

〈一般研究課題〉 新型コロナウイルス感染症の新規治療薬の提案：  
高精度分子シミュレーション  
助成研究者 豊橋技術科学大学 栗田 典之



新型コロナウイルス感染症の新規治療薬の提案：  
高精度分子シミュレーション  
栗田 典之  
(豊橋技術科学大学)

Proposal of Novel Natural Inhibitors of SARS-CoV-2  
Main Protease: State-of-the-art Molecular Simulations

Noriyuki Kurita  
(Toyohashi University of Technology)

**Abstract :**

Novel coronavirus infection (COVID-19) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has been a serious health problem worldwide. A number of clinical trials have been currently underway to identify an effective treatment for COVID-19. For the development of a new drug, it is essential to identify a lead compound as a drug candidate and to evaluate its pharmacological properties, although the development requires enormous costs and time. Therefore, *in-silico* drug discovery utilizing molecular simulation has been widely promoted around the world to shorten the development period of new drugs.

The purpose of our study is to propose a novel natural product-derived inhibitor of the main protease (Mpro) of SARS-CoV-2 using state-of-the-art molecular simulations based on protein-ligand docking, classical molecular mechanics (MM), classical molecular dynamics (MD), and *ab initio* fragment molecular orbital (FMO) calculations. We here investigated specific interactions between Mpro and 51 natural product-derived compounds in the four plant species (Aloe vera, Night jasmine, Moringa oleifera, and Justicia adhatoda). Based on the results simulated, we identified which compounds bind strongly to Mpro to be potential lead compounds for Mpro inhibitors. Based on the most promising compound, we proposed new derivatives and investigated their binding properties to Mpro to propose novel potent inhibitors against Mpro. Furthermore, using classical

MD simulations, we analyzed the structural changes of the complex of Mpro and the new derivative to confirm the stability of the derivative at the binding pocket of Mpro.

Our molecular simulations elucidated that feralolide from Aloe vera binds most strongly to Mpro among the 51 compounds. Therefore, we proposed new compounds with OH groups at several positions of feralolide and analyzed their binding properties with Mpro, revealing that the introduction of OH group strengthens the binding affinity between feralolide and Mpro. Consequently, our proposed feralolide derivatives can be potent inhibitors against Mpro of SARS-CoV-2 to be a potential therapeutic agent for COVID-19 [1 – 4].

## 1. はじめに

### 1.1. 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2)

2019年に発生した重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2 (SARS-CoV-2)を原因とする新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)の急速な感染拡大は、世界的に深刻な健康問題を引き起こした。コロナウイルスは、コロナウイルス科に属する大型のRNAウイルスであり、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ コロナウイルスの4属に分類され、一般的に、前者2つは哺乳類に、後者2つは鳥類に感染する。今回発生したSARS-CoV-2は $\beta$ 型コロナウイルスである。2023年現在、COVID-19に対する有効な治療薬を特定するために、多くの臨床試験が行われている。これらの薬剤開発においては、新規の薬剤リード化合物を決定し、その薬理特性を評価することが不可欠である。この開発をより迅速に進めるため、分子シミュレーションを基盤としたインシリコ創薬が広く進められている。

### 1.2. メインプロテアーゼ(Mpro)の特性とそれに対する阻害薬の開発状況

SARS-CoV-2が有するタンパク質の中で、メインプロテアーゼ(Mpro)は、SARS-CoV-2の複製と転写を媒介する上で重要な役割を果たしている。また、Mproは変異率が低く、ポリプロテインを切断し、RNAポリメラーゼ、エキソリボヌクレアーゼ、エンドリボヌクレアーゼなどの機能性タンパク質を生成する。さらに、Mproとヒトのプロテアーゼのアミノ酸配列の類似性が低いため、Mproに対する阻害剤は、ヒトのプロテアーゼには作用せず、副作用が少ないと考えられている。従って、MproはCOVID-19を治療するための副作用の少ない薬剤を開発する際に有望な標的タンパク質であり、Mproの活性を阻害することにより、SARS-CoV-2の複製を阻止し、COVID-19の感染拡大を抑えることが期待できる。

