

## ***In silico* идентификация потенциальных ингибиторов основной протеазы SARS-CoV-2 методами виртуального скрининга, докинга, квантовой химии и молекулярной динамики**

Андрианов А.М.<sup>1\*</sup>, Корноушенко Ю.В.<sup>1</sup>, Карпенко А.Д.<sup>2</sup>, Босько И.П.<sup>2</sup>, Тузиков А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии НАН Беларуси*

<sup>2</sup>*Объединённый институт проблем информатики НАН Беларуси*

\*[alexande.andriano@yandex.ru](mailto:alexande.andriano@yandex.ru)

С целью поиска низкомолекулярных соединений, способных имитировать структурно-функциональные свойства высокоаффинного лиганда X77 основной протеазы коронавируса SARS-CoV-2 – этиологического агента COVID-19 – осуществлен виртуальный скрининг 9 молекулярных библиотек веб-сервера Pharmit, содержащих более 213,5 миллионов химических структур. С помощью методов молекулярного моделирования проведена оценка нейтрализующей активности идентифицированных молекул, в результате которой обнаружены пять соединений-лидеров, перспективных для синтеза и тестирования на противовирусную активность. Показано, что эти соединения могут быть использованы в качестве базовых структур для разработки эффективных лекарственных препаратов для терапии коронавирусной инфекции нового типа.

*Ключевые слова:* коронавирус SARS-CoV-2, COVID-19, основная протеаза, ингибиторы SARS-CoV-2, молекулярное моделирование, противовирусные препараты.

## ***In silico* identification of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease using methods of virtual screening, docking, quantum chemistry and molecular dynamics**

Andrianov A.M.<sup>1</sup>, Kornoushenko Yu.V.<sup>1</sup>, Karpenko A.D.<sup>2</sup>, Bosko I.P.<sup>2</sup>, Tuzikov A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus*

<sup>2</sup>*United Institute of Informatics Problems, National Academy of Sciences of Belarus*

To search for small-molecule compounds that can mimic the structural and functional properties of the high affinity X77 ligand of the main protease of SARS-CoV-2 – etiological agent of COVID-19, a virtual screening of 9 molecular libraries of the Pharmit web server containing over 213.5 million chemical structures was performed. Using molecular modeling, the neutralizing activity of the identified molecules was evaluated, resulting in 5 leader compounds promising for synthesis and testing for antiviral activity. The data obtained indicate that these compounds may be used as basic structures for the development of effective drugs to treat the novel coronavirus infection.

*Key words:* coronavirus SARS-CoV-2, COVID-19, main protease, SARS-CoV-2 inhibitors, molecular modeling, antiviral drugs.

### **Введение**

Вспышка коронавирусной инфекции в Китае в конце 2019 года, вызванная вирусом SARS-CoV-2 (возбудителя COVID-19), стала причиной серьезной обеспокоенности мирового сообщества, так как число инфицированных людей постоянно увеличивается со значительным географическим распространением. В настоящее время предпринимаются многочисленные попытки разработать эффективную противовирусную вакцину и найти новые терапевтические средства против COVID-19. Проведенные исследования различных аспектов SARS-CoV-2, включая

эпидемиологию и секвенирование генома, предоставили важную информацию о новом вирусе [1, 2]. Согласно полученным данным [1, 2], SARS-CoV-2 принадлежит к большому семейству коронавирусов, инфицирующих людей и некоторые виды животных, вызывая множество широко распространенных и тяжелых заболеваний, таких как атипичная пневмония SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) и ближневосточный респираторный синдром MERS (Middle East Respiratory Syndrome) [3]. Геном коронавируса SARS-CoV-2 представляет собой положительно смысловую, однонитевую РНК и состоит из ~ 30000 нуклеотидов, а его ген репликазы кодирует два

перекрывающихся полипротеина pp1a и pp1ab, необходимых для репликации вируса и транскрипции [4]. Затем эти два полипротеина обрабатываются цистеиновыми протеазами, а именно папаиноподобной протеазой PL<sup>Pro</sup> и 3-химотрипсиноподобной протеазой 3CL<sup>Pro</sup> (также известной как основная протеаза M<sup>Pro</sup>), необходимой для созревания вируса и обеспечения его инфективности [4]. Основная протеаза (M<sup>Pro</sup>), вырезанная за счет собственной аутолитической активности из перекрывающихся полипротеинов pp1a и pp1ab, “переваривает” их в не менее чем 11 консервативных сайтах, что свидетельствует о ее чрезвычайно важной функциональной роли в жизненном цикле вируса и делает крайне привлекательной мишенью для разработки эффективных противовирусных препаратов [5].

