

基于 3D-QSAR 和分子对接设计新型缺氧诱导因子脯氨酸羟化酶结构域蛋白 1 抑制剂

储涵¹, 何华玉², 何清秀¹, 王娟¹, 林治华¹

(1. 重庆理工大学药学与生物工程学院, 重庆 400054; 2. 重庆市九龙坡区妇幼保健院, 重庆 400030)

摘要: 缺氧诱导因子脯氨酸羟化酶结构域蛋白 1(PHD-1)作为干扰 PHD-HIF 轴的重要靶点, 其抑制剂的研究具有重大意义。

在本研究中, 我们选择了 44 个 1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类化合物, 利用 CoMFA 和 CoMSIA 模型进行了 3D-QSAR 研究。结果表明:CoMFA ($n = 7$; $q^2 = 0.712$; $r^2 = 0.969$) 和 CoMSIA ($n = 10$; $q^2 = 0.754$; $r^2 = 0.985$) 具有良好的稳定性和可预测性。随后, 应用分子对接方法研究了活性位点的关键氨基酸和配体分子的对接模式。通过分析空间场、疏水场、静电场和氢键受体场的等势图以及对接模型, 确定了该类化合物的改造和修饰区域, 从而设计了 8 个新的 1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类化合物, 并预测了它们的活性。结果表明, 这些化合物具有良好的预测活性和对接得分, 尤其是化合物 21g, 可作为先导化合物进一步研究。这些结果为发现和设计新的 PHD-1 抑制剂提供了重要的参考。

关键词: 缺氧诱导因子脯氨酸羟化酶结构域蛋白; 1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类化合物; 3D-QSAR; 分子对接

中图分类号: R914.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-0924 (2007) xx-xxxx-x

Design of novel hypoxia-inducible factor proline hydroxylase domain protein 1 inhibitors based on 3D-QSAR and molecular docking

CHU Han¹, HE Hua-yu², HE Qing-xiu¹, WANG Juan¹, LIN Zhi-hua¹

(1. College of Pharmacy and Bioengineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China;

2. Chongqing Jiulongpo District Maternal and Child Health Hospital, Chongqing 400030, China)

Abstract: The hypoxia-inducible factor proline hydroxylase domain protein 1 (PHD-1) is an important target for interfering with the PHD-HIF axis, and its inhibitor research is of great significance. In this study, we selected 44 1,2,4-triazole-[1,5-a]pyridine compounds and conducted 3D-QSAR studies using CoMFA and CoMSIA models. The results show that CoMFA ($n = 7$; $q^2 = 0.712$; $r^2 = 0.969$) and CoMSIA ($n = 10$; $q^2 = 0.754$; $r^2 = 0.985$) have good stability and predictability. Subsequently, the molecular docking method was used to study the docking mode of key amino acids and ligand molecules in the active site. By analyzing the equipotential maps of the space field, hydrophobic field, electrostatic field and hydrogen bond acceptor field and the docking model, the transformation and modification areas of these compounds were determined, and 8 new 1,2,4-triazoles-[1,5-a]pyridine compounds were designed and their activity were predicted. The results show that these compounds have good predictive activity

收稿日期: 2020-06-24.

基金项目: 重庆市自然科学基金重点项目(cstc2018jcyjAX0683; cstc2015jcyjBX0080)

作者简介: 储涵, 男, 硕士研究生, 主要从事靶向药物设计研究, E-mail: hamchuan@qq.com; 通讯作者 林治华, 男, 博士, 教授, 主要从事靶向药物设计与活性评价研究, E-mail: zhlin@cqu.edu.cn

and docking scores. These results provide an important reference for the discovery and design of new PHD-1 inhibitors.

