



滴眼液中抑菌剂硫柳汞的HPLC含量测定方法研究

高锦, 胡丹, 马紫辉, 徐君伟, 高青, 洪小栩

Determine antimicrobial preservatives thimerosal in eye drops by HPLC

GAO Jin, HU Dan, MA Zihui, XU Junwei, GAO Qing, HONG Xiaoxu

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202404059>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

HPLC-MS/MS测定当归六黄汤中4种不同成分的含量

Determination of four different components in Danggui Liu Huang decoction by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(6): 248-252, 266 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202305007

HPLC-MS/MS同时测定感冒安颗粒中5种黄酮成分的含量

Simultaneous determination of five flavonoids in Ganmao' an granules by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(9): 402-406 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202403030

核磁共振磷谱法测定磷酸氢钙咀嚼片中药物含量

Determination of phosphorus content in calcium hydrogen phosphate tablets by ^{31}P -qNMR

药学实践与服务. 2024, 42(9): 399-401, 406 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202404063

大黄的HPLC指纹图谱及禁用农药的残留研究

HPLC fingerprint of Radix Rhubarb and forbidden pesticide residues

药学实践与服务. 2024, 42(7): 297-304, 314 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202310057

UPLC-MS/MS法测定小鼠血浆中紫杉醇脂肪酸酯前药及其药代动力学研究

Determination and pharmacokinetics investigation of prodrugs of paclitaxel fatty acid esters in mouse plasma by UPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(8): 341-345 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202404082

肝素钠肌醇烟酸酯乳膏中肌醇烟酸酯皮肤药动学研究

Skin pharmacokinetics of inositol nicotinate in heparin sodium inositol nicotinate cream

药学实践与服务. 2025, 43(1): 6-9, 21 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202404006



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 研究报告 ·

滴眼液中抑菌剂硫柳汞的 HPLC 含量测定方法研究

高 锦¹, 胡 丹¹, 马紫辉¹, 徐君伟¹, 高 青², 洪小栩³ (1. 联勤保障部队药品仪器监督检验总站, 北京 100071;
2. 北京市药品检验研究院, 北京 102206; 3. 国家药典委员会, 北京 100061)

[摘要] 目的 建立测定滴眼液中硫柳汞含量的高效液相色谱法(HPLC), 用于滴眼液中已知抑菌剂量的检查或未知抑菌剂量的筛查。方法 采用 HPLC, 资生堂 MGII-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为 1% 三乙胺(磷酸调节 pH 为 3.0)-甲醇, 梯度洗脱, 柱温为 40 ℃, 检测波长为 222 nm, 流速为 1 ml/min, 进样体积 20 μl。结果 硫柳汞在 4.3~216.7 μg/ml 之间呈良好的线性关系($r>0.999$), 平均回收率为 102.1%, RSD 为 2.7%。结论 该法简便、准确、专属性强, 可用于滴眼液中硫柳汞的定量测定。

[关键词] 高效液相色谱法; 滴眼液; 抑菌剂; 硫柳汞; 含量测定

[文章编号] 2097-2024(2025)06-0293-05

[DOI] [10.12206/j.issn.2097-2024.202404059](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202404059)

Determine antimicrobial preservatives thimerosal in eye drops by HPLC

GAO Jin¹, HU Dan¹, MA Zihui¹, XU Junwei¹, GAO Qing², HONG Xiaoxu³ (1. General Station for Drug & Instrument Supervision of Joint Logistics Support Force of the PLA, Beijing 100071, China; 2. Beijing Institute for Drug Control, Beijing 102206, China; 3. Chinese Pharmacopoeia Commission, Beijing 100061, China)

[Abstract] **Objective** To establish a HPLC method for determining thimerosal compounds in eye drops. **Methods** A gradient HPLC system was used in the quantitative analysis of thimerosal compounds on Shiseido MGII C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), using 1% triethylamine solution (pH adjusted to 3.0 with phosphate) as mobile phase A, the methanol as mobile phase B, gradient elution, The column temperature was 40 ℃, the detection wavelength was 222 nm, the flow rate was 1 ml/min and the injection volume was 20 μl. **Results** The established method had good linearity within the concentration range of 4.3-216.7 μg/ml ($r>0.999$) for thimerosal, with average recoveries was 102.1%, RSD2.7%. **Conclusion** This method was simple, accurate and highly specific, and could be used for determination of thimerosal compound in eye drops.

