源于中草药的冠状病毒3CL蛋白酶抑制剂研究现状

胡情^{1,2}, 朱广灏¹, 熊媛¹, 张雅妮¹, 张轶雯², 黄萍², 葛广波^{1*}

1. 上海中医药大学交叉科学研究院, 上海 201203;

2. 浙江省人民医院, 杭州医学院附属人民医院临床药学研究中心药学部, 杭州 310014

* 联系人, E-mail: geguangbo@dicp.ac.cn

收稿日期: 2021-11-01; 接受日期: 2022-02-23; 网络版发表日期: 2022-06-08

上海市2021年度“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项(编号: 20S21901500, 21S21900600)、浙江省医药卫生科技项目(编号: 2022495401)和青海省重点研发与转化科技合作专项(编号: 2019-HZ-819)资助

摘要 由高致病性 β -冠状病毒(如SARS-CoV-2, SARS-CoV和MERS-CoV)引发的急性呼吸道传染病仍然缺乏安全有效的药物。中草药在上述疾病的治疗中显现了独特的优势,但其效应物质和作用机制尚未被完全揭示。冠状病毒中高度保守的主蛋白酶(M^{pro} , 又称为3CL pro)是一种重要的半胱氨酸水解酶,在病毒复制过程中发挥了关键作用,是防治冠状病毒相关疾病(包括新冠肺炎等)的关键靶标。因此,抑制3CL pro 的催化活性可阻止病毒的复制。近年来,国内外大量研究发现多种中草药提取物及其化学成分如黄酮醇类、三萜类和多酚类化合物等均可抑制冠状病毒3CL pro 的活性,为抗冠状病毒药物的研发提供了新的先导化合物。本文着重围绕冠状病毒3CL pro 这一抗冠状病毒药物靶标,系统总结归纳了中药提取物及其化学成分对SARS-CoV-2 3CL pro , SARS-CoV 3CL pro 和MERS-CoV 3CL pro 的抑制效应和抑制机制,还对该领域面临的挑战和未来源于天然的抗冠状病毒药物研发等进行了展望。上述信息不仅有助于科学地诠释中药复方抗冠状病毒的效应物质和作用机制,还可为源于中药的3CL pro 抑制剂及广谱抗冠状病毒药物的研发提供新思路。

关键词 冠状病毒, 3CL pro , 中药, 天然成分, 抑制剂

1 引言

冠状病毒是一种单股正链RNA包膜病毒,分为 α 到 δ 四个家族,均可以在人与动物中广泛传播并引起各类疾病。通常来说,呼吸系统感染是一种主要由冠状病毒感染引起的人类疾病,其中包括严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)。然而在过去10年中,三种 β -冠状病毒(如SARS-CoV-2, SARS-CoV和MERS-CoV)引起的急性呼吸道传染病在

全球爆发。其中, SARS-CoV和MERS-CoV引起的疾病死亡率高达10%和35%^[1,2]。目前,由SARS-CoV-2引起的病毒性肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)已成为国际关注的突发公共卫生事件^[3-5],但依旧缺乏治疗COVID-19的特效药,已造成全球累计确诊人数超过两亿人,夺走五百多万人的生命(<https://covid19.who.int/>),给公众健康、全球经济和社会稳定带来了巨大的负面影响。

SARS-CoV-2, SARS-CoV和MERS-CoV均属于 β -

引用格式: 胡情, 朱广灏, 熊媛, 等. 源于中草药的冠状病毒3CL蛋白酶抑制剂研究现状. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 873–893

Hu Q, Zhu G H, Xiong Y, et al. Recent advances in 3CL pro inhibitors from Chinese herbs (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 873–893, doi: 10.1360/SSV-2021-0394

冠状病毒^[6-8]。在冠状病毒基因组5'端有两个非结构蛋白的大型可读框(ORF1a和ORF1b), 其编码参与病毒RNA转录和复制的多功能蛋白。在冠状病毒感染宿主的过程中, 病毒复制所必需的酶——主蛋白酶(M^{pro}, 又称为3CL^{pro})是一类半胱氨酸水解酶, 能够在病毒中的多个位点切割多蛋白体, 生成多个有活性的功能蛋白。3CL^{pro}序列在冠状病毒中高度保守, 对冠状病毒的正常功能至关重要^[9-11], 是目前广谱抗冠状病毒药物研发的关键靶标之一^[12-18]。

众所周知, 中医药在此次抗击COVID-19中发挥了重要作用, 涌现出了以“三方三药”为代表的有效方剂, 这是在数千年与瘟疫的对抗中传承下来的结果^[19-24]。近年来, 研究发现有很多中草药提取物及其主要成分对SARS-CoV-2 3CL^{pro}和SARS-CoV 3CL^{pro}具有很好的抑制作用。这也提示从中草药中开发强效且安全的3CL^{pro}抑制剂, 对于广谱抗冠状病毒候选药物的开发具有重要价值与意义。本文从冠状病毒3CL^{pro}的结构功能出发, 综述了中药提取物及其化学成分抗冠状病毒3CL^{pro}的研究进展, 不仅有助于科学诠释中药复方抗冠状病毒的效应物质和作用机制, 同时也为源于天然候选药物的设计与开发提供参考。

2 冠状病毒3CL^{pro}的结构与功能

3CL^{pro}因 I 和 II 结构域(residues 1~184)组成了胰凝乳蛋白样结构域而得名, 也因其蛋白转录复制中起到的重要调控作用被命名为主蛋白酶(3CL^{pro})^[14,25]。3CL^{pro}的活性形式为二聚体, 每个3CL^{pro}单体由结构域 I, II 和 III 组成(图1)^[26]。SARS-CoV 3CL^{pro}

的 I 和 II 结构域通过residues 185~200连接C端的 α 螺旋结构域III (residues 201~303), 其中N端的指状结构域(residues 1~7)和C端结构域(residues 304~306)都被证明具有调控蛋白二聚体形成的作用^[27-30]。通过测定3CL^{pro}二聚体的解离常数, 发现MERS-CoV 3CL^{pro}二聚化能力比其他类型的冠状病毒3CL^{pro}低78~130倍, 因为其形成关键二聚体作用的Val4和Met298只能形成微弱的疏水作用, 而在SARS-CoV 3CL^{pro}和SARS-CoV-2 3CL^{pro}中Arg4, Arg298和Arg290可以形成强烈的盐桥作用, 但是结合底物后MERS-CoV 3CL^{pro}的二聚体稳定性可以提高6.66倍^[29,30]。

3CL^{pro}在 I 和 II 结构域间的S1区含有独特的半胱氨酸和组氨酸组成的催化二联体(Cys145/148-His41 dyad)^[9,31,32]。3CL^{pro}独特的催化二联体不同于丝氨酸蛋白水解酶的催化三联体是源于3CL^{pro}特殊的自切割的表达模式, 在多聚蛋白中3CL^{pro}的单体会先自切割邻近的3CL^{pro}单体的N端或者C端, 再与切割下的游离单体组装成水解活性更强的二聚体, 从而对周围更多的多聚蛋白进行切割加工^[31]。突变体实验结果证明, 如果将催化二联体中的半胱氨酸替换为丝氨酸, 会导致自切割过程中丝氨酸与C端的谷氨酰胺(Gln306)形成共价复合物, 阻碍催化反应^[26]。

3CL^{pro}的催化位点由多个亚口袋组成, 其中S1~S5是较多被讨论的亚口袋, 与亚口袋对应的结合基团被命名为P1~P5^[15,33]。5个亚口袋对不同基团具有偏好性, 已有报道根据亚口袋偏好性设计的多个抑制剂^[34,35]。以SARS-CoV 3CL^{pro}为例, S1区(His163, Glu166, Cys145, Gly143, His172, Phe140)的His163和Glu166偏好谷氨酰胺, S2区(Cys145, His41, Thr25)偏好较小的

图1 SARS-CoV-2 3CL^{pro}(红色, 6XHU), SARS-CoV 3CL^{pro}(蓝色, 1UJ1)和MERS-CoV 3CL^{pro}(白色, 4RSP)的同源二聚体结构(A), 活性口袋(亚口袋S1~S5)结构(B), 以及3CL^{pro}催化空腔中的关键氨基酸(C)

Figure 1 A: Overall homodimer structures of SARS-CoV-2 3CL^{pro} (Red, 6XHU), SARS-CoV 3CL^{pro} (Blue, 1UJ1) and MERS-CoV 3CL^{pro} (White, 4RSP); B: surface representation and catalytic pocket (sub-pockets: S1-S5) of 3CL^{pro}; C: the key amino acid of 3CL^{pro} catalytic cavity

疏水性的亮氨酸, S4区(Met165, Glu166)和S5(Gln189, Met165, Glu166)易结合较大疏水性的丝氨酸^[29,35,36]. S3(Met165, Met49, His41)是浅表暴露于溶剂中的口袋, 其不利于结合基团^[35]. S1区域主要由氨基酸143~145/148组成的氧负离子洞, 谷氨酸和组氨酸组成底部, 苯丙氨酸和组氨酸组成的口袋侧壁, 可以与同源二聚体N端的指状结构首位的丝氨酸和同源二聚体的C端区域(303~306)结合, 形成稳定的活性口袋侧壁^[37,38]. S2区边缘的氨基酸(residues 44~50)组成了可被底物诱导契合的高灵活性的盖状结构, 共晶技术发现SARS-CoV-2 3CL^{pro}的S2边缘结构中埋有电负性的Cys38和Cys44, 其中Cys44被认为是一个高度活性的氨基酸^[34,39]. S4区和S5区是表面布满疏水性氨基酸的亚口袋, 可以特异性结合丝氨酸、亮氨酸等具有大分子量的疏水性基团^[36].