Key words: hypoxia-inducible factor proline hydroxylase domain protein; 1,2,4-triazole-[1,5-a]pyridine compounds; 3D-QSAR; molecular docking

缺氧诱导因子(HIFs)是由氧气敏感的 α 亚基(HIF-1 α 、HIF-2 α 或HIF-3 α)和组成性表达的 β 亚基(HIF-1 β 、HIF-2 β 或HIF-3 β)组成的异源二聚体转录因子^[1]。在常氧环境中, HIF- α 的羟基化和随后的蛋白酶体降解能够通过泛素连接酶系统对HIFs进行负调控^[2,3]。同时, HIFs也是有限氧环境中氧稳态的主要调节器^[4]。有研究表明, HIFs的稳定性主要由HIF- α 的翻译后脯氨酸羟基化来调节, 该反应由缺氧诱导因子脯氨酸羟化酶结构域蛋白(PHDs)催化^[5,6]。PHDs是一组在多细胞动物中充当氧气感受器的酶, 同时, PHDs作为一种非血红素铁(II)依赖的酶, 有三种催化活性亚型(PHD-1, PHD-2和PHD-3)^[7,8]。其中, PHD-1主要存在于睾丸中, 但也存在于脑、肾、心脏和肝脏中, PHD-2存在于大多数组织中, PHD-3只存在与心脏中^[9,10]。这三种异构体在其C端催化结构域具有很高的序列同源性, 但在其N端没有序列同源性^[11]。

目前, 在诸多临床环境, 包括炎症性肠病, 缺血再灌注损伤和神经退变过程中, 干扰PHD-HIF轴成为了一种重要的治疗方式^[12-17]。常规的干扰方式(如: Fe²⁺隔离剂等), 由于缺乏特异性, 在使用过程中存在很强的副作用^[18,19]。1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类化合物作为一类新型特异性PHD-1抑制剂, 通过靶向PHD-1干扰PHD-HIF轴, 避免了非特异抑制剂的副作用, 也大大增强了疗效。在本研究中, 我们收集了44个1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类化合物, 通过比较分子场分析(CoMFA)和比较分子相似性指数分析(ComSIA), 获得了可靠的3D-QSAR模型。随后, 通过分子对接进一步分析了PHD-1与该类化合物的结合模式。最后, 基于上述结果, 我们设计了8种新型1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类PHD-1抑制剂, 并确定了可用于进一步研究的先导化合物。

2 材料与方法

2.1 数据选取

首先, 从文献中收集了44个1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类化合物^[20], 将它们随机分为训练(36种化合物)和测试数据集(8种化合物, 用符号“*”表示)。这些化合物的体外生物活性值以IC₅₀表示, 并转换为相应的pIC₅₀(pIC₅₀=-log IC₅₀)。化合物的相关属性列于表1。

2.2 结构优化和叠合

利用sybyl 2.0构建所有44个化合物, 然后给每个化合物附加Gasteiger-Huckel电荷和Tripos力场。采用Powell能量梯度法对化合物的结构进行优化, 最大优化上限10000次, 收敛标准为0.005 KJ/mol, 其余参数默认^[21]。所有处理过后的化合物构象作为活性构象用于下一步的研究, 同时, 化合物21(如图1, 图中加粗部分表示公共骨架)具有最高的抑制活性, 可作为叠合模板。选择适当的公共骨架后, 所有化合物的叠合如图2所示。

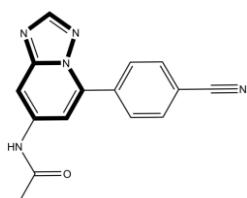


图1. 化合物21的结构

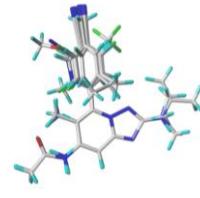


图2. 所有化合物的叠合

2.3 构建3D-QSAR模型

CoMFA通过分析一组相似化合物周围分子场的差异, 得到这些分子与受体之间的非键相互作用的特性, 从而预测其生物活性。CoMFA的静电场和立体场分别采用Coalomb和Lennard-Jones势函数, 而CoMSIA还引入了高斯距离函数, 通过疏水, 氢键受体和供体场计算探针与分子的每个原子之间的相似性指数^[22,23]。通过留一法(LOO)交叉验证程序计算了相关模型的最佳组件数(n)和最高交叉验证相关系数(q^2)。常规的多重相关系数(r^2), 估计的标准误差(SEE)和Fisher检验(F)值是通过非交叉验证的分析获得的^[24,25]。利用3D-QSAR模型的等势图研究分子结构对生物活性的影响, 从而指导化合物结构的修饰以提高其活性。