[Key words] HPLC; eye drop; antimicrobial preservatives; thimerosal; determination

多剂量滴眼液须使用抑菌剂, 防止使用过程中和货架期内微生物污染和繁殖, 但是抑菌剂对眼的伤害不容忽视, 多国药典及抑菌剂管理规范^[1] 均要求处方中抑菌剂的浓度必须在有效性和安全性方面得到合理性支持, 保证抑菌剂浓度最低但又能发挥抑菌作用, 并规定滴眼液标签必须注明抑菌剂种类和标示量, 且实际含量应在标示量的±20% 以内。《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020 版收载了 45 个滴眼剂品种, 只有 12 个列入抑菌剂检查项, 仅占 26.7%^[2-4]。目前市售滴眼液标签多数未按照《中国药典》(四部)2020 版通则

[基金项目] 国家药典委员会药品医疗器械审评审批制度改革专项课题(ZG2016-4-03)

[作者简介] 高 锦, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 药物质量控制方法研究, Email:angelgaojin@163.com

[通信作者] 洪小栩, 博士, 主任药师, 研究方向: 药品标准管理, Email:hongxiaoxu@chp.org.cn

0105 眼用制剂^[5] 要求标明抑菌剂种类和标示量, 滴眼液中抑菌剂的使用和质量安全控制缺乏有效监管。

目前滴眼液允许使用的抑菌剂主要有羟苯酯类、季铵盐类、有机酸类、醇类、酚类和有机汞类等, 其中有机汞类常用硫柳汞。硫柳汞在滴眼剂、滴鼻剂、疫苗、化妆品中广泛使用。然而, 汞对人体具有潜在的危害, 摄入过量的汞可造成神经系统、肾脏、皮肤的损伤。滴眼剂中抑菌剂浓度过高会对眼上皮细胞产生损伤, 有研究者在对药源性角膜上皮病变病例研究时发现, 有患者使用防腐剂为硫柳汞的滴眼剂后引起了明显的点状角膜上皮损害^[6-8]。《中国药典》(三部)2020 年版通则 3115“含量测定法”中收载硫柳汞测定方法^[4], 采用滴定法和原子吸收分光光度法, 《中国药典》(二部)2020 年版^[3] 各论阿昔洛韦滴眼剂项下采用高效液相色谱方法, 另外文献资料收载的测定法主要有: 原子荧光光谱分析法、冷原子吸收光谱法、硫氰酸铵滴定法、二硫

腙滴定法、二硫腙比色法等^[9-12]，这些方法的共同点是有机汞首先被消解成无机汞，然后测定无机汞的含量。上述方法操作步骤繁琐，专属性不强，不适用于复杂药物制剂中加入的少量有机汞防腐剂快速准确检测。为此，本研究建立了一种通用型HPLC法用于测定滴眼液中抑菌剂硫柳汞的含量。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪(Waters公司)；MSE225S型电子天平(美国赛多利斯公司)；硫柳汞(含量：97.0%，批号：T1605112, Aladdin公司)；醋酸苯汞(纯度：97.0%，批号：P27127, Sigma公司)。甲醇、三乙胺为色谱纯，磷酸为分析纯，水为超纯水。