表1列出了SARS-CoV-2 3CL^{pro}, SARS-CoV 3CL^{pro}和MERS-CoV 3CL^{pro}的分子特性. 其中, 3CL^{pro}的催化氨基酸是Cys145/148和His41, 不存在第三个催化氨基酸, 这在多篇晶体结构分析的文献中已得到证实^[32,39,40]. Cys145/148得益于形成的氧负离子洞和稳定的去质子化的巯基, 可以特异地稳定并结合进攻谷氨酰胺主链的羰基碳原子^[15]. His41通过接受Cys145/148的质子而被质子化, 形成具有催化活性的电正性咪唑基团, 可以质子化催化底物半缩酮的氧原子, 当催化反应完成后, 去质子化的组氨酸可以通过一个稳定的水分子来接受Asp187传递的电子, 形成具有催化活性的电正性咪唑基团, 可以质子化催化底物半缩酮的氧原子, 当下一轮催化反应激活, 该水分子通过氢键网络结合His164/Gln167, His41和Asp187/190在活性位点内部稳定存在^[41~43].

3 中药提取物对3CL^{pro}的抑制作用

自2003年抗击SARS-CoV以来, 尤其是此次新冠肺炎的治疗中, 许多中药提取物及其组方制剂的抗病毒作用已在临床实践中反复证实, 如黄芩、清肺排毒汤、连花清瘟颗粒等^[44~46]. 这也提示着中草药中的某些活性成分能通过靶向冠状病毒的关键靶标, 从而阻碍病毒的复制和增殖过程. 为了揭示中草药的抗病毒机制并为新型的抗病毒药物的开发提供科学依据, 越来越多的研究表明, 许多中药提取物及其化学成分显示出对3CL^{pro}较好的抑制作用. 表2总结了多种中草药提取物对3CL^{pro}的抑制作用, 特别是黄芩、藤茶、银杏叶、诃子、茶等提取物对3CL^{pro}具有显著的抑制作用^[47~59]. 尽管SARS-CoV 3CL^{pro}与SARS-CoV-2 3CL^{pro}的序列相似性较高, 但一些中草药(如绿茶、黑茶)表现出对SARS-CoV-2 3CL^{pro}更强的抑制作用. 当前为高效快速地发现强效3CL^{pro}抑制剂, 研究员们根据3CL^{pro}的功能特点, 设计并合成了基于荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)原理的荧光探针, 即在一段多肽两端分别连接荧光猝灭对(如Dabcyl和Edans), 该探针可被3CL^{pro}特异性识别与剪切, 借助酶标仪、荧光液相等仪器检测产物的荧光来评价酶的活性^[60]. 值得注意的是, 由于3CL^{pro}的催化口袋在冠状病毒中高度保守, 这类荧光底物可以同时用于SARS-CoV, SARS-CoV-2等3CL^{pro}抑制剂的高通量筛选与评价.

4 中药化学成分对冠状病毒3CL^{pro}的抑制作用

4.1 黄芩

黄芩(*Scutellaria baicalensis*)是一种用于治疗新冠

表1 SARS-CoV-2 3CL^{pro}、SARS-CoV 3CL^{pro}和MERS-CoV 3CL^{pro}的分子特征^[29,35,36,41~43]

Table 1 Molecular properties of 3CL^{pro} from SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV ^[29,35,36,41~43]

属性	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	SARS-CoV 3CL ^{pro}	MERS-CoV 3CL ^{pro}
分子量(kDa)	34	34	34
等电点	6.0	6.2	5.9
最适pH	7.5	7.0	7.0~8.0
长度(氨基酸数量)	306	306	306
单体或多聚体	二聚体	二聚体	二聚体
催化活性关键氨基酸	His41, Cys145	His41, Cys145	His41, Cys148

表 2 中药提取物对冠状病毒3CL^{pro}的抑制作用

Table 2 The inhibitory effects of herbal extracts against various 3CL^{pro}

中药	底物或酶活检测方法	靶酶	IC ₅₀ (μg/mL)	抑制率(%)	参考文献
黄芩	TSAVLG-pNA	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	8.52	–	[47]
双黄连制剂	MCA-AVLQSGFR-Lys (Dnp)-Lys-NH2	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	10.0	–	[48]
黑茶	Casein	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	–	100 (100 μg/mL)	[49]
绿茶	Casein	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	8.9	100 (100 μg/mL)	
诃子	Casein	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	8.8	100 (100 μg/mL)	
甘草	Casein	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	–	40 (100 μg/mL)	
银杏	DabcyI-KNSTLQSGLRKE-Edans	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	6.68	75 (100 μg/mL)	[50]
藤茶	DabcyI-KNSTLQSGLRKE-Edans	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	3.44	100 (100 μg/mL)	[51]
黄连	DabcyI-KNSTLQSGLRKE-Edans	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	–	70 (100 μg/mL)	
枇杷	DabcyI-KNSTLQSGLRKE-Edans	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	–	65 (100 μg/mL)	
姜黄	MBP-tagged (SARS-CoV-2 3CL ^{pro}) Assay Kit	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	15.74	100 (500 μg/mL)	
黑芥	MBP-tagged (SARS-CoV-2 3CL ^{pro}) Assay Kit	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	128.1	91.6 (500 μg/mL)	[52]
野生箭生菜	MBP-tagged (SARS-CoV-2 3CL ^{pro}) Assay Kit	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	257.4	85.1(500 μg/mL)	
芹菜	MBP-tagged (SARS-CoV-2 3CL ^{pro}) Assay Kit	SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	–	62.0 (500 μg/mL)	[53]
板蓝根	ELISA	SARS-CoV 3CL ^{pro}	53.8	–	
丹参	DabcyI-KNSTLQSGLRKE-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	–	60 (30 μg/mL)	
当归	DabcyI-KTSAVLQSGFRKME-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	–	70 (30 μg/mL)	
雷公藤	DabcyI-KNSTLQSGLRKE-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	–	>70 (30 μg/mL)	[56]
日本榧树	DabcyI-KNSTLQSGLRKE-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	–	62 (100 μg/mL)	[57]
乌龙茶	DabcyI-KTSAVLQSGFRKME-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	125	–	[58]
绿茶	DabcyI-KTSAVLQSGFRKME-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	125	–	
普洱茶	DabcyI-KTSAVLQSGFRKME-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	75	–	
黑茶	DabcyI-KTSAVLQSGFRKME-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	25	–	
狗脊	DabcyI-KTSAVLQSGFRKME-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	39	–	[59]
桑寄生	DabcyI-KTSAVLQSGFRKME-Edans	SARS-CoV 3CL ^{pro}	44	–	

肺炎有效方剂中的常见中药,具有清热、抗炎、抗肿瘤、抗感染和抗病毒等多种药理作用。黄芩中主要的活性成分为黄酮类化合物,如黄芩素、汉黄芩素、黄芩苷等^[61~63]。Liu等人^[47]发现黄芩中的主要成分黄芩素(**1**)表现出最强的抑制活性(IC₅₀=0.39 μM)。与此同时,Su等人^[48]在对双黄连制剂(包括口服液及注射用冻干粉)的抗病毒活性研究中,发现黄芩素(**1**)、黄芩苷(**2**)和野黄芩素(**3**)对SARS-CoV-2 3CL^{pro}的活性有一定的抑制作用(图2和表3, IC₅₀<10 μmol L⁻¹)^[64~85]。共晶结果表明,黄芩素以非共价方式与SARS-CoV-2 3CL^{pro}的活性口袋相结合,能够有效地防止底物接触活性位点内的催化中心。上述结果不仅揭示了黄芩及其成分

显示出良好的体外抗病毒活性,同时也提示黄酮类成分可作为开发SARS-CoV-2 3CL^{pro}的广谱抗病毒药物的先导分子。

4.2 连翘

连翘(*Forsythia suspensa*)为木犀科植物连翘的干燥果实,具有清热解毒、消肿散结、抗菌抗病毒等作用,有“疮家圣药”之美誉。连翘的主要化学成分为木脂素类、黄酮类、三萜类及苯乙烷类衍生物^[86,87]。Su等人^[48]对双黄连制剂中连翘的主要成分(图3和表3,化合物**4~9**)进行了SARS-CoV-2 3CL^{pro}体外抑制活性的研究,连翘酯苷A(**4**)、连翘酯苷B(**5**)、连翘酯苷E

图 2 黄芩中天然SARS-CoV-2 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 2 Chemical structures of natural SARS-CoV-2 3CL^{pro} inhibitors from *Scutellaria baicalensis*

图 3 连翘中天然SARS-CoV-2 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 3 Chemical structures of natural SARS-CoV-2 3CL^{pro} inhibitors from *Forsythia suspensa*

(6)、连翘酯苷H(7)、连翘酯苷I(8)以及异连翘酯苷(9)均表现出一定的抑制活性(IC_{50} 值为2.88~10.17 $\mu\text{mol L}^{-1}$), 其中连翘酯苷B(4)抑制效果最佳, IC_{50} 可达2.88 $\mu\text{mol L}^{-1}$. 上述研究为连翘提取物防治COVID-19的临床应用提供科学依据。

4.3 银杏叶

银杏叶(*Folium ginkgo*)是银杏科植物银杏*Ginkgo biloba* L.的干燥叶, 营养成分丰富, 药用历史悠久, 具有敛肺平喘、活血化淤、止痛的功效, 在植物药、膳食补充剂的新兴原料等多个领域受到研究者的青睐。银杏叶提取物发挥独特药理作用的主要成分是银杏萜内酯和黄酮类成分, 据现代药理学研究其具有抗氧