2.4 分子对接

PHD-1(PDB: 5v1b)晶体结构来源于蛋白数据库(Protein Data Bank, PDB), 利用Sybyl软件对PHD-1晶体结构进行加氢、加电荷等处理, 同时, 去除晶体结构中的原配体小分子(8UY)。将原配体小分子范围内0.5nm的氨基酸残基作为对接口袋区域, 并以其为参考分子, 其余参数为默认值^[26]。

基于上述参数，将所有化合物与其对接，如图 3。对接可视化是使用 PyMOL 软件进行的。

表 1. 化合物的实验和预测活性 (pIC_{50}) 值

No.	R_1	R_2	R_3	Obs.	CoMFA	Err (%)	CoMSIA	Err (%)	
1	Cl		Cl	6.17	5.66	8.39	6.04	2.14	
2				4.52	4.76	5.15	4.64	2.61	
3			Cl	6.26	5.97	4.71	6.49	3.68	
4		Cl		4.59	4.56	0.65	4.59	0.00	
5	Cl			4.32	4.70	8.83	4.24	1.92	
6			F	5.89	5.46	7.19	5.94	0.95	
7		F		4.55	4.66	2.38	4.59	0.82	
8	F			4.62	4.44	3.96	4.50	2.70	
9			Me	5.25	5.57	5.96	5.20	0.99	
10*			OMe	4.59	5.28	15.16	4.45	2.92	
11		OMe		4.26	4.14	2.83	4.29	0.69	
12			CN	7.47	7.32	1.97	7.07	5.30	
13		CN		4.21	4.33	2.71	4.22	0.22	
No.	R_1	R_2	R_3	R_4	Obs.	CoMFA	Err (%)	CoMSIA	
14	Me				6.24	6.28	0.62	6.37	1.95
15	NH ₂				6.62	6.67	0.80	6.66	0.61
16	NMe ₂				4.74	4.69	1.22	4.64	2.14
17	NHAc				5.60	5.58	0.45	5.56	0.73
18*		Me			7.41	7.99	7.82	6.95	6.25
19		NH ₂			7.89	7.95	0.80	7.88	0.09
20		NHEt			7.60	7.58	0.30	7.58	0.24
21		NHAc			8.10	7.96	1.67	8.08	0.18
22			F		6.34	6.51	2.74	6.41	1.13
23			Me		6.34	6.06	4.39	6.36	0.28
24			NH ₂		6.11	6.12	0.11	6.17	0.89
No.	R_1	R_2	R_3	R_4	Obs.	CoMFA	Err (%)	CoMSIA	
25*	F				8.00	7.44	7.05	7.44	7.00
26	CF ₃				5.73	5.87	2.48	5.75	0.31
27		F			7.30	7.08	3.00	6.96	4.71

28*		Me		7.13	6.60	7.44	6.27	12.14
29		Et		5.21	5.19	0.55	5.47	4.90
30*		Cl		6.85	6.79	0.95	6.55	4.43
31	F		F	7.47	7.53	0.84	7.43	0.58
32	F	F		7.17	7.25	1.03	7.27	1.33
33		F	F	6.80	7.09	4.25	7.12	4.75
34*	F	Me		7.28	6.86	5.77	6.61	9.27
35		Me	F	6.85	6.92	0.94	6.95	1.37
36		Me		6.66	6.65	0.08	6.45	3.16
37*		Me	Me	6.70	6.08	9.21	5.78	13.66
38				7.05	7.15	1.54	6.97	1.03
39				7.15	7.21	0.76	7.27	1.59
No.	Het			Obs.		CoMFA	Err (%)	
40*				6.77	7.21	6.46	6.91	2.12
41				7.08	7.03	0.62	7.07	0.15
42				6.57	6.40	2.58	6.59	0.25
43				5.89	6.18	4.94	5.88	0.30
44				5.86	6.00	2.26	5.83	0.64



