高等学校化学学报
CHEMICAL JOURNAL OF CHINESE UNIVERSITIES
研究论文

靶向猴痘A42R病毒的药物筛选和再利用：结合机制的模拟研究

范　翔，刘子建，贾梦珂，艾洪奇
（济南大学化学化工学院，济南 250022）

摘要　通过药物再利用策略，筛选出靶向猴痘病毒（MPXV）A42R蛋白的潜在抑制剂，以解决当前缺乏特异性抗猴痘药物的问题．采用分子对接、分子动力学模拟与分子力学/泊松-玻尔兹曼表面积（MM/PBSA）结合自由能计算等方法，从ZINC数据库9803个小分子中筛选出6个与A42R具有良好结合能力的候选化合物．其中，带两个负电荷的ZINC000000538152结合能力最强（−236.3 kJ/mol），其与A42R蛋白中富含精氨酸的结构域形成多个盐桥、氢键和π-阳离子相互作用，显著增强了结合稳定性．此外，ZINC000003935130虽为中性分子，但通过强范德华作用实现了次高结合强度（−102.7 kJ/mol），大于另外3个带一个负电荷的化合物．结论表明，这6个化合物都是极具潜力的、可被再利用为A42R抑制剂的候选物，因为它们的存在阻断了A42R与肌动蛋白或磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸（PIP2）的结合，从而抑制病毒扩散．

关键词　猴痘病毒；A42R 蛋白；药物再利用；阻断机制；分子动力学
中图分类号　O641　　**文献标志码**　A　　doi：10.7503/cjcu20250317

Targeting Monkeypox A42R for Drug Screening and Repurposing: A Computational Study of Binding Mechanisms

FAN Xiang, LIU Zijian, JIA Mengke, AI Hongqi*
(*School of Chemistry and Chemical Engineering*, *University of Jinan*, *Jinan* 250022, *China*)

Abstract　The purpose of this study is to screen potential inhibitors targeting monkeypox virus A42R protein through drug reuse strategy to solve the current lack of specific anti-monkeypox drugs. Six candidate compounds with good binding ability to A42R were screened from 9803 small molecules in the ZINC database by molecular docking, molecular dynamics simulation and MM/PBSA (molecular mechanics/Poisson-Boltzmann surface area) binding free energy calculation. Among them, ZINC000000538152 with two negative charges has the strongest binding ability (−236.3 kJ/mol). It forms multiple salt bridges, hydrogen bonds and π-cation interactions with the arginine-rich domain of the A42R protein, which significantly enhances the binding stability. In addition, although ZINC000003935130 is a neutral molecule, it achieves a sub-high binding strength (−102.7 kJ/mol) through strong van der Waals interaction, which is greater than the other three compounds with a negative charge. The conclusion shows that these six compounds are highly potential and can be reused as candidates for A42R inhibitors, because their presence blocks the binding of A42R to actin or phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate (PIP2), thereby inhibiting virus spread. This study provides new ideas for the development of monkeypox virus drugs.

Keywords　Monkeypox virus; A42R protein; Drug repurposing; Blocking mechanism; Molecular dynamics

收稿日期：2025-10-28. 网络首发日期：2026-01-16.
联系人简介：艾洪奇，男，博士，教授，主要从事生化及材料分子结构性质的计算机模拟与设计方面的研究．
E-mail：chm_aihq@ujn.edu.cn
基金项目：山东省自然科学基金（批准号：ZR2022MB073）资助．
Supported by the Shandong Provincial Natural Science Foundation, China(No.ZR2022MB073).

猴痘病毒(MPXV)第一次感染人类病例是在刚果，2024年8月14日，再次因发生大规模的传播和感染造成多人死亡[1]被世界卫生组织(WHO)宣布为突发公共卫生事件．最近两年间WHO的数据显示，感染MPXV患者达到117606例．最新出现在我国的MPXV病例是2025年1月9日．感染MPXV以后，96%的患者患有皮疹，并有发热、瘙痒、头痛、肌肉疼痛、咳嗽喉咙痛和淋巴结肿大等常见症状．还可能引起并发症，严重时亦可导致死亡．目前，有关MPXV蛋白的研究已受到广泛关注．2022年，Satchell等[2]解析出了MPXV A42R蛋白，并推测A42R蛋白与肌动蛋白以及细胞膜上的PIP2能发生相互作用，发现与磷脂酰肌醇脂质相互作用的蛋白表面集中在114Arg，115Arg，119Arg和129Arg 4个精氨酸残基所形成的正电荷富集区．2023年1月，Gao等[3]解析出与MPXV DNA复合的聚合酶的结构．同年，Zhang等[4]进一步解析出在DNA复制过程中发挥着重要作用的不含DNA的MPXV聚合酶结构．但靶向这种大分子的治疗会存在耐药性的突变等问题[5]．2024年，Gan等[6]解析并发现猴痘体外解旋酶E5蛋白的自抑制现象，但体内如何产生作用尚不可知．2025年，Zhou等[7]确定了MPXV F10的高分辨率结构，F10蛋白属于RNAP(RNA聚合酶)的一部分，起到提高RNAP复合物稳定性的作用．这些蛋白结构的解析，为后期人们开发治疗药物提供了靶标．

现在有两种经美国药品与食品管理局(FDA)批准的药物：Tecovirimat[8]和Brincidofovir[9]被临时用于治疗猴痘，二者最初是用来治疗天花病毒的，而非专门用于治疗MPXV疾病的药物．但是对400多名志愿者使用Tecovirimat的效果显示，一半人员有些轻微的副作用，如头晕、恶心、腹泻和乏力等[10]．Brincidofivor的缺点是会导致中毒的肠胃不适以及肝损伤，这些毒性在临床和动物毒理学研究中均有发现[9]．所以，迫切需要开发靶向MPXV的专用药物．

为了解决MPXV缺乏针对性药物的问题，本文使用药物再利用的方法来发现可能有潜在抑制MPXV的药物．传统方法开发靶向MPXV药物往往时间长、成本高，并且所有临床数据都需从头开始评估．如Chu等[11]改进合成了D-环戊烯基核苷的关键中间体l-环戊烯-2-酮，并在两种上皮细胞进行实验测试对抗MPXV是否具有活性，如有活性，还需进一步在动物以及人体中进行临床试验．而采用药物再利用的方法具有风险低，开发时间短以及投资少等优点，极大缩短了研发周期，可帮助发现许多具有临床意义的、可以治疗其它疾病的化合物[12]．如阿司匹林曾经用于镇痛，如今发现还可以用于结肠直肠癌的治疗，酮康唑之前用于治疗真菌感染，现在也被用于治疗皮质醇增多症[13]．受此启发，Sharma等[14]使用50个姜黄素的衍生物对MPXV A42R蛋白进行虚拟筛选，姜黄素具有抗炎、抗氧化性等特性，筛选发现12个衍生物小分子可作为MPXV治疗的潜在药物．Moro等[15]选择一种负责切割新月形膜结构的蛋白I7L作为靶标，对Drugbank中的11614种小分子进行了筛选，最终得到14个化合物，为调节I7L蛋白酶变构提出了更多的可能．2024年，Prusty等[16]选择1615种药物靶向3种MPXV蛋白，分别为p37蛋白、拓扑异构酶1和胸苷酸激酶进行虚拟筛选，得到15个抑制这3种病毒靶标的药物．

