 2022-06-13.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (CAMS, 2021-I2M-1-030).

*通讯作者 Tel: 86-10-63027185, E-mail: lizhuorong@imb.pumc.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0644

自2019年暴发新型冠状病毒肺炎疫情以来,新冠病毒 SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) 感染已影响全球200多个国家和地区。根据世界卫生组织2022年5月9日统计,全球累计新冠病毒感染病例超过5.1亿例,累计死亡病例超过625万例,此次新冠大流行给全球公共卫生系统带来了巨大挑战^[1]。新冠病毒 SARS-CoV-2 感染引起急性呼吸道传染病和肺部炎症等,患者以发热、干咳、乏力等为主要表现,少数患者伴有鼻塞、流涕、腹泻等上呼吸道和消化道症状^[2]。重症病例多在1周后出现呼吸困难,严重者快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难以纠正的代谢性酸中毒和出凝血功能障碍及多器官功能衰竭等^[3]。SARS-CoV-2 属于 β 属的冠状病毒,是一种单链包膜RNA病毒,具有攻击身体不同部位的能力,特别是肺部、心脏、大脑和肾脏等重要器官,使这种高度传染性的多器官感染成为严重的全球危机^[4]。为了保障易感人群及患者的生命安全,除了开发疫苗阻断疫情传播链外,寻找安全、有效的抗冠状病毒特效药物迫在眉睫。

次黄嘌呤脱氢酶 (IMPDH) 是嘌呤核苷酸从头合成途径中的一个关键酶,在细胞嘌呤核苷酸水平调控中有着至关重要的作用^[5,6]。在生物体内,核苷酸的合成途径有两种:从头合成途径和补救合成途径。补救合成途径是通过回收核酸分解产生的核苷和碱基,在磷酸核糖转移酶和核苷酸酶的作用下合成核苷酸^[7,8];而从头合成途径利用磷酸核糖、氨基酸、一碳单位及 CO_2 等简单物质一步步反应装配合成嘌呤核苷酸,是生物体内的主要合成途径(图1)^[9]。次黄嘌呤 IMPDH 催化次黄嘌呤核苷酸 (inosine 5'-monophosphate, IMP)

转化为黄嘌呤核苷酸 (xanthosine 5'-phosphate, XMP), XMP 最终转化为鸟苷酸 (guanosine 5'-monophosphate, GMP), 这是嘌呤核苷酸从头合成的限速步骤^[10]。病毒在宿主细胞内的增殖依赖于宿主细胞提供复制原料,而病毒复制的重要原料之一 GMP 的从头合成途径依赖宿主细胞内的 IMPDH, 抑制 IMPDH 可以消耗宿主细胞内的 GMP, 从而抑制病毒复制^[11,12]。因此, IMPDH 抑制剂大部分具有广谱抗病毒活性, 面对易发生突变的冠状病毒, 研究开发 IMPDH 抑制剂不失为一种具有重要意义的方法。有文献^[13,14]表明利巴韦林等部分 IMPDH 抑制剂对人类冠状病毒具有抑制活性。所以将 IMPDH 作为靶点, 进行分子对接虚拟药物筛选, 有望筛选出对冠状病毒有活性的新结构骨架抗病毒化合物。

分子对接 (molecular docking) 是一种将科学计算与物理化学结合在一起, 基于“诱导契合”原理, 深入了解蛋白质与配体的相互作用, 以及与蛋白质活性位点的结合方式的科学方法, 在药物虚拟筛选方面有着广泛的应用^[15]。本研究基于 IMPDH 靶点, 利用 Discovery Studio (DS) 软件进行药物虚拟筛选, 对 IMPDH 靶点-化合物相互作用进行预测, 并对筛选出来的化合物进行体外抗病毒活性验证, 为进一步研究提供参考。

材料与方法

配体分子库 从国家人口与健康科学数据共享平台药学数据中心中国天然产物化学成分库 (<http://pharmdata.ncmi.cn/cnpc/>) 中收集, 共70 000个化合物。