图 3. 所有化合物与 PHD-1 的对接(PDB ID: 5v1b)

3 结果与讨论

3.1 3Q-QSAR 模型

以 36 个 1,2,4-三唑-[1,5-a]吡啶类化合物为训练集, CoMFA 和 CoMSIA 建模结果显示在表 2 中。

CoMFA 模型和 CoMSIA 模型的稳定性可以用交叉验证的 q^2 来表示。一般情况下, 当 q^2 大于 0.3 时, 所构建的模型仅在 5% 水平上有统计学意义, q^2 大于 0.5 时, 模型具有显著的统计学意义。

空间场和静电场构建的 CoMFA 模型最佳, LOO 的 q^2 为 0.712, 表明该模型具有良好的稳定性和可预测性。此外, CoMFA 模型的 n 值为 7, r^2 为 0.969, F 值为 123(认为可靠的 $F > 100$), SEE 为 0.222, 说明该模型具有良好的统计意义。在 CoMSIA 模型中, 空间场、静电场、疏水场, 氢键供体场和受体场的组合表现良好($q^2 = 0.754$, $r^2 = 0.985$)。同时, 其其余参数也证明($F = 159$, $SEE = 0.165$)。3D-QSAR 模型的训练集与测试集的线性相关性分析, 如图 4 所示。CoMFA 与 CoMSIA 模型中训练集与测试集的大部分化合物都位于或接近趋势线附近, 证明了化合物实际活性值与预测活性值(以 pIC_{50} 表示)的拟合度较好。

表 2. 3D-QSAR 模型的结果

	留一法		偏最小二乘法			各场的贡献				
	n	q^2	r^2	SEE	F	S	E	H	D	A
CoMFA	7	0.712	0.969	0.222	123	0.562	0.438	-	-	-
CoMSIA	10	0.754	0.985	0.165	159	0.110	0.404	0.263	0.121	0.102

Note: n: 最佳主成分值; S: 立体场; E: 静电场 H: 疏水场 D: 氢键供体场; A: 氢键受体场; F: 费舍尔比率; SEE: 回归的标准差.

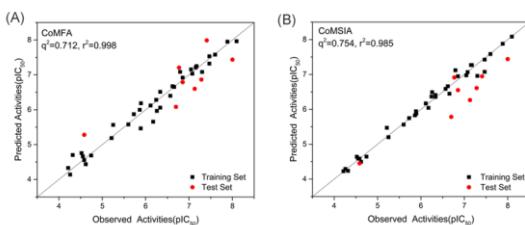


图 4. 训练集和测试集中观察值数据和预测值数据的相关性。(A) CoMFA 模型; (B) CoMSIA 模型

3.2 CoMFA 和 CoMSIA 三维等势图分析

使用实际活性最高的化合物 21 作为模板进行 CoMFA 与 CoMSIA 的三维等势图分析。CoMFA 立体场, COMSIA 静电场, 疏水场和氢键受体场贡献较高, 可以用于指导化合物结构修饰和改造, 如图 5 所示。