化、降血脂、改善微循环、抗菌和抗病毒等作用^[88,89]。Xiong等人^[50]发现银杏叶中黄酮类化合物(图4和表3, 化合物10~19)和银杏酸(20~23)对SARS-CoV-2 3CL^{pro}有显著的抑制作用。进一步抑制动力学的研究表明, 银杏酸C15:0(21)、银杏酸C17:1(23)和金松双黄酮(15)是SARS-CoV-2 3CL^{pro}的混合性抑制剂, 其中抑制常数(K_i)分别为0.73, 1.02和2.96 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 。分子对接模拟结果显示, 上述三种天然成分可以很好地对接到SARS-CoV-2 3CL^{pro}两个可成药口袋(V位点和催化位点)。综上所述, 这项研究揭示了银杏叶提取物中抑制SARS-CoV-2 3CL^{pro}的活性成分, 这为开发治疗COVID-19或其他冠状病毒的新型3CL^{pro}抑制剂提供了几种有前景的先导化合物。

表 3 中草药中的化学成分对冠状病毒3CL^{pro}的抑制作用

Table 3 The inhibitory effects of herbal constituents against various 3CL^{pro}

中药	编号	化学成分	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)			参考文献
			SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	SARS-CoV 3CL ^{pro}	MERS-CoV 3CL ^{pro}	
黄芩	1	黄芩素	0.39	—	—	[47]
	2	黄芩苷	6.41	—	—	
	3	野黄芩素	3.02	—	—	
连翘	4	连翘酯苷A	3.18	—	—	[48]
	5	连翘酯苷B	2.88	—	—	
	6	连翘酯苷E	6.68	—	—	
	7	连翘酯苷H	10.17	—	—	
	8	连翘酯苷I	5.47	—	—	
	9	异连翘酯苷	5.85	—	—	
银杏	10	芫花素	10.62	—	—	[50,57,64]
	11	槲皮素	12.65	52.7	34.8	
	12	异鼠李素	31.59	—	—	
	13	木犀草素	74.86	20.2	—	
	14	芹菜素	84.94	280.8	—	
	15	金松双黄酮	1.09	38.4	—	
	16	银杏双黄酮	2.98	32.0	—	
	17	穗花杉双黄酮	8.65	8.3	—	
	18	白果素	11.19	72.3	—	
	19	异银杏双黄酮	2.33	—	—	
	20	银杏酸 C13:0	3.57	—	—	
	21	银杏酸 C15:0	0.70	—	—	
	22	银杏酸 C15:1	3.45	—	—	
	23	银杏酸 C17:1	1.19	—	—	
茶	24	单宁酸	13.4	3	—	[58,65~70]
	25	3-异茶黄素-3-没食子酸酯	—	7	—	
	26	茶黄素-3,3'-双没食子酸酯	—	9.5	—	
	27	茶黄素	8.44 μg/mL	56	—	
	28	表没食子儿茶素-3-没食子酸酯	7.58 μg/mL	73	—	
	29	没食子儿茶素-3-没食子酸酯	—	47	—	
	30	(-)-表儿茶素3-O-咖啡酸酯	1.58	—	—	
	31	酯型吡咯烷酮C和D	0.90	—	—	
虎杖	32	虎杖苷	18.66	—	14.6	[71]
	33	白藜芦醇	29.81	—	16.35	
丹参	34	二氢丹参酮 I	—	14.4	—	[54]
	35	丹参酮 II B	—	24.8	—	
	36	丹参酸甲酯	—	21.1	—	
	37	丹参酮 I	—	38.7	—	
	38	丹参新酮	—	21.1	—	
	39	丹参酮 II A	—	89.1	—	

(表3续1)

中药	编号	化学成分	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)			参考文献
			SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	SARS-CoV 3CL ^{pro}	MERS-CoV 3CL ^{pro}	
当归	40	异补骨脂查尔酮	—	39.4	35.85	[55,72]
	41	4-羟基德里辛	—	81.4	—	
	42	黄当归酚	—	38.4	—	
	43	黄当归酚 F	—	34.1	—	
	44	黄当归酚 D	—	26.6	—	
	45	黄当归酚 E	—	11.4	—	
	46	黄当归酚 B	—	22.2	—	
	47	黄当归酚 G	—	129.8	—	
	48	Xanthokeistal A	—	44.1	—	
腔昆布	49	Triphloretol A	—	164.7	—	[73]
	50	鹅掌菜酚	—	8.8	—	
	51	Dioxinodehydroeckol	—	158.3	—	
	52	2-Phloroeckol	—	13.3	—	
	53	7-Phloroeckol	—	42.1	—	
	54	Fucodiphloroethol G	—	22.5	—	
	55	二鹅掌菜酚	—	2.7	—	
	56	Phlorofucofuroeckol A	—	16.7	—	
	57	间苯三酚	—	>200	—	
日本榧树	58	18-羟基弥罗松酚	—	220.8	—	[57]
	59	和厚朴酚	—	233.4	—	
	60	弥罗松酚	—	49.6	—	
	61	18-Oxoferruginol	—	163.2	—	
	62	O-乙酰基-18-羟基弥罗松酚	—	128.9	—	
	63	脱氢松香酸甲酯	—	207.0	—	
	64	异海松酸	—	283.5	—	
	65	Kayadiol	—	137.7	—	
雷公藤	66	雷公藤红素	—	10.3	—	[56]
	67	扁塑藤素	—	5.5	—	
	68	卫矛酮	—	9.9	—	
	69	伊圭甾醇	—	2.6	—	
板蓝根	70	靛蓝	—	300	—	[53]
	71	靛玉红	—	293	—	
	72	靛苷	—	112	—	
	73	黑芥子硫苷酸钾	—	121	—	
	74	β-谷甾醇	—	115	—	
枸树	75	Brousochalcone B	—	57.8	27.9	[64]
	76	Brousochalcone A	—	88.1	36.2	
	77	补骨脂色烯查耳酮	—	202.7	193.7	
	78	Papyriflavonol A	—	103.6	64.5	
	79	3'-(3-甲基丁烯-2-烯基)-3',4,7-三羟基黄酮	—	30.2	34.7	

(表3续2)

中药	编号	化学成分	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)			参考文献
			SARS-CoV-2 3CL ^{pro}	SARS-CoV 3CL ^{pro}	MERS-CoV 3CL ^{pro}	
构树	80	小构树醇 A	—	84.8	—	[64]
	81	小构树醇 B	—	233.3	—	
	82	构树黄烷 A	—	92.4	125.7	
	83	小构树醇 F	—	43.3	135.0	
	84	小构树醇 J	—	64.2	109.2	
藤茶	85	杨梅素	1.21	—	—	[51]
	86	二氢杨梅素	4.91	—	—	
	87	异二氢杨梅素	3.73	—	—	
	88	花旗松素	72.72	—	—	
	89	杨梅苷	14.22	—	—	
其他	90	六羟黄酮	1.27	—	—	[47]
	91	绿原酸	39.48	—	—	[48]
	92	1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖	3.66	6.89	—	[67]
	93	紫草素	1.57	7.89	5.17	[74,75]
	94	白桦脂酸	—	10	—	[76]
	95	洒维宁	—	25	—	
	96	姜黄素	—	40	—	
	97	野漆树苷	—	27.45	—	[77]
	98	大蓟苷	—	37.78	—	
	99	槲皮素-3-β-半乳糖苷	—	42.8	—	[78]
	100	维生素 K3	4.78	—	—	[79]
	101	穿心莲内酯	15.05	—	—	[80]
	102	蜡菊亭	—	—	67.04	[81]
	103	槲皮素 3-β-D-葡萄糖苷	—	—	37.03	
	104	草质素	—	33.17	40.59	[77,72]
	105	山奈酚	21.7	116.3	35.3	[64,77,81,82]
	106	芦荟大黄素	—	132	—	[53]
	107	橙皮素	—	60	—	
	108	Ugonin J	0.94	—	—	[82]
	109	3-O-甲基山奈酚	40.23	—	—	
	110	诃子鞣酸	9.09	—	—	[83]
	111	安石榴苷	4.62	—	—	
	112	银杏酸	1.79	—	—	[84]
	113	漆树酸	2.07	—	—	
	114	异甘草素	—	61.9	33.9	[85]
	115	槲皮素-β-半乳糖苷	—	128.8	68.0	

4.4 茶

茶(*Camellia sinensis*)是中国的传统饮品, 因其保健功效及特殊风味深受喜爱. 茶叶种类繁多, 常见的有

乌龙茶、黑茶、绿茶等, 其主要成分基本相似, 主要包含茶多酚、茶色素和茶多糖等. 茶叶具有一定的抗氧化、降血脂、抗压、抗焦虑及预防肝病和心血管病等

图4 银杏叶中天然SARS-CoV-2 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 4 Chemical structures of natural SARS-CoV-2 3CL^{pro} inhibitors from *Folium Ginkgo*