靶蛋白对接处理 通过对以 IMPDH 为靶点的抗病毒作用机制进行文献调研, 选择人源 IMPDH II型蛋

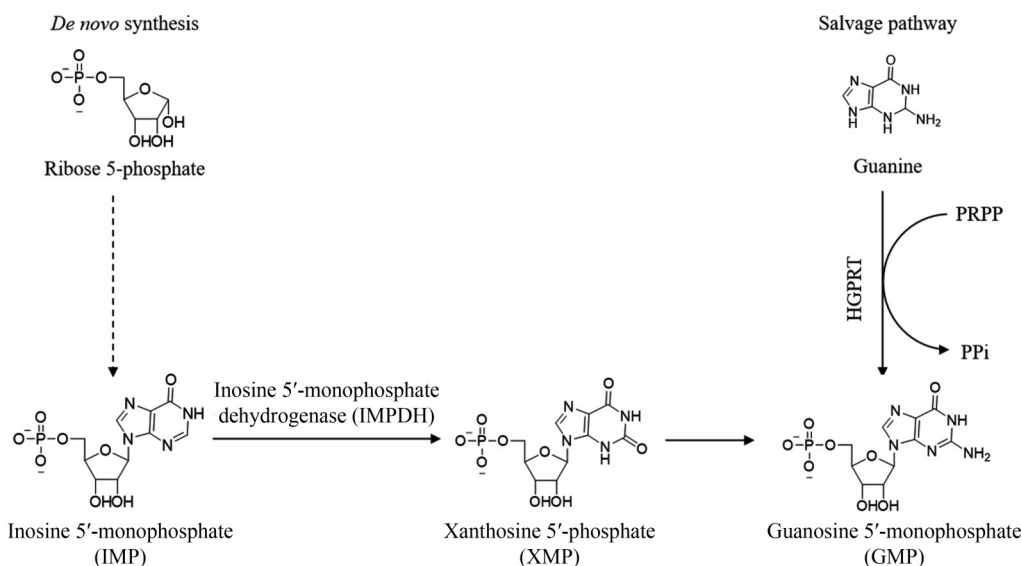


Figure 1 De novo and remedial nucleotide synthesis pathways in vivo

白, 在 PDB 蛋白质晶体结构数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 搜索并下载靶蛋白晶体结构。为了保证分子对接的可靠性, 选择分辨率较高且具有配体复合物的蛋白晶体结构。利用 DS 软件去除 PDB 蛋白晶体结构中的水分子, 根据原始配体分子定义分子对接的活性位点。设置合适的对接参数之后, 将晶体结构中的配体分子抽离出来并重新对接至预先定义好的活性位点。将对接后配体构象与原晶体构象进行对比, 并进行均方根差值 (root-mean-square deviation, RMSD) 计算, 若 RMSD 值小于 2.5, 则认为所选择的蛋白晶体结构是可靠的。将靶蛋白晶体结构导入 DS, 对其进行去除水分子、补充非完整的氢原子和氨基酸残基等预处理, 并根据靶蛋白复合物中配体小分子的坐标定义分子对接的活性位点, 为筛选活性小分子做准备。

虚拟筛选及结果选择 首先对分子进行“里宾斯基五规则”初步筛选, 去掉不符合类药性的化合物, 缩小筛选范围。然后利用 DS 软件中的 Libdock 模块进行分子对接, 采用快速热区匹配算法。对接完成后根据 Libdock 打分结果进行排序。选取排序前 5 000 的化合物进行进一步对接筛选。使用 DS 软件中的 CDOCKER 模块进行分子对接, 通过高温动力学随机旋转产生随机配体构象, 然后使用基于格点的模拟退火算法对随机构象进行优化, 最后在蛋白为刚性的情况下对随机构象进行能量最小化, 依据 CHARMM 能量将对接构象进行排序。使用已知活性配体分子和非活性配体分子形成诱饵集经过上述步骤与 IMPDH 蛋白晶体进行对接, 利用 ROC 计算确定所选打分函数的可靠性。

化合物来源 进行抗病毒活性实验的化合物均购自上海陶术生物科技有限责任公司。

细胞和病毒 人肝癌细胞 Huh7 由本所彭宗根研究员提供; 人大细胞肺癌细胞 H460 由本所王真研究员提供; HCoV-229E 病毒购自美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC); HCoV-OC43 病毒由地坛医院赵学森副教授提供。Huh7 及 H460 细胞使用 DMEM 培养基。所有细胞每隔 2~3 天进行传代。