В недавних работах M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 была использована в качестве мишени для скрининга клинически одобренных лекарств как потенциальных ингибиторов вируса [6–8] с целью идентификации препаратов, эффективных против COVID-19. Так как профили безопасности этих препаратов хорошо документированы, такой подход, сочетающий в себе структурный дизайн лекарств с методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования, может существенно облегчить и ускорить процесс обнаружения противовирусных соединений с клиническим потенциалом с целью их перепрофилирования для лечения пациентов, инфицированных коронавирусом нового типа. Однако, принимая во внимание мутации SARS-CoV-2 [9], чрезвычайно актуальными также являются исследования по разработке новых противовирусных соединений, способных блокировать функционально важные сайты белков вируса COVID-19.

Определение методом рентгеноструктурного анализа пространственной структуры основной протеазы SARS-CoV-2 высокого разрешения [5] создало предпосылки не только для понимания функции и механизма действия фермента, но и для разработки новых эффективных ингибиторов на основе прямых методов компьютерного конструирования лекарств, использующих данные о структуре молекулярной мишени. В частности, 25 марта 2020 г. в Банк данных белков была депонирована структура M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 в комплексе с высокоаффинным лигандом X77 (Банк данных белков, код 6w63, <http://www.rcsb.org/structure/6W63>), представляющим собой мощный нековалентный ингибитор как SARS-CoV, MERS-CoV, так и SARS-CoV-2.

В настоящей работе осуществлен компьютерный скрининг низкомолекулярных химических соединений, имитирующих фармакофорные свойства ингибитора X77, выполнена оценка их потенциальной противовирусной активности и идентифицированы молекулы, перспективные для

создания новых эффективных препаратов для терапии COVID-19.

Для решения поставленной задачи были выполнены исследования, включающие следующие этапы:

1) Построение фармакофорной модели, описывающей совокупность структурно-функциональных свойств ингибитора X77, обеспечивающих специфичность его взаимодействий с активным сайтом M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2;

2) Виртуальный скрининг молекулярных библиотек веб-сервера Pharmit (<http://pharmit.csb.pitt.edu>) [10], позволяющего проводить интерактивное исследование химического пространства с целью поиска потенциальных лекарств на основе сходства фармакофорных моделей с высокоаффинными лигандами белка-мишени;

3) Отбор соединений, удовлетворяющих “правилу пяти” Липинского [11], накладывающего на молекулу, взаимодействующую с заданной молекулярной мишенью, условия подобия лекарству;

4) Молекулярный докинг отобранных соединений с M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2;

5) Оптимизацию комплексов лиганд-M<sup>Pro</sup> с помощью полуэмпирического квантово-химического метода PM7;

6) Молекулярную динамику комплексов идентифицированных лигандов с M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2;

7) Расчет величин констант диссоциации комплексов лиганд-M<sup>Pro</sup> и свободной энергии связывания с последующей идентификацией молекул, перспективных для разработки эффективных противовирусных препаратов.

## Методы исследования

Для построения модели фармакофора ингибитора SARS-CoV-2 X77 использовали программное обеспечение веб-сервера Pharmit [10] с привлечением в качестве входных данных структуры комплекса X77-M<sup>Pro</sup> в кристалле (Банк данных белков; код 6w63; <https://www.rcsb.org>). Эта модель была использована для виртуального скрининга низкомолекулярных соединений, способных блокировать сайт связывания M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 с ингибитором X77.