选择A42R蛋白作为靶点，源于A42R是痘病毒中唯一具有已知结构的类抑制蛋白[17]，此外，A42R在正痘病毒中高度保守，与VARV(天花病毒)、CPXV(牛痘病毒)、VACV(痘苗病毒)和CMLV(骆驼痘病毒)具有97%以上的同源比例[2]，更重要的是，在MPXV中构成精氨酸斑的3个精氨酸残基，在其它正痘病毒蛋白中也高度保守——仅臭鼬痘病毒(SKPV)病毒例外，其第119位精氨酸被天冬酰胺残基取代．而精氨酸斑处的3个114Arg，115Arg和119Arg，正是连接PIP2-A42R相互作用的桥梁[18]．MPXV利用与脂质的相互作用来帮助病毒包裹，从而促进其与细胞膜的有效融合[19,20]．A42R蛋白还通过弱结合肌动蛋白影响病毒向临近细胞传播从而在膜运动以及细胞运动中发挥重要作用[21]．这些潜在功能因素表明，任何对它们相互作用的干预都可实现对病毒侵袭的阻断，而A42R蛋白结构正可以作为正痘病毒属内有效的同源代表性结构[2]．同时，选取ZINC化合物库[22]作为潜在药物来源，因为Prusty等[16]曾从ZINC库1615个FDA药物中筛选出3个抑制p37、拓扑异构酶1和胸苷酸激酶3种病毒蛋白的潜在药物．本文拟扩大筛选范围为9803个小分子，不仅包含上面提到的1615个FDA药物，还包含4288个World-Not-FDA(已成药但未经FDA批准)批准的药物，以及3900种仅处于实验的化合物，以便发现能够靶向A42R的候选药物并探讨其作用机制．

1 实验部分

选取A42R(Pdb ID：4QWO[2])蛋白以及ZINC[22]数据库中9803个小分子，采用CASTp3.0server[23]对蛋白进行活性位点预测，随后选用Autodock vina[24]对蛋白与小分子进行刚性对接，筛选的结果见图S1(本文支持信息)，得到结合能≤-39.7 kJ/mol的小分子．再对其中处于试验阶段的药物按是否符合Lipinski′s Rule和Veber′s Rule[25]判断是否符合类药性原则[26]，将得到的试验药物与成药药物与蛋白进行半柔性对接．得到结合能≤-25.1 kJ/mol[14]的小分子后，使用Charmm-gui[27]平台对它们和蛋白的复合物进行建模及Gromcas[27]模拟．对模拟平衡的体系进行性能分析、MM/PBSA结合能[28]计算及ADMET(吸收、分布、代谢、排泄和毒性)预测[29]．具体细节见本文支持信息．

2 结果与讨论

2.1 复合物构象稳定性分析

上述筛选中第一步刚性对接得到56个符合结合能要求的小分子，包括14个药物和42个处于试验阶段的药物．第二步得到18个满足规则的试验药物，再加上14个成药药物共计得到32个小分子，第三步得到14个小分子进行体系构建和分子动力学(MD)模拟，三步筛选过程的数据列于表S1(见本文支持信息)．MD模拟是用于研究蛋白质结合口袋中小分子的构象变化的有效手段[30,31]，经模拟后发现达到平衡后小分子依然处在预测口袋中的有6个，剩余8个体系的小分子处于口袋外(图S2，见本文支持信息)，不做分析．这6个小分子分别为来源于FDA的ZINC000001539579和World-Not-FDA的ZINC000003935130，ZINC000261494554，ZINC000000538152，ZINC000005497532，以及仅处于实验阶段的化合物ZINC000001539348．为方便起见，取这6个小分子Z+后四位数字简化命名，如Z9579取代上面的第一个小分子．它们与蛋白结合形成的复合物，取蛋白名称A42R首字母A及小分子的简称，分别命名为AZ8152，Z9348，AZ4554，AZ9579，AZ7532，AZ5130.

由于RMSD(均方根偏差)的波动与蛋白质骨架的变化有关，所以通过模拟可以很好地衡量蛋白质的稳定性[32]．RMSD值越低表明结构越稳定[33]．6个复合物在300 ns的模拟期间[图1(A)]，在最后50 ns都达到了平衡(ΔRMSD<0.1 nm)，A42R的RMSD收敛于0.19 nm，结构中的A，B两链的β2消失变为loop，A链的α2出现了倾斜，loop4区域前半段残基发生了变化，其它结构无明显变动(图S3和图S4，见本文支持信息)．AZ9579中A42R的RMSD收敛于0.16 nm，小于A42R的平均RMSD，表明Z9579的结合使得整个蛋白结构更加稳定；AZ5130中蛋白收敛于0.36 nm，但在最后50 ns之间波动很小，趋于稳定，表明Z5130导致蛋白的结构发生了很大变形，整体出现了外扩[图S5(A)，见本文支持信息]．AZ8152，AZ9348，AZ4554和AZ7532分别收敛于0.26，0.21，0.25和0.22 nm.