体外抗毒性活性测试 以利巴韦林 (RBV) 为阳性对照药。将化合物样品用 DMSO 配成浓度为 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 母液, 再用培养液作 3 倍稀释, 各 8 个稀释度。Huh7 细胞或 H460 细胞接种 96 孔培养板, 置 5% CO_2 、37 °C 培养。24 h 后以约 100TCID_{50} (TCID_{50} : 50% tissue culture infectious dose) 的病毒感染长满单层的细胞, 同时加入含有不同稀释度样品及初始浓度为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 阳性对照药的维持液, 同时设细胞对照孔

和病毒对照孔, 5% CO_2 、37 °C 培养。待病毒对照组细胞病变程度 (CPE) 达 4+ 时观察各组 CPE, 用 Reed-Muench 法分别计算样品对细胞的半数有毒浓度 (TC_{50}) 和对病毒的半数抑制浓度 (IC_{50})。

结果

1 分子对接

1.1 靶蛋白选取结果及活性位点确定 根据文献调研、PDB 及 PubMed 等数据库搜索, 选择人源 IMPDH II 型蛋白质晶体结构 5 个, 分别为: 1JR1、1NF7、1NFB、1B3O、6I00 等。对比其分辨率及所含配体小分子, 选择 1JR1 蛋白晶体结构进行对接。

IMPDH 催化核苷酸从头合成的机制为底物 IMP、NAD 随机结合至 IMPDH, 生成中间复合物 E-XMP* 和 NADH, 随后释放 NADH, 并将 E-XMP* 解离成 XMP 释放^[6]。因此, IMPDH 有两个活性位点, IMP 位点和 NAD 位点, 由于与 IMP 位点相结合的活性药物大部分为核苷类似物, 故根据所选小分子库分子结构特点选择 NAD 位点作为对接活性位点。将 1JR1 导入 DS 软件, 以 1JR1 中 MOA 配体小分子作为活性位点中心坐标设置活性位点腔体, 活性位点半径设为 9 Å, 进行下一步对接。

1.2 方法学的建立验证及分子对接结果 通过将 IMPDH II 复合物中的小分子 MOA 按照分子对接流程, 再次对接到 IMPDH II 蛋白 NAD 结合位点, 并与晶体结构叠合比较, 计算 RMSD, 结果表明, 其重原子 $\text{RMSD} = 0.443 9$, 对接分子与晶体结构几乎完全重合 (图 2), 证明了所选蛋白晶体构象及对接方法的可靠性。

通过国家人口与健康科学数据共享平台药学数据中心中国天然产物化学成分库, 收集整理化合物 70 000 个, 经过“里宾斯基五规则”筛选, 得到 59 030 个分子。

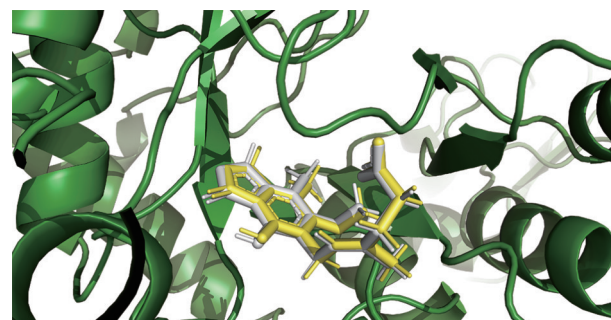


Figure 2 The contrast between the docked conformation of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) inhibitor molecule MOA and the crystal conformation, yellow is the crystal conformation, gray is the docked conformation, $\text{RMSD} = 0.443 9$ (PDB ID: 1JR1)

这些分子经过 Libdock 对接, 根据打分情况进行排序初筛, 选出 5 000 个分子。

接下来将这些分子进行 CDOCKER 对接。评估对接结果的打分函数有 -CDOCKER_ENERGY、PLP1、PLP2、-CDOCKER_INTERACTION_ENERGY 等。为选择能够准确区分出活性配体分子和非活性配体分子的打分函数, 在进行 CDOCKER 筛选之前先计算 ROC 曲线, 对所有打分函数进行评估。分析 ROC 曲线下的面积评估打分函数, -CDOCKER_ENERGY 打分函数对于活性分子和非活性分子具有较好的区分效果。ROC 曲线及评估结果见图 3。且 -CDOCKER_ENERGY 打分函数可以指示配体与靶点蛋白间的结合能力, 其值越高, 提示结合能力越强。所以基于 -CDOCKER_ENERGY 打分函数对化合物进行排序筛选具有合理性。将通过 Libdock 筛选出来的 5 000 个化合物进行 CDOCKER 分子对接后, 综合分析 -CDOCKER_ENERGY 打分函数的排序情况选出了 22 个潜在活性分子, 其打分情况及结构如表 1 所示。

