

## ·综述·

## 虚拟筛选技术在酶抑制剂类化合物研究中的进展

王蓓, 孟瑛瑛, 罗满平, 王康旭, 李媚媛, 李德民, 张新国\*

(兰州理工大学 生命科学与工程学院 甘肃省中藏药筛选评价及深加工重点实验室, 甘肃 兰州 730050)

[摘要] 酶与众多疾病的发生发展密切相关,以酶为靶点已经成为创新药物研发的主要方向。然而如何获得对目标酶有强效抑制作用的化合物仍面临着诸多挑战。随着天然产物种类总量的持续增加,以及新化合物的分离和富集难度加大,传统的高通量筛选方法已经越来越难满足新药研发的需求。虚拟筛选以其高效率、低成本等特点,逐渐成为新药研发中必不可少的技术手段,代表着人工智能与生物医药结合的典范,是未来创新药物筛选快速发展的必然趋势。因此,该文主要围绕近年来虚拟筛选技术在酶抑制剂类化合物研发中的应用进行系统梳理,探讨其应用于发现新药的前景与优势,以期对相关技术在新药研发领域的应用提供重要的理论借鉴和参考。

[关键词] 虚拟筛选; 酶抑制剂; 分子对接; 药效团; 药物发现

## Advancements in virtual screening techniques for study of enzyme inhibitor compounds

WANG Bei, MENG Ying-ying, LUO Man-ping, WANG Kang-xu, LI Mei-yuan, LI De-min, ZHANG Xin-guo\*

(Key Laboratory of Screening and Deep Processing in New Tibetan Medicine of Gansu Province, School of Life Science and Technology, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] Enzymes are closely associated with the onset and progression of numerous diseases, making enzymes a primary target in innovative drug development. However, the challenge remains in identifying compounds that exhibit potent inhibitory effects on the target enzymes. With the continuous expansion of the total number of natural products and increasing difficulty in isolating and enriching new compounds, traditional high-throughput screening methods are finding it increasingly challenging to meet the demands of new drug development. Virtual screening, characterized by its high efficiency and low cost, has gradually become an indispensable technology in drug development. It represents a prominent example of the integration of artificial intelligence with biopharmaceuticals and is an inevitable trend in the rapid development of innovative drug screening in the future. Therefore, this article primarily focused on systematically reviewing the recent applications of virtual screening technology in the development of enzyme inhibitors and explored the prospects and advantages of using this technology in developing new drugs, aiming to provide essential theoretical insights and references for the application of related technologies in the field of new drug development.

[Key words] virtual screening; enzyme inhibitors; molecular docking; pharmacophore; drug discovery

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20230901.601

酶是最重要的药物作用靶点之一。目前已上市的创新药物中,以酶为作用靶点的药物占比超过20%,特别是酶抑制剂,并已在临床治疗中发挥着非常重要的作用<sup>[1-2]</sup>。在全

球销量排名前20的药物中,有50%是酶抑制剂,在今后很长一段时间内仍将是新药研发的重要方向。研究显示,酶抑制剂类化合物除了通过合成方法获得外,也有相当数量的酶抑

[收稿日期] 2023-08-31

[基金项目] 国家自然科学基金项目(32160021);甘肃省青年基金计划项目(22JR5RA299);甘肃省重点研发计划项目(21YF5FA084, 22YF7NA176);温州市科技局项目(2022Y0883)

[通信作者] \*张新国,博士,教授,主要从事中药发酵及微生物新药的发现研究, Tel: (0931)2976001, E-mail: biodrug@163.com

[作者简介] 王蓓,博士,副教授,主要从事天然药物化学研究, E-mail: wangbei@lut.edu.cn

制剂类化合物来源于天然产物。研究显示,已上市的药物有42%是来源于天然产物<sup>[3]</sup>(包括动植物初级和次级代谢产物,以及各种微生物的代谢产物等<sup>[2]</sup>)。然而无论是天然药用植物资源还是微生物资源,其初级和次级代谢产物种类繁多、成分和结构复杂多样,如何能够准确高效地发现具有较强酶抑制作用的先导分子仍是当今生物医药行业面临的重大挑战之一。

自20世纪80年代以来,随着计算机技术和化学模拟理论的快速发展,计算机辅助药物设计(computer aided drug design, CADD)逐渐成为新药研发中不可或缺的一门新兴技术<sup>[4]</sup>。虚拟筛选技术(virtual screening, VS)作为CADD和高通量筛选的重要方法,通过富集活性化合物,模拟目标靶点与候选药物的相互结合能力,从而从大量的候选化合物中筛选得到少量有潜在活性的化合物。具有筛选阳性率高(一般为5%~30%,远远地高于0.01%~0.1%的高通量筛选)、可明显加快实验步伐、节省成本等显著特点<sup>[5]</sup>。因此,虚拟筛选技术在新药研发中受到了研究人员越来越广泛的关注。

2020年,严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)引起的感染大范围流行,给公共卫生、生命和全球经济造成了严重破坏<sup>[6]</sup>。当时,临床急需治疗SARS-CoV-2的药物,研究人员采用虚拟筛选技术,通过对FDA数据库<sup>[7]</sup>和Asinex BioDesign数据库快速和系统的筛选,预测出利托那韦、奈非那韦和沙奎那韦3种抗病毒药物是最有效的主蛋白酶(Mpro)抑制剂,其中利托那韦快速进入相关地区的II/III期和IV期临床试验<sup>[8-11]</sup>,并且辉瑞公司生产的Paxlovid(奈玛特

韦和利托那韦)于2023年5月从“紧急使用授权”正式获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准。为未来冠状病毒药物研发提供可能的策略和方向<sup>[12-13]</sup>,也为新药的研发重新定义发展方向,并显示着诱人的研发前景。基于此,本文主要结合虚拟筛选的主流技术和方法对其在酶抑制剂研究领域的成功案例进行整理和汇总,以期从事药学领域的工作者提供理论借鉴和参考。

## 1 虚拟筛选的原理及方法

虚拟筛选是指基于蛋白质等生物大分子的三维结构或定量构效关系模型,借助计算机技术及软件,模拟目标靶点与候选药物之间的相互结合能力,从已知小分子数据库中挑选出符合要求化合物的一种快速筛选方法<sup>[14]</sup>,是寻找潜在活性化合物、发现药物构效关系、优化药物设计、发现药物靶标的有效手段<sup>[15]</sup>。自20世纪以来,虚拟筛选技术已经成为学术和商业药物发现命中识别潜在活性化合物的一个重要策略。虚拟筛选技术可以采取多种形式实现,根据蛋白靶标结构是否已知,分为基于受体的虚拟筛选(receptor-based virtual screening, RBVS)和基于配体的虚拟筛选(ligand-based virtual screening, LBVS)2种形式。近年来,随着化合物数量的不断增多,以及虚拟筛选技术广泛而深入的应用,也涌现出了许多专门用于筛选化合物的数据库及计算机软件,并且已陆续建立多种适用于中药、天然产物的数据库,为通过虚拟筛选以获得创新药物提供了强有力的支撑,本文将近几年常用的虚拟筛选数据库及软件进行汇总,见表1,并对上述2种方法进行了比较。

表1 虚拟筛选常用的化合物数据库及软件

Table 1 Commonly used compound databases and software for virtual screening

分类	名称	网址	基本特征	主要优势
数据库	ZINC <sup>1)</sup>	<a href="http://zinc15.docking.org">http://zinc15.docking.org</a>	大于1亿种化合物	提供了经过商业软件OpenEye生成的化合物3D结构
	NCI <sup>1)</sup>	<a href="http://cactus.nci.nih.gov">http://cactus.nci.nih.gov</a>	超过25万个化合物	提供化合物原子间的连接表、分子名称以及生物活性等信息
	TCMD <sup>1)</sup>	<a href="http://www.tcm.cmu.edu.tw">http://www.tcm.cmu.edu.tw</a>	包含37170种中药化合物	目前世界上最大、收录最全的中药小分子数据库
	ChEMBL <sup>1)</sup>	<a href="http://www.ebi.ac.uk/chembl">http://www.ebi.ac.uk/chembl</a>	超过250万个化合物和13382个靶标	集成了化学、生物活性和基因组数据,有助于将基因组信息转化为有效的新药
	PubChem <sup>1)</sup>	<a href="http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov">http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov</a>	超过9000万个化合物	提供化合物的化学结构、生物活性、毒性数据等许多信息,是一种快速的化学结构相似性搜索工具
	DrugBank <sup>1)</sup>	<a href="https://go.drugbank.com">https://go.drugbank.com</a>	包含经FDA批准的2723种药物、1540种生物技术(蛋白质/肽)药物、131种营养品和6451种实验药物	是最全面的疾病靶点数据库之一,将详细的药物数据(药化、药理和药物)与综合药物靶标(序列、结构和途径)信息相结合
	SPECS <sup>2)</sup>	<a href="http://www.specs.net">http://www.specs.net</a>	超过150万种化合物,每年以超过20万个化合物的速度递增	化合物包括植物、真菌、海洋生物、细菌和天然产物衍生物。价格最便宜、最早进入中国市场的数据库