为了更好地理解蛋白和小分子的相互作用对复合物结构的影响，尤其是A42R中残基变化受到小分子结合的影响，又计算了A42R和复合物的RMSF(均方根涨落)[图1(C)]．较高的RMSF表明残基具有较高的迁移率和柔软性，受配体影响较大[34]．除了C末端和55His外，纯A42R蛋白的残基稳定性好，起伏基本低于0.25 nm．刨除N末端(0Ala)和C末端(133Asn)残基，可以发现无论是A42R还是复合物，波动区域基本位于A和B链的α2部分残基(A链的45~53号和B链的177~185号)及loop 4前半段的一些残基(A链的54~60号和B链的186~192号残基)(图S4和图S5)．AZ9348结构非常稳定，Z9348的存在导致A42R蛋白A和B链的45~60号残基波动几乎消失[图1(C)，图S5(B)]，AZ4554中变化最大的残基为52Ile，在A链的α2，loop4前几个残基(45~55)波动较大[图S5(C)]．AZ9579的188Asn，AZ7532的187HisA以及Z8152中的190Leu残基波动最大，并且都处于loop 4区域[图S5(D~F)]，表明小分子的加入对该区域即loop 4前半段区域残基有了较大程度的扰动，尤其是Asn和Ile残基在蛋白与小分子结合后具有较高的偏离的趋势．而AZ5130中由于残基的外扩导致A42R蛋白变得松弛[R_g=2.09 nm最大，图1(B)]．

R_g(回旋半径)在评估蛋白质的稳定性、折叠和紧凑性方面是非常有效的[35,36]．对R_g进行平滑并计

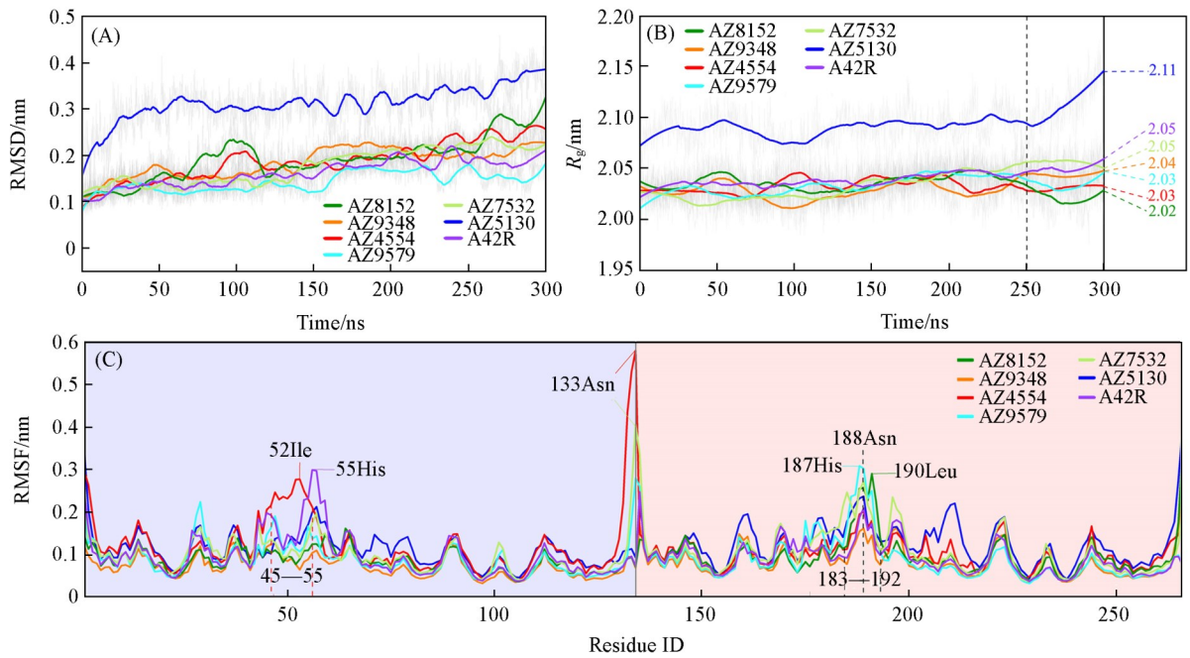


Fig. 1 RMSD results of A42R protein and A42R-ligand complex(A), the radius of gyration R_g(B) and the RMSF value of C_α atom(C)

(C) The light blue background represents the A chain, and the light red background represents the B chain, and the maximum value and residue are marked.

算了最后50 ns的平均R_g发现，A42R的平均R_g为2.05 nm，除了AZ5130的平均R_g为2.11 nm外，剩余5个复合物的平均R_g也均低于纯蛋白R_g数值，表明小分子结合以后蛋白结构更为紧凑[图1(B)]，其中结合最紧密的AZ8152平均R_g为2.02 nm，而Z5130的结合使蛋白loop区域外扩，整体结构更加松散[图S5(A)].

2.2 结合口袋中关键残基预测

A42R蛋白结构见图S6(A)cartoon结构(本文支持信息)，其中，A链为蓝色，B链为红色，口袋表面积为2.73 nm^2，体积为0.39 nm^3，构成该口袋的关键残基包括A链(蓝色)和B链(红色)的83Glu，114Arg，115Arg，118Tyr，119Arg，122Arg，123Asp[图S6(B)网格]，与Azhar和Daoud[37]团队预测的口袋一致，且与PE8小分子和A42R共结晶的pdb结构的结合位点重合[17].

2.3 结合强度以及结合能的组成分析

6个复合物的结合能数据列于表1，包含最初筛选时对接得到的结合能以及经过模拟和MM/PBSA计算得到的结合能. 在已有选择A42R蛋白为靶标的小分子虚拟筛选研究中，Azhar等[17]筛选了来自Pubchem数据库的65个化合物，预测的结合能最强的小分子为PubChem44258091(−41.4 kJ/mol)；Miller等[19]筛选了来自3个不同数据库Pubchem，TCM和AfroDb的36366个小分子，预测得到ZINC000095486204结合能最好(−34.7 kJ/mol)；Alam[38]筛选一系列植物化学抗病毒小分子，预测得到Taraxerone对接结合能最优(−45.6 kJ/mol)，本文中autodock对接以后6个小分子的结合能在−39.7~−44.8 kJ/mol之间，结合强度优于Miller团队的最佳分子而与Alam团队的相当.

Table 1 Binding energies from docking(ΔG_D) and MD(ΔG_{bind}) as well as five components of ΔG_{bind}

Complex	ΔG_D/(kJ·mol^{-1})	ΔG_{pb}/(kJ·mol^{-1})	ΔG_{nb}/(kJ·mol^{-1})	ΔE_{ele}/(kJ·mol^{-1})	ΔE_{vdW}/(kJ·mol^{-1})	$-T\Delta S$/(kJ·mol^{-1})	ΔG_{bind}/(kJ·mol^{-1})
AZ8152	−40.2	664.2	−19.3	−873.4	−92.7	85.0	−236.3
AZ5130	−41.4	60.7	−21.0	−17.8	−134.6	9.9	−102.7
AZ4554	−41.0	285.4	−21.2	−240.5	−149.2	47.5	−78.1
AZ9348	−44.8	86.9	−19.1	−59.8	−118	33.7	−76.3
AZ7532	−39.7	3.2	−15.1	−2.1	−67.2	6.3	−74.8
AZ9579	−39.7	305.7	−14.8	−282.4	−59.7	14.7	−36.4

经模拟后，松弛的蛋白与6个小分子的结合强度在-36.4~-236.3 kJ/mol范围内，Miller团队后续通过计算MM/PBSA得到的小分子ZINC000000899909结合能最强，达到-96.2 kJ/mol，而Alam团队及Daoud团队通过MM/PBSA计算得到的小分子最强结合能分别为-149.8(Anabsinthin)[38]和-106.3 kJ/mol(Salsoline衍生物)[37]. 3个团队的结合能均处在本次筛选的6个小分子的结合强度范围之内，侧面印证了本预测结果的可靠性. 其中，本研究中结合最紧密的为Z8152，达到了-236.3 kJ/mol. 该分子以及后面5个结合次强的小分子(表1)足以阻断A42R与PIP2和肌动蛋白的结合[2,39].