功效^[90,91]. Chen等人^[58]发现了茶中的多个天然多酚类化合物——单宁酸(图5和表3, 化合物24)、3-异茶黄素-3-没食子酸酯(25)、茶黄素-3,3'-双没食子酸酯(26)和茶黄素(27)对SARS-CoV 3CL^{pro}具有抑制作用, 其IC₅₀分别为3, 7, 9.5和56 μmol L⁻¹. Bello等人^[92]利用分子对接和分子动力学手段, 发现上述化合物24、25和26对SARS-CoV 3CL^{pro}和SARS-CoV-2 3CL^{pro}都具有良好的亲和力, 推测其可能是SARS-CoV-2 3CL^{pro}的候选抑制剂. 除此之外, Wang等人^[65]证实了单宁酸对SARS-CoV-2 3CL^{pro}显示出强效的抑制作用, IC₅₀值为13.4 μmol L⁻¹. Nguyen等人^[66,67]发现表没食子儿茶素-3-没食子酸酯(EGCG, 化合物28)和没食子儿茶素-3-没食子酸酯(GCG, 化合物29)对SARS-CoV 3CL^{pro}显示出良好的抑制作用, IC₅₀值分别为73和47 μmol L⁻¹, 其中GCG以竞争性方式抑制SARS-CoV 3CL^{pro}介导的水解反应(K_i=25 μmol L⁻¹). 另外, Jang等人^[68]报告了EGCG和茶黄素对SARS-CoV-2 3CL^{pro}显示出强效的抑制活性, 其IC₅₀分别为7.58和8.44 μg/mL. Du等人^[69]也报道了EGCG是SARS-CoV-2 3CL^{pro}的强效抑制剂, 其IC₅₀为0.874 μmol L⁻¹, 表面等离子共振(SPR)结果显示EGCG和3CL^{pro}之间具有良好的相互作用(KD值约为6.17 μmol L⁻¹), 表明EGCG与SARS-CoV-2 3CL^{pro}的亲和力相对较高. 与此同时, Liu等人^[70]发现茶中的

(-)-表儿茶素3-O-咖啡酸酯(30)、酯型吡咯烷酮C和D(31)和GCG(29)可强效抑制SARS-CoV-2 3CL^{pro}的催化活性, IC₅₀分别为1.58, 0.90和3.38 μmol L⁻¹. 上述结果表明, 茶中的活性成分可通过抑制冠状病毒3CL^{pro}阻断病毒核酸的复制, 这为开发出广谱抗病毒药物提供了良好的候选化合物.

4.5 虎杖

虎杖(*Polygonum cuspidatum*)是一种民间常用草药, 具有利湿退黄和清热解毒的功效, 已被报道具有抗炎和抗病毒特性^[93]. Xu等人^[71]采用荧光共振能量转移技术鉴定虎杖中的虎杖苷(图6和表3, 化合物32)和白藜芦醇(33)对SARS-CoV-2 3CL^{pro}和MERS-CoV 3CL^{pro}均有显著的抑制作用, IC₅₀值在14.6~29.81 μmol L⁻¹, 且对RD细胞具有一定的抗病毒活性. 然后进一步经SPR测定证实, 虎杖苷和白藜芦醇对SARS-CoV-2 3CL^{pro}, SARS-CoV 3CL^{pro}和MERS-CoV 3CL^{pro}具有高亲和力. 总之, 这项研究发现虎杖及其活性成分虎杖苷和白藜芦醇为治疗冠状病毒感染的潜在广谱抑制剂.

4.6 丹参

丹参(*Salvia miltiorrhiza*)是唇形科鼠尾草属的多年生草本植物, 干燥根及根茎入药, 具有活血化淤、

图5 茶叶中天然3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 5 Chemical structures of natural 3CL^{pro} inhibitors from tea

图6 虎杖中天然3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 6 Chemical structures of natural 3CL^{pro} inhibitors from *Polygonum cuspidatum*

通经止痛、凉血消痈等功效。其次, 丹参在中国、韩国、日本等亚洲国家被广泛用于治疗冠状心脏病, 特别是心绞痛和心肌梗死^[94]。丹参中主要有两类活性物质, 即亲脂性丹参酮类和亲水性丹酚酸类, 这两类化合物具有抗氧化、抗炎及抗病毒活性^[95,96]。丹参酮类化合物主要包括丹参酮 I、丹参酮 II A、丹参酮 II B

及二氢丹参酮等(图7和表3, 化合物34~39)。Park等人^[54]从丹参中分离出7种丹参酮并做了生物学评价, 研究发现丹参酮类化合物可以抑制SARS-CoV 3CL^{pro}的活性。结果显示, 二氢丹参酮 I (34)等5种化合物的抑制作用较强, IC₅₀值在14.4~38.7 μmol L⁻¹。动力学研究表明, 除了化合物36为混合型抑制剂外, 其余丹参酮类化合物对SARS-CoV 3CL^{pro}均为非竞争性抑制剂。综上所述, 这项研究揭示了丹参酮类化合物可以有效抑制SARS-CoV 3CL^{pro}, 为SARS-CoV的感染和复制提供了潜在的抑制剂。

4.7 当归

当归(*Angelica keiskei*)是“药食同源”的稀有植物, 具有提高机体免疫力、润肠通便、改善睡眠等作用。当归中含有多种化学成分, 包括查尔酮、黄酮和香豆素等, 具有抗氧化、抗高血压以及抗肿瘤等活性^[97]。Ryu等人^[56]研究发现当归提取物对SARS-CoV 3CL^{pro}具有明显的抑制作用, 随后对当归中分离得到的9个烷基化查尔酮进行了SARS-CoV 3CL^{pro}抑制效应评价

图 7 丹参中天然SARS-CoV 3CL^{pro}抑制剂的化学结构
Figure 7 Chemical structures of natural SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors from *Salvia miltiorrhiza*

(图8和表3, 化合物40~48). 结果表明, 其中8个显示出较为强效的抑制能力(IC_{50} 为11.4~44.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$), 黄当归酚D(44)的抑制作用最强. 此外, 通过与对其他蛋白酶的抑制作用相比, 化合物44对木瓜蛋白酶等半胱氨酸蛋白酶的抑制作用强于对胰蛋白酶、糜蛋白酶等丝

氨酸蛋白酶的抑制作用, 表明化合物44对半胱氨酸蛋白酶具有特异性抑制活性, 同时该化合物通过基于细胞的顺式裂解实验也显示了抑制活性. 分子对接结果表明, 化合物44与SARS-CoV 3CL^{pro}的关键氨基酸Cys145形成强烈的氢键, 进一步揭示了烷基化查尔酮对SARS-CoV 3CL^{pro}的抑制机制. 上述研究结果为SARS冠状病毒抑制剂的研究和开发提供一定的思路和解.

4.8 腔昆布

腔昆布(*Ecklonia cava*)是一种褐色海藻, 富含多酚, 被称为间苯三酚的最高来源之一, 这种抗氧化化合物是海洋植物所特有的. 现代药理学研究表明, 腔昆布具有抗菌、抗氧化、抗癌以及免疫调节等活性^[98~100]. 腔昆布含有不同生物活性的化合物, 包括类胡萝卜素、岩藻糖苷和丹宁等^[101,102]. 丹宁, 又称鞣酸类物质, 是一种具有间苯三酚单元的低聚多酚类物质, 是腔昆布的主要活性成分^[103]. Park等人^[73]首次报道了腔昆布中的丹宁类化合物在无细胞或者基于细胞的系统中竞争性地抑制SARS-CoV 3CL^{pro}(图9和表3, 化合物49~57), 其中化合物50和55表现出较为强烈的抑制

图 8 当归中天然SARS-CoV 3CL^{pro}抑制剂的化学结构
Figure 8 Chemical structures of natural SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors from *Angelica keiskei*

作用,特别是化合物**55**,由二苯醚连接的两个二酚基团,表现出最强的SARS-CoV 3CL^{pro}抑制活性($IC_{50} = 2.7 \mu\text{mol L}^{-1}$)。随后进行了基于细胞的顺式裂解实验,以确定分离的丹宁类化合物对SARS-CoV 3CL^{pro}的抑制活性。此外,通过SPR和分子对接模拟进行了蛋白-抑制剂结合亲和力分析,发现化合物**55**与SARS-CoV 3CL^{pro}的催化二联体(Cys145和His41)具有较高的结合率,并以最低的结合能与之形成强烈的氢键。

4.9 日本榧树

日本榧树(*Torreya nucifera*)是日本、朝鲜和中国特有的一种红豆杉科榧属植物,可用于治疗虫积腹

痛、小儿疳积、痔疮和类风湿性关节炎等疾病^[85]。榧树的化学成分研究主要集中在榧叶上,富含二萜类和黄酮类化合物^[104,105]。Ryu等人^[57]使用FRET方法发现榧叶的乙醇提取物表现出良好的SARS-CoV 3CL^{pro}抑制活性。进一步分离出8种二萜类化合物(图10和表3,化合物**58**~**65**)和4种双黄酮类化合物(**15**~**18**),评估发现穗花杉双黄酮(**17**)对SARS-CoV 3CL^{pro}显示出强效的抑制作用($IC_{50} < 10 \mu\text{mol L}^{-1}$),且对SARS-CoV 3CL^{pro}的抑制常数 K_i 达到了 $13.8 \mu\text{mol L}^{-1}$ 。分子对接实验结果显示,穗花杉双黄酮能够很好地对接到SARS-CoV 3CL^{pro}活性口袋中。进而与3CL^{pro}中两个位点的关键氨基酸均可形成氢键,从而产生强烈的相互作用

图9 腔昆布中天然SARS-CoV 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 9 Chemical structures of natural SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors from *Ecklonia cava*

图10 日本榧树中天然SARS-CoV 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 10 Chemical structures of natural SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors from *Torreya nucifera*