Виртуальный скрининг осуществляли в 9 молекулярных библиотеках веб-сервера Pharmit, содержащих информацию о химических структурах более 213,5 миллионов молекул (<http://pharmit.csb.pitt.edu>). В результате был идентифицирован набор соединений, удовлетворяющих заданной модели фармакофора ингибитора X77 и “правилу пяти” Липинского [11]. Эффективность межмолекулярных взаимодействий идентифицированных соединений с M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 оценивали методом молекулярного докинга на основе анализа величин свободной энергии

связывания и констант диссоциации комплексов лиганд- $M^{Pro}$ . Структуру белка  $M^{Pro}$  SARS-CoV-2, (Банке данных белков, код 6w63) использовали в приближении жесткого рецептора. Молекулярный докинг осуществляли в программном пакете QuickVina 2 [12] с учетом конформационной подвижности лигандов. В качестве положительного контроля в расчетах использовали ингибитор X77, структуру которого извлекали из комплекса этого соединения с  $M^{Pro}$  SARS-CoV-2 в кристалле. Перед проведением докинга к структурам лигандов и рецептора добавляли атомы водорода и выполняли их оптимизацию в силовом поле UFF. Для этой цели использовали программу Open Vabel ([http://openvabel.org/wiki/Main\\_Page](http://openvabel.org/wiki/Main_Page)). Ячейка для докинга включала сайт связывания  $M^{Pro}$  SARS-CoV-2 с ингибитором X77 и имела следующие параметры:  $\Delta X = 19 \text{ \AA}$ ,  $\Delta Y = 21 \text{ \AA}$ ,  $\Delta Z = 23 \text{ \AA}$  с центром при  $X = -20 \text{ \AA}$ ,  $Y = 19 \text{ \AA}$ ,  $Z = -26 \text{ \AA}$ ; т. е. объем ячейки составлял  $19 \times 21 \times 23 = 9177 \text{ \AA}^3$ . Параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), был задан равным 1000 [12]. Межмолекулярные взаимодействия в структурных комплексах лигандов с  $M^{Pro}$  SARS-CoV-2 идентифицировали с помощью программы BINANA [13]. Величины констант диссоциации ( $K_d$ ) рассчитывали с помощью оценочной функции NNScore 2.0 [14], разработанной на основе методов машинного обучения с использованием 20 нейронных сетей и предназначенной для предсказания высокоаффинных низкомолекулярных лигандов.

Значения свободной энергии связывания оценивали из величин  $K_d$  с помощью формулы  $\Delta G = R \times T \times \ln(K_d)$  (где  $\Delta G$  – свободная энергия связывания,  $R$  – универсальная газовая постоянная,

$T$  – абсолютная температура, равная 310 K) [15].

Оптимизацию комплексов лиганд- $M^{Pro}$  осуществляли с использованием полуэмпирического квантово-химического метода PM7 [16] в программном пакете MOPAC2016 (<http://OpenMOPAC.net>). Перед проведением расчетов проводили подготовку структур – добавляли атомы водорода и оптимизировали в силовом поле UFF – с использованием программного пакета OpenVabel. Расчеты выполняли с привлечением сольватационной модели COSMO [17–19] со значением диэлектрической постоянной, равной 78,4. Для ускорения расчетов использовали метод MOZYME при значении градиента, равном 10 ккал/моль/Å.

Молекулярную динамику комплексов лиганд- $M^{Pro}$  проводили с помощью программного пакета Amber18 в силовых полях ff14SB [20] ( $M^{Pro}$ ) и GAFF (лиганды) [21]. Комплексы помещали в кубическую коробку, заполняли растворителем (модель воды TIP3P [22]) и добавляли ионы  $Na^+$  и  $Cl^-$  до значения ионной силы, равного 0,10 М. Систему минимизировали (первые 500 шагов использовали алгоритм наискорейшего спуска, последние 500 шагов – сопряжённых градиентов), а затем нагревали от 0 К до 310 К в течение 1 нс в рамках статистического ансамбля NVT и термостата Ланжевена с последующим уравниванием в течение 1 нс и давлении 1,0 атм (ансамбль NPT, баростата Берендсена). На заключительном этапе систему уравнивали в течение 0,5 нс при постоянном объёме и проводили молекулярную динамику в течение 50 нс при температуре 310 К и давлении 1 атм.