对复合物结合能的组成进行分析发现，极性溶剂化作用(ΔG_{pb})、静电作用(ΔE_{ele})和范德华作用(ΔE_{vdW})为主要贡献，ΔG_{nb}和$T\Delta S$的贡献较小(图S7,见本文支持信息). 对于来源于分子内部的相互作用贡献,静电相互作用在3个带负电小分子形成的复合物中贡献占主导作用(图S7)，分别为-873.4 kJ/mol(AZ8152)，-240.5 kJ/mol(AZ4554)和-282.4 kJ/mol(AZ9579)，其中，带两个负电荷的Z8152与蛋白形成的复合物AZ8152的静电贡献为后两个带一个电荷小分子复合物的3倍多，可见，带负电荷的基团对小分子与蛋白的结合贡献至关重要. 同样，带一个负电荷的Z9348的静电贡献仅为-59.8 kJ/mol，比AZ4554和AZ9579的小了4倍多，而且也仅为其范德华作用(-118 kJ/mol)的一半，可见，复合物AZ9348中，ΔE_{vdW}贡献扮演主导角色. Z5130和Z7532不带电荷，因此，其复合物AZ5130和AZ7532中，范德华贡献占主导，分别为-134.6和-67.2 kJ/mol，结合能也应更低. 但有趣的是，这两个中性小分子与蛋白的总结合强度分别排在了第2(-102.7 kJ/mol)和第5(-74.8 kJ/mol)位(表1).

2.4 蛋白配体接触界面上的作用方式及比重

通过分析平衡阶段6个小分子与蛋白之间的相互作用方式及接触占比，可以从空间接触及成键性质的角度定性解析各小分子结合强弱不同的根源. 整体来看，6个小分子主要通过与蛋白A链精氨酸115Arg，119Arg和B链247Arg，251Arg接触并产生相互作用. 而这几个精氨酸残基的接触占据了所有接触残基的前3名，精氨酸残基接触占比和分别为56.3%(AZ8152)，53.1%(AZ9348)，50.3%(AZ4554)，78%(AZ9579)，53.4%(AZ7532)和55.1%(AZ5130)，均超过了接触数量的50%，占据统治地位. 而这些精氨酸正是构成PIP2-A42R相互作用的关键残基[2]. 这些精氨酸的关键角色在结合其它小分子时同样适用，如Daoud等[37]研究发现，A42R蛋白A，B链提供小分子结合的主要残基有115Arg，118Tyr，122Arg，123Asp，247Arg，250Tyr，254Arg和255Asp；除上述残基外，Ahmed[40]和Alam[38]团队的研究发现，A42R还贡献了A和B链的114Arg，119Arg，246Arg，251Arg参与小分子的作用.

2.4.1 主要接触残基的界定及作用方式 Z8152的两个3-羟基-2-萘甲酸平面以X的形式交错[图S8(A1)和(A2)，见本文支持信息]，其中，羟基氧与A链115Arg上的N_ε上的氢和N_η上的氢形成两个氢键，与119Arg的侧链N_ε上的氢形成一个氢键，萘环连接的两个羧基氧通过正负电荷吸引与带正电荷的115Arg和119Arg形成两个盐桥，另一个平面上的萘环上的羧基与B链的251Arg形成1个盐桥. 另外，萘环平面分别与A链的115Arg与B链的247Arg的侧链形成π-cation相互作用[图S8(A1)]，这些作用共同决定了AZ8152复合物中最大的静电贡献(-873.4 kJ/mol)和最大的结合强度. 同时，与203Thr，250Tyr侧链形成疏水相互作用，这些相互作用的加成进一步保证了Z8152结合能最强.

Z9348的萘基团中的苯环与115Arg，247Arg以及251Arg的侧链形成π-cation相互作用，且末端的羧基与251Arg的侧链的氨基形成盐桥，还与248Arg形成疏水相互作用[图S8(B1)]. Z4554的亚硫酸基插入口袋[图S8(C1)]，与122Arg形成盐桥，氧与254Arg侧链的N_ε上的氢形成氢键，115Arg与小分子的环己烷基，118Tyr和250Tyr与环戊烯基均形成疏水作用[图S8(C1)]. Z9579的羧基靠近口袋，四甲基-苯并环己烷由于疏水作用远离口袋[图S8(D1)]，115Arg与苯甲酸基团的苯环形成疏水作用，与116Asp形成π-cation，苯甲酸基团的羧基与115Arg，247Arg分别形成0.347 nm，0.5 nm距离较远的弱盐桥作用. 而强极性溶剂化作用抵消了较大的静电和范德华相互作用，导致整体结合强度最弱. Z7532的环戊烷与251Arg的侧链形成疏水相互作用，两端的氧原子与122Arg，247Arg，254Arg侧链上的氨基发生氢键相互作用[图S8(E1)]. Z5130与247Arg生成两个氢键，与119Arg生成盐桥[图S8(F1)].

2.4.2 主要接触残基的贡献占比 为了进一步说明这些残基的贡献情况，计算了平衡阶段最后10 ns轨迹下6个小分子与蛋白的残基接触占比[41]（图2）. 结果发现，AZ8152复合物中Z8152与结合口袋中A链115Arg及119Arg残基接触比例分别为24.6%和14.1%，与B链247Arg，251Arg接触比例分别为17.6%和14.1%[图2(A)]，它们的和占据了超过一半的接触比重(70.4%). 正如上述分析，它们通过形成氢键和盐桥，对复合物的结合能贡献也占据前4名，分别为−164.8，−131.0，−117.2，−123.4 kJ/mol[图3(A)]，可以发现A和B链的Arg贡献基本相当.