以收集到的4个制药企业(A、B、C、D)生产的6批滴眼液为供试品，处方中硫柳汞含量均不同(企业A双氯芬酸钠滴眼液，批号：150301、150802、160801；企业B阿昔洛韦滴眼液，批号：16090401；企业C盐酸林可霉素滴眼液，批号：160501；企业D苄达赖氨酸滴眼液，批号：3160703)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱资生堂 MGII-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)，以1%三乙胺溶液(磷酸调节pH值至3.0)为流动相A，以甲醇为流动相B；按表1进行梯度洗脱；柱温为40 °C；检测波长为222 nm；流速为1 ml/min；进样体积20 μl。

表1 梯度洗脱程序

时间(t/min)	流动相A(%)	流动相B(%)
0	50	50
2	50	50
17	10	90
20	10	90
20.1	50	50
27	50	50

2.2 溶液制备

2.2.1 系统适用性考察溶液配制

精密称取硫柳汞对照品约10 mg，置100 ml量瓶中，用水溶解并稀释至刻度，摇匀；另取硝酸苯汞对照品约10 mg，置100 ml量瓶中，用甲醇超声溶解并稀释至刻度，摇匀；取上述两种液体等量混合，即得。

2.2.2 对照品溶液制备

取硫柳汞对照品适量，精密称定，加水溶解并稀释成0.2 mg/ml的溶液作为对照品储备液；精密

量取储备液适量，加水分别稀释制成20 μg/ml溶液(或根据供试品硫柳汞含量不同制备成其他相同浓度的对照品)，作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备

取滴眼液直接进样。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验

精密量取“2.2.1”项下系统适用性考察溶液、对照品溶液、供试品溶液(含硫柳汞)、滴眼液(不含硫柳汞)各20 μl，按“2.1”项色谱条件进样，记录色谱图，见图1。硫柳汞对照品溶液和硝酸苯汞对照品溶液混合后生成1-苯基汞-2-硫代乙基汞-水杨酸盐，以及其他产物，色谱图应存在4个色谱峰分别为：主峰硫柳汞、1-苯基汞-2-硫代乙基汞-水杨酸盐、硝酸苯汞以及一个杂质或其他反应产物，配制

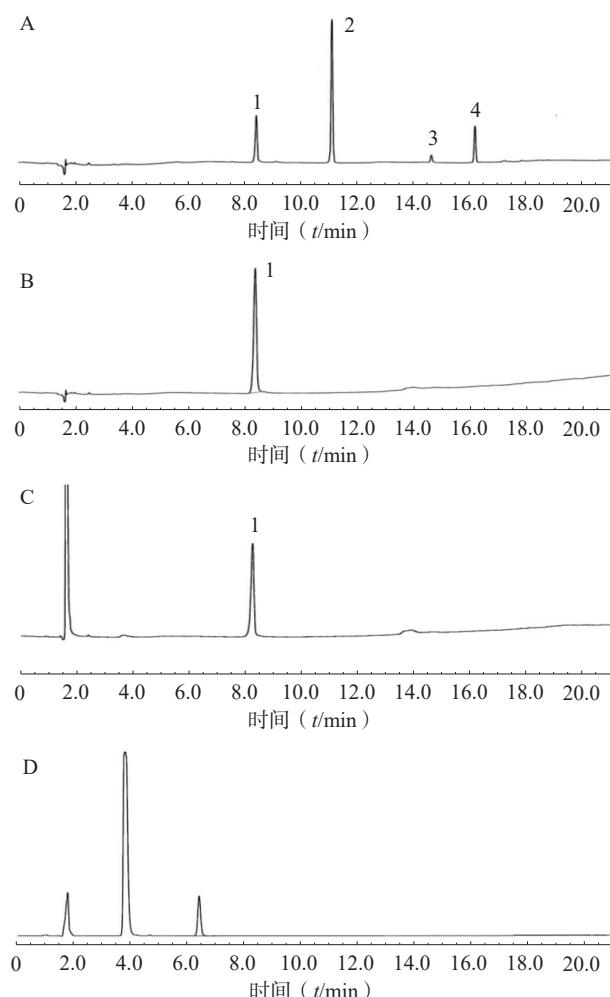


图1 专属性试验HPLC色谱图

- A.系统适用性；B.对照品；
- C.含硫柳汞供试品；D.不含硫柳汞的滴眼液
- 1.硫柳汞；2.1-苯基汞-2-硫代乙基汞-水杨酸盐；
- 3.杂质或其他反应产物；4.硝酸苯汞。