力, 揭示了双黄酮类化合物可能是开发作为针对 SARS-CoV 感染的天然治疗药物的良好候选物, 提示其在抗病毒领域有重要的研究价值。

4.10 雷公藤

雷公藤(*Tripterygium regelii*)为卫矛科藤本植物, 在中医临床上有着悠久的历史, 根部入药, 主要含生物碱类、萜类和倍半萜类等成分, 具有祛风除湿、活血通络、消肿止痛等药理活性^[106~108], 但使用不当可产生毒副作用。Ryu 等人^[56]分离评估了雷公藤中的 5 个三萜类化合物雷公藤红素(图 11 和表 3, 化合物 66)、扁蒴藤素(67)、卫矛酮(68)和伊圭甾醇(69)对 SARS-CoV 3CL^{pro}有显著的抑制作用, IC₅₀值分别为 10.3, 5.5, 9.9 和 2.6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 且均以竞争性方式抑制 SARS-CoV 3CL^{pro}介导的水解反应($K_i < 5 \mu\text{mol L}^{-1}$)。

4.11 板蓝根

板蓝根(*Isatis indigotica*)为十字花科菘蓝植物的干燥根, 是我国传统的中药材, 主要成分包含生物碱类、萘醌类和黄酮类化合物, 具有清热解毒、凉血利咽等功效。板蓝根及其复方制剂在 2003 年的 SARS-

CoV 防治期间发挥了重要作用。现代药理学表明, 板蓝根具有抗菌、抗病毒、抗内毒素、抗炎和免疫调节等功效^[109]。Lin 等人^[53]分析了板蓝根的 5 种主要化合物靛蓝(图 12 和表 3, 化合物 70)、靛玉红(71)、靛苷(72)、黑芥子硫苷酸钾(73)和 β -谷甾醇(74)对 SARS-CoV 3CL^{pro}的抑制作用均在微摩尔范围内。此外, 黑芥子硫苷酸钾与 SARS-CoV 3CL^{pro}和基于细胞裂解的 SARS-CoV 3CL^{pro}活性的影响存在很强的关联性, 且对 Vero 细胞没有毒性。因此, 上述研究提示板蓝根提取物在冠状病毒防治领域具有重要的研究价值和应用前景。

4.12 构树

构树(*Broussonetia papyrifera*)为桑科构树属多年生乔木或灌木, 分布于我国南北各地, 具有强阳性、强适应性和强抗逆性。构树不仅可用作行道树净化环境, 还可作为一种常见的宝贵药材, 受到国内外学者的关注。构树的果实(又名楮实子)、树叶、根茎、乳汁含有丰富氨基酸、生物碱类和多糖类等营养成分, 具有抗真菌、抗氧化、降血脂等广泛的药理活性^[110,111]。Park 等人^[64]从构树的根中分离出了 10 种化合物(图 13 和表 3, 化合物 75~84), 并测试了这 10 种化合物

图 11 雷公藤中天然 SARS-CoV 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 11 Chemical structures of natural SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors from *Tripterygium regelii*

图 12 板蓝根中天然 SARS-CoV 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 12 Chemical structures of natural SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors from *Isatis indigotica* root

图 13 构树中天然3CL^{pro}抑制剂的化学结构Figure 13 Chemical structures of natural 3CL^{pro} inhibitors from *Broussonetia papyrifera*

对SARS-CoV 3CL^{pro}和MERS-CoV 3CL^{pro}的抑制作用。其中化合物**79**(3'-(3-甲基丁烯-2-烯基)-3',4,7-三羟基黄酮)对SARS-CoV 3CL^{pro}和MERS-CoV 3CL^{pro}有一定的抑制作用,其IC₅₀值分别为30.2和34.7 μmol L⁻¹。上述结果可提示构树成分可能对SARS-CoV-2 3CL^{pro}也有一定的抑制作用,从而开发成潜在的广谱抗病毒候选药物。

4.13 藤茶

藤茶(*Ampelopsis grossedentata*)作为“药食同源”的中草药已有几百年的历史,其主要成分是黄酮,包括杨梅素、二氢杨梅素及花旗松素等成分^[112,113]。药理学研

究表明,藤茶具有显著的抗氧化、抗炎、抗肿瘤以及抗高血糖活性,可被用于糖尿病和高脂血症等代谢性疾病的治疗^[114~117]。Xiong等人^[51]采用了谱效结合导向下的活性成分的发现策略,表明了5种黄酮醇(图14和表3,化合物**85~89**)对新冠3CL^{pro}有一定的抑制作用,其中杨梅素(**85**)、二氢杨梅素(**86**)和异二氢杨梅素(**87**)均能以时间依赖性和剂量依赖性强烈抑制SARS-CoV-2 3CL^{pro}, IC₅₀分别为1.21, 4.91, 3.73 μmol L⁻¹。为了揭示这三种成分抑制SARS-CoV-2 3CL^{pro}的作用机制,进一步通过基于生物质谱的共价位点鉴定,结果表明,杨梅素可以和SARS-CoV-2 3CL^{pro}的Cys300和Cys44共价结合,二氢杨梅素和异二氢杨梅素在Cys300处共价结

图 14 藤茶中天然SARS-CoV-2 3CL^{pro}抑制剂的化学结构

Figure 14 Chemical structures of natural SARS-CoV-2 3CL^{pro} inhibitors from *Ampelopsis grossedentata*

合. 共价对接模拟与分子动力学模拟探讨了杨梅素与 SARS-CoV-2 3CL^{pro}的共价结合位点之间产生的关键作用力. 总之, 藤茶中的黄酮类化合物对SARS-CoV-2 3CL^{pro}有强烈的时间依赖性抑制作用, 为开发新型冠状病毒药物提供了新的见解.

5 展望

在过去20年里, 高致病性冠状病毒的爆发引发的急性呼吸道疾病给人类带来了巨大的灾难, 尤其是当下流行的由SARS-CoV-2引发的新冠肺炎COVID-19, 给人类健康与生命安全带来了严重的威胁^[5]. 为有效地预防SARS-CoV-2等高致病性冠状病毒引发的急性呼吸道疾病, 国内外研究者试图研发更多有效的冠状病毒药物. 值得注意的是, 目前依旧缺乏有效的冠状病毒药物. 近年来, 中草药及其天然化合物的冠状病毒活性被陆续报道, 尤其是部分强效、安全的中草药天然产物受到了研究者的广泛关注. 冠状病毒中高度保守的主蛋白酶3CL^{pro}在病毒复制过程中发挥了关键作用, 被业界认为是冠状病毒防治的关键靶标. 研究者从中草药化学成分中已发现了上百种3CL^{pro}的抑制剂, 包括黄酮醇类、三萜类、脂肪酸和多酚类化合物等不同类别的化合物^[76,118~120]. 值得注意的是, 部分含有邻苯三酚、对醌、迈克尔受体等基团的天然产物已被发现可通过共价结合3CL^{pro}催化活性中心的半胱氨酸进而灭活的催化活性, 从而发挥抗冠状病毒的

功效. 与可逆抑制剂相比, 共价结合抑制剂在活病毒/活体中往往会显现更强的药理活性. 因此, 未来有必要结合时间依赖型酶抑制实验、谱效结合导向下发现酶抑制剂、基于生物质谱的半胱氨酸共价结合表征等前沿技术和手段从中草药中高效快速地发现3CL^{pro}的共价结合抑制剂^[51,84,121]. 此外, 对于抑制类型或作用位点不同(如共价结合不同的半胱氨酸)的3CL^{pro}抑制剂, 可进一步深入研究多成分协同抑制3CL^{pro}的效应和抑制机制. 上述研究将有力地促进源于中草药的冠状病毒3CL^{pro}抑制剂的高效发现, 并可基于3CL^{pro}抑制剂组分/成分设计研发新型广谱冠状病毒药物. 此外, 药物化学家还可基于目前发现的天然3CL^{pro}抑制剂进行结构改造, 进而开展更为细致的构效关系研究, 进一步提升其对靶酶的抑制活性和成药性, 进而设计研发出更加安全、强效且具有良好成药前景的新型冠状病毒候选药物.

除冠状病毒主蛋白酶3CL^{pro}外, 国内外学者还发现部分中药天然产物还可通过作用于不同靶标抑制冠状病毒的复制或调控其生命周期, 且发现部分中草药提取物或其天然产物对多种冠状病毒株显现了较好的抗病毒活性^[46,122,123]. 因此, 未来可基于冠状病毒复制的多个靶标(如冠状病毒3CL^{pro}、木瓜样蛋白酶PL^{pro}、RNA依赖性RNA聚合酶RdRp和宿主细胞表面ACE2受体), 发现可同时作用于多个抗冠状病毒靶标的候选药物分子, 进而设计研发靶向多靶标的更有效的新型抗冠状病毒候选药物.