图 5A 是 CoMFA 的立体场轮廓图。绿色（贡献 80%）和黄色（贡献 20%）区域的组合表明, 在化合物的苯环连接的-CN 处以体积较大的基团取代能够增强活性。化合物 10 (pIC₅₀ 值为 4.59) 在该处以较大体积的基团-OMe 取代, 相较于无取代基的化合物 13 (pIC₅₀ 值为 4.21) 活性更高。CoMSIA 的静电场等势图如图 5B, 蓝色区域表示在此处增加负电性基团有利于提高化合物的活性, 红色区域表示在此处以正电性基团取代更好。这种结合表明, 三唑环带有负电荷的基团有利于活性。化合物 19 (pIC₅₀ 值为 7.89) 的-NH₂ 取代负电性更强, 比-CH₃ 修饰的化合物 18 (pIC₅₀ 值为 7.41) 有更优异的活性。CoMSIA 的疏水场等势图如图 5C, 白色区域表示在此处增加亲水性基团有利于提高化合物的活性, 黄色区域表示在此处以疏水性集团取代更好。因此, 在化合物的苯环连接的-CN 处以亲脂性的基团取代能够增强活性。CoMSIA 的氢键受体场等势图显示在图 5D 中。红色部分表示在此处减少氢键受体有利于活性的提升。因此, 在苯环上的需要更多的非氢键供体。这些已通过系统中的某些化合物确认。在化合物 26 和 27 中, 化合物 27 (pIC₅₀ 值为 7.30) 以-H 取代, 提供氢键供体而非氢键受体,

其活性明显高于-CF₃ 取代的化合物 26 (pIC₅₀ 值为 5.73)。

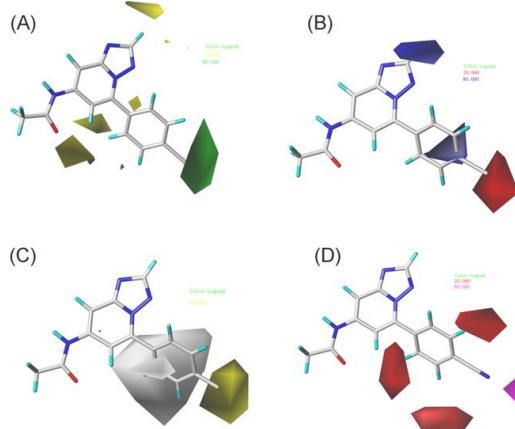


图 5. 化合物 21 的 CoMFA 和 CoMSIA 的三维等势图。(A) CoMFA 空间场; (B) CoMSIA 静电场; (C) CoMSIA 疏水场; (D) CoMSIA 氢键受体场

3.3 分子对接模型分析

为了探索 PHD-1 与配体的结合方式, 利用 SYBYL 软件的 Surflex-Dock 模块进行分子对接。对接所有化合物前, 将 PHD-1 共晶配体 8UY 重新对接到结合囊中, 验证我们使用的方法和参数是否可靠可行。如图 7 所示, 8UY 分子重新对接的构型与其共晶配体构型基本一致, 两种构型的 RMSD 为 0.2 Å (< 2.0 Å)。化合物中的三唑环上的 N 原子直接

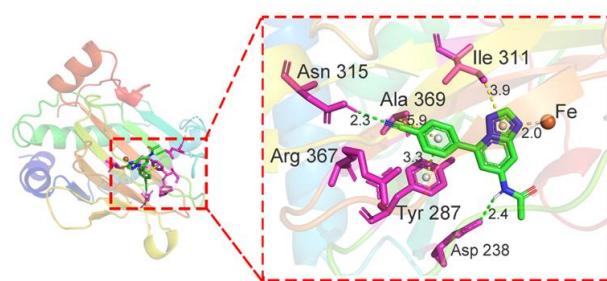


图 6. PHD-1 与化合物 21 的对接模型。(氢键用绿色虚线表示, 疏水键用黄色虚线表示, Fe-N 键用灰色虚线表示。关键残基用紫红色表示, 化合物 21 用绿色表示。)