2 目标化合物活性及机制验证

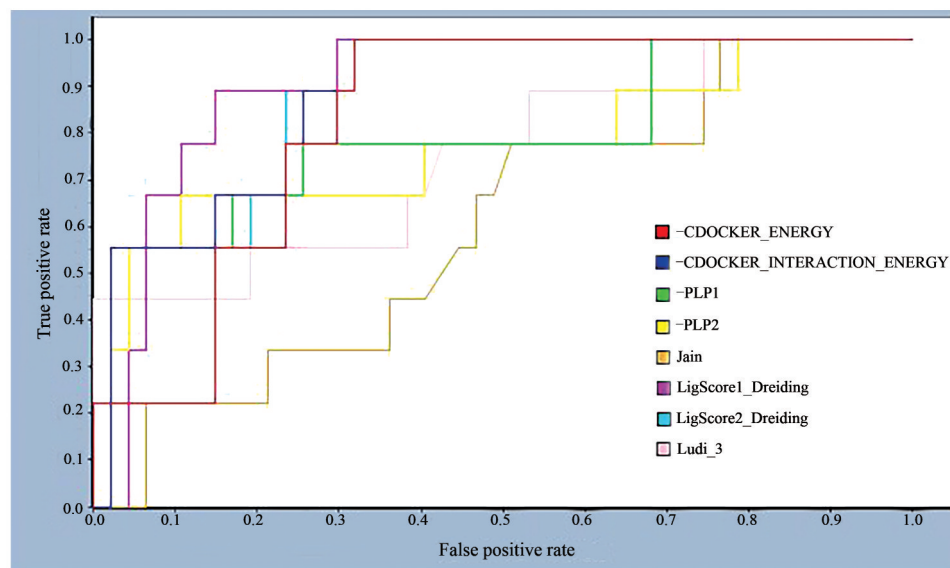
2.1 病毒抑制活性测试结果

抗病毒活性筛选实验以利巴韦林为阳性对照药, 选取 HCoV-229E 感染的

Huh7 细胞和 HCoV-OC43 感染的 H460 细胞模型对筛选出来的 22 个目标化合物进行细胞毒性实验及抗病毒活性实验, 结果见表 2。抗病毒实验结果表明, 化合物 **11**、**12**、**15**、**16** 对冠状病毒 HCoV-229E 具有较强的抑制活性, 其 IC_{50} 值分别为 7.41、7.7、38.49 和 $5.14 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, SI (selectivity index) 值分别为 6.27、7.49、3.0、2.50, 其中 **11**、**12** 和 **16** 的抗病毒活性与阳性对照药利巴韦林相当。而化合物 **4**、**12**、**13**、**15** 对冠状病毒 HCoV-OC43 具有较强的抑制活性, 其 IC_{50} 值分别为 12.83、22.22、46.22 和 $15.41 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, SI 值分别为 3.60、2.08、2.50、6.24, 其中 **12** 和 **15** 的活性优于或与阳性对照药利巴韦林相当。