续表1

分类	名称	网址	基本特征	主要优势
	ChemDiv <sup>2)</sup>	https://www.chemdiv.com	超过 125 万个化合物	提供化合物的生物活性, ADME/TOX 参数等数据
	ChemBridge <sup>2)</sup>	hppt://chembridge.com	超过 3 000 万化合物	提供 2D 结构 SDF 分子库文件下载, 存在许多非药物类化合物
	ChemSpider <sup>1)</sup>	http://www.chemspider.com	超过 1 亿个化合物	支持 Tanimoto(和其他指标) 阈值的相似性搜索
常用的软件	AutoDock <sup>1)</sup>	http://autodock.scripps.edu	主要应用于生物大分子与小分子配体的对接	可实现自动化虚拟筛选
	AutoDock Vina <sup>1)</sup>	http://vina.scripps.edu	使用全局迭代搜索方案	与 AutoDock 相比, 其采用多线程技术进行计算, 提高了结合模式预测的平均准确度, 而且还提供了图形用户界面和命令行接口, 更易于使用
	LeDock <sup>1)</sup>	https://www.lephar.com	基于模拟退火和配体构象优化及可旋转键优化组合, 使用物理/求索混合打分方案	在 Astex 多样性集合上实现了大于 90% 的构象预测准确度
	rDock <sup>1)</sup>	http://rdock.sourceforge.net	基于随机和确定性搜索技术(GA 和 MC) 的组合来产生配体的低能构象	可在所有 Linux 计算机中进行编译
	UCSF Dock <sup>1)</sup>	http://dock.compbio.ucsf.edu	基于锚定和增长的对接程序, 由加州大学旧金山分校的 Shoichet 集团维持	通常用于筛选百万化合物的大规模数据库, 针对给定的蛋白质筛选出潜在的先导化合物
	LigandFit <sup>2)</sup>	http://accelrys.com	利用 MonteCarlo 技术生成的配体构象最初基于形状对接在活性位点上, 进一步最小化 CHARMm	可将配体准确地对接到蛋白活性位点
	Open Babel <sup>1)</sup>	http://openbabel.org	实现了 MOLPRINT2D, 166 位 MACCS, 1 个日光样指纹(FP2), 2 个 55(FP3) 和 307 位的结构密钥指纹	可在 C++、Java、Python、C# 和 Perl 中使用

注: <sup>1)</sup> 公共免费获取; <sup>2)</sup> 商业付费。

### 1.1 基于受体的虚拟筛选原理及流程

分子对接(molecular docking)是基于 RBVS 最常用的方法之一<sup>[16]</sup>, 可以分为柔性对接(flexible docking)、刚性对接(rigid docking)以及半柔性对接(semi-flexible docking), 半柔性对接是目前最常用的分子对接方法。分子对接主要研究靶蛋白结合位点的特征性质以及其与小分子化合物之间通过几何配型或者能量配型相互识别到最佳匹配模式的一个过程, 并根据亲和性打分函数对两者的结合能力进行综合评价。最终从数以百万级的化合物分子中遴选出结合模式比较合理的、评分较高的化合物, 用于后续的生物活性测试。从而避免了盲目筛选, 降低了筛选活性化合物的成本, 见图 1。目前, 用于虚拟筛选的软件发展迅速, 其中常用的分子对接软件见表 1, 具体应用时应该根据蛋白-配体的理化性质的不同而选择相应的分子对接软件。但是, 需要注意的是, 基于受体的虚拟筛选需要综合考虑所选晶体结构的灵活性、空腔结晶水、蛋白柔性、均方根差值(RMSD)等问题<sup>[18]</sup>。

### 1.2 基于配体的虚拟筛选原理及流程

LBVS 主要是从小分子化合物出发, 通过分析对比已知化合物和待测化合物之间的相似性来筛选出符合条件的活

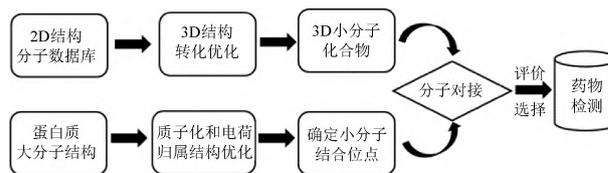


图 1 基于分子对接的虚拟筛选流程图<sup>[17]</sup>

Fig. 1 Molecular docking-based virtual screening workflow<sup>[17]</sup>

性化合物, 主要方法包括药效团(pharmacophore)、分子相似性搜索(similarity searching)、定量构效关系(quantitative structure activity relationship, QSAR)模型。分子相似性搜索和药效团筛选是目前基于配体的虚拟筛选技术中应用相对最成熟、最广泛的 2 种方法<sup>[19]</sup>。

**1.2.1 基于药效团的虚拟筛选** 对晶体结构未知的靶点, 当存在多种结构类似的配体时, 可以使用基于药效团的药物筛选方法, 其实质属于三维定量构效关系(3D-QSAR)。在 1909 年由保罗·埃尔利希提出<sup>[20]</sup>, 基本流程是先汇总具有特定生物活性分子的立体结构和电子特征元素(氢键

供体、氢键受体、正负电荷中心<sup>[21]</sup>、芳环中心、疏水基团、亲水基团以及几何构象体积冲撞<sup>[19,22]</sup>),从而生成配体分子的3D构象,建立药效团训练模型,利用测试集验证药效团模型的预测能力、评估模型质量<sup>[23]</sup>,计算被筛选分子与药效团模型的匹配程度,从而达到筛选的目的,见图2。运用

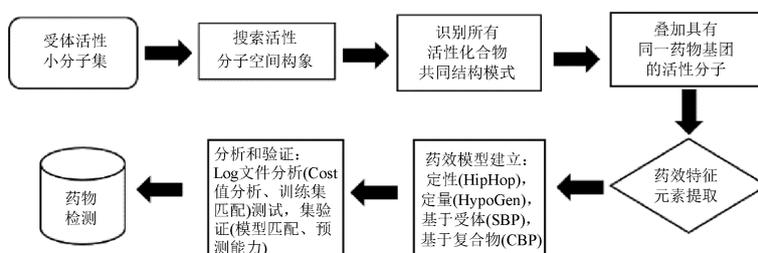


图2 基于药效团的虚拟筛选流程<sup>[14]</sup>

Fig. 2 Pharmacophore-based virtual screening workflow<sup>[14]</sup>

**1.2.2 基于分子相似性的虚拟筛选** 分子相似性的概念产生于19世纪80年代,由2位科学家提出,其核心是“相似性假设”,即结构相似的化合物具有类似的生物活性和理化性质<sup>[26]</sup>。根据这一原理,确定具有生物活性的阳性化合物作为标签分子,然后将数据库中的化合物以及标签分子结构编码为描述符(descriptors)或指纹,最后,基于相似性原理搜索出与标签分子结构相似的候选化合物,其与参照化合物的相似度值越高,则表现为生物活性的概率更高<sup>[27]</sup>。分子相似性方法具体分为结构相似性搜索和活性片段搜索<sup>[28]</sup>,描述符是分子相似性方法中的基本要素。在算法上以Molecular ACCess System (MACCS)、Daylight fingerprints的分子指纹法为主。与药效团方法不同的是,分子相似性搜索具有计算成本低、搜索简单等优势。但是,其对结构特征匹配的精确度要求更高,可能存在活性悬崖(activity cliffs, Acs,即具有非常高相似度但活性高度不同的化合物),而且不同的算法之间可能也会存在一定的差距,从而影响筛选结果的可靠性<sup>[23]</sup>。其具体流程见图3。