该溶液主要是考察专属性,筛选色谱柱和考察色谱系统的改变对分离的影响。[图 1A](#) 表明系统适用性考察用混合溶液各色谱峰之间均完全分离,系统适用性良好。[图 1D](#) 表明不含硫柳汞的滴眼液在硫柳汞峰处无色谱峰,不影响测定,可对未知抑菌剂的滴眼剂是否含有硫柳汞进行筛查。

2.3.2 线性关系考察

取硫柳汞对照品适量,精密称定,用水稀释成每 1 ml 约含硫柳汞 4、10、20、60、80 和 200 μg 的溶液,按“2.1”项下色谱条件试验。以对照品的质量浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,计算回归方程。硫柳汞回归方程为 $Y=54413 X-77901$, $r=1.0$,结果表明,硫柳汞在 4.3~216.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内有良好的线性关系。精密量取线性对照品最低浓度约 4.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液,测得信噪比接近 10:1,将其作为定量限溶液,即定量限为 4.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.3.3 精密度试验

精密量取“2.2.2”项下 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 硫柳汞对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,计算 RSD。结果硫柳汞峰面积的 RSD 为 0.2%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验

由于供试品溶液取原液没有制备过程,因此稳定性试验取对照品溶液进行,按“2.2.2”项下方法制备对照品溶液(23.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$),取对照品溶液避光室温放置 10 h,分别于 1、3、5、7、9、10 h,取样分析,记录色谱图,比较硫柳汞峰面积变化情况,峰面积 RSD 为 0.7%,显示稳定性较好。对照品溶液放置过夜后再次测定,峰面积有较明显降低,显示硫柳汞水溶液配制 10 h 内使用较好。

2.3.5 重复性试验

取企业 A(批号:160801)、企业 B(批号:16090401)、企业 C(批号:160501)样品的原液作为供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件直接进样分析,平行测定 6 份,按外标法以峰面积计算硫柳汞的含量,考察方法重复性。结果 3 批样品 RSD 分别为 0.7%、0.2% 和 3.4%,表明重复性良好。

2.3.6 中间精密度试验

在不同时间段换用不同的液相色谱仪和实验操作者,重复“2.3.5”项下重复性试验操作,按“2.1”项下色谱条件连续进样,平行测定 6 份,作为中间精密度,合并重复性试验的 6 份测定结果考察方法中间精密度,结果 3 批样品各 12 份硫柳汞含量测定结果的 RSD 分别为 0.5%、0.7% 和 2.7%。参考

《中国药典》(四部)2020 年版^[5] 指导原则 9101“分析方法验证指导原则”,重复性试验精密度要求,如含量为 0.01%, RSD 应小于 4%, 上述含量最大为 0.015%, RSD 均小于 3%, 表明中间精密度良好。

2.3.7 加样回收率试验

2.3.7.1 空白辅料溶液制备

按企业 B 阿昔洛韦滴眼液处方(抑菌剂为硫柳汞,标示量为 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)制备,取甲基纤维素、氯化钠、无水磷酸氢二钠适量,加水稀释至 1000 ml,放置过夜,即得。

2.3.7.2 对照品溶液制备

精密称取硫柳汞对照品(纯度:97.0%)21.77 mg,置 100 ml 量瓶中,加水适量,振摇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备液。精密量取 5 ml,置 50 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.3.7.3 供试品溶液(自制滴眼液)配制

精密量取对照品储备液 2、5、3、5 ml,分别置 25、50、25、25 ml 量瓶中,加空白辅料溶液稀释至刻度,摇匀,即得 80%、100%、120%、200% 回收率供试品溶液(每浓度平行配制 3 份)。按“2.1”项下色谱条件进样 20 μl ,按外标法计算回收率,硫柳汞的回收率为 98.3%~106.2%,平均回收率为 102.1%, RSD 为 2.7%,结果见[表 2](#)。