2.2 目标化合物作用机制分析

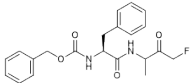
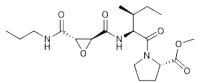
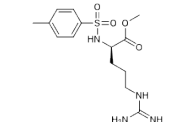
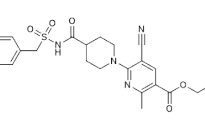
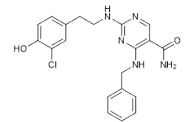
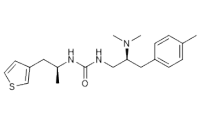
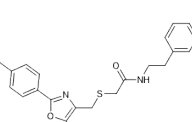
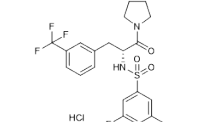
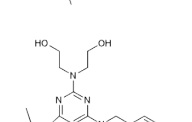
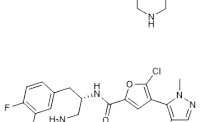
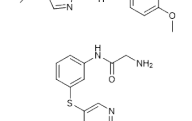
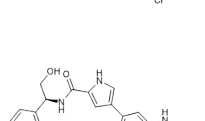
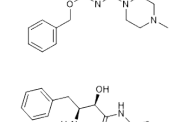
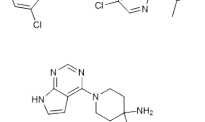
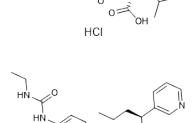
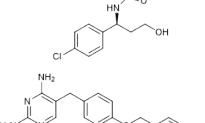
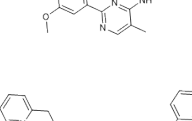
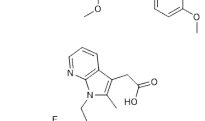
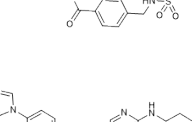
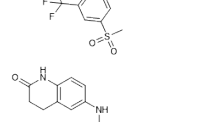
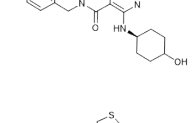
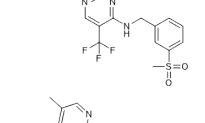
人类与哺乳动物细胞的 IMPDH 蛋白分为 I、II 两种亚型。IMPDH I 和 IMPDH II 都由 514 个氨基酸组成, 其中 85% 序列同源。但两种亚型的生物学功能存在一定差异, 在细胞内, I 型显示构成性表达, 几乎不受细胞状态的影响; 而 II 型显示诱导性表达, 当病毒感染细胞后, 由于其复制需要借助宿主细胞提供的 GTP, 因此会显示 IMPDH II 的高表达^[16]。为验证活性化合物对于 IMPDH II 型抑制的选择性, 本研究使用 DS 软件将有活性的 6 个化合物



Score property	Area under ROC curve	ROC evaluation
-CDOCKER_ENERGY	0.830	Good
-CDOCKER_INTERACTION_ENERGY	0.882	Good
-PLP1	0.790	Fair
-PLP2	0.768	Fair
Jain	0.599	Fair
LigScore 1_Dreiding	0.903	Excellent
LigScore 2_Dreiding	0.870	Good
Ludi_3	0.748	Fair

Figure 3 ROC curves and analysis in molecular docking

Table 1 The 22 compounds with their scores of -CDOCKER_ENERGY and structures

No.	-CDOCKER_ENERGY	Structure	No.	-CDOCKER_ENERGY	Structure
1	54.541 9		12	45.812 9	
2	51.720 4		13	45.249 4	
3	50.619 2		14	43.144 2	
4	50.003 8		15	42.332 2	
5	49.479 3		16	42.177 8	
6	47.983 2		17	42.150 5	
7	47.103 7		18	42.068 5	
8	47.098 9		19	41.899	
9	47.098 2		20	41.349 7	
10	46.916		21	41.029 9	
11	46.841 8		22	40.888 2	

与 IMPDH I (PDB: 7RF1) 和 IMPDH II (PDB: 1JR1) 蛋白晶体分别进行反对接, 比较打分情况 (表 3)。分析对接情况显示, 化合物与 IMPDH II 具有更好的结合作用。

化合物 **12** 和 **15** 与 IMPDH II 蛋白晶体对接模式如

图 4。分子对接结果表明, 化合物 **12** 可以与氨基酸 MET414、ASP274、SER276 形成氢键, 与 CYS331 产生疏水作用力; 化合物 **15** 主要与氨基酸 MET414、GLY415、SER276、ASN303、GLY324 形成氢键, 与 ASP274 形成卤键, 与 CYS331 产生疏水作用力。