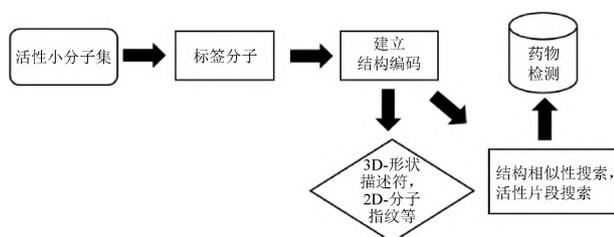


图3 基于分子相似性的虚拟筛选流程<sup>[29]</sup>

Fig. 3 Molecular similarity-based virtual screening workflow<sup>[29]</sup>

**1.2.3 基于QSAR的虚拟筛选** QSAR模型是一种定量揭示化合物结构性质与生物活性之间关系的数学模型,有回归

药效团进行虚拟筛选可以减少由于没有充分考虑蛋白柔性而引起的问题<sup>[24]</sup>。但是该方法也存在不足:其筛选性能受药效团模型质量的影响比较大,无法得知配体与受体之间的作用强度,而且也缺乏高质量建模数据、模型过拟合等<sup>[25]</sup>。

模型和分类模型2种类型。在近年来的许多实际应用中,利用模型预测未经实验测定甚至未合成的新化合物的相关活性是QSAR模型最重要的用途之一。其主要通过收集具有活性数据的化合物,计算出配体分子的结构特征,选择建模算法,建立QSAR训练模型,并用测试集验证其预测能力<sup>[30]</sup>。该筛选流程与基于药效团的虚拟筛选流程基本相似,可参考图2。该方法最显著的特点是效率较高,尤其是在对大数据库的化合物筛选时具有不可替代的优势。但也存在如模型过拟合,易出现建模数据偏差,以及活性悬崖等不足<sup>[31]</sup>。

## 2 主要酶抑制剂类药物虚拟筛选的进展

以酶为靶点的药物研究是创新药物研究的重要领域之一。虚拟筛选以其高效性、准确性以及客观性等特点,代表着人工智能与生物医药结合的典范,是未来虚拟筛选快速发展的趋势。本文以“虚拟筛选/*in silico* screening/virtual screening”“酶抑制剂/enzyme inhibitor”为关键词在PubMed、Elsevier、Web of Science、Springerlink、中国知网、万方等文献数据库中进行检索,并总结了近10年相关领域的研究进行汇总,并分述如下。

### 2.1 治疗阿尔茨海默病药物

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种进行性的神经系统退化性疾病,是最常见的痴呆症之一。乙酰胆碱酯酶(AChE)和丁酰胆碱酯酶(BuChE)是与AD发生发展密切相关的重要靶点。

刘艾林等<sup>[14]</sup>应用虚拟筛选技术对样品库中的4 855个化合物进行了AChE的抑制活性评价和分子对接评价,最终通过实验验证,发现其中34个化合物具有抑制AChE的活性,其 $IC_{50}$ 均小于 $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,阳性率为0.7%。与普通的筛选方法相比,分子对接方法提高了活性化合物的富集度,减少了体外实验化合物的数量,节省了实验成本。此外,由于不良的药代动力学和毒性是药物开发后期失败的重要原

因,因此人们已广泛认识到应尽早考虑药物 ADMET 特性,以降低药物发现临床阶段的失败率。CHEN Y 等<sup>[32]</sup>充分考虑了这一问题并提出了一种以基于 ROCS 模型形状的虚拟筛选为主流,结合分子对接、ADMET 预测的筛选方法,筛选出 2 个[IC<sub>50</sub> 分别为(0.03±0.01)、(0.32±0.12) μmol·L<sup>-1</sup>]比阳性药物他克林[IC<sub>50</sub> 为(0.05±0.01) μmol·L<sup>-1</sup>]活性更好的 AChE 抑制剂,进一步的 ADMET 预测评估显示只有化合物 1 是安全的,不存在严重的毒副作用,该方法不仅可以大大缩短药物的研发周期,并为更快、更准确地发现活性化合物提供了新思路。

## 2.2 抗病毒类药物

调查结果显示,全球每年约有 350 万人死于病毒感染<sup>[33]</sup>。因此,全球对抗病毒药物的需求也日益强烈。近几年来,随着病毒特异性作用靶点的发现,以及对病毒复制过程中一些酶的结构和功能的深入了解,人们陆续开发出一些可以选择性地抑制病毒的药物,其中酶抑制剂类抗病毒药物作为治疗病毒类疾病的“主力军”越来越受到广泛的关注。

艾滋病(HIV)目前仍是一个重大的全球公共卫生安全问题,其在全球所有国家持续性传播,迄今为止已夺去 3 360 万~4 860 万人的生命<sup>[34-35]</sup>,感染艾滋病毒的人数更是年年递增<sup>[36]</sup>。HIV-1 整合酶是 HIV 治疗的重要靶点,可以催化前病毒整合进入人类基因组,是整个病毒感染周期的关键步骤<sup>[37]</sup>。史海龙等<sup>[38]</sup>以 HIV-1 整合酶为靶点,D77(1 种 HIV-1 抑制剂,作用于 MT-4/C8166 细胞时,EC<sub>50</sub> 分别为 23.8、5.03 μg·mL<sup>-1</sup>)作为阳性对照,运用 AutoDock Vina 软件对传统中药数据库(TCMSP, <http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>)采用半柔性分子对接技术进行首轮筛选,对结合能低于-7.3 kcal·mol<sup>-1</sup>的化合物进行 ADMET 预测,最后使用软件 MOE 2014 研究靶点与抑制剂间的结合模式。最终预测到 2 种类药性良好的天然小分子化合物(结合能分别为-8.0、-8.7 kcal·mol<sup>-1</sup>),具有和阳性药物相当的结合能(-7.0 kcal·mol<sup>-1</sup>)。而且二者与 HIV-1 整合酶及相互作用基团均优于 D77,且与 D77 的结构并不类似。而朱杰华等<sup>[39]</sup>通过使用新的虚拟筛选工具 PyRx 运行 AutoDock Vina,对 ZINC 数据库中约 2 万个化合物只单独使用半柔性分子对接进行 3 轮系统性的筛选,从中发现了 5 个评分高于 D77 具有潜在抑制 HIV-1 整合酶活性的小分子化合物,并对结合模式进行 3D 建模分析。以上不同研究者使用不同的软件预测了潜在活性化合物以及靶点和抑制剂间的结合模式,均得出了相同的结果——主要是依靠氢键结合和疏水相互作用,这将为设计及合成新的 HIV-1 整合酶抑制剂提供非常重要的根基。与之前的多个软件转换操作相比,PyRx 实现了多软件的顺利整合,使得虚拟筛选变得更加高效。

丙型肝炎病毒(HCV)是肝癌常见的原因。长期以来,我国 HCV 抗体阳性率虽处于低流行水平,但是由于我国人口基数大,据估计 HCV 感染者约 1 000 万人,绝对感染人数仍

高居全球第一<sup>[40]</sup>。NS5B 聚合酶是开发阻断 HCV 感染新药的最有吸引力的 HCV DNA 聚合酶靶标之一。YU W 等<sup>[41]</sup>采用随机森林(RF)方法建立 NS5B 聚合酶抑制剂的预测模型,然后使用 6 种 NS5B 聚合酶共晶体结构与抑制剂结合来建立多个基于能量的药效团(e-药效团)模型并进行后续的 DBVS 流程。3 种虚拟筛选方法(RFVS、PBVS、DBVS)筛选了包括来自 InterBioScreen 数据库的 441 574 种化合物,最终得到 5 个对 NS5B 聚合酶有抑制能力的化合物,IC<sub>50</sub> 为 2.01~23.84 μmol·L<sup>-1</sup>,且无(或弱)细胞毒性。3 种虚拟筛选方法按照复杂程度递增顺序的应用,最大程度节省了虚拟筛选的时间,为开发成有效且高活性的 NS5B 聚合酶抑制剂提供了重要的指导。

总之,从上述虚拟筛选成功的例子可以看出,与只采用 1 种虚拟筛选技术相比,将多种方法结合的虚拟筛选技术不仅能提高筛选活性化合物的速度,而且能够更加准确地预测结合模式和化合物毒性,减少实验过程中的盲目性,提高实验效率。

## 2.3 抗肿瘤类药物

随着中国人口老龄化,恶性肿瘤患者增多,已经成为中国居民的主要死因之一。研究资料显示,中国癌症标化病死率为 130.1/10 万(世界平均水平为 101.1/10 万),位居全球癌症病死率第 12 位<sup>[42]</sup>。研究证实,很多肿瘤疾病的发生都与酶的表达密切相关,例如:谷氨酸脱氢酶的过度表达会导致乳腺癌<sup>[43]</sup>、结直肠癌<sup>[44]</sup>、胶质瘤<sup>[45]</sup>等疾病的发生。当前以肿瘤发生发展相关的酶为靶点进行的抗肿瘤药物的研究已经成为新型创新抗肿瘤药物研究的重要方向。