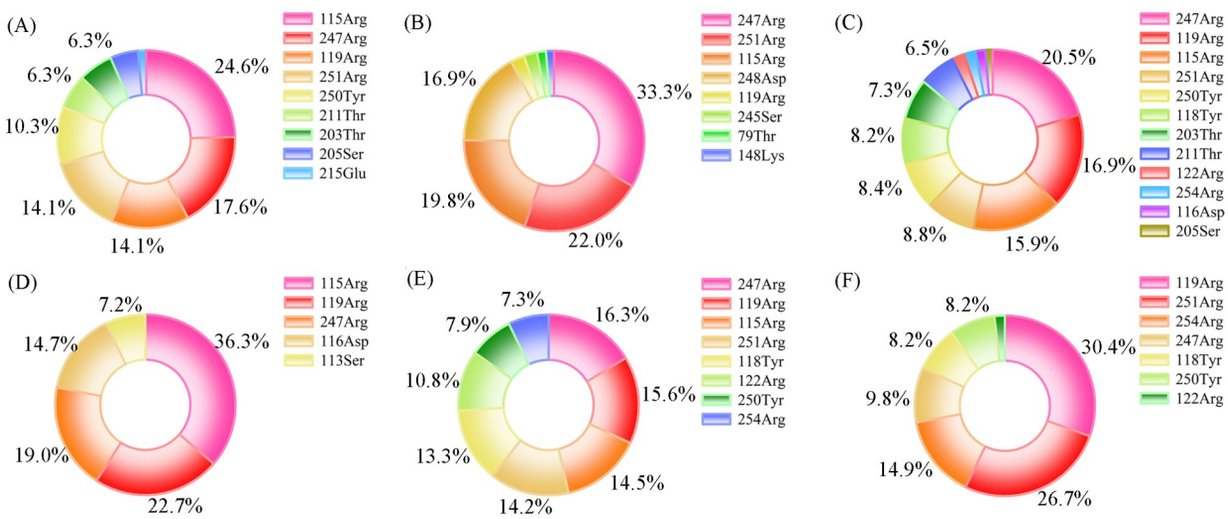


Fig. 2 Percentage of contact between small molecules and protein residues in the equilibrium phase

The distance of less than 0.35 nm between small molecules and residues is defined as a contact, (A—F) are AZ8152, AZ9348, AZ4554, AZ9579, AZ7532, AZ5130, respectively.

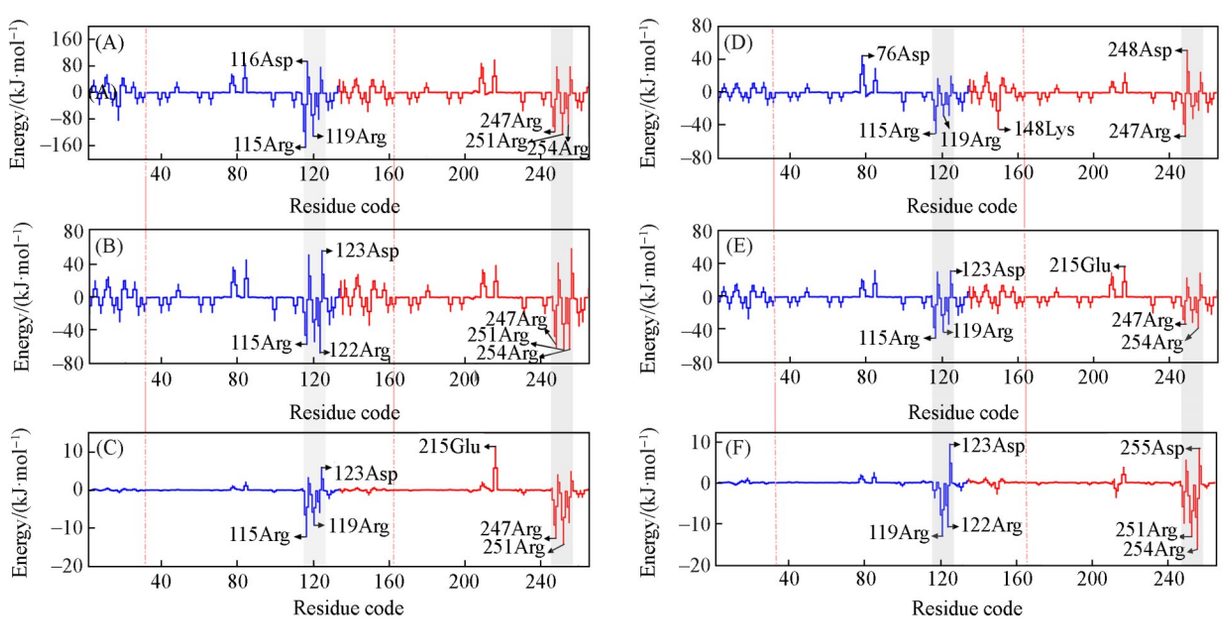


Fig. 3 Contribution of protein residues to the binding energy of the six complexes

(A—F) are AZ8152, AZ9348, AZ4554, AZ9579, AZ7532, AZ5130, respectively. The A and B chain residues are represented in blue and red, respectively. The arginine region is highlighted by a gray rectangular background. The pink dotted line is used to mark the first 0—30 residues of the A and B chains. Only the first three residues that contribute the most to the A and B chains are marked.

AZ9348复合物中Z9348与口袋中A链115Arg残基接触比例为19.8%，与B链247Arg，251Arg，248Asp接触比例分别为33.3%，22.0%和16.9%[图2(B)]，可见B链的Arg接触较多，占到了55.2%，结合能分别为−49.0，−52.7，−31.4和51.0 kJ/mol. 由于Asp带负电荷，导致Z9348与76Asp与248Asp

产生强烈的排斥作用，结合能分别为44.8和51.0 kJ/mol，削弱了复合物的稳定性．而AZ4554复合物中Z4554与多个残基进行接触，比较分散，其中，A链119Arg，115Arg，118Tyr残基接触数比例为16.9%，15.9%和8.2%，B链247Arg，251Arg，250Tyr接触比例为20.5%，8.8%和8.4%[图2(C)]，两条链的关键残基贡献相当，说明小分子在空腔的中央位置．AZ9579复合物中Z9579接触残基数少，主要是A链的115Arg(36.3%)，119Arg(22.7%)与B链的247Arg(19.0%)参与相互作用[图2(D)]，可见，A链两个Arg残基占据了主导地位(59%)，占比已经超过50%．该结果也与图3(D)的结合能贡献成正比(−48.5，−41.8，−32.2 kJ/mol)．

AZ7532复合物中Z7532与A链的119Arg，115Arg接触比例分别为15.6%和14.5%，与B链的接触比例分别为16.3%和14.2%[图2(E)]，两条链上Arg的贡献相当(30.1% *vs*. 30.5%)．AZ75130复合物中Z5130与A链119Arg残基接触比例为30.4%，与B链251Arg，254Arg，247Arg接触比例分别为26.7%，14.9%和9.8%[图2(F)]，即B链Arg残基的贡献较多，为51.4%．