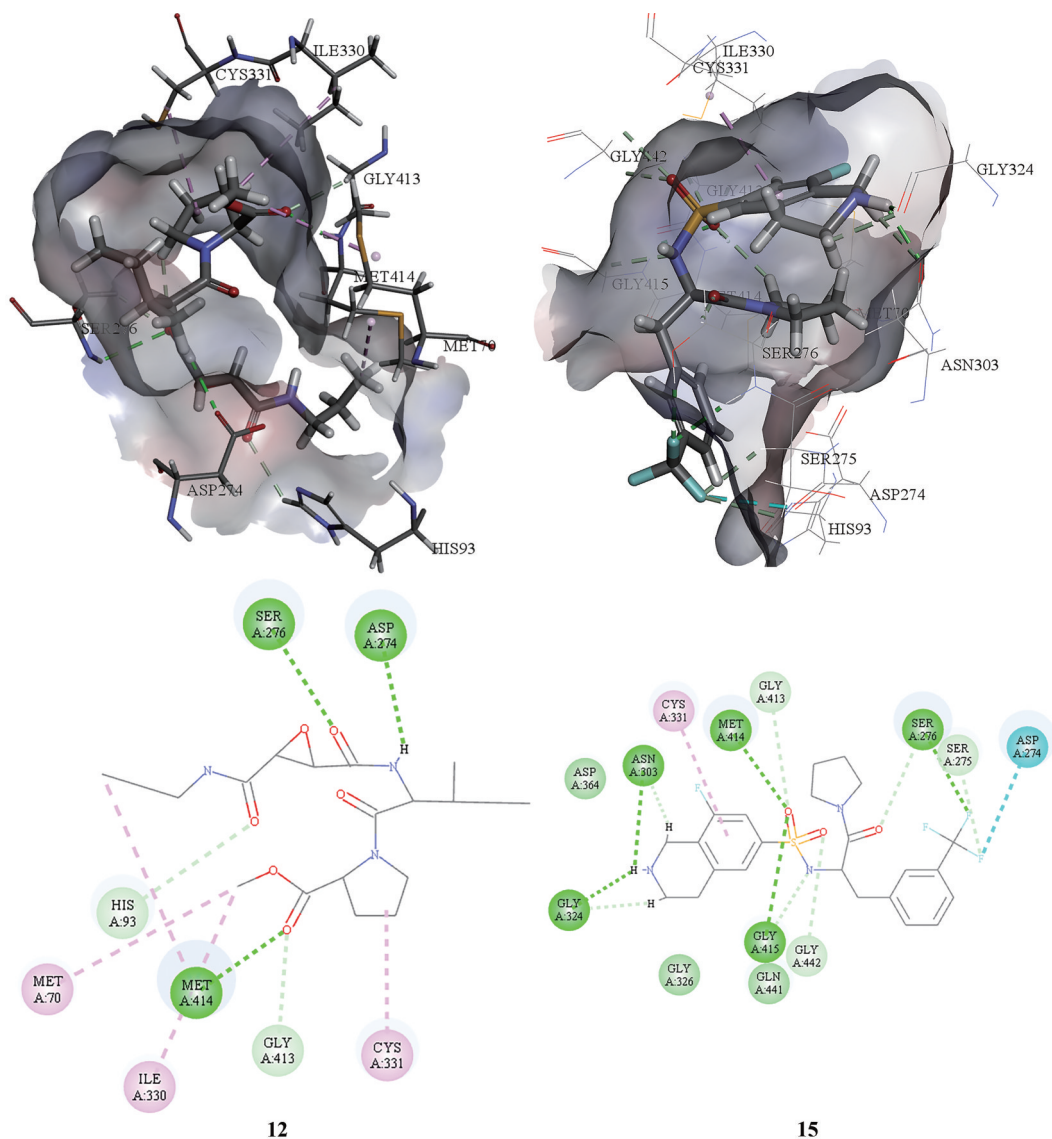


Figure 4 Typical binding mode of potential inhibitors with IMPDH protein (PDB code:1JR1) by molecular docking

讨论

IMPDH 抑制剂通过抑制宿主细胞内的次黄嘌呤脱氢酶, 耗竭为病毒复制提供的原料 GMP, 从而抑制病毒增殖, 这种治疗策略主要作用于宿主细胞, 而不是病毒本身。因此, 在面对极易发生突变的冠状病毒感染时, 寻找结构新颖的 IMPDH 抑制剂先导化合物就具有重要的价值。

计算机辅助药物设计技术是快速经济发现药物先导化合物的重要手段, 通过虚拟筛选, 可以实现从大量化合物中快速选出可能的药物先导化合物, 避免了药物研究盲目性, 大大缩短了药物研发周期^[17]。本研究从分子角度和细胞水平出发, 以 IMPDH 为靶点, 利用分子对接技术从 70 000 个小分子库中初步筛选出 22 个潜在的 IMPDH 抑制剂。体外抗病毒活性实验结果显示, 有 6 个化合物对冠状病毒具有抑制活性, 其中 11、12、