乳腺癌是最常见的恶性肿瘤,根据世界卫生组织的统计,2020 年全球有 230 万女性被诊断为乳腺癌,685 000 人因为乳腺癌而死亡<sup>[46]</sup>,成为世界各地女性最主要的死亡原因之一<sup>[47]</sup>。芳香化酶抑制剂(AI)能特异性地导致芳香化酶(AR)失活,阻断芳构化反应,抑制雌激素的生成,降低血液中雌激素水平,是治疗乳腺癌的一种全新思路<sup>[48]</sup>。现已开发并上市了三代 AI 作为治疗乳腺癌的二线或三线药物,美国、日本等国家已经广泛用于临床。

王强等<sup>[49]</sup>为研究雄甾烷衍生物与 AI 间的构效关系,对 ZINC 数据库有 80%相似的 5 045 种类似结构化合物进行分子对接评分,得到分值在 8.0 分以上的 25 个化合物作为中靶化合物,随后通过分析分子对接的活性基团位置,明确在甾体母核 20-C 位上有氢键受体取代是这类化合物产生抑酶活性的关键,并且在 3-C 位引入氢键供受体有利于提高化合物抑酶活性。此外,也有研究显示采用基于受体和基于配体的虚拟筛选相结合的方法可以提高发现更多样化的活性化合物的可能性<sup>[50]</sup>。RAMPOGU S 等<sup>[51]</sup>首先从基于受体的虚拟筛选方法出发,使用 Discovery Studio 4.5 分析 AR 与 83 个小分子配体之间的结合亲和力<sup>[52]</sup>,然后将比参考化合物评分更高的 14 个化合物作为基于配体的虚拟筛选的前瞻性药

物来生成药效团模型。对 Chembridge 数据库中 50 000 个小分子基于药效团搜索、Lipinski 五规则、ADMET 预测、分子对接、MD 模拟的虚拟筛选流程进行进一步筛选。结果显示,磺酰苯胺衍生物具有抑制 AR 的活性。可见磺酰苯胺衍生物和雄甾烷衍生物将有望研发为新的治疗乳腺癌药物。由以上结果也可以看出,将分子对接、药效团、MD 模拟等其他分析方法相结合的策略,在一定程度上能够降低假阳性的概率,提高模型筛选以及预测结果的准确性。

#### 2.4 治疗心血管疾病药物

已有资料显示,我国心血管患病人数超过 3.3 亿<sup>[53]</sup>,在 2019 年疾病致死人群中,心血管疾病占 40%<sup>[54]</sup>,心血管疾病已然是当前严重威胁着人民健康的重大疾病。血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)是治疗心血管疾病的理想靶标。KE Z P 等<sup>[55]</sup>采用 Glide 的超精确模式从中药网络药理学智能信息平台中获得 58 147 种小分子化合物,使用 Discovery Studio 3.0 软件进行柔性分子对接,通过对对接分数的限制和观察小分子与关键残基的作用情况,确定了 677 种天然化合物作为潜在活性化合物,再随机选择 36 种化合物进行体外活性检测实验,最终发现 3 种强抑制 ACE 活性的化合物,抑制率分别为 110.83%、72.52%、82.02%(阳性药物 Captopril 为 95.03%),这将其作为潜在的临床候选药物奠定理论基础。磷酸二酯酶 5A(PDE5A)也是治疗高血压病的另一个有效靶标。MALI D P 等<sup>[56]</sup>对已经报道的 270 种具有靶向 PDE5A 的天然生物活性化合物进行整理并汇总,使用 Vlife MDS 5.4 软件运行分子对接程序并对所得结果与临床报道的活性 PDE5A 抑制剂(西地那非)进行对齐比较,发现了对 PDE5A 有抑制活性的新型药效团模型和骨架(1 个氢键受体中心、1 个芳香族中心、2 个脂肪族中心)。该研究所鉴定出的先导骨架将为具有抗高血压生物活性的天然产物药物发现提供新的平台与理论依据。因此,将分子对接技术用于筛选活性化合物是可靠的,其与药效团模型相结合的虚拟筛选技术将更具有筛选优势。

食品中的天然小肽已经被证明是调节血压的 ACE 的有效抑制剂,但是传统抑制肽的筛选方式既费时又费力,而计算机虚拟筛选技术就打破了这一僵局。与传统的虚拟筛选方法不同的是,WU H 等<sup>[57]</sup>采用不同的分子对接方式,验证了对接评分与  $IC_{50}$  之间的关系,节省了后续体外测试  $IC_{50}$  的验证时间,加快了发现活性先导化合物的过程,打破了传统的虚拟筛选技术必须与体外实验相结合发现活性化合物的方法。其主要借助 Discovery Studio 3.5 软件中的不同模型,选择已有文献报道  $IC_{50}$ (ACE)的 113 个肽中的二肽和三肽建立数据库,分别使用柔性对接和刚性对接(libdock)进行对接实验。通过比较 2 种对接工具得到的评分与  $1/IC_{50}$  的关系:柔性对接模型得到的  $R^2$  低于 libdock 模型,说明与 libdock 模型相比,柔性对接不适合估计二肽和三肽的体外 ACE 抑制活性,并且其在计算中必须考虑大量自由度,这对于预测小

配体与 ACE 之间的组合是不必要的。因此,选择 libdock 模型更简化,结合  $IC_{50}$  预测更准确,可作为筛选 ACE 抑制肽的对接工具。libdock 得分与实验得到的  $IC_{50}$  之间有显著关系 [ $libdock \text{ 得分} = 10.063 \log(1/IC_{50}) + 68.08$ ],并且通过实验测试 5 种合成的 ACE 抑制肽的估计对数( $1/IC_{50}$ )和测量对数( $1/IC_{50}$ )的吻合度,证实了这种关系的可信度。因此,该方法可以直接用于大规模的 ACE 抑制肽的筛选。

#### 2.5 治疗糖尿病类药物

据世界卫生组织估计,目前全球糖尿病患者有 4.24 亿左右<sup>[58]</sup>。我国的患病率更是急剧地增加,到 2045 年我国的糖尿病患者人数可能达到 1.74 亿人<sup>[59]</sup>。糖尿病已经被列为继心脏病、肿瘤之后第 3 位危害人类健康的慢性非传染性疾病。除了  $\alpha$ -葡萄糖苷酶外,11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 1 型(11 $\beta$ -HSD1)被发现是调节人体代谢的关键酶并且是当今治疗糖尿病的重要靶点。SAKKIAH S 等<sup>[60]</sup>收集了已知的 11 $\beta$ -HSD1 抑制剂并生成 3D 药效团模型。在 NCI、Maybridge 和 Chembridge 数据库中依次基于药效团搜索、Lipinski 五规则、ADMET 类药性预测进行虚拟筛选,最后使用 GOLD 分子对接软件分析中小分子间的相互作用和结合特性。研究结果显示有 11 种命中化合物可有效占据 11 $\beta$ -HSD1 活性位点,可用于设计具有更高选择性的 11 $\beta$ -HSD1 抑制剂。该研究采用与分子对接技术联用的方法,可降低假阳性率。除了上述提到的 GOLD 虚拟筛选软件,软件 ICM-PRO 也在 11 $\beta$ -HSD1 抑制剂类化合物的虚拟筛选中得到了广泛的应用。孙伟光等<sup>[61]</sup>使用软件 ICM-PRO,从其课题组 324 个天然产物和 ZINC 天然化合物数据库中基于分子对接的虚拟筛选技术发现潜在的 11-HSD1 抑制剂,结果发现 1 个新的具有抑制 11-HSD1 的化合物,并结合体外实验验证,其  $IC_{50}$  为  $1.86 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,与传统天然 11-HSD1 抑制剂相比,该化合物具有与其相当的活性。这将为糖尿病类药物的研发提供新的实验思路。

现有的临床药物已经过严格的药效、药代和安全性评价,因而在现有药物中发现潜在新用途的药物,对于节约新药研发成本、缩短研发时间来说,具有非常重要的意义。宋优佳等<sup>[62]</sup>基于降血糖靶蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(PTP1B)的晶体结构,利用 Accelrys Discovery studio 3.0 软件通过受体-配体相互作用,构建药效团模型,对 ZINC 数据库中的 FDA 数据库进行筛选,筛选出符合药效团结构的 2 个临床药物——依普沙坦和磺溴酞钠。