**Таблица 1.** Значения констант диссоциации и энергий связывания, вычисленные для идентифицированных лигандов в комплексах с  $M^{Pro}$  SARS-CoV-2

Лиганд	I	II	III	IV	V	X77
$K_d^1$ (мкмоль)	0.006	0.039	0.157	2.0	2.65	0.057
$\Delta G_{DOC}^2$ (ккал/моль)	-11.65	-10.50	-9.64	-8.07	-7.90	-10.21
$\Delta H_{PM7}^3$ (ккал/моль)	-80.1	-96.6	-90.7	-71.4	-53.78	-62.8
$\Delta G_{MM/GBSA}^4$ (ккал/моль)	$-27.18 \pm 6.53$	$-47.66 \pm 4.33$	$-33.56 \pm 5.88$	$-39.21 \pm 3.83$	$-35.00 \pm 3.71$	$-41.70 \pm 4.28$

<sup>1</sup>Значения  $K_d$ , рассчитанные для статических моделей комплексов лиганд- $M^{Pro}$ ;

<sup>2</sup>Значения  $\Delta G$ , вычисленные по данным о величинах  $K_d$ ;

<sup>3</sup>Значения энтальпии связывания, оцененные для комплексов лиганд- $M^{Pro}$  методом PM7;

<sup>4</sup>Значения энергии связывания, рассчитанные для динамических моделей комплексов лиганд- $M^{Pro}$  методом MM/GBSA [20]. Приведены средние значения энергии и соответствующие им стандартные отклонения.

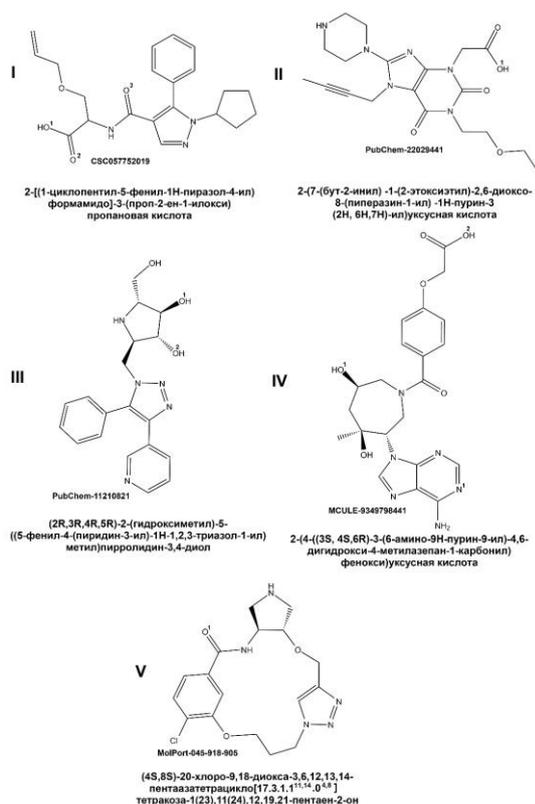
## Результаты и обсуждение

Виртуальный скрининг молекулярных библиотек веб-сервера Pharmit позволил идентифицировать 24 соединения, согласующихся с

построенной моделью фармакофора ингибитора X77 и прошедших через “фильтр Липинского” [11]. В результате оценки противовирусной активности этих соединений были выделены 5 молекул-лидеров (рис. 1), эффективно взаимодействующих с

M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 и характеризующихся низкими значениями  $K_d$  и свободной энергии связывания (табл. 1).

Анализ структурных комплексов идентифицированных соединений с M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 свидетельствует о наличии большого числа межмолекулярных взаимодействий, в которые вовлечены аминокислотные остатки фермента, входящие в его активный центр. В частности, соединение I формирует три водородные связи с остатками Ser-144, His-163 и Glu-166 M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2. Кроме водородных связей, эта молекула образует солевой мостик с His-163 и 23 ван-дер-ваальсовых контакта с функционально важными остатками M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2, среди которых следует особо выделить His-41, являющийся составной частью каталитической диады фермента [23] и участвующий, наряду с ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, в  $\pi$ - $\pi$  стэкинге с этой молекулой.