总结6个小分子共同的特点就是与蛋白A，B链的总Arg接触的百分比均超过了50%，且蛋白残基接触占比中主要为115Arg(B链为247Arg)和119Arg(B链为251Arg)，表明这两个残基与小分子频繁接触．同时A，B链残基的分配也与小分子的电荷及结构密切相关，从而导致两条链上残基的贡献有所偏重．但无论如何，残基的接触数均与其结合强度正相关．

2.5 复合物中的残基对结合能的贡献

2.5.1 *复合物蛋白上残基的贡献大小与结合小分子电荷密切相关* 上述分析已经显示，蛋白上贡献值较大的残基主要集中在Arg处(即图3中两个灰色区块位置)，主要涉及到A链的115Arg，119Arg以及122Arg，B链的247Arg，251Arg和254Arg．

具体而言，由于AZ8152中小分子带两个负电荷，与周围带正电的残基形成强烈静电作用，所以导致115Arg贡献最大(−164.9 kJ/mol)．在AZ9348，AZ9579，AZ4554复合物体系中，小分子均带一个负电荷，残基贡献值基本处于−80~80 kJ/mol之间．而由于Z7532和Z5130不带电荷，因此，残基贡献值都比较小，在−20~−10 kJ/mol之间，并且由于两小分子不带电荷，因此，A和B链的前30号残基(135~164)对结合能没有贡献，与其它4个带电小分子这部分残基有贡献明显不同(图3粉色虚线左侧的位置残基)．

2.5.2 *关键残基的构象变化及对结合能的影响* 在6个配体结合后，A42R蛋白口袋发生最明显变化的是A链114Arg和115Arg残基，B链的246Arg和247Arg残基，它们侧链均发生显著扭转．其中，115Arg，247Arg因与小分子的结合而被诱导向内旋转，与配体距离更近，形成有利静电相互作用．与两个带电残基相邻的同电荷的114Arg，246Arg的侧链胍基，则随邻近主链的旋转而自然向外偏离，故该形变对结合能无贡献．

对于AZ8152复合物，其中的Z8152进一步诱导119Arg，251Arg向配体翻转，导致251Arg由“折叠”变为“拉伸”构象，其胍基与配体羧基形成盐桥，显著增强结合，与小分子保持较强的接触[图S9(A)，见本文支持信息]．与115Arg邻近的带负电荷的116Asp紧邻结合口袋，却因小分子与Arg115形成强盐桥而被拉近，反而在同电荷排斥作用下产生正贡献(ΔE>0)．值得注意的是，Z9579虽带有一个负电荷，但是结合能却最低，原因是该配体分子靠羧基端插入A42R蛋白口袋中，与A链115Arg及B链247Arg形成盐桥(ΔE_{ele}=−282.4 kJ/mol)及疏水作用(ΔE_{vdW}=−59.7 kJ/mol)[表1和图S8(D)]，导致这些残基内收[图S9(D)]，排出原先在结合口袋中的水分子，同时，配体分子的疏水基团四甲基-苯并环己基大部分暴露在水溶液中，产生大的极性溶剂化作用(ΔG_{ph}=305.7 kJ/mol)，很大程度上抵消了蛋白-配体的有利结合．而中性的Z5130结合能较大(ΔG_{bind}=−102.7 kJ/mol)的原因是其范德华作用贡献占据了主导地位(ΔE_{vdW}=−134.6 kJ/mol)，该作用主要通过结合残基119Arg和247Arg来实现，其近似球形的大小适宜结构，伴随轻微的甲基转向和调整，使得自身能完全被′内吞′在结合口袋中，产生了较强的疏水作用，却只用付出较小的溶剂化和形变损失(ΔG_{ph}=60.7，$T\Delta S$=9.9 kJ/mol)．故表现为配体-蛋白的良好结合．

2.5.3 *小分子的构象变化及对结合能的影响* RMSD轨迹显示，6个配体在结合过程中可分为“柔性

组”[图4(A~C)]与“刚性组”[图4(D~F)]. 柔性组富含可旋转键，在与蛋白结合时随蛋白构象变化诱导发生显著构象跃迁，直接影响静电与范德华贡献；刚性组构象变化相对较小[图4(D)和(F)]、甚至刚性不变[图4(E)]，对整体复合物能量贡献影响较小. 有3个配体构象变化对结合贡献影响较大，值得重点关注.

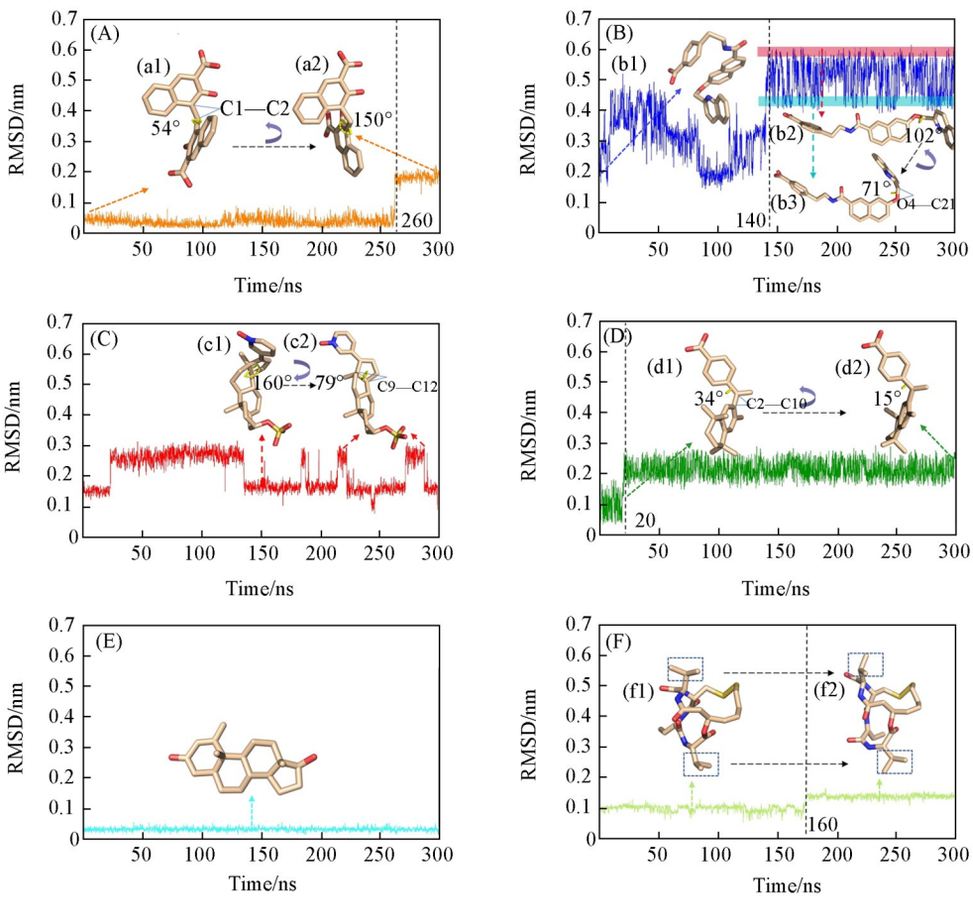


Fig. 4 Conformations of six ligands of Z8152(A), Z9348(B), Z4554(C), Z9579(D), Z7532(E) and Z5130(F) in the binding pocket change with RMSD