#### 2.6 治疗高尿酸血症类药物

随着人们生活质量的提高,人体内的嘌呤代谢紊乱<sup>[63]</sup>,使尿酸持续升高,从而导致高尿酸血症等慢性代谢类疾病的发生。高尿酸血症是痛风发生的生化基础,黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)被认为是治疗高尿酸血症和痛风的有效靶标之一。因此,开发更安全、使用范围更广的 XO 抑制剂已经成为一种新的趋势。董俊敏等<sup>[64]</sup>从 ZINC 天然产物

数据库 224 205 个化合物出发,排除不满足 Lipinski 五规则 和 veber 规则的分子,随后基于受体-配体复合物的药效团对 上述符合规则的化合物进行筛选,并结合分子对接技术、MD 模拟、ADMET 预测等发现了潜在的 XO 抑制剂。结果显示, 分子 ZINC09344458(结合能为 $-82.038 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) 预测表现出 良好的抑制活性及类药性,其结合能优于已知阳性药物 febuxostat(结合能为 $-56.704 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ )。YANG Y 等<sup>[65]</sup> 同样采用分层虚拟筛选(ADMET、Lipinski 五规则和 veber 规则 的分子过滤→配体药效团和指纹相似性搜索→分子对接→ MD 模拟)来鉴定有效的 XO 抑制剂,不同的是,该研究是从 SPACE 数据库出发,并且后续进行了体外生物活性检测,其中 H3 化合物的抑制活性( $\text{IC}_{50} 2.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )最好,且优于 阳性对照非布索坦( $\text{IC}_{50} 95.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。相比化学合成类 药物,天然产物更为安全且药理作用不单单局限于降尿酸, 将为药物的研发提供更多选择。该结果还提示,将多个技术 进行有效组合,如首先利用药效团的虚拟筛选快速获得大量 多靶点候选化合物,在此基础上利用分子对接进行特异性的 筛选,提高了筛选的效率和准确率,是一种优势互补的多靶 点药物筛选方法。

## 2.7 其他

TANG Z P 等<sup>[66]</sup>采用 SYBYL-X 2.0 构建药效团的筛选

方法进行虚拟筛选,从 ZINC 数据库中超过 1.6 亿个化合物 中筛选出 10 万余个化合物进行分子对接分析和 ADMET 预 测,最后筛选出 2 种化合物(Z-19、Z-29)进行体外抗凝血活 性实验,发现只有化合物 Z-29 具有抗凝血活性, $\text{IC}_{50} (22.9 \pm 6.88) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,与阳性药物 dabigatran 相当。这一化合物 可进行进一步的结构修饰和优化,为发现新的凝血酶抑制剂 提供新的思路和方法。在皮肤中,紫外线辐射会导致基质金 属蛋白酶(MMP)过度表达,最终导致皮肤起皱以及过早老 化。GIMENO A 等<sup>[67]</sup>为了筛选出非特异性的 MMP 抑制剂, 设计了随机森林、分子对接、药效团、静电相似性分析的虚 拟筛选流程,旨在识别可以同时靶向不同 MMP 中  $\text{Zn}^{2+}$  结合区 域的化合物。从 183 个天然产品中,命中了有 49 个可以抑 制至少 3 种不同的 MMP,并且其中 2 种化合物已经被用于皮 肤老化的治疗当中。DprE1 是治疗结核病的潜在靶点, ZHANG G 等<sup>[68]</sup>通过基于药效团和分子对接的虚拟筛选,从 ChemDiv 数据库中确定了潜在的 DprE1 抑制剂,并利用 Discovery Studio 软件包对 30 种化合物进行 ADMET 预测,获得 了化合物 ZINC09833455 和 ZINC32996629 可以抑制结核分 枝杆菌中 DprE1 的活性。

除了上述所提到的酶抑制剂外,虚拟筛选技术在其他酶抑 制剂类化合物的筛选过程中也有广泛的应用,具体见表 2、图 4。

表 2 虚拟筛选技术应用于酶抑制剂类新药研发的代表性案例

Table 2 Representative cases of virtual screening technology applied in the development of enzyme inhibitor-based novel drugs

活性	作用的酶	机制	数据库	虚拟筛选技术	代表性化合物及抑 制活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (化合物编号)	文献
抗病毒	TMPRSS2	能够激活 SARS 病毒的 S 蛋白,诱导病 毒与靶细胞融合	NCATS 数据库	配体药效团、3D- 形状相似性搜索、 半柔性分子对接、 MD 模拟	$\text{IC}_{50} 0.88$ (1)	[69]
	NA	NA 促进成熟病毒从细胞表面分离,并 通过特异性地从细胞表面糖蛋白和子代病 毒的包膜中分离唾液酸来抑制它们的自我 聚集。NA 的抑制剂可以防止子代病毒的 释放,从而防止病毒的传播和复制	SPECS 数据库	结构药效团、半 柔性分子对接、MD 模拟	$\text{IC}_{50} 0.21$ (2)	[70]
	NS3-4A 蛋白酶	把 HCV 基因组翻译出来的多聚蛋白进 行剪切,形成最终可用的病毒蛋白	化学品目录 数据库	柔性分子对接	$\text{IC}_{50} 8.59$ 、 $\text{EC}_{50} 12$ (3)	[71]
抗菌	MBLs	该酶抑制剂与 MBLs 活性位点的 $\text{Zn}^{2+}$ 发 生作用,从而抑制 MBLs 的催化活性,从而 恢复 $\beta$ 内酰胺类抗生素的抗菌活性	eMoleculeS 数据库	3D-相似性搜索、 半柔性分子对接	$\text{IC}_{50} 19 \pm 2$ (NDM-1)、 $14 \pm 1$ (IMP-1)、 $50 \pm 20$ (VIM-2) (4)	[72]
	谷氨酸 消旋酶	参与 L 型谷氨酸到 D 型谷氨酸(DGL) 的相互转化,其中 DGL 是肽聚糖层形成的 重要成分,是细菌生长的关键酶	姜黄色素、槲 皮素、柚皮素等	半柔性分子对 接、结合自由能够 计算、MD 模拟	$K_i 23.814$ (5)、 $20.808$ 2 (6)	[73]