表 2 硫柳汞回收率试验结果

阿昔洛韦 滴眼液	投入量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	测得量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD(%)
80%供试品	16.89	16.84	99.69	102.1	2.7
		16.73	99.08		
		16.60	98.27		
100%供试品	21.12	21.41	101.39		
		21.26	100.68		
		21.08	99.81		
120%供试品	25.34	25.98	102.54		
		25.99	102.56		
		26.09	102.97		
200%供试品	42.23	44.74	105.94		
		44.86	106.22		
		44.59	105.58		

2.3.8 耐用性试验

取“2.2.1”项下系统适用性考察溶液和批号为 150301 滴眼液样品,考察方法耐用性。结果表明,在不同的柱温(30 °C、35 °C、40 °C)、流速(0.9、1.0、1.1 ml/min)、流动相 A 的 pH 值(2.8、3.0、3.2、3.5)、流动相组成(初始有机相 B 比例 40%、45%、50%、55%、60%)和不同色谱柱(资生堂公司 MGII、Waters Sunfire、Phenomenex Luna)条件下测定系统适用性考察溶液,硫柳汞与各峰分离度好,样品批号为 150301 的批硫柳汞含量测定结果 RSD 为 2.8%,所建立的方法耐用性良好。

2.4 样品测定

取4个制药企业6个批次含抑菌剂为硫柳汞的样品,以样品原液做为供试品溶液($n=2$)。

对照品溶液制备:针对已知抑菌剂为硫柳汞且已知浓度的样品,取硫柳汞对照品适量,精密称定,加水溶解并稀释制成与供试品溶液中硫柳汞浓度相当的溶液;针对未知抑菌剂种类和浓度的滴眼剂筛查硫柳汞的含量,对照品溶液浓度可采用20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (避光保存,10 h内使用)。

按“2.1”项下色谱条件进样分析,用外标法计算硫柳汞的含量($n=2$),结果见表3。

表3 样品测定结果

序号	生产企业	品种名称	样品批号	标示量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	含量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	企业A	双氯芬酸钠滴眼液	150301	40	36.11
2	企业A	双氯芬酸钠滴眼液	150802	40	37.87
3	企业A	双氯芬酸钠滴眼液	160801	40	38.41
4	企业B	阿昔洛韦滴眼液	16090401	20	18.19
5	企业C	盐酸林可霉素滴眼液	160501	200	151.74
6	企业D	苄达赖氨酸滴眼液	3160703	30	26.30

3 结果与讨论

3.1 检测波长的选择

USP收载的硫柳汞钠测定方法中,测定波长为222 nm^[12],《中国药典》(二部)2020年版^[3]阿昔洛韦滴眼液项下硫柳汞钠测定波长为262 nm。本文采用PDA检测器扫描,显示222 nm吸收强度大于262 nm,并且这两个波长处峰对称性以及与相邻杂质的分离情况一致,因此,测定波长选择为222 nm。

3.2 方法的适用性

本课题研究方法作为可以检测多种滴眼剂中抑菌剂硫柳汞含量的通用方法,需要具备普遍适用性。本课题专属性研究工作还包括将收集到的42种滴眼剂(不含抑菌剂硫柳汞,分别含羟苯甲酯、羟苯乙酯、苯扎溴铵、苯扎氯铵、三氯叔丁醇等)进样分析,考察是否在硫柳汞保留时间有出峰情况,同时回收试验将企业提供的14种未加抑菌剂滴眼液进样分析,包含滴眼液常用的附加剂,均无干扰,方法专属性较好。

本课题研究方法拟用于各种不同活性成分的滴眼液中硫柳汞的测定,为了考察色谱条件变化对目标峰特性、分离度的影响,采用硫柳汞与硝酸苯汞混合液作为系统适用性考察溶液,硫柳汞与硝酸苯汞均在pH3.0~3.5、甲醇比例50%以上出峰较