(*i*1) (*i*2) (*i*3) Denotes the structure of each ligand at its corresponding time point or stage. The chemical bond in the diagram indicates the angle of rotation of two adjacent groups (mainly cyclic structures) around the bond. For example, b1 in (B) is the initial state, b2 is the conformation at high RMSD in red region, and b3 is the conformation in low RMSD green region.

首先，AZ8152复合物中的Z8152，在260 ns时因与蛋白作用导致围绕C1—C2键逆时针旋转了95.2°，使3-羟基-2-萘甲酸平面二面角由54.3°变至149.5°，随后固定. 该旋转有利于小分子与蛋白的结合，使二者产生了最强的结合能，同时也导致最紧凑的复合物结构[R_g最小，2.02 nm，图1(B)]. 副作用是贡献了很大的形变能($T\Delta S$=85.0 kJ/mol)及溶剂化作用(ΔG_{pb}=664.2 kJ/mol).

AZ9348复合物中的Z9348，该配体的特征是链长较长，3个刚性的环状结构之间有若干可旋转的单键. 这些单键赋予了该分子在与蛋白空腔结合时更多的柔软性和变化性. 且溶入水后末端羧基带一个电荷使其极易被周围带正电荷的残基吸引(图S6，小分子示意图). 故其在初始接触A42R蛋白口袋时以近似U型构象存在，但随着二者的相互作用在前140 ns内持续扭转，之后虽达到动态平衡，此时苯甲酸及萘环都因与蛋白结合口袋的Arg残基结合而固定[图S8(B)]，只有喹啉环暴露溶液中围绕其O4—C21键来回近180°摆动[图4(B)]，二面角从最初的102°逆时针旋转到71.1°.

而AZ4554复合物中小分子的环戊烯甲基基团围绕着C9—C12顺时针旋转，从160°到79°，导致Z4554的结构在两个亚稳态间反复跳跃，RMSD呈持续振荡，贡献了该复合物中排名第3的溶剂化作用

(ΔG_{pb}=285.4 kJ/mol)及次强形变能($T\Delta S$=47.5 kJ/mol). Z9579之所以被归为刚性组，在于该分子与蛋白结合后很快(在22 ns)围绕着C2—C10键旋转仅19°就变得稳定，之后RMSD在(0.21±0.05) nm附近有规律(ΔRMSD<0.05)的波动. 该配体分子的特征是由苯甲酸和5-甲基-6,7-二甲基-1,2,3,4-四氢萘基团构成. 带电荷的苯甲酸基团会镶嵌在蛋白结合口袋中[图S8(D)]，而疏水的5-甲基-6,7-二甲基-1,2,3,4-四氢萘基团则完全暴露在溶液中围绕C2—C10键不停来回波动，该波动贡献的形变能并不大($T\Delta S$=14.7 kJ/mol). 大大抵消了该分子的一个净电荷基团结合贡献的静电作用，导致该复合物的整体结合强度最小(ΔG_{bind}=−36.4 kJ/mol).

2.6 ADMET预测

类药性评价的核心是通过预测化合物吸收、分布、代谢、排泄和毒性，用于提高候选化合物在临床开发中的成功率[26]. 由于另外5个小分子属于已经成药的药品，因此不需要进行ADMET预测. 只对处于实验中的Z9348小分子进行ADMET分析，发现水溶性较好，处于溶解的范围(10^{-4}~10^{-2} mol/L)[42]，同时GI absorption指数均比较高，表明作为口服药有较好的吸收度，能够被人体肠道有效吸收掉所有的化学物质，并且在毒性方面，预测结果显示Z9348在Tumorigenic方面是没有毒性的(表S2，见本文支持信息).

3 结　论

从ZINC库的9803个化合物中筛选出6个潜在的A42R蛋白抑制剂，通过综合比较和结合强度分析，推荐Z8152，Z5130，Z4554为最佳候选药物，并据此对最佳候选药物的分子结构特征给出预测：即带负电荷较多(Z8152)，或诱导蛋白结构松散(Z5130)的小分子更易与A42R的精氨酸富集区稳定结合. 同时，提出了这类小分子的抑制机制：通过竞争性阻断A42R的活性区域(即精氨酸聚集的正电表面区域)与肌动蛋白或PIP2的相互作用来抑制病毒包膜形成与细胞间扩散. 而该区域正是Satchell课题组推测的A42R与肌动蛋白和PIP2的共同结合位置. 综上所述，基于药物再利用策略，本研究为开发抗猴痘病毒药物提供了重要理论依据与结构参考，但仍需后续实验加以验证.

支持信息见http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20250317.