参考文献

- 1 Cheng V C C, Lau S K P, Woo P C Y, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20: 660–694

- 2 de Groot R J, Baker S C, Baric R S, et al. Commentary: middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): announcement of the coronavirus study group. *J Virol*, 2013, 87: 7790–7792
- 3 Coleman C M, Frieman M B. Coronaviruses: important emerging human pathogens. *J Virol*, 2014, 88: 5209–5212
- 4 de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14: 523–534
- 5 Yang P, Wang X. COVID-19: a new challenge for human beings. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17: 555–557
- 6 Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*, 2020, 382: 727–733
- 7 Mitsuya H, Kokudo N. Sustaining containment of COVID-19: global sharing for pandemic response. *Glob Health Med*, 2020, 2: 53–55
- 8 Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med*, 2020, 382: 1199–1207
- 9 Jin Z, Du X, Xu Y, et al. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, 2020, 582: 289–293
- 10 Li Q, Kang C B. Progress in developing inhibitors of SARS-CoV-2 3C-like protease. *Microorganisms*, 2020, 8: 1250
- 11 Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V, et al. An overview of severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: peptidomimetics and small molecule chemotherapy. *J Med Chem*, 2016, 59: 6595–6628
- 12 Zhang L, Lin D, Sun X, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science*, 2020, 368: 409–412
- 13 Ziebuhr J, Snijder E J, Gorbalenya A E. Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales. *J Gen Virol*, 2000, 81: 853–879
- 14 Anand K, Palm G J, Mesters J R, et al. Structure of coronavirus main proteinase reveals combination of a chymotrypsin fold with an extra alpha-helical domain. *EMBO J*, 2002, 21: 3213–3224
- 15 Hsu M F, Kuo C J, Chang K T, et al. Mechanism of the maturation process of SARS-CoV 3CL protease. *J Biol Chem*, 2005, 280: 31257–31266
- 16 Wang Y C, Yang W H, Yang C S, et al. Structural basis of SARS-CoV-2 main protease inhibition by a broad-spectrum anti-coronaviral drug. *Am J Cancer Res*, 2020, 10: 2535–2545
- 17 Li J, Zhou X, Zhang Y, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease in complex with the natural product inhibitor shikonin illuminates a unique binding mode. *Sci Bull*, 2021, 66: 661–663
- 18 Li J, Jiang X Y, Xu S J, et al. Medicinal chemistry strategies in seeking coronavirus inhibitors (in Chinese). *Acta Pharm Sin B*, 2020, 55: 537–553 [李敬, 姜向毅, 徐淑静, 等. 冠状病毒抑制剂研究的药物化学策略. *药学学报*, 2020, 55: 537–553]
- 19 Zhao J, Tian S S, Yang J, et al. Investigating mechanism of Qing-Fei-Pai-Du-Tang for treatment of COVID-19 by network pharmacology (in Chinese). *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2020, 51: 829–835 [赵静, 田赛赛, 杨健, 等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制的网络药理学探讨. *中草药*, 2020, 51: 829–835]
- 20 Tong T, Wu Y Q, Ni W J, et al. The potential insights of Traditional Chinese Medicine on treatment of COVID-19. *Chin Med*, 2020, 15: 51
- 21 Ren W, Liang P, Ma Y, et al. Research progress of traditional Chinese medicine against COVID-19. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111310
- 22 Yuan W A, Hu Y Y, Tang J Y, et al. Insight into current clinical research of Chinese medicine on COVID-19 (in Chinese). *Shanghai J Tradit Chin Med*, 2020, 54: 1–5 [元唯安, 胡义扬, 唐健元, 等. 当下新型冠状病毒肺炎中药临床研究的若干思考. *上海中医药杂志*, 2020, 54: 1–5]
- 23 Chen L L, Ge G B, Rong Y, et al. Application and research progress of traditional Chinese medicine in prevention and treatment of coronavirus disease 2019 (in Chinese). *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai*, 2020, 34: 1–8 [陈莉莉, 葛广波, 荣艳, 等. 中药在新冠肺炎防治中的应用和研究进展. *上海中医药大学学报*, 2020, 34: 1–8]
- 24 He Z Y, Luo X, Gao X, et al. Investigating mechanism of Qing-Fei-Pai-Du-Tang for treatment of COVID-19 by network pharmacology (in Chinese). *World Notes on Antib*, 2020, 41: 274–282 [何正有, 罗璞, 高鑫, 等. 中药天然产物抗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)研究进展. *国外医药抗生素分册*, 2020, 41: 274–282]
- 25 Verschueren K H G, Pumpor K, Anemüller S, et al. A structural view of the inactivation of the SARS coronavirus main proteinase by benzotriazole esters. *Chem Biol*, 2008, 15: 597–606
- 26 Noske G D, Nakamura A M, Gawriljuk V O, et al. A crystallographic snapshot of SARS-CoV-2 main protease maturation process. *J Mol Biol*, 2021, 433: 167118
- 27 Shi J, Song J. The catalysis of the SARS 3C-like protease is under extensive regulation by its extra domain. *FEBS J*, 2006, 273: 1035–1045
- 28 Shi J, Wei Z, Song J. Dissection study on the severe acute respiratory syndrome 3C-like protease reveals the critical role of the extra domain in

- dimerization of the enzyme. *J Biol Chem*, 2004, 279: 24765–24773
- 29 Tomar S, Johnston M L, St. John S E, et al. Ligand-induced dimerization of middle east respiratory syndrome (MERS) coronavirus nsp5 protease (3CL^{pro}). *J Biol Chem*, 2015, 290: 19403–19422
 - 30 Yang H, Yang M, Ding Y, et al. The crystal structures of severe acute respiratory syndrome virus main protease and its complex with an inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 13190–13195
 - 31 Yin J, Niu C, Cherney M M, et al. A mechanistic view of enzyme inhibition and peptide hydrolysis in the active site of the SARS-CoV 3C-like peptidase. *J Mol Biol*, 2007, 371: 1060–1074
 - 32 Needle D, Lountos G T, Waugh D S. Structures of the Middle East respiratory syndrome coronavirus 3C-like protease reveal insights into substrate specificity. *Acta Crystlogr D Biol Crystlogr*, 2015, 71: 1102–1111
 - 33 Ghosh A K, Xi K, Ratia K, et al. Design and synthesis of peptidomimetic severe acute respiratory syndrome chymotrypsin-like protease inhibitors. *J Med Chem*, 2005, 48: 6767–6771
 - 34 Lee C C, Kuo C J, Hsu M F, et al. Structural basis of mercury- and zinc-conjugated complexes as SARS-CoV 3C-like protease inhibitors. *FEBS Lett*, 2007, 581: 5454–5458
 - 35 Lu I L, Mahindroo N, Liang P H, et al. Structure-based drug design and structural biology study of novel nonpeptide inhibitors of severe acute respiratory syndrome coronavirus main protease. *J Med Chem*, 2006, 49: 5154–5161
 - 36 Rathnayake A D, Zheng J, Kim Y, et al. 3C-like protease inhibitors block coronavirus replication in vitro and improve survival in MERS-CoV-infected mice. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eabc5332
 - 37 Chou C Y, Chang H C, Hsu W C, et al. Quaternary structure of the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus main protease. *Biochemistry*, 2004, 43: 14958–14970
 - 38 Lee TW, Cherney MM, Huitema C, et al. Crystal structures of the main peptidase from the SARS coronavirus inhibited by a substrate-like azapeptide epoxide. *J Mol Biol*, 2005, 353: 1137–1151
 - 39 Kneller D W, Phillips G, Weiss KL, et al. Unusual zwitterionic catalytic site of SARS-CoV-2 main protease revealed by neutron crystallography. *J Biol Chem*, 2020, 295: 17365–17373
 - 40 Xu T, Ooi A, Lee H C, et al. Structure of the SARS coronavirus main proteinase as an active C₂ crystallographic dimer. *Acta Crystlogr F Struct Biol Cryst Commun*, 2005, 61: 964–966
 - 41 Kneller D W, Phillips G, O'Neill H M, et al. Room-temperature X-ray crystallography reveals the oxidation and reactivity of cysteine residues in SARS-CoV-2 3CL M^{pro}: insights into enzyme mechanism and drug design. *IUCrJ*, 2020, 7: 1028–1035
 - 42 Fan K, Wei P, Feng Q, et al. Biosynthesis, purification, and substrate specificity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 3C-like proteinase. *J Biol Chem*, 2004, 279: 1637–1642
 - 43 Ferreira J C, Rabeh W M. Biochemical and biophysical characterization of the main protease, 3-chymotrypsin-like protease (3CL^{pro}) from the novel coronavirus SARS-CoV 2. *Sci Rep*, 2020, 10: 22200
 - 44 Ni L, Chen L, Huang X, et al. Combating COVID-19 with integrated traditional Chinese and Western medicine in China. *Acta Pharmaceut Sin B*, 2020, 10: 1149–1162
 - 45 Xia S, Zhong Z, Gao B, et al. The important herbal pair for the treatment of COVID-19 and its possible mechanisms. *Chin Med*, 2021, 16: 25
 - 46 Li L C, Zhang Z H, Zhou W C, et al. Lianhua Qingwen prescription for Coronavirus disease 2019 (COVID-19) treatment: advances and prospects. *Biomed pharmacother*, 2020, 130: 110641
 - 47 Liu H, Ye F, Sun Q, et al. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease *in vitro*. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2021, 36: 497–503
 - 48 Su H X, Yao S, Zhao W F, et al. Anti-SARS-CoV-2 activities *in vitro* of Shuanghuanglian preparations and bioactive ingredients. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41: 1167–1177
 - 49 Upadhyay S, Tripathi P K, Singh M, et al. Evaluation of medicinal herbs as a potential therapeutic option against SARS-CoV-2 targeting its main protease. *Phytother Res*, 2020, 34: 3411–3419
 - 50 Xiong Y, Zhu G H, Wang H N, et al. Discovery of naturally occurring inhibitors against SARS-CoV-2 3CL^{pro} from Ginkgo biloba leaves via large-scale screening. *Fitoterapia*, 2021, 152: 104909
 - 51 Xiong Y, Zhu GH, Zhang YN, et al. Flavonoids in *Ampelopsis grossedentata* as covalent inhibitors of SARS-CoV-2 3CL^{pro}: inhibition potentials, covalent binding sites and inhibitory mechanisms. *Int J Biol Macromol*, 2021, 187: 976–987