15、16 对冠状病毒 HCoV-229E 具有不同程度的抑制活性, 其 IC_{50} 值分别为 7.41、7.7、38.49 和 5.14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, SI 值分别为 6.27、7.49、3.0、2.50。4、12、13、15 对冠状病毒 HCoV-OC43 具有不同程度的抑制活性, 其 IC_{50} 值分别为 12.83、22.22、46.22 和 15.41 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, SI 值分别为 3.60、2.08、2.50、6.24。化合物 12 和 15 对两种冠状病毒毒株均有抑制活性, 并且分别对两种冠状病毒的 SI 值相当于甚至优于利巴韦林的 SI 值。分子对接结果表明, 化合物 12 可以与氨基酸 MET414、ASP274、SER276 形成氢键, 与 CYS331 产生疏水作用力; 化合物 15 主要与氨基酸 MET414、GLY415、SER276、ASN303、GLY324 形成氢键, 与 ASP274 形成卤键, 与 CYS331 产生疏水作用力, 推测 IMPDH 中影响冠状病毒活性的关键氨基酸是 MET414、SER276 及 CYS331。后续研究中, 可参考影响病毒活性的关键氨基酸进行结构改造, 以提高化合

Table 2 The inhibitory effects of the samples against coronavirus HCoV-229E and HCoV-OC43. TC_{50} : Half maximal toxic concentration; IC_{50} : Half maximal inhibitory concentration; SI: Selectivity index. $SI = TC_{50}/IC_{50}$; RBV: Ribavirin

No.	HCoV-229E			HCoV-OC43		
	$TC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SI	$TC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SI
1	> 200	46.22	> 4.33	> 200	46.22	> 4.33
2	> 200	> 200	—	> 200	> 200	—
3	4.28	> 2.47	—	0.48	> 0.27	—
4	22.22	> 7.41	—	46.22	12.83	3.60
5	4.28	> 2.47	—	10.68	> 2.47	—
6	1.43	> 0.82	—	1.43	> 0.82	—
7	> 200	> 200	—	> 200	> 66.67	—
8	0.48	> 0.27	—	0.043	> 0.025	—
9	155.21	> 22.22	—	35.94	> 7.41	—
10	> 200	> 66.67	—	4.28	> 2.47	—
11	46.22	7.41	6.27	200	> 66.67	—
12	57.74	7.7	7.49	46.22	22.22	2.08
13	138.67	> 66.67	—	115.43	46.22	2.50
14	> 200	138.67	> 1.44	> 200	115.47	> 1.73
15	115.47	38.49	3.0	96.15	15.41	6.24
16	12.83	5.14	2.50	4.28	> 2.47	—
17	12.83	> 7.41	—	5.14	> 0.82	—
18	32.05	> 7.41	—	3.99	> 0.82	—
19	> 200	> 200	—	> 200	> 66.67	—
20	> 200	> 200	—	> 200	> 200	—
21	5.14	> 2.47	—	4.28	> 2.47	—
22	> 200	> 66.67	—	> 200	> 66.67	—
RBV	57.74	7.7	7.49	69.34	25.87	2.68

Table 3 The docking score of 6 potential inhibitors with IMPDH I and IMPDH II crystals

Compd.	-CDOCKER_ENERGY		-CDOCKER_INTERACTION_ENERGY	
	1JR1	7RFI	1JR1	7RFI
4	50.003 8	37.081 9	50.465 9	40.340 7
11	46.841 8	39.661 5	61.439 9	50.701 4
12	45.812 9	32.238 4	55.543 2	42.992 2
13	45.249 4	32.764	54.881 2	35.646 5
15	42.332 2	31.459 5	54.898 3	45.759 9
16	42.177 8	31.124 1	47.386	33.216 2

物对 IMPDH II 型蛋白的选择性, 进一步降低细胞毒性。另外, 还可以研究与其他机制抗病毒药物的联合使用, 以减小剂量和降低毒性。

综上所述, 本研究基于 IMPDH 蛋白结构, 通过计算机虚拟筛选及抗病毒活性验证, 筛选出 6 个对冠状病毒有抑制作用的新型抗病毒活性结构, 其中化合物 **12** 和 **15** 体外抗病毒活性与利巴韦林相当, 其作为 IMPDH 抑制剂类抗病毒先导化合物值得继续进行深入研究。