续表2

活性	作用的酶	机制	数据库	虚拟筛选技术	代表性化合物及抑 制活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (化合物编号)	文献
	SrtA	介导金黄色葡萄球菌黏附的表面蛋白, 主要由分选酶 A 介导锚定于细胞壁上, 在细菌黏附和逃避机体免疫过程中发挥了重要作用	OTAVA 化合物集合	半柔性分子对接、SBP 和 CBP-药效团	$\text{IC}_{50}$ 59.7 (7)	[74]
	UGM	UDP-Galp 是呋喃半乳糖残基的活化前体, 这些残基是某些致病细菌 (如 kpUGM 和 mtUGM) 细胞壁的重要组成部分。UGM 可催化 UDP-Galp 到 UDP-Galp 的可逆异构化	LeadQuest 数据库	半柔性分子对接	对 kpUGM 的 $\text{IC}_{50}$ 1.3, 对 mtUGM 的 $\text{IC}_{50}$ 0.8 (8、9); $\text{IC}_{50}$ 1.0 (kpUGM、mtUGM) (9)	[75]
抗肿瘤	肝素酶	能够促进肿瘤细胞扩散和转移	eMolecules、SciFinder 数据库	分子相似性搜索、SIFt	$\text{IC}_{50}$ 0.32 (10)、0.12 (11)	[76]
	GLS	GLS 催化谷氨酸和铵离子合成谷氨酰胺, 而谷氨酰胺是癌细胞的营养物质	ChemDiv 数据库	半柔性分子对接、药理相互作用	$\text{IC}_{50}$ (24.02±6.41) × 10 <sup>-3</sup> (12)	[77]
	HDAC	在癌细胞中, HDAC 的过度表达导致乙酰化作用增强, 不利于特定基因的表达	Life-Chemicals 数据库	配体药效团、半柔性分子对接、MD 模拟	$\text{IC}_{50}$ 34.92±6.22 (13)	[78]
	CDK8	能促进 Wnt/B-连环蛋白介导的转录并参与肿瘤细胞生长和存活相关的许多信号调节通路。在结直肠癌、黑色素瘤、乳腺癌等多种人类癌症中过度表达	ChemDiv 数据库	分子相似性	$\text{IC}_{50}$ 6.5 × 10 <sup>-3</sup> (14)	[79]
	CK2	高 CK2 活性会通过广泛的互补机制促进细胞增殖和扩散, 同时抑制凋亡	SPECS、Top-science 数据库	形状相似性搜索、半柔性分子对接	$\text{IC}_{50}$ 0.46±0.08 (15)	[80]
	$\beta$ -葡萄糖醛酸酶	是一种参与肿瘤侵袭和转移过程的基质降解酶, 可以在肿瘤部位或肿瘤附近水解葡萄糖苷酸类前体药物使其释放出活性位点	SPECS 数据库	半柔性分子对接	$\text{IC}_{50}$ 2.8 (16)	[81]
	CD73	在多种肿瘤细胞中都有 CD73 的过度表达, 与肿瘤的生长、侵袭、转移、预后等密切相关	ZINC 数据库	半柔性分子对接、形状相似性搜索	$\text{IC}_{50}$ 6.2±1.0 (17)	[82]
	PRAP-1	PARP-1 抑制剂作用于 BRCA 基因缺陷的肿瘤细胞, 可通过协同致死效应杀灭肿瘤细胞	Otava 片段库、内部库、类铅库	半柔性分子对接	$\text{IC}_{50}$ 0.72±0.09 (18)	[83]
抗糖尿病	$\alpha$ -葡萄糖苷酶	通过特异性水解 1,4- $\alpha$ -吡喃葡萄糖苷键产生 $\alpha$ -葡萄糖来调节血糖	SPECS 数据库	半柔性分子对接	$\text{IC}_{50}$ 9.99±0.43, $K_i$ 15.39 (19)	[84]
抗炎	MPO	主要存在于髓系细胞的嗜苯胺蓝颗粒中。通过其产生有效的杀菌剂、氧化剂的能力参与先天免疫防御这些氧化剂是与许多炎症性疾病相关的关键介质	ZINC 数据库	配体药效团、半柔性分子对接	$\text{IC}_{50}$ 44 × 10 <sup>-3</sup> (20)	[85]
抗心血管 管疾病	糜酶	位于肥大细胞的分泌颗粒中。当含有肥大细胞的组织被炎症损伤时, 糜酶从分泌颗粒释放到间质组织后立即被激活	Maybridge、Chembridge 数据库	半柔性分子对接、结构药效团、配体药效团 ADMET、QM、QSAR	-(21~24)	[86]
抗阿尔 茨海默病	$\beta$ -分泌酶	$\beta$ 和 $\gamma$ -分泌酶水解可产生 $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $A\beta$ ), $A\beta$ 在细胞基质沉淀聚集后具有很强的神经毒性	ZINC 数据库	配体药效团、半柔性分子对接、“Lipinski”五规则	$\text{IC}_{50}$ 0.31 (25)	[87]

注: TMPSR2. 跨膜丝氨酸蛋白酶 2; NA. 流感神经氨酸酶; NS5B. 丙型肝炎病毒 (HCV) 聚合酶; SrtA. 分选酶 A; UGM. UDP-吡喃半乳糖变位酶; UDP-Galp. UDP-吡喃半乳糖; GLS. 谷氨酰胺酶; HDAC. 组蛋白去乙酰化酶; CDK8. 周期蛋白依赖激酶 8; CK2. 酪蛋白激酶; CD73. ecto-5'-核苷酸酶; PRAP-1. 多聚 ADP 核糖聚合酶 1; MPO. 髓过氧化物酶; MBLs. 金属  $\beta$  内酰胺酶; kpUGM. 肺炎克雷伯菌; mtUGM. 结核分枝杆菌; SIFt. 基于结构交互指纹的对接姿态聚类分析; 表中化合物编号与图 4 一致; -. 未报道。

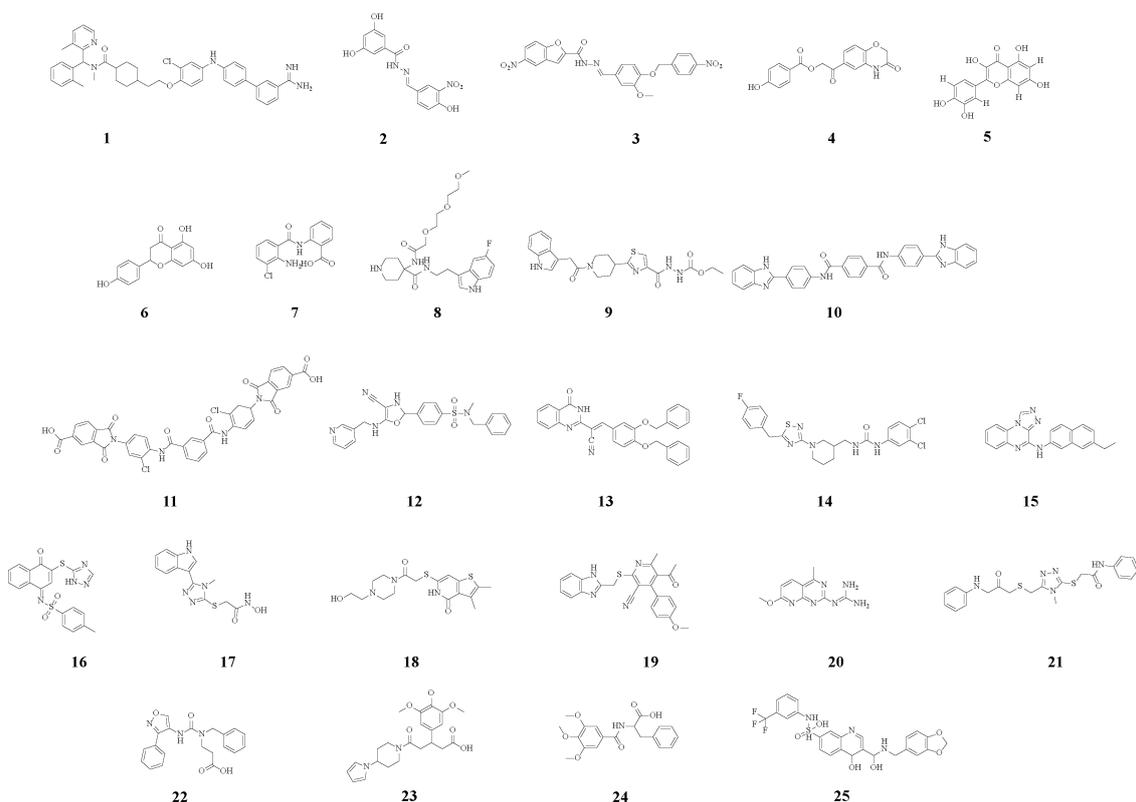


图4 虚拟筛选技术应用于酶抑制剂类新药研发的代表性案例中化合物结构式

Fig. 4 Compound structures in representative cases of the application of virtual screening technology in the development of new drugs in the category of enzyme inhibitors

### 3 展望

虚拟筛选是创新药物研究的新方法和新技术,具有高效、快速和经济等优势,目前已经成为与实验筛选优势互补的实用性方法。与实验筛选相比较,虚拟筛选可以大大提高活性化合物的富集度,减少待筛化合物的数量,从而降低筛选成本,提高活性化合物发现的概率和新药研发的速度。尽管虚拟筛选在创新药物研究中显示巨大的优势,但是该技术在使用过程中也存在一些局限性:①在基于分子对接的虚拟筛选方法中,许多蛋白质晶体的结构还没有被测定,限制了分子对接的使用<sup>[5]</sup>;②计算机模拟情况下得到的数据与实验所得的数据是否完全一样,以及在对接打分值很高的情况下是否可以成功地进行 MD 模拟;③应用于天然产物方面时,如果化合物结构中的氧原子比较多,尤其是糖苷类化合物,有很多的氢键给体或者受体,这类化合物在筛选的过程中容易造成假阳性。由于基于配体的虚拟筛选与基于受体的虚拟筛选各自存在优缺点,单一使用时命中符合预期的先导化合物概率较低,通常需要整合不同虚拟筛选方法,才能使虚拟筛选成功的机会最大化。

现在,随着生物学的发展,虚拟筛选方法也还在不断发展中,从现有的活性筛选,发展成活性和 ADMET 一体化筛

选<sup>[88]</sup>,以及根据疾病相关基因的调控网络(或途径)进行虚拟筛选<sup>[89]</sup>。因此,虚拟筛选技术作为计算机辅助药物设计的一种重要方法,随着近代科技以及化学计算理论和方法的不断发展,必将为创新药物的研发提供非常重要的理论支撑。

#### [参考文献]

- [1] IJZERMAN A P, GUO D. Drug-target association kinetics in drug discovery[J]. Trends Biochem Sci, 2019, 44(10): 861.
- [2] BEUTLER J A. Natural products as a foundation for drug discovery[J]. Curr Protoc Pharmacol, 2019, 86(1): e67.
- [3] NEWMAN D J, CRAGG G M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019[J]. J Nat Prod, 2020, 83(3): 770.
- [4] 高宇, 王凤雪, 刘海波. 虚拟筛选技术在天然产物新药研发中的应用[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(8): 602.
- [5] 李洪林, 沈建华, 罗小民, 等. 虚拟筛选与新药发现[J]. 生命科学, 2005, 17(2): 125.
- [6] ZHU N, ZHANG D Y, WANG W L, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8): 727.
- [7] SIRAMSHETTY V B, ECKERT O A, GOHLKE B O, et al. Super DRUG2: a one stop resource for approved/ marketed drugs [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1): D1137.