- 52 Guijarro-Real C, Plazas M, Rodríguez-Burruezo A, et al. Potential *in vitro* inhibition of selected plant extracts against SARS-CoV-2 chymotrypsin-like protease (3CL^{pro}) activity. [Foods](#), 2021, 10: 1503
- 53 Lin C W, Tsai F J, Tsai C H, et al. Anti-SARS coronavirus 3C-like protease effects of *Isatis indigotica* root and plant-derived phenolic compounds. [Antiviral Res](#), 2005, 68: 36–42
- 54 Park J Y, Kim J H, Kim Y M, et al. Tanshinones as selective and slow-binding inhibitors for SARS-CoV cysteine proteases. [Bioorg Med Chem](#), 2012, 20: 5928–5935
- 55 Park J Y, Ko J A, Kim D W, et al. Chalcones isolated from *Angelica keiskei* inhibit cysteine proteases of SARS-CoV. [J Enzyme Inhib Med Chem](#), 2016, 31: 23–30
- 56 Ryu Y B, Park S J, Kim Y M, et al. SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitory effects of quinone-methide triterpenes from *Tripterygium regelii*. [Bioorg Med Chem Lett](#), 2010, 20: 1873–1876
- 57 Ryu Y B, Jeong H J, Kim J H, et al. Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARS-CoV 3CL^{pro} inhibition. [Bioorg Med Chem](#), 2010, 18: 7940–7947
- 58 Chen C N, Lin C P C, Huang K K, et al. Inhibition of SARS-CoV 3C-like protease activity by theaflavin-3,3'-digallate (TF3). [Evid-Based Complement Alternat Med](#), 2005, 2: 209–215
- 59 Wen C C, Shyur L F, Jan J T, et al. Traditional Chinese Medicine herbal extracts of *Cibotium barometz*, *Gentiana scabra*, *Dioscorea batatas*, *Cassia tora*, and *Taxillus chinensis* inhibit SARS-CoV replication. [J Trad Comp Med](#), 2011, 1: 41–50
- 60 Chen S, Chen L, Luo H, et al. Enzymatic activity characterization of SARS coronavirus 3C-like protease by fluorescence resonance energy transfer technique. [Acta Pharm Sin](#), 2005, 26: 99–106
- 61 Zhao T, Tang H, Xie L, et al. *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. [J Pharmacy Pharmacol](#), 2019, 71: 1353–1369
- 62 Stepanova A Y, Solov'eva A I, Malunova M V, et al. Hairy roots of *Scutellaria* spp. (Lamiaceae) as promising producers of antiviral flavones. [Molecules](#), 2021, 26: 3927
- 63 Zhou X, Fu L, Wang P, et al. Drug-herb interactions between *Scutellaria baicalensis* and pharmaceutical drugs: insights from experimental studies, mechanistic actions to clinical applications. [Biomed pharmacother](#), 2021, 138: 111445
- 64 Park J Y, Yuk H J, Ryu H W, et al. Evaluation of polyphenols from *Broussonetia papyrifera* as coronavirus protease inhibitors. [J Enzyme Inhib Med Chem](#), 2017, 32: 504–512
- 65 Wang S C, Chen Y, Wang Y C, et al. Tannic acid suppresses SARS-CoV-2 as a dual inhibitor of the viral main protease and the cellular TMPRSS2 protease. [Am J Cancer Res](#), 2020, 10: 4538–4546
- 66 Nguyen T T H, Woo H J, Kang H K, et al. Flavonoid-mediated inhibition of SARS coronavirus 3C-like protease expressed in *Pichia pastoris*. [Biotechnol Lett](#), 2012, 34: 831–838
- 67 Chiou W C, Chen J C, Chen Y T, et al. The inhibitory effects of PGG and EGCG against the SARS-CoV-2 3C-like protease. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2022, 591: 130–136
- 68 Jang M, Park Y I, Cha Y E, et al. Tea polyphenols EGCG and theaflavin inhibit the activity of SARS-CoV-2 3CL-protease *in vitro*. [Evid-Based Complement Alternat Med](#), 2020, 2020: 1–7
- 69 Du A, Zheng R, Disoma C, et al. Epigallocatechin-3-gallate, an active ingredient of Traditional Chinese Medicines, inhibits the 3CL^{pro} activity of SARS-CoV-2. [Int J Biol Macromol](#), 2021, 176: 1–12
- 70 Liu S Y, Wang W, Ke J P, et al. Discovery of *Camellia sinensis* catechins as SARS-CoV-2 3CL protease inhibitors through molecular docking, intra and extra cellular assays. [Phytomedicine](#), 2022, 96: 153853
- 71 Xu H, Li J, Song S, et al. Effective inhibition of coronavirus replication by *Polygonum cuspidatum*. [Front Biosci \(Landmark Ed\)](#), 2021, 26: 789–798
- 72 Jo S, Kim H, Kim S, et al. Characteristics of flavonoids as potent MERS-CoV 3C-like protease inhibitors. [Chem Biol Drug Des](#), 2019, 94: 2023–2030
- 73 Park J Y, Kim J H, Kwon J M, et al. Dieckol, a SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitor, isolated from the edible brown algae *Ecklonia cava*. [Bioorg Med Chem](#), 2013, 21: 3730–3737
- 74 Zhang Y, Gao H, Hu X, et al. Structure-based discovery and structural basis of a novel broad-spectrum natural product against the main protease of coronavirus. [J Virol](#), 2022, 96: e0125321

- 75 Zhao J, Ma QH, Zhang BY, et al. Exploration of SARS-CoV-2 3CL inhibitors by virtual screening methods, FRET detection, and CPE assay. *J Chem Inf Model*, 2021, 61: 5763–5773
- 76 Wen C C, Kuo Y H, Jan J T, et al. Specific plant terpenoids and lignoids possess potent antiviral activities against severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Med Chem*, 2007, 50: 4087–4095
- 77 Jo S, Kim S, Shin D H, et al. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2020, 35: 145–151
- 78 Chen L, Li J, Luo C, et al. Binding interaction of quercetin-3- β -galactoside and its synthetic derivatives with SARS-CoV 3CL^{pro}: structure-activity relationship studies reveal salient pharmacophore features. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14: 8295–8306
- 79 Wang R, Hu Q, Wang H, et al. Identification of vitamin K3 and its analogues as covalent inhibitors of SARS-CoV-2 3CL^{pro}. *Int J Biol Macromol*, 2021, 183: 182–192
- 80 Shi T H, Huang Y L, Chen C C, et al. Andrographolide and its fluorescent derivative inhibit the main proteases of 2019-nCoV and SARS-CoV through covalent linkage. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 533: 467–473
- 81 Schwarz S, Sauter D, Wang K, et al. Kaempferol derivatives as antiviral drugs against the 3A channel protein of coronavirus. *Planta Med*, 2014, 80: 177–182
- 82 Chiou W C, Lu H F, Hsu N Y, et al. Ugonin J acts as a SARS-CoV-2 3C-like protease inhibitor and exhibits anti-inflammatory properties. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 720018
- 83 Du R, Cooper L, Chen Z, et al. Discovery of chebulagic acid and punicalagin as novel allosteric inhibitors of SARS-CoV-2 3CL^{pro}. *Antiviral Res*, 2021, 190: 105075
- 84 Chen Z, Cui Q, Cooper L, et al. Ginkgolic acid and anacardic acid are specific covalent inhibitors of SARS-CoV-2 cysteine proteases. *Cell Biosci*, 2021, 11: 45
- 85 Oh J, Rho H S, Yang Y, et al. Extracellular signal-regulated kinase is a direct target of the anti-inflammatory compound amentoflavone derived from *Torreya nucifera*. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 1–11
- 86 Shao S Y, Zhang F, Yang Y N, et al. Neuroprotective and anti-inflammatory phenylethanoid glycosides from the fruits of *Forsythia suspensa*. *Bioorg Chem*, 2021, 113: 105025
- 87 Wang Z, Xia Q, Liu X, et al. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review. *J Ethnopharmacol*, 2018, 210: 318–339
- 88 Du S Y, Yin S, Wang Y N, et al. The medicinal and health care value of *Ginkgo biloba* leaves and its application (in Chinese). *Food Nutr in China*, 2020, 26: 59–62 [杜少严, 尹硕, 王意浓, 等. 银杏叶的药用和保健价值及其应用研究进展. *中国食物与营养*, 2020, 26: 59–62]
- 89 Isah T. Rethinking *Ginkgo biloba* L.: medicinal uses and conservation. *Phcog Rev*, 2015, 9: 140–148
- 90 Samynathan R, Thiruvengadam M, Nile S H, et al. Recent insights on tea metabolites, their biosynthesis and chemo-preventing effects: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, 1–20
- 91 Keller A, Wallace T C. Tea intake and cardiovascular disease: an umbrella review. *Ann Med*, 2021, 53: 929–944
- 92 Bello M, Hasan M K. DNA-binding, cleavage, antibacterial and *in vitro* anticancer activity of copper(II) mixed ligand complexes of 2-(((6-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methyl)amino)acetic acid and polypyridyl ligands. *J Biomol Struct Dyn*, 2021, 14: 1–13
- 93 Kuo Y T, Liu C H, Li J W, et al. Identification of the phytobioactive *Polygonum cuspidatum* as an antiviral source for restricting dengue virus entry. *Sci Rep*, 2020, 10: 16378
- 94 Zhou L, Zuo Z, Chow M S S. Danshen: an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use. *J Clin Pharmacol*, 2005, 45: 1345–1359
- 95 Su C Y, Ming Q L, Rahman K, et al. *Salvia miltiorrhiza*: Traditional medicinal uses, chemistry, and pharmacology. *Chin J Nat Meds*, 2015, 13: 163–182
- 96 Fu Z P, Zhou Z X, Liu X Y, et al. Advances in the study of antiviral natural products (in Chinese). *Acta Pharm Sin*, 2020, 55: 703–719 [付志鹏, 周忠霞, 刘新泳, 等. 天然产物抗病毒药物的研究进展. *药学报*, 2020, 55: 703–719]
- 97 Akihisa T, Tokuda H, Ukiya M, et al. Chalcones, coumarins, and flavanones from the exudate of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects. *Cancer Lett*, 2003, 201: 133–137
- 98 Venkatesan J, Kim S K, Shim M S. Antimicrobial, antioxidant, and anticancer activities of biosynthesized silver nanoparticles using marine *Algae Ecklonia cava*. *Nanomaterials*, 2016, 6: 235
- 99 Kang K A, Lee K H, Park J W, et al. Triphlorethol-A induces heme oxygenase-1 via activation of ERK and NF-E2 related factor 2 transcription