作者贡献: 寇世博进行了论文模型构建、虚拟筛选和对接分析及论文撰写; 高荣梅进行了化合物的抗病毒评价实验; 易红负责计算机虚拟筛选技术指导; 孙连奇负责对虚拟筛选结果分析指导; 李玉环负责抗病毒实验方案设计与指导; 李卓荣负责选题及研究方案设计与指导论文撰写。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

References

- [1] World Health Organization. 2022 WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [DB/OL]. Geneva: World Health Organization, 2022 [2022-05-09]. <https://covid19.who.int/>.
- [2] Rai P, Kumar BK, Deekshit VK, et al. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2021, 105: 441-455.
- [3] Majumder J, Minko T. Recent developments on therapeutic and diagnostic approaches for COVID-19 [J]. *AAPS J*, 2021, 23: 14.
- [4] National Health Commission of the People's Republic of China, National Administration of Traditional Chinese Medicine. Diagnosis and Treatment Plan of Corona Virus Disease 2019 (Tentative Ninth Edition) [R]. Beijing: NHC, 2022.
- [5] Sarwono AEY, Mitsuhashi S, Kabir MHB, et al. Repurposing existing drugs: identification of irreversible IMPDH inhibitors by high-throughput screening [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*,

- 2019, 34: 171-178.
- [6] Chetan P, Shah PSK. Discovery of novel human inosine 5'-monophosphate dehydrogenase 2 (hIMPDH2) inhibitors as potential anticancer agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 158: 286-301.
- [7] Trapero A, Pacitto A, Chan DS, et al. Covalent inactivation of *Mycobacterium thermoresistibile* inosine-5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, 30: 126792.
- [8] Zhang YW, Zhang D, Sun H. The basic functions of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase and its application in drug discovery [J]. *Acta Pharm Sin (药 学 学 报)*, 2014, 49: 285-292.
- [9] Hu J, Wang HQ, Li YH. Research progress of antiviral drugs targeting inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) [J]. *Chin Med Biotechnol (中 国 医 药 生 物 技 术)*, 2015, 10: 432-437.
- [10] Buey RM, Fernández-Justel D, Marcos-Alcalde Í, et al. A nucleotide-controlled conformational switch modulates the activity of eukaryotic IMP dehydrogenases [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 2648.
- [11] Esam Z, Akhavan M, Lotfi M, et al. Molecular docking and dynamics studies of nicotinamide riboside as a potential multi-target nutraceutical against SARS-CoV-2 entry, replication, and transcription: a new insight [J]. *J Mol Struct*, 2022, 1247: 131394.
- [12] Hu J, Ma L, Wang H, et al. A novel benzo-heterocyclic amine derivative N30 inhibits influenza virus replication by depression of inosine-5'-monophosphate dehydrogenase activity [J]. *Virology*, 2017, 14: 55.
- [13] Li H, Xiong N, Li C, et al. Efficacy of ribavirin and interferon-alpha therapy for hospitalized patients with COVID-19: a multi-center, retrospective cohort study [J]. *Int J Infect Dis*, 2021, 104: 641-648.
- [14] Pankiewicz KW, Felczak K. From ribavirin to NAD analogues and back to ribavirin in search for anticancer agents [J]. *Heterocycl Comm*, 2015, 21: 249-257.
- [15] Khodair AI, El-Barbary AA, Imam DR, et al. Synthesis, antiviral, DFT and molecular docking studies of some novel 1,2,4-triazine nucleosides as potential bioactive compounds [J]. *Carbohydr Res*, 2021, 500: 108246.
- [16] Braun-Sand SB, Peetz M. Inosine monophosphate dehydrogenase as a target for antiviral, anticancer, antimicrobial and immunosuppressive therapeutics [J]. *Future Med Chem*, 2010, 2: 81-92.
- [17] Yang N, Wang J, Wang ZW, et al. Computational insights into the inhibition of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase by mycophenolic acid analogs: three-dimensional quantitative structure-activity relationship and molecular docking studies [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2012, 79: 1063-1071.