- [ 8 ] KANHED A M, PATEL D V, TELI D M, et al. Identification of potential Mpro inhibitors for the treatment of COVID-19 by using systematic virtual screening approach[J]. *Mol Divers*, 2021, 25(1): 383.
- [ 9 ] MOUSAVI S, ZARE S, MIRZAEI M, et al. Novel drug design for treatment of COVID-19: a systematic review of preclinical studies [J]. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2022, 2022: 2044282.
- [ 10 ] MOHAMED K, YAZDANPANA N, SAGHAZADEH A, et al. Computational drug discovery and repurposing for the treatment of COVID-19: a systematic review[J]. *Bioorg Chem*, 2021, 106: 104490.
- [ 11 ] 王欢, 张敏. 口服新型冠状病毒肺炎治疗新药: Paxlovid[J]. *临床药物治疗杂志*, 2022, 20(2): 13.
- [ 12 ] 许叶春, 柳红, 李剑峰, 等. 抗新冠肺炎药物研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2021, 41(6): 111.
- [ 13 ] SANDERS J M, MONOGUE M L, JODLOWSKI T Z, et al. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review[J]. *J Am Med Assoc*, 2020, 323(18): 1824.
- [ 14 ] 刘艾林, 杜冠华. 虚拟筛选辅助新药发现的研究进展[J]. *药学学报*, 2009, 44(6): 566.
- [ 15 ] 孟凡颖, 杨敏, 顾雯, 等. 天然产物中细菌群体感应抑制剂虚拟筛选研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(5): 695.
- [ 16 ] 张煜卓, 戚涵姝, 谷笑雨, 等. 分子对接在药物虚拟筛选中的应用进展[J]. *广州化学*, 2017, 42(6): 62.
- [ 17 ] 刘玉甜, 赵诗雨, 吕邵姝. 基于分子对接的计算机虚拟筛选技术在新药发现中的应用进展[J]. *化学工程师*, 2020, 34(2): 59.
- [ 18 ] SPYRAKIS F, CAVASOTTO C N. Open challenges in structure-based virtual screening: receptor modeling, target flexibility consideration and active site water molecules description [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2015, 583: 105.
- [ 19 ] DE SOUSA LUIS J A, BARROS R P C, DE SOUSA N F, et al. Virtual screening of natural products database[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2021, 21(18): 2657.
- [ 20 ] GÜNER O F, BOWEN J P. Setting the record straight: the origin of the pharmacophore concept[J]. *J Chem Inf Model*, 2014, 54(5): 1269.
- [ 21 ] 乔连生, 张燕玲. 计算机辅助药物设计在天然产物多靶点药物研发中的应用[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(11): 1951.
- [ 22 ] BANEGAS-LUNA A J, CERÓN-CARRASCO J P, PÉREZ-SÁNCHEZ H. A review of ligand-based virtual screening web tools and screening algorithms in large molecular databases in the age of big data[J]. *Future Med Chem*, 2018, 10(22): 2641.
- [ 23 ] KUTLUSHINA A, KHAKIMOVA A, MADZHIDOV T, et al. Ligand-based pharmacophore modeling using novel 3D pharmacophore signatures[J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3094.
- [ 24 ] 张文晋, 曹也, 常丽坤, 等. 药效团模型的构建及其在中药药效成分辨识中的应用[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(23): 6130.
- [ 25 ] DRWAL M N, GRIFFITH R. Combination of ligand- and structure-based methods in virtual screening [J]. *Drug Discov Today Technol*, 2013, 10(3): e395.
- [ 26 ] 章新友, 张亚明, 刘梦玲, 等. 虚拟筛选技术在中药研究中的应用[J]. *中国新药杂志*, 2022, 31(17): 1676.
- [ 27 ] 孔德毅. 分子相似性网络中关键化合物发现算法研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2015.
- [ 28 ] KUMAR A, ZHANG K Y J. Advances in the development of shape similarity methods and their application in drug discovery [J]. *Front Chem*, 2018, 6: 315.
- [ 29 ] YAN X, LIAO C Z, LIU Z H, et al. Chemical structure similarity search for ligand-based virtual screening: methods and computational resources[J]. *Curr Drug Targets*, 2016, 17(14): 1580.
- [ 30 ] 祝钧, 吉冲, 邱静, 等. 虚拟筛选在化妆品功效原料发现中的应用进展[J]. *轻工学报*, 2023, 38(1): 119.
- [ 31 ] MURATOV E N, BAJORATH J, SHERIDAN R P, et al. QSAR without borders[J]. *Chem Soc Rev*, 2020, 49(11): 3525.
- [ 32 ] CHEN Y, LIU Z L, FU T M, et al. Discovery of new acetylcholinesterase inhibitors with small core structures through shape-based virtual screening[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(17): 3442.
- [ 33 ] 王宏, 刘月, 杨梁钰, 等. 生物碱类化合物抗病毒活性及其机制研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(9): 2839.
- [ 34 ] 何佳晋, 袁璐, 吴超. 2010—2019年中国艾滋病流行时空分布特征[J]. *中华疾病控制杂志*, 2022, 26(5): 541.
- [ 35 ] 万艳霞, 蔡亚丽, 刘国军. 开封市祥符区2001—2021年艾滋病流行病学特征研究[J]. *口岸卫生控制*, 2023, 28(1): 23.
- [ 36 ] 何纳. 中国艾滋病流行病学研究新进展[J]. *中华疾病控制杂志*, 2021, 25(12): 1365.
- [ 37 ] NZIMANDE B, MAKHWITINE J P, MKHWANAZI N P, et al. Developments in exploring fungal secondary metabolites as antiviral compounds and advances in HIV-1 inhibitor screening assays[J]. *Viruses*, 2023, 15(5): 1039.
- [ 38 ] 史海龙, 王玉成, 樊莹莹, 等. 基于药物靶点从传统中药库中高通量虚拟筛选 HIV-1 整合酶抑制剂[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(19): 159.
- [ 39 ] 朱杰华, 宋胜玉, 谷万港. 基于结构的 HIV-1 整合酶抑制剂的虚拟筛选[J]. *中国生物制品学杂志*, 2014, 27(1): 78.
- [ 40 ] VRONTAKI E, MELAGRAKI G, MAVROMOUSTAKOS T, et al. Searching for anthranilic acid-based thumb pocket 2 HCV NS5B polymerase inhibitors through a combination of molecular docking, 3D-QSAR and virtual screening[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016, 31(1): 38.
- [ 41 ] YU W, LI J L, JIE Q, et al. Discovery of novel hepatitis C virus NS5B polymerase inhibitors by combining random forest, multiple e-pharmacophore modeling and docking[J]. *PLoS ONE*, 2016, 11(2): e0148181.
- [ 42 ] 陈宏达, 郑荣寿, 王乐, 等. 2019年中国肿瘤流行病学研究