**Рис. 1.** Структуры и систематические названия идентифицированных соединений (номера атомов, участвующие в образовании межмолекулярных водородных связей).

Соединения II–V проявляют аналогичный механизм связывания с M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2, основу которого формируют водородные связи, межмолекулярные ван-дер-ваальсовы контакты, солевые мостики (соединения I, III, V) и  $\pi$ - $\pi$  взаимодействия между  $\pi$ -сопряженными системами лигандов и боковой цепи остатка His-41 (соединения I, III, IV). При этом доминирующую роль в стабилизации структурных комплексов M<sup>Pro</sup>

SARS-CoV-2 с лигандами играют ван-дер-ваальсовы контакты, в которые вовлечены ключевые остатки активного центра фермента.

Таким образом, согласно результатам молекулярного докинга и квантово-химических расчетов обнаруженные соединения образуют широкую сеть межмолекулярных контактов с функционально важными остатками M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 и проявляют высокое сродство к каталитическому сайту фермента. Этот вывод подтверждают низкие значения  $K_d$  и свободной энергии связывания, рассчитанные для комплексов идентифицированных молекул с белком M<sup>Pro</sup> (табл. 1).

Данные молекулярной динамики согласуются с основными выводами, сделанными на основе анализа статических комплексов лиганд-M<sup>Pro</sup>. Эти комплексы относительно стабильны в течение молекулярно-динамических расчетов, о чем свидетельствуют средние значения энергии связывания и соответствующие стандартные отклонения (табл. 1). Учитывая погрешности метода MM/GBSA [24], можно предположить, что динамические структуры комплексов лиганд-M<sup>Pro</sup> демонстрируют средние значения энергии связывания, сопоставимые со значением, рассчитанным для ингибитора X77 с помощью идентичного вычислительного протокола (табл. 1). В пользу относительной стабильности этих комплексов свидетельствуют также данные о временной зависимости отклонений атомных координат, вычисленных для динамических и статических моделей комплексов лиганд-M<sup>Pro</sup>. Анализ этих зависимостей показывает, что рассматриваемые комплексы не претерпевают значительных структурных перестроек на МД траекториях, что подтверждается средними значениями среднеквадратичных отклонений (RMSD) атомных координат, рассчитанными для динамических и статических моделей идентифицированных молекул в комплексах с M<sup>Pro</sup>. Средние значения RMSD и стандартных отклонений, которые составляют  $2.54 \pm 0.45$  Å (соединение I),  $2.15 \pm 0.33$  Å (соединение II),  $1.59 \pm 0.39$  Å (соединение III),  $1.81 \pm 0.32$  Å (соединение IV) и  $2.13 \pm 0.34$  Å (соединение V), близки к величине  $1.54 \pm 0.23$  Å, полученной для ингибитора SARS-CoV-2 X77.

## Выводы

Анализ построенных методами молекулярного моделирования комплексов идентифицированных соединений с M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 свидетельствует о наличии большого числа межмолекулярных взаимодействий, приводящих к блокаде каталитического сайта фермента. Согласно расчетным данным, комплексы этих соединений с M<sup>Pro</sup> SARS-CoV-2 демонстрируют низкие значения констант диссоциации и энергии связывания. Обнаруженные в базах данных соединения

полностью удовлетворяют “правилу пяти” Липинского и формируют перспективные базовые структуры для разработки эффективных лекарственных препаратов для терапии коронавирусной инфекции нового типа.

## Благодарности

Работа поддержана грантом Государственной программы научных исследований «Конвергенция 2020» (проект 3.08) и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект X20MC-006).