好,色谱峰对称性优于乙腈,因此采用pH3.0的甲醇系统作为流动相。

3.3 样品测定的结果

本次收集的6批样品,硫柳汞含量测定结果经药检机构复核基本一致。其中只有企业B的1个批次阿昔洛韦滴眼液(批号:16090401)在《中国药典》(二部)2020年版有硫柳汞含量测定方法,其他5个批次样品质量标准中均无抑菌剂含量测定方法,对批号为16090401的样品用所建立的方法与药典方法进行了比较,结果一致。根据样品测定结果,滴眼液中硫柳汞含量普遍低于处方标示量,尤其是企业C批号为160501的滴眼剂,硫柳汞标示量为200 $\mu\text{g}/\text{ml}$,实际测定结果低于标示量的80%,为151.74 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。经分析可能是由于硫柳汞不稳定,易在储存过程中降解或见光分解^[13],另外有文献报道,硫柳汞作防腐剂时易与塑料瓶有反应,故用塑料瓶包装的滴眼剂不宜添加该防腐剂^[14],这也可能是硫柳汞实测量低于标示量的原因之一。本研究样品测定中6个批次样品均采用低密度聚乙烯瓶包装,储存时间较长,硫柳汞可能与药包材反应造成含量下降。故建议生产企业注意滴眼液的储存条件,另外对产品的包装材料进行相容性研究,从而避免不适用药品包装材料对产品质量的影响。

3.4 方法评价

本研究建立的滴眼剂中抑菌剂硫柳汞的HPLC含量测定方法既可以对已知抑菌剂为硫柳汞和已知浓度的样品进行定量分析,亦可对未知抑菌剂种类和浓度的滴眼剂进行硫柳汞添加监督筛查及含量测定,具有准确性好、线性范围广、耐用性强、普适性高的特点,所建立方法可作为滴眼剂中抑菌剂硫柳汞含量测定通用检测方法,为抑菌剂合理使用、质量控制和安全评价提供参考。

【参考文献】

- CLARKSON T W, MAGOS L. The toxicology of mercury and its chemical compounds[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2006, 36(8): 609-662.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)2020年版 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 778, 1191, 1343, 1448.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)2020年版 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 682.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(三部)2020年版 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 497.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)2020年版 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 7, 482.
- 王贵明. 眼用制剂中抑菌剂的眼表损害 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(19): 110.
- 洪满珠, 黄莹, 李利, 等. 滴眼剂中防腐剂成分分析及选用 [J].

- 眼科学报, 2019, 34(2): 90-94.
- [8] 钱保勇, 朱琼, 吴珺. HPLC 法测定滴眼液中 5 种常用抑菌剂的含量 [J]. 中国药品标准, 2023, 24(1): 90-95.
- [9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定: GB 5009.172021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [10] ZHAO T G, CHEN Y X. Standard methods of hygienic tests for cosmetics[M]. Beijing: Military Medical Science Press, 2007: 161.
- [11] British Pharmacopoeia Commission. BP2024[S].Norwich: The

- Stationery Office,2024: 1706- 1707, 2125.
- [12] United States Pharmacopeia Convention. USP-NF2023[S].The United States Pharmacopeia Convention, 2023: VACCINES FOR HUMAN USE-GENERAL CONSIDERATIONS.
- [13] 焦旭雯, 陈龙少, 梁蔚阳. 疫苗中硫柳汞含量测定及其降解产物分析 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(6): 1045-1053.
- [14] 高原, 高鸿慈. 滴眼剂的开发和生产 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 56.