- 进展[J]. 中华疾病控制杂志, 2020, 24(4): 373.
- [43] SPINELLI J B, YOON H, RINGEL A E, et al. Metabolic recycling of ammonia via glutamate dehydrogenase supports breast cancer biomass[J]. *Science*, 2017, 358(6365): 941.
- [44] LIU G J, ZHU J, YU M L, et al. Glutamate dehydrogenase is a novel prognostic marker and predicts metastases in colorectal cancer patients[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 144.
- [45] CHEN R H, NISHIMURA M C, KHARBANDA S, et al. Hominoid-specific enzyme GLUD2 promotes growth of IDH1<sup>R132H</sup> glioma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(39): 14217.
- [46] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209.
- [47] CHLEBOWSKI R T, ARAGAKI A K, PAN K. Breast cancer prevention and breast cancer mortality[J]. *Jco Oncol Pract*, 2022, 18(7): 522.
- [48] 张绍, 孔宪超. 芳香化酶抑制剂治疗晚期或复发性子宫颈癌的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2022, 49(1): 1.
- [49] 王强, 乔梁, 马晨, 等. 基于人芳香酶的雄甾烷衍生物抗乳腺癌构效关系研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2012, 31(4): 65.
- [50] ZHANG Y M, YANG S Y, JIAO Y, et al. An integrated virtual screening approach for VEGFR-2 inhibitors [J]. *J Chem Inf Model*, 2013, 53(12): 3163.
- [51] RAMPOGU S, SON M, PARK C, et al. Sulfonanilide derivatives in identifying novel aromatase inhibitors by applying docking, virtual screening, and MD simulations studies[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 2105610.
- [52] SU B, TIAN R, DARBY M V, et al. Novel sulfonanilide analogs decrease aromatase activity in breast cancer cells: synthesis, biological evaluation, and ligand-based pharmacophore identification[J]. *J Med Chem*, 2008, 51(5): 1126.
- [53] 中国心血管健康与疾病报告 2021 概要[J]. 中国循环杂志, 2022, 37(6): 553.
- [54] 中国心血管健康与疾病报告 2021 概要[J]. 心脑血管病防治, 2022, 22(4): 20.
- [55] KE Z P, SU Z Z, ZHANG X Z, et al. Discovery of a potent angiotensin converting enzyme inhibitor via virtual screening[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(16): 3688.
- [56] MALI D P, BHATIA N M. Discovery of two novel hetero-tricyclic lead scaffolds as PDE5A inhibitor: virtual screening, molecular docking and pharmacophore modeling approach [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(1): 92.
- [57] WU H, LIU Y, GUO M, et al. A virtual screening method for inhibitory peptides of angiotensin i-converting enzyme[J]. *J Food Sci*, 2014, 79(9): C1635.
- [58] 柴桂芳, 张峻, 张同华, 等. 糖尿病促进癌症发生的流行病学和病理生理学[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(20): 5.
- [59] 万文萃, 龙洋. 糖尿病视网膜病变的流行病学, 病因学与发病机制研究现状[J]. 眼科新进展, 2022, 42(9): 42.
- [60] SAKKIAH S, MEGANATHAN C, SOHN Y S, et al. Identification of important chemical features of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type1 inhibitors: application of ligand based virtual screening and density functional theory[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(4): 5138.
- [61] 孙伟光. 基于蛋白质结构的抗糖尿病天然产物作用靶点和机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- [62] 宋优佳, 孙印, 李芷怡, 等. 虚拟筛选发现临床药物的潜在降糖新用途[C]. 太原: 第九届国际分子模拟与信息技术应用学术会议, 2018.
- [63] 王雪洁, 林志健, 张冰, 等. 菊苣小分子化合物对黄嘌呤氧化酶抑制作用的分子对接研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(19): 3818.
- [64] 董俊敏, 王兴河. 黄嘌呤氧化酶抑制剂的虚拟筛选[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(8): 840.
- [65] YANG Y, ZHANG L, TIAN J Y, et al. Identification of xanthine oxidase inhibitors through hierarchical virtual screening[J]. *RSC Adv*, 2020, 10(46): 27752.
- [66] TANG Z P, REN Y J, LIU F. Identify thrombin inhibitor with novel skeleton based on virtual screening study [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2022, 40(1): 499.
- [67] GIMENO A, CUFFARO D, NUTI E, et al. Identification of broad-spectrum MMP inhibitors by virtual screening [J]. *Molecules*, 2021, 26(15): 4553.
- [68] ZHANG G, GUO S, CUI H Q, et al. Virtual screening of small molecular inhibitors against DprE1 [J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 524.
- [69] HU X, SHRIMP J H, GUO H, et al. Discovery of TMPRSS2 inhibitors from virtual screening as a potential treatment of COVID-19[J]. *ACS Pharmacol Transl Sci*, 2021, 4(3): 1124.
- [70] YU R, CHENG L P, LI M, et al. Discovery of novel neuraminidase inhibitors by structure-based virtual screening, structural optimization, and bioassay[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2019, 10(12): 1667.
- [71] TAKAYA D, YAMASHITA A, KAMIJO K, et al. A new method for induced fit docking (GENIUS) and its application to virtual screening of novel HCV NS3-4A protease inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19(22): 6892.
- [72] KANG J S, ZHANG A L, FAHEEM M, et al. Virtual screening and experimental testing of B1 metallo- $\beta$ -lactamase inhibitors[J]. *J Chem Inf Model*, 2018, 58(9): 1902.
- [73] PAWAR A, JHA P, CHOPRA M, et al. Screening of natural compounds that targets glutamate racemase of mycobacterium tuberculosis reveals the anti-tubercular potential of flavonoids[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 949.
- [74] VOLYNETS G P, BARTHELIS F, HAMMERSCHMIDT S J, et al. Identification of novel small-molecular inhibitors of staphylococcus aureus sortase a using hybrid virtual screening [J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 2022, 75(6): 321.

- [75] KARUNAN PARTHA S, SADEGHI-KHOMAMI A, CREN S, et al. Identification of novel inhibitors of UDP-galactopyranose mutase by structure-based virtual screening [J]. *Mol Inform*, 2011, 30(10): 873.
- [76] PALA D, SCALVINI L, ELISI G M, et al. New classes of potent heparanase inhibitors from ligand-based virtual screening [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2020, 35(1): 1685.
- [77] LIN L C, CHANG H Y, LIN T E, et al. Structure-based virtual screening discovers novel kidney-type glutaminase inhibitors [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 154: 113585.
- [78] SONG Q H, LIU T T, LIU Y C, et al. An improved protocol for the virtual screening discovery of novel histone deacetylase inhibitors [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2019, 67(10): 1076.
- [79] WANG T J, YANG Z, ZHANG Y G, et al. Discovery of novel CDK8 inhibitors using multiple crystal structures in docking-based virtual screening [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 129: 275.
- [80] SUN H P, WU X W, XU X L, et al. Discovery of novel CK2 leads by cross-docking based virtual screening [J]. *Med Chem*, 2014, 10(6): 628.
- [81] CHENG T C, CHUANG K H, ROFFLER S R, et al. Discovery of specific inhibitors for intestinal *E. coli*  $\beta$ -glucuronidase through *in silico* virtual screening [J]. *Sci World J*, 2015, 2015: 740815.
- [82] VIVIANI L G, PICCIRILLO E, ULRICH H, et al. Virtual screening approach for the identification of hydroxamic acids as novel human ecto-5'-nucleotidase inhibitors [J]. *J Chem Inf Model*, 2020, 60(2): 621.
- [83] HANNIGAN K, KULKARNI S S, BDZHOLA V G, et al. Identification of novel PARP-1 inhibitors by structure-based virtual screening [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(21): 5790.
- [84] LIU S K, HAO H F, BIAN Y, et al. Discovery of new  $\alpha$ -glucosidase inhibitors: structure-based virtual screening and biological evaluation [J]. *Front Chem*, 2021, 9: 639279.
- [85] SOUBHYE J, CHIKH A I, ALDIB I, et al. Discovery of novel potent reversible and irreversible myeloperoxidase inhibitors using virtual screening procedure [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(15): 6563.
- [86] AROOJ M, SAKKIAH S, KIM S, et al. A combination of receptor-based pharmacophore modeling & QM techniques for identification of human chymase inhibitors [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(4): e63030.
- [87] NIU Y, MA C, JIN H W, et al. The discovery of novel  $\beta$ -secretase inhibitors: pharmacophore modeling, virtual screening, and docking studies [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2012, 79(6): 972.
- [88] 史海龙, 史永恒, 王川, 等. 基于计算机模拟技术以埃博拉病毒跨膜糖蛋白为靶点挖掘中药抗病毒活性分子 [J]. *中草药*, 2021, 52(13): 3933.
- [89] LEUNG E, AYINE-TORA D M, SANTOS-LEDO A, et al. Identification of novel Atg3-Atg8 inhibitors using virtual screening for autophagy modulation [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 114: 105092.

[责任编辑 丁广治]