与金属 Fe 结合，这种特征的相互作用与以往的研究是一致的。这也说明所生成的对接协议是可靠的，可以用于后续的研究。

我们选择化合物 21 作为分析结合模式的模板，并用二维图(图 8)和三维图(图 6)进行展示。首先，化合物 21 三唑环上的氮原子与活性部位的 Fe 形成 Fe-N 键(2.0 Å)。与苯环相连的 NH 连接体与 ASP238 形成了一个距离为 2.4 Å 的强氢键。值得注意的是，化合物另一端的氨基与 Asn315 也形成了一个强氢键 (2.3 Å)。这种氢键的结合方式保证了其稳定性。此外，化合物 21 与 PHD-1 之间存在丰富的疏水相互作用。Tyr287 与该化合物的苯环之间都存在 Pi-Pi 相互作用 (3.3 Å)。此外，Ala369 与该苯环之间也存在着一个疏水作用 (5.9 Å)。另外，Ile311 与三唑环之间还存在着一个弱疏水作用 (3.9 Å)。丰富的疏水相互作用和氢键在配体与受体的结合中起着关键作用，它们可以使化合物与受体的结合更加稳定。

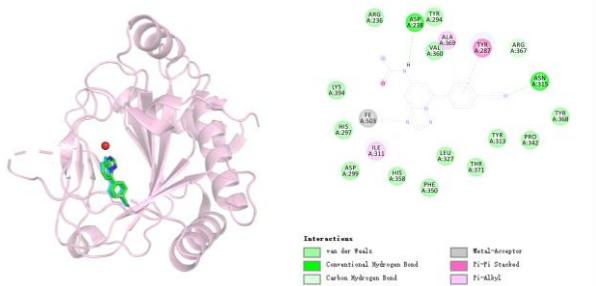
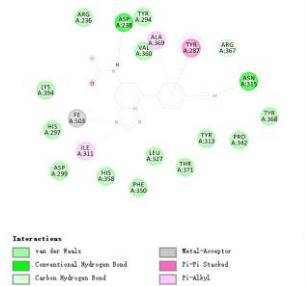


图 7. PHD-1 与原配体
8UY 重新对接



设计奠定了基础。

参考文献:

- [1] SCHOFIELD C J, RATCLIFFE P J. Oxygen sensing by HIF hydroxylases[J]. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2004, 5(5): 343-354.
- [2] KALLIO P J, WILSON W J, O'BRIEN S, et al. Regulation of the hypoxia-inducible transcription factor 1 α by the ubiquitin-proteasome pathway[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(10): 6519-6525.
- [3] NAKAYAMA K, GAZDOIU S, ABRAHAM R, et al. Hypoxia-induced assembly of prolyl hydroxylase PHD3 into complexes: implications for its activity and susceptibility for degradation by the E3 ligase Siah2[J]. *Biochemical Journal*, 2007, 401(1): 217-226.
- [4] BACON N C M, WAPPNER P, O'ROURKE J F, et al. Regulation of the Drosophila HLH-PAS Protein Sima by Hypoxia: Functional Evidence for Homology with Mammalian HIF-1 α [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 1998, 249(3): 811-816.
- [5] KAELIN JR W G, RATCLIFFE P J. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway[J]. *Molecular cell*, 2008, 30(4): 393-402.
- [6] BARTH S, EDLICH F, BERCHNER-PFANNSCHMIDT U, et al. Hypoxia-inducible factor prolyl-4-hydroxylase PHD2 protein abundance depends on integral membrane anchoring of FKBP38[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(34): 23046-23058.
- [7] JERBER L, LUO A, CHEN Y. Targeted and Interactome Proteomics Revealed the Role of PHD2 in Regulating BRD4 Proline Hydroxylation[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2019, 18(9): 1772-1781.
- [8] MASTERTON J C, BIETTE K A, HAMMER J A, et al. Epithelial HIF-1 α /claudin-1 axis regulates barrier dysfunction in eosinophilic esophagitis[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2019, 129(8): 3224-3235.
- [9] BRUICK R K, MCKNIGHT