- factor. [FEBS Lett](#), 2007, 581: 2000–2008
- 100 Crockett S L, Wenzig E M, Kunert O, et al. Anti-inflammatory phloroglucinol derivatives from *Hypericum empetrifolium*. [Phytochem Lett](#), 2008, 1: 37–43
- 101 Kim K N, Heo S J, Yoon W J, et al. Fucoxanthin inhibits the inflammatory response by suppressing the activation of NF- κ B and MAPKs in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. [Eur J Pharmacol](#), 2010, 649: 369–375
- 102 Lee S H, Heo S J, Hwang J Y, et al. Protective effects of enzymatic digest from *Ecklonia cava* against high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. [J Sci Food Agric](#), 2010, 90: 349–356
- 103 Choi J G, Kang O H, Brice O O, et al. Antibacterial activity of *Ecklonia cava* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. [Foodborne Pathogens Dis](#), 2010, 7: 435–441
- 104 Chen S P, Dong M, Kita K, et al. Anti-proliferative and apoptosis-inducible activity of labdane and abietane diterpenoids from the pulp of *Torreya nucifera* in HeLa cells. [Mol Med Rep](#), 2010, 3
- 105 Lee W S, Kim J R, Han J M, et al. Antioxidant activities of abietane diterpenoids isolated from *Torreya nucifera* leaves. [J Agric Food Chem](#), 2006, 54: 5369–5374
- 106 Fan D, Li T, Zheng Z, et al. Macrolide sesquiterpene pyridine alkaloids from the stems of *Tripterygium regelii*. [J Nat Med](#), 2019, 73: 23–33
- 107 Jiang Z H, Liu Y P, He M, et al. A new abietane diterpenoid from the roots of *Tripterygium regelii*. [Nat Product Res](#), 2018, 32: 2418–2423
- 108 Fan D, Parhira S, Zhu G Y, et al. Triterpenoids from the stems of *Tripterygium regelii*. [Fitoterapia](#), 2016, 113: 69–73
- 109 Deng J L, Tao Y L, He Y Q, et al. Research progress on active components and mechanism of Isatidis Radix for influenza virus (in Chinese). [Chin J Chin Mater Med](#), 2021, 46: 2029–2036 [邓九零, 陶玉龙, 何玉琼, 等. 板蓝根抗流感病毒活性成分及其作用机制研究进展. 中国中药杂志, 2021, 46: 2029–2036]
- 110 Zhu K M, Liu J N, Gu S J, et al. Progress on chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications from *Broussonetia papyrifera* (in Chinese). [Chin Exp Tradit Med Form](#), 2011, 17: 198–201 [朱开梅, 刘建楠, 顾生玖, 等. 构树药用活性化学成分及药理临床应用研究进展. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17: 198–201]
- 111 Qin C Y, Ning D L. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Broussonetia Papyrifera* (in Chinese). [World Latest Med Inf \(Elec Ver\)](#), 2019, 19: 66–67 [秦超燕, 宁带连. 构树化学成分及药理作用研究进展. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19: 66–67]
- 112 Bai X X, Xia G P, Zhao N X, et al. Phenolic constituents of *Ampelopsis grossedentata* from Zhangjiajie (in Chinese). [Chin Med Mat](#), 2013, 36: 65–67 [白秀秀, 夏广萍, 赵娜夏, 等. 张家界产莓茶中的酚性化学成分. 中药材, 2013, 36: 65–67]
- 113 Wang Y, Zhou L L, Li R, et al. Studies on the chemical constituents from *Ampelopsis grossedentata* (in Chinese). [Chin Med Mat](#), 2002, 4: 254–256 [王岩, 周莉玲, 李锐, 等. 显齿蛇葡萄化学成分的研究. 中药材, 2002, 4: 254–256]
- 114 Gao Q, Ma R, Chen L, et al. Antioxidant profiling of vine tea (*Ampelopsis grossedentata*): off-line coupling heart-cutting HSCCC with HPLC-DAD-QTOF-MS/MS. [Food Chem](#), 2017, 225: 55–61
- 115 Hou X L, Tong Q, Wang W Q, et al. Suppression of inflammatory responses by dihydromyricetin, a flavonoid from *Ampelopsis grossedentata*, via inhibiting the activation of NF- κ B and MAPK signaling pathways. [J Nat Prod](#), 2015, 78: 1689–1696
- 116 Zhou Y, Shu F, Liang X, et al. Ampelopsin induces cell growth inhibition and apoptosis in breast cancer cells through ROS generation and endoplasmic reticulum stress pathway. [PLoS ONE](#), 2014, 9: e89021
- 117 Chen J, Wu Y, Zou J, et al. α -Glucosidase inhibition and antihyperglycemic activity of flavonoids from *Ampelopsis grossedentata* and the flavonoid derivatives. [Bioorg Med Chem](#), 2016, 24: 1488–1494
- 118 Russo M, Moccia S, Spagnuolo C, et al. Roles of flavonoids against coronavirus infection. [Chemico-Biol Interactions](#), 2020, 328: 109211
- 119 Chojnacka K, Witek-Krowiak A, Skrzypczak D, et al. Phytochemicals containing biologically active polyphenols as an effective agent against Covid-19-inducing coronavirus. [J Funct Foods](#), 2020, 73: 104146
- 120 Wang Z, Yang L. Chinese herbal medicine: fighting SARS-CoV-2 infection on all fronts. [J Ethnopharmacol](#), 2021, 270: 113869
- 121 Zhao D F, He R J, Hou X D, et al. New technologies for efficient discovery and evaluation of natural enzyme inhibitors: research progress and perspectives (in Chinese). [Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai](#), 2021, 35: 12 [赵东方, 何荣景, 侯旭东, 等. 源于天然的酶抑制剂高效发现及评价新技术: 进展与展望. 上海中医药大学学报, 2021, 35: 12]
- 122 Islam M T, Sarkar C, El-Kersh D M, et al. Natural products and their derivatives against coronavirus: a review of the non-clinical and pre-clinical data. [Phytother Res](#), 2020, 34: 2471–2492

- 123 Mouffouk C, Mouffouk S, Mouffouk S, et al. Flavonols as potential antiviral drugs targeting SARS-CoV-2 proteases (3CL^{pro} and PL^{pro}), spike protein, RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and angiotensin-converting enzyme II receptor (ACE2). *Eur J Pharmacol*, 2021, 891: 173759

Recent advances in 3CL^{pro} inhibitors from Chinese herbs

HU Qing², ZHU GuangHao¹, XIONG Yuan¹, ZHANG YaNi¹, ZHANG YiWen², HUANG Ping² & GE GuangBo¹

1 Institute of Interdisciplinary Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

2 Center for Clinical Pharmacy, Cancer Center, Department of Pharmacy, Zhejiang Provincial People's Hospital (Affiliated People's Hospital, Hangzhou Medical College), Hangzhou 310014, China

Severe acute respiratory syndromes caused by highly pathogenic β -coronaviruses (such as SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV) still lack safe and effective pharmacotherapy. Although Chinese herbal medicines have shown unique benefits for treating these diseases, their active substances and mechanisms have not been fully revealed. Coronavirus 3C-like proteases (3CL^{pro}), a class of cysteine hydrolases that are highly conserved in β -coronaviruses and play a critical role in viral replication, have been recognized as a crucial target for preventing and treating a range of coronavirus diseases including COVID-19. Recent studies have shown that a variety of Chinese herbal extracts and their constituents such as flavonoids, triterpenoids, and phenolic compounds can inhibit 3CL^{pro}, providing novel lead compounds for developing antiviral drugs. In this review, we systematically summarize the 3CL^{pro} inhibitory activities and inhibitory mechanisms of herbal constituents against SARS-CoV-2 3CL^{pro}, MERS-CoV 3CL^{pro} and SARS-CoV 3CL^{pro}. Meanwhile, we highlight the challenges in this field, and provide an outlook for the future direction for developing natural-derived 3CL^{pro} inhibitors and novel anti-coronavirus drugs. Collectively, all information and knowledge presented here will be helpful for clarifying the active substances and mechanisms of anti-coronavirus herbal medicines, as well as providing new insights or inspiration for developing 3CL^{pro} inhibitors and broad-spectrum anti-coronavirus drugs derived from Chinese herbal medicines.

coronavirus, 3CL^{pro}, Chinese herb, natural component, inhibitor

doi: [10.1360/SSV-2021-0394](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0394)