〔收稿日期〕 2024-04-15 〔修回日期〕 2024-09-23

〔本文编辑〕 陈盛新

(上接第 269 页)

- [28] Hattori S I, Higashi-Kuwata N, Raghavaiah J, et al. GRL-0920, an Indole Chloropyridinyl Ester, Completely Blocks SARS-CoV-2 Infection [J]. *mBio*, 2020, 11(4): e01833-20.
- [29] LIU H B, 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]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2021, 36(1): 497-503.
- [30] ZONG K, WEI C, LI W, et al. Identification of novel SARS-CoV-2 3CLpro inhibitors by molecular docking, *in vitro* assays, molecular dynamics simulations and DFT analyses[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1494953.
- [31] SU H X, YAO S, ZHAO W F, et al. Anti-SARS-CoV-2 activities *in vitro* of Shuanghuanglian preparations and bioactive ingredients[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(9): 1167-1177.
- [32] Lockbaum G J, Reyes A C, Lee J M, et al. Crystal Structure of SARS-CoV-2 Main Protease in Complex with the Non-Covalent Inhibitor ML188 [J]. *Viruses*, 2021, 13(2): 174.
- [33] KITAMURA N, SACCO M D, MA C L, et al. Expedited approach toward the rational design of noncovalent SARS-CoV-2 main protease inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(4): 2848-2865.
- [34] TURLINGTON M, CHUN A, TOMAR S, et al. Discovery of N-(benzo [1, 2, 3] triazol-1-yl)-N-(benzyl)acetamido)phenyl carboxamides as severe acute respiratory syndrome coronavirus(SARS-CoV)3CLpro inhibitors: identification of ML300 and noncovalent nanomolar inhibitors with an induced-fit binding[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(22): 6172-6177.
- [35] ZHANG C H, STONE E A, DESHMUKH M, et al. Potent noncovalent inhibitors of the main protease of SARS-CoV-2 from molecular sculpting of the drug perampanel guided by free energy perturbation calculations[J]. *ACS Cent Sci*, 2021, 7(3): 467-475.
- [36] HSU J T, KUO C J, HSIEH H P, et al. Evaluation of metal-con-

- jugated compounds as inhibitors of 3CL protease of SARS-CoV[J]. *FEBS Lett*, 2004, 574(1-3): 116-120.
- [37] BURSLEM G M, CREWS C M. Proteolysis-targeting chimeras as therapeutics and tools for biological discovery[J]. *Cell*, 2020, 181(1): 102-114.
- [38] KONSTANTINIDOU M, LI J Y, ZHANG B D, et al. PROTACs- a game-changing technology[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2019, 14(12): 1255-1268.
- [39] YANG K S, LEEUWON S Z, XU S Q, et al. Evolutionary and structural insights about potential SARS-CoV-2 evasion of nir-matrelvir[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(13): 8686-8698.
- [40] ALUGUBELLI Y R, XIAO J, KHATUA K, et al. Discovery of first-in-class PROTAC degraders of SARS-CoV-2 main protease[J]. *J Med Chem*, 2024, 67(8): 6495-6507.
- [41] NALAWANSHA D A, CREWS C M. PROTACs: an emerging therapeutic modality in precision medicine[J]. *Cell Chem Biol*, 2020, 27(8): 998-1014.
- [42] SANG X H, WANG J, ZHOU J, et al. A chemical strategy for the degradation of the main protease of SARS-CoV-2 in cells[J]. *J Am Chem Soc*, 2023, 145(50): 27248-27253.
- [43] PAIVA S L, CREWS C M. Targeted protein degradation: elements of PROTAC design[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2019, 50: 111-119.
- [44] GADD M S, TESTA A, LUCAS X, et al. Structural basis of PROTAC cooperative recognition for selective protein degradation[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(5): 514-521.
- [45] JIANG X R, SU H X, SHANG W J, et al. Structure-based development and preclinical evaluation of the SARS-CoV-2 3C-like protease inhibitor simnotrelvir[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6463.
- [46] AMPORNDANAI K, MENG X L, SHANG W J, et al. Inhibition mechanism of SARS-CoV-2 main protease by ebselen and its derivatives[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3061.

〔收稿日期〕 2025-03-01 〔修回日期〕 2025-03-20

〔本文编辑〕 费永和