## Список литературы

1. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H, Wang W., Song H., Huang B., Zhu N. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*. 2020. V. 395. P. 565–574. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
2. Chan J.F.-W., Yuan S., Kok K.-H., To K.K.-W, Chu H., Yang J., Xing F., Liu J., Yip C.C.-Y., Poon R.W.-S. et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *The Lancet*. 2020. V. 395. P. 514–523. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9).
3. De Wit E., van Doremalen N., Falzarano D., Munster V.J. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*. 2016. V. 14. № 8. P. 523–534.
4. Chen Y., Liu Q., Guo D. Coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*. 2020. V. 92. № 4. P. 418–423.
5. Jin Z., Du X., Xu Y., Deng Y., Liu M., Zhao Y., Zhang B., Li X., Zhang L., Peng C. et al. Structure of M<sup>pro</sup> from 1 COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *Nature*. 2020. doi: [10.1038/s41586-020-2223-y](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y).
6. Liu X., Wang, X.-J. Potential inhibitors for 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. *BioRxiv*. 2020. doi: [10.1101/2020.01.29.924100](https://doi.org/10.1101/2020.01.29.924100).
7. Li Y., Zhang J., Wang N., Li H., Shi Y., Guo G., Liu K., Zeng H., Zou Q. Therapeutic drugs targeting 2019-nCoV main protease by high-throughput screening. *BioRxiv*. 2020. doi: [10.1101/2020.01.28.922922](https://doi.org/10.1101/2020.01.28.922922).
8. Zhijian X., Peng C., Shi Y., Zhu Z., Mu K., Wang X., Zhu W. Nelfinavir was predicted to be a potential inhibitor of 2019-nCoV main protease by an integrative approach combining homology modelling, molecular docking and binding free energy calculation. *BioRxiv*. 2020. doi: [10.1101/2020.01.27.921627](https://doi.org/10.1101/2020.01.27.921627).
9. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *PNAS*. 2020. doi: [10.1073/pnas.2004999117](https://doi.org/10.1073/pnas.2004999117).
10. Sunseri J., Koes D.R. Pharmit: interactive exploration of chemical space. *Nucleic Acids Research*. 2016. V. 44. P. W442–W448.
11. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001. V. 46. № 1–3. P. 3–26.
12. Alhossary A., Handoko S.D., Mu Y., Kwok C.K. Fast, accurate, and reliable molecular docking with QuickVina 2. *Bioinformatics*. 2015. V. 31. № 13. P. 221–2216.
13. Durrant J.D., McCammon J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. *Journal of Molecular Graphics & Modeling*. 2011. V. 29. № 6. P. 888–893.
14. Durrant J.D., McCammon J.A. NNScore 2.0: A neural-network receptor–ligand scoring function. *Journal of Chemical Information & Modeling*. 2011. V. 51. № 11. P. 2897–2903.
15. Sharma G., First E.A. Thermodynamic analysis reveals a temperature-dependent change in the catalytic mechanism of bacillus stearothermophilus tyrosyl-tRNA synthetase. *Journal of Biological Chemistry*. 2009. V. 284. № 7. P. 4179–4190.
16. Stewart J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: More modifications to the NDDO approximations and reoptimization of parameters. *Journal of Molecular Modeling*. 2013. V. 19. № 1. P. 1–32.
17. Klamt A. *COSMO-RS: From quantum chemistry to fluid phase thermodynamics and drug design*. 1<sup>st</sup> ed. Elsevier Science, 2005. p. 246.
18. Klamt A., Moya C., Palomar J. A comprehensive comparison of the IEFPCM and SS(V)PE continuum solvation methods with the COSMO approach. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2015. V. 11. № 9. P. 4220–4225.
19. Klamt A., Schuurmann G. COSMO: A new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*. 1993. V. 2. P. 799–80.
20. Case D.A., Belfon K., Ben-Shalom I.Y., Brozell S.R., Cerutti D.S., Cheatham T.E. III, Cruzeiro V.W.D., Darden T.A., Duke R.E., Giambasu G. et al. *AMBER 2020*. San Francisco: University of California, 2020.
21. Wang J., Wolf R.M., Caldwell J.W., Kollman P.A., Case D.A. Development and testing of a general Amber force field. *Journal of Computational Chemistry*. 2004. V. 25. № 9. P. 1157–1174.
22. Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein M.L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The*

- Journal of Chemical Physics*. 1983. V. 79. № 2. P. 926–935.
23. Qamar M.T., Alqahtani S.M., Alamri M.A., Chen L.-L. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2020. doi: [10.1016/j.jpha.2020.03.009](https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009).
  24. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinity. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2015. V. 10. № 5. P. 449–461.