現在までに、いくつかの研究がMpro活性の阻害に焦点を当てている。Pendyalaらは、Mpro及びRNA依存性RNAポリメラーゼに対する有効な阻害剤を特定するため、食肉や果物などの生理活性食品に含まれる化合物をこれらのタンパク質にドッキングし、分子シミュレーションにより結合特性を調べた。その結果、フィコシアノピリン、リボフラビン、シアニジン、ダイゼイン、ゲニステインなどの化合物は、既存の抗ウイルス剤(レムデシビル、ネルフィナビル、ロピナビル)よりも強力なMpro阻害剤であることが分かった。同様に、Dasらは、分子ドッキングシミュレーションに基づいて、35種類の化合物をMproにドッキングし、Mproに対して最高の阻害効率を持つ天然化合物としてルチンを提案した。また、紅茶に含まれる抗酸化作用のある天然フェノールとテアフラビン

誘導体であるテアフラビンジガレートは、Mproに強く結合することが、分子ドッキングシミュレーションにより示された。さらに、Gurungらの分子シミュレーションにより、ジャケツイバラから単離されたフラノジテルペノイドラクトンであるボンデュセルピンDが、Mproに対して高い結合親和性を持つことが示された。上記の分子シミュレーションにおいては、タンパク質と薬の候補となる化合物間の結合特性を、古典力場を用いて解析するため、計算時間が短く、大規模な化合物探索が可能である。しかし、古典力場を用いた場合、タンパク質と化合物間の電荷移動を考慮することは出来ないため、今回の研究で重要となるMproと候補化合物間の電荷移動を考慮できず、得られた結合特性に大きな誤差を生じる可能性がある。その結果、Mproに対する有効な化合物を見落とす可能性がある。我々の研究では、この点を考慮し、古典力場は用いずに、Mproと化合物の複合体の電子状態を、量子論に基づくフラグメント分子軌道(FMO)法により計算し、Mproと様々な化合物間の結合特性を電子レベルで高精度に計算し、その結果を基に、Mproに強く結合可能な新規化合物を提案した。また、それらの新規化合物のうち、Mproにより強く結合した化合物、及びその元となった化合物に対して古典分子力学(MD)計算を行い、生体内の温度で、これらの化合物が安定してMproに結合するかどうかを確認した。

### 1.3. 天然化合物をベースとした創薬研究の現状

天然化合物は、さまざまな疾患の治療に重要な役割を果たしている。例えば、モリンガ・オレイフェラ (*M. oleifera*) は、インドを原産地とするモリンガ科の植物であり、その抗真菌性、抗酸化性、抗菌性、抗炎症性、利尿性、肝機能保護性が研究されている。これまでに、*M. oleifera*の抗ウイルス活性が報告されており、この植物は多くの伝統的な薬に使用されてきた。例えば、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、エプスタインバーウイルス(EBV)、口蹄疫ウイルス、ニューカッスル病ウイルスなど、多くのウイルスの抑制に効果があることが証明されている。さらに、アフリカ諸国では、*M. oleifera*はHIV関連疾患の治療にも使用されている。

また、ナイト・ジャスミン (*N. jasmine*) は、南アジアを原産地とするナス科の植物で、熱帯や亜熱帯地域で広く栽培され、抗炎症性、抗菌性、抗真菌性、抗酸化性、肝保護作用などがあることが報告されている。さらに、*N. jasmine*にも抗ウイルス活性が報告されており、脳筋炎ウイルスやセムリキ森林ウイルスに対して顕著な阻害活性を示すことが明らかになっている。*N. jasmine*の葉、根、樹皮など様々な部位が煎じ薬として用いられ、部位によって下剤効果があり、発熱、マラリア、赤痢の治療薬としても活用されている。

ツルボラン科に属する植物であるアロエ・ベラ (*Aloe vera*) も薬として重宝されている。*Aloe vera*は、北アフリカ、アジア中東、南地中海、カナリア諸島などの暑く乾燥した地域に広く分布し、抗炎症性、抗酸化性、抗真菌性、皮膚の損傷や消化器系の疾患を治療するために使われてきた。*Aloe vera*も、幾つかのウイルスの抑制に効果があると報告されている。例えば、単純ヘルペスウイルス1型の増殖を阻害したり、H1N1サブタイプインフルエンザウイルスの複製とウイルス吸着を抑制する効果があることが示された。さらに、プエルトリコで単離されたヒトA型H1N1ウイルスPR8(H1N1)に感染したマウスを用いた実験では、*Aloe vera*投与により臨床症状と肺の損傷が改善したという報告もある。

また、*Justicia adhatoda*と呼ばれる植物は、アーユルヴェーダやユナニ治療でよく使われる植物性の薬である。この植物はアカネ科に属し、さまざまな病気や障害、特に呼吸器系の問題の治療に使用されてきた。従って、*Justicia adhatoda*は、一般的な風邪、気管支炎、喘息の症状を治療するために使用されるアーユルヴェーダシステムの重要な薬草である。この植物はマラバルナッツ、またはヴァーサカとしても知られ、味は苦く、不快な臭いがある。*Justicia adhadoda*の葉は、Chavanらの研究において、*in vitro*で単純ヘルペスウイルスに対する抗ウイルス性を有することが示された。

#### 1.4. 本研究の目的と概要

本研究では、SARS-CoV-2のMproに対して、天然物由来の新規阻害剤を提案することを目的とする。まず、阻害剤の新規リード化合物を同定するために、タンパク質-リガンドドッキング、古典分子力学(MM)、第一原理フラグメント分子軌道(FMO)計算を用いた高精度分子シミュレーションを実行し、Mproと4種類の植物(*M. oleifera*, *Aloe vera*, *N. jasmine*, *J. adhatoda*)に含まれる51種類の天然化合物間の特異的相互作用を電子レベルで解析し、どの化合物がMproに強く結合し、Mpro阻害剤のリード化合物となり得るかを明らかにする。さらに、最も有望なリード化合物に基づいて新規化合物を提案し、それらの化合物とMpro間の結合特性を解析し、天然物由来の新規のMpro阻害剤を提案する。本研究の結果は、将来、SARS-CoV-2のMproを標的とした副作用の少ない新規阻害剤の設計に役立つと考えられる。

## 2. 高精度分子シミュレーション手法の詳細

### 2.1. Mproに結合する化合物の選択

本研究では、まず、*M. oleifera*の様々な部位に含まれる化合物に関して、これまでの文献からデータを収集し、51種類の化合物を選択した。それらを薬理活性を有する薬剤のスクリーニングに重要なLipinski's rule of fiveを用いてフィルタリングし、12種類の化合物に絞り込んだ。また、*Aloe vera*に含まれる化合物に関しては、Lipinski's rule of fiveを満たす14種類の化合物を採用した。さらに、*N. jasmine*に含まれる9種類の化合物、及び*J. adhatoda*に含まれる16種類の化合物を、Mpro阻害剤のリード化合物の候補として採用した。

### 2.2. Mproと化合物の複合体の初期構造の構築と構造最適化

まず、上記の51種類の化合物の構造を、第一原理分子軌道計算プログラムGaussian 09のB3LYP/6-31G(d, p)法を用いて真空中で最適化し、最適化構造の電荷分布をHF/6-31G(d)法を用いた拘束静電ポテンシャル(RESP)解析によって算出した。このRESP電荷は、各化合物のMM力場における電荷パラメータとして採用する。RESP電荷は、Mproと各化合物の間の静電相互作用を正確に記述するために重要であり、Mproと化合物の複合体のMM最適化計算、及びMproに化合物をドッキングするシミュレーションに不可欠である。

Mproの立体構造は、Protein Data Bank (PDB ID : 6LU7)から入手し、このリガンド結合ポケット内の化合物の結合部位を見つけるために、ドッキングプログラムAutoDockを用いて、各化合物をMproにドッキングした。その際、ドッキングの候補サイト指定するグリッドボックスのサイズ

を化合物の約1.5倍のサイズに設定し、256個の候補構造を作成した。それらを構造の類似性を基に幾つかのクラスターに分類し、それらの中から、クラスターに含まれる候補構造数が多い上位3個のクラスターを選択し、それらのクラスターの代表構造に対して、MM及びFMO計算を実行し、FMO計算で求めた全エネルギーを基に、最安定な構造を決定した。

次に、Mproと化合物の複合体の安定構造を得るために、ドッキングシミュレーションで得た構造を、古典MM法を用いて水中で最適化した。その際、複合体表面から8 Å以内に存在する水分子を露わに考慮した。構造最適化計算には、汎用のMM及びMDシミュレーションプログラムAMBER12を使用した。MM計算において、Mpro、水分子、化合物には、それぞれAMBER FF99-SBLIN力場、TIP3Pモデル、一般的なAMBER力場を割り当てた。

### 2.3. Mproと化合物の複合体に対する第一原理フラグメント分子軌道計算

Mproと各化合物の間の特異的相互作用と結合親和性を明らかにするため、第一原理 FMO法を用いて、Mproと化合物の複合体の電子状態を計算した。FMO法は、これまでに多くの生体分子に適用され、タンパク質と様々な化合物間の結合特性を高精度に得ることに成功している。水分子は、Mpro と化合物の間の特異的な相互作用に寄与する可能性があるため、化合物の周囲 6 Å 以内に存在する水分子を露わに考慮した。本研究では、各化合物とMpro間の結合親和性を予測するために、各化合物とMproの全てのアミノ酸残基間のフラグメント間相互作用エネルギー (IFIE) の合計を評価した。

FMO計算には、FMO計算プログラムABINIT-MP ver.6.0のMP2/6-31G(d)法を用い、Mproの各アミノ酸残基、化合物、及び各水分子をそれぞれ別のフラグメントとして割り当てた。このフラグメント化により、複合体周囲に存在する水分子の影響を考慮して、Mproの各アミノ酸残基と化合物間の相互作用を解析できる。この計算結果を基に、Mproにより強く結合する化合物を決定し、その化合物をベースに新規派生物を作成し、その派生物に対して、ドッキング、MM、及びFMO計算を実行する。それらの計算結果を基に、Mproにより強く結合する新規阻害剤を提案する。

## 3. 計算結果と考察

### 3.1 Mpro と *Moringa oleifera* に含まれる化合物間の結合特性

ドッキングプログラムAutoDockを用い、Mproのリガンド結合ポケットに*M. oleifera*に含まれる12種類の化合物をドッキングし、複合体の候補構造を作成し、MM法を用いて水中で最適化した。最適化構造に対して、FMO計算によりTotal IFIEを高精度に計算し、どのクラスターの構造が最安定であるかを明らかにした。さらに、最安定な構造に対するTotal IFIEの値を比較し、どの化合物がMproに最も強く結合するかを予測した。Table 1に示すように、M9のクラスター6の構造は、12種類の化合物の中でTotal IFIEが最大(-136.5 kcal/mol)であり、その他の構造では、M6、M8、M10、M12のTotal IFIEが比較的大きくなった。従って、これらの化合物は、Mproにより強く結合する可能性がある。

さらに、M9のどの部分がMproとの相互作用に重要であるかを明らかにし、この化合物に基づく新しいMpro阻害剤の提案を試みた。Figure 1にM9とその周囲に存在するMproのアミノ酸残基間の相互作用を示す。Figure 1aに示すように、M9の2つの環をつなぐNH基と酸素原子が、Mproの

Glu166主鎖及び側鎖と強い静電相互作用をしていることが明らかになった。これらの相互作用は、M9が最大のTotal IFIEを有する主な原因である。さらに、Figure 1bから、MproのAsn142、Gly143及びGln189が、M9の水酸基(OH)及びカルボニル基と水素結合を形成していることが分かる。従って、これらの基の酸素原子は、M9とMpro残基間の強い結合を維持するために重要であると考えられる。一方、M9の他の部位は、Mproとの結合にあまり寄与していないため、これらの部位を他の原子で置換することにより、M9のMproに対する結合親和性が高めることができる可能性がある。

**Table 1.** Lowest binding energy (BE: kcal/mol), number of poses, and Mpro residues involved in H-bonds with each compound for the selected clusters obtained by AutoDock program. The created 256 poses were classified into several clusters based on their structural similarity, and each cluster was ranked in the order of BE between Mpro and each compound contained in *Moringa oleifera*. We selected three clusters with the largest number of poses and evaluated the total inter fragment interaction energy (IFIE: kcal/mol) between each compound and all Mpro residues using the FMO method. These values are listed in the last column.

Compound	Cluster	BE	Poses	Residues involved in H-bonds	IFIE
M1	2	-5.18	141	Glu166	-41.4
	3	-5.13	77	Gln189	-67.0
	5	-4.82	33	Thr24, Thr26	-66.3
M2	1	-4.65	52	Thr24, Thr26, Asn142, His163	-55.0
	2	-4.58	131	Thr26, Leu141, Gly143, Ser144, His164	-64.6
	3	-4.56	42	Leu141, Gly143, Ser144, Cys145, Glu166	-94.6
M3	2	-3.95	31	Thr25, Thr26, Thr45, Ser144	-86.8
	7	-3.87	60	Thr26, Leu141, Gly143, Ser144, Glu166	-83.3
	10	-3.61	37	Thr24, Thr26, Leu141, Asn142, Gly143	-58.7
M4	1	-6.64	193	No H-bond	-72.9
	2	-6.46	25	No H-bond	-73.1
	4	-5.74	18	Glu166	-83.9
M5	1	-3.49	85	Glu166	-25.9
	2	-3.46	94	Leu141, Gly143, Ser144	-50.5
	3	-3.38	77	Glu166, Gln189	-19.5
M6	1	-3.12	62	Leu141, Gly143, His163, Glu166	-112.0
	2	-2.81	41	Asn142, Glu166	-95.0
	3	-2.76	69	Thr24, Thr26, Cys44, Thr45, Ser46	-57.4
M7	1	-4.25	181	No H-bond	-35.7
	2	-4.17	50	No H-bond	-37.1
	3	-3.99	25	No H-bond	-30.6
M8	2	-4.39	28	Glu166, His172	-105.1
	3	-4.11	22	Glu166	-94.7
	10	-3.83	57	Thr26, Phe140, Gly143, Glu166	-66.5
M9	1	-4.95	28	Thr26, Gln189	-108.2
	3	-4.78	24	His41, Asn142, His164, Glu166, Gln189	-92.3
	6	-4.02	30	Gly143, Glu166, Gln189	-136.5
M10	2	-4.58	67	Asn142, His164, Glu166, Gln189	-106.1
	9	-3.85	25	Thr26, Gly143, Gln189	-77.3
	14	-3.67	24	Thr26, Gly143, His164	-75.1
M11	1	-4.33	36	His164, Glu166	-97.0
	2	-4.28	40	Asn142, His164, Glu166, Gln189	-63.7
	5	-3.81	40	Thr26, Gly143, Gln189	-72.5
M12	1	-5.41	37	Gly143, Glu166, Gln189, Thr190	-111.0
	2	-5.11	42	Asn142, Glu166	-119.0
	3	-4.87	29	Asn142, Gly143, Glu166, Gln189	-107.1

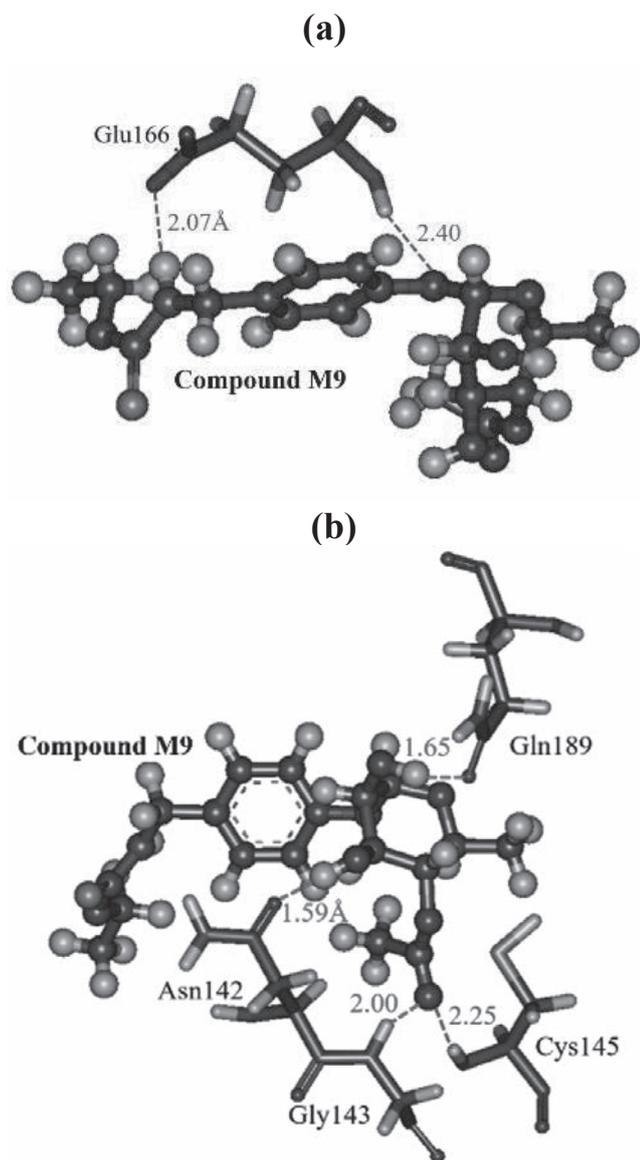


Figure 1. Interacting structures between compound M9 (ball-and-stick model) and selected important Mpro residues (stick model) in the optimized structure of the Mpro+compound M9 complex for cluster 6. (a) Compound M9 and Glu166, and (b) compound M9 and Asn142, Gly143, Cys145, and Gln189. Hydrogen bonding and electrostatic interactions are indicated by red and blue lines, respectively.

### 3.2. MproとAloe vera に含まれる化合物間の結合特性

同様の方法でMproとAloe veraに含まれる各化合物間の結合特性を解析した結果、14種類の化合物の中で、A14とMpro間のTotal IFIEが最大(-150.1 kcal/mol)になることが明らかになった。A14がMproに強く結合する理由を明らかにするため、A14とMproのアミノ酸間の相互作用構造を調べた。Figure 2に示すように、A14の上側の2つのOH基が、MproのGlu166の側鎖とGlu166とLeu167間の主鎖と強い水素結合を形成する。さらに、別のOH基がThr26主鎖と水素結合し、O原子がAsn142側鎖と水素結合を形成することが分かり、これらの相互作用によりA14がMproと強く結合することが明らかになった。

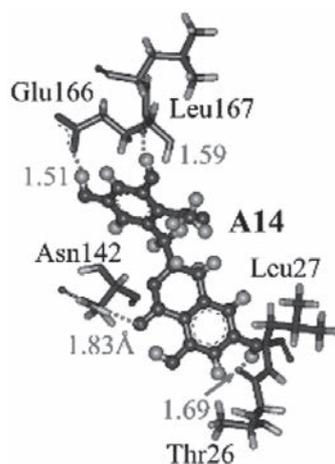


Figure 2. Interaction structure between A14 compound (ball-and-stick model) and selected important Mpro residues (stick model). Hydrogen bonding interactions are indicated by red lines.

### 3.3. MproとNight jasmineあるいはJusticia adhatodaに含まれる化合物間の結合特性

同様の方法でMproとN. Jasmineに含まれる9種類の化合物間の結合特性を解析した結果、正電荷を持つN8がMproと最も強く相互作用することが明らかになった。しかし、この相互作用は、N8の正電荷がMproの多くの荷電アミノ酸と静電相互作用する結果から生じたものであり、他の電荷を持たない化合物と相互作用状態を比較できないため、本研究ではN8は候補化合物から除外した。また、N. Jasmineに含まれる他の8種類の化合物のTotal IFIEのサイズは、100 kcal/mol以下であり、前述のM9及びA14と比較して大幅に小さいため、N. Jasmineに含まれる化合物は、Mproにはそれほど強くは相互作用しないと考えられる。

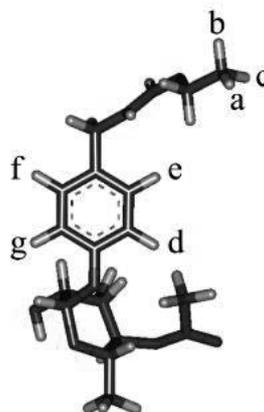
さらに、J. Adhatodaに含まれる16種類の化合物に関して、Mproとの相互作用の強さを解析したが、Total IFIEの最大値は、104 kcal/molであり、前述のM9及びA14と比較して大幅に小さくなることが明らかになった。従って、Mproに強く結合し、その機能を阻害できる有効な阻害剤の候補としては、M9及びA14が適していることが、上記の計算により明らかになった。

### 3.4. 化合物M9あるいはA14を基にした新規阻害剤の提案

まず、51種類の化合物の中で、MproとのTotal IFIEが2番目に大きいM9をベースに新規化合物を提案し、Mproにより強く結合する新規化合物の提案を試みた。Figure 1に示すように、M9のOH基がMproのアミノ酸残基との相互作用に寄与している。そこで、M9の特定の部位にOH基を導入することにより、Mproとの結合を強めようと考えた。Table 2に示すようにM9の7個の位置にOH基を導入し、7種類の派生物を提案し、Mproとの結合特性を解析した。その結果、M9d及びM9cは、他の化合物に比べて大きなTotal IFIEを有し、Mproにより強く結合する可能性があることが明らかになった。さらに、M9dとM9cのTotal IFIEの大きさは、M9よりも24 kcal/mol以上大きく、OH基をM9のd-位置、あるいはc-位置に導入することにより、M9とMpro間の引力相互作用が大幅に強化されることが明らかになった。これらの派生物は、Mproに対する有効な阻害剤に成り得る。

Table 2. The total inter fragment interaction energy (IFIE; kcal/mol) between each compound and all Mpro residues evaluated using the FMO method. The proposed compounds are defined as compounds M9a–M9g, based on the site to be replaced by a hydroxyl group. For example, in compound M9a, the hydrogen atom at the a-site of compound M9 shown as follows is replaced by a hydroxyl group.

Compound	Total IFIE
M9	-136.5
M9a	-149.9
M9b	-139.1
M9c	-160.6
M9d	-175.4
M9e	-145.1
M9f	-139.6
M9g	-153.9

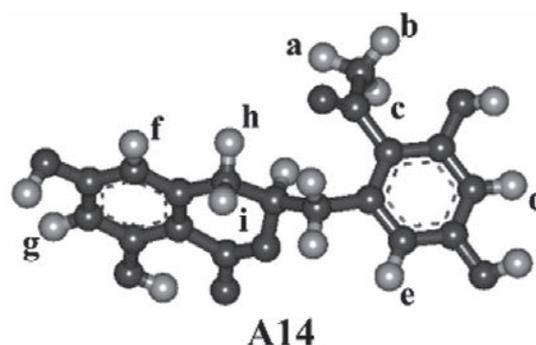


同様に、Total IFIEのサイズが最大のA14に対して、Mproとの結合をさらに強める目的で、A14の水素原子をOH基に置換し、9種類の新規派生化合物を提案し、Mproとの結合特性を解析した。置換位置、及びMproとのTotal IFIEをTable 3に示す。Total IFIEは置換される部位によって大きく変化した。特にA14b、A14d、A14iのTotal IFIEの大きさは、A14と比較して10 kcal/mol以上大きく、OH基を導入することでMproへの結合が強くなることが明らかになった。

この原因を明らかにするため、A14及びA14dとMproを構成する各アミノ酸残基間の相互作用を比較した。A14はMproのGlu166、Leu167、Asn142、Leu27残基と強く引力相互作用し、その結果、A14はMproに強く結合する。Table 3に示すA14のdの位置にOH基を置換することにより、Glu166とA14間のIFIEはさらに30 kcal/mol大きくなり、その結果、A14dとMpro間のTotal IFIEが-171.1 kcal/molとなり、A14と比較して、21 kcal/mol大きくなることが明らかになった。従って、本研究で提案した9種類のA14派生化合物の中で、A14dのTotal IFIEが最大であり、A14dはMproに対する有効な阻害剤になり得ると考えられる。

**Table 3.** The total inter fragment interaction energy (IFIE; kcal/mol) between each proposed compound and all Mpro residues evaluated using the FMO method. The proposed compounds are defined as compounds A14a–A14i, based on the site to be replaced by a hydroxyl group. For example, in compound A14a, the hydrogen atom at the a-site of compound A14 is replaced by a hydroxyl group.

Compound	Total IFIE
A14	-150.1
A14a	-148.9
A14b	-168.7
A14c	-154.0
A14d	-171.1
A14e	-154.8
A14f	-159.9
A14g	-153.5
A14h	-154.5
A14i	-160.9



#### 4. まとめ

新型コロナウイルス感染症の原因であるSARS-CoV-2ウイルスが有する酵素タンパク質Mproに対する有効な阻害剤を、天然物由来の化合物をベースに提案する目的で、4種類の植物に含まれる51種類の天然化合物とMpro間の結合特性を、高精度分子シミュレーションにより解析した。その結果、Moringa oleiferaに含まれる化合物Niaziminin (M9)、及びAloe veraに含まれる化合物Feralolide (A14)がMproに強く結合することが明らかになった。さらに、これらの化合物のMproへの結合を強めるため、M9及びA14中の異なる部位にOH基を導入し、新規化合物を提案し、それらの化合物とMpro間の結合特性を解析した。新たに提案した化合物の中で、M9のフェニル環にOH基を導入した化合物M9d (Table 2)が、MproのGlu166及びPhe140残基と水素結合を形成し、Mproにより強く結合することが明らかになった。また、A14をベースに提案した9種類の化合物の中で、Table 3に示すA14dのTotal IFIEが最大であり、A14に導入したOH基がGlu166側鎖と新たに水素結合を形成し、Mproにより強く結合することが分かった。本研究で提案した新規化合物の中では、M9d及びA14dのTotal IFIEが大きく、これらの化合物はMproに強く結合し、その機能を効果的に阻害する阻害剤になり得ると期待できる。

#### 発表済、及び投稿中の論文

1. “Specific interactions between SARS-CoV-2 main protease and natural compounds: *Ab initio* fragment molecular orbital calculations” , Shaji, D.; Suzuki, R.; Shulga, S.; Kurita, N., submitted.
2. “Exploration of plant based inhibitors against SARS-CoV-2 main protease through molecular simulations: A review” , Shaji, D.; Suzuki, R.; Takimoto, D.; Hashimoto, Y.; Tada, N.; Kurita, N. *International Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 2023, 11, 660.
3. “Natural inhibitors for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 main protease from

*Moringa oleifera*, *Aloe vera*, and *Nyctanthes arbor-tristis*: Molecular docking and *ab initio* fragment molecular orbital calculations” , Shaji, D.; Suzuki, R.; Yamamoto, S.; Orihashi, D.; Kurita, N. *Structural Chemistry*, 2022, 33, 1771-1788.

4. “Proposal of novel natural inhibitors of SARS-CoV-2 main protease: Molecular docking and *ab initio* fragment molecular orbital calculations” , Shaji, D.; Yamamoto, S.; Saito, R.; Suzuki, R.; Nakamura, S.; Kurita, N., *Biophysical Chemistry*, 2021, 275, 106608.