参　考　文　献

[1] Akingbola A., Adegbesan C. A., Adewole O., Idahor C., Odukoya T., Nwaeze E., Mayowa S., Abdullahi O., Mariaria P. K., *Trop. Med. Health*, **2025**, *53*, 47
[2] Minasov G., Inniss N. L., Shuvalova L., Anderson W. F., Satchell K. J. F., *Acta Crystallogr. Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.*, **2022**, *78*, 371—377
[3] Peng Q., Xie Y., Kuai L., Wang H., Qi J., Gao G. F., Shi Y., *Science*, **2023**, *379*, 100—105
[4] Xu Y., Wu Y., Zhang Y., Fan R., Yang Y., Li D., Zhu S., Yang B., Zhang Z., Dong C., *Cell Res.*, **2023**, *33*, 479—482
[5] Berdis A. J., *Biochemistry*, **2008**, *47*, 8253—8260
[6] Zhang W., Liu Y., Yang M., Yang J., Shao Z., Gao Y., Jiang X., Cui R., Zhang Y., Zhao X., Shao Q., Cao C., Li H., Li L., Liu H., Gao H., Gan J., *Cell Discov.*, **2024**, *10*, 67
[7] Zhao R., Zhu X. Y., Zhang J., Xie Z. Y., Hu W. S., Han Q. H., Fan J. Y., Yang Y. N., Feng B. Y., Cao J. M., Zhou X., Wang D. P., *Int. J. Biol. Macromol.*, **2025**, *284*, 138079
[8] Yang G., Pevear D. C., Davies M. H., Collett M. S., Bailey T., Rippen S., Barone L., Burns C., Rhodes G., Tohan S., Huggins J. W., Baker R. O., Buller R. L. M., Touchette E., Waller K., Schriewer J., Neyts J., DeClercq E., Jones K., Hruby D., Jordan R., *J. Virol.*, **2005**, *79*, 13139—13149
[9] Chan-Tack K., Harrington P., Bensman T., Choi S. Y., Donaldson E., O'Rear J., McMillan D., Myers L., Seaton M., Ghantous H., Cao Y., Valappil T., Birnkrant D., Struble K., *Antiviral Res.*, **2021**, *195*, 105182
[10] Grosenbach D. W., Honeychurch K., Rose E. A., Chinsangaram J., Frimm A., Maiti B., Lovejoy C., Meara I., Long P., Hruby D. E., *N. Engl. J. Med.*, **2018**, *379*, 44—58
[11] Chu C. K., Jin Y. H., Baker R. O., Huggins J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 9—12
[12] Marhöfer R. J., Oellien F., Selzer P. M., *Future Med. Chem.*, **2011**, *3*, 1011—1015
[13] Pushpakom S., Iorio F., Eyers P. A., Escott K. J., Hopper S., Wells A., Doig A., Guilliams T., Latimer J., McNamee C., Norris A.,

Sanseau P., Cavalla D., Pirmohamed M., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2019**, *18*, 41—58
[14] Akash S., Hossain A., Hossain S., Rahman M., Ahmed M. Z., Ali N., Valis M., Kuca K., Sharma R., *Front. Cell Infect. Microbiol.*, **2023**, *13*, 1157627
[15] Dodaro A., Pavan M., Moro S., *Int. J. Mol. Sci.*, **2023**, *24*, 7119
[16] Srivastava V., Naik B., Godara P., Das D., Mattaparthi V. S. K., Prusty D., *Mol. Divers.*, **2024**, *28*, 1093—1107
[17] Bajrai L. H., Alharbi A. S., El-Day M. M., Bafaraj A. G., Dwivedi V. D., Azhar E. I., *Molecules*, **2022**, *27*, 7718
[18] Machesky L. M., Cole N. B., Moss B., Pollard T. D., *Biochemistry*, **1994**, *33*, 10815—10824
[19] Ashley C. N., Broni E., Wood C. M., Okuneye T., Ojukwu M. P. T., Dong Q., Gallagher C., Miller W. A., *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **2024**, *14*, 1351737
[20] Heaton N. S., Randall G., *Trends Microbiol.*, **2011**, *19*, 368—375
[21] Blasco R., Cole N. B., Moss B., *J. Virol*, **1991**, *65*, 4598
[22] Irwin J. J., Tang K. G., Young J., Dandarchuluun C., Wong B. R., Khurelbaatar M., Moroz Y. S., Mayfield J., Sayle R. A., *J. Chem. Inf. Model.*, **2020**, *60*, 6065—6073
[23] Tian W., Chen C., Lei X., Zhao J., Liang J., *Nucleic Acids Res.*, **2018**, *46*, W363—W367
[24] Eberhardt J., Santos-Martins D., Tillack A. F., Forli S., *J. Chem. Inf. Model.*, **2021**, *61*, 3891—3898
[25] Leeson P. D., Springthorpe B., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2007**, *6*, 881—890
[26] Lipinski C. A., *Drug Discov. Today Technol.*, **2004**, *1*, 337—341
[27] Lee J., Cheng X., Swails J. M., Yeom M. S., Eastman P. K., Lemkul J. A., Wei S., Buckner J., Jeong J. C., Qi Y., Jo S., Pande V. S., Case D. A., Brooks C. L., MacKerell A. D., Klauda J. B., Im W., *J. Chem. Theory Comput.*, **2016**, *12*, 405—413
[28] Kollman P. A., Massova I., Reyes C., Kuhn B., Huo S., Chong L., Lee M., Lee T., Duan Y., Wang W., Donini O., Cieplak P., Srinivasan J., Case D. A., Cheatham T. E., *Acc. Chem. Res.*, **2000**, *33*, 889—897
[29] Daina A., Michielin O., Zoete V., *Sci. Rep.*, **2017**, *7*, 42717
[30] Hirano Y., Okimoto N., Fujita S., Taiji M., *ACS Omega*, **2021**, *6*, 17609—17620
[31] Altayb H. N., *Pharmaceuticals*, **2022**, *15*, 1129
[32] Adelusi T. I., Oyedele A. Q. K., Boyenle I. D., Ogunlana A. T., Adeyemi R. O., Ukachi C. D., Idris M. O., Olaoba O. T., Adedotun I. O., Kolawole O. E., Xiaoxing Y., Abdul-Hammed M., *Inform. Med. Unlocked*, **2022**, *29*, 100880
[33] Bell E. W., Zhang Y., *J. Cheminf.*, **2019**, *11*, 40
[34] De Vita S., Chini M. G., Bifulco G., Lauro G., *Molecules*, **2021**, *26*, 7192
[35] Lobanov M. Yu., Bogatyreva N. S., Galzitskaya O. V., *Mol. Biol.*, **2008**, *42*, 623—628
[36] Ivankov D. N., Bogatyreva N. S., Lobanov M. Y., Galzitskaya O. V., *PLoS One*, **2009**, *4*, e6476
[37] Chebaibi M., Bourhia M., Amrati F. E. Z., Slighoua M., Mssillou I., Aboul-Soud M. A. M., Khalid A., Hassani R., Bousta D., Achour S., Benhida R., Daoud R., *Front. Chem.*, **2024**, *12*, 1445606
[38] Alam S. A., *Network Model. Anal. Health Inf. Bioinf.*, **2025**, *14*, 151
[39] Gieselmann R., Kwiatkowski D. J., Janmey P. A., Witke W., *Eur. J. Biochem.*, **1995**, *229*, 621—628
[40] Banik A., Ahmed S. R., Shahid S. B., Ahmed T., Tamanna H. K., Marma H., *Adv. Virol.*, **2023**, *2023*, 9919776
[41] Chen Y., Zhan C., Li X., Pan T., Yao Y., Tan Y., Wei G., *Int. J. Biol. Macromol.*, **2024**, *256*, 128467
[42] Omidkhah N., Chamani J., Fatemi F., Hadizadeh F., Lavaee P., Ghodsi R., *J. Mol. Struct.*, **2025**, *1322*, 140334

(Ed.: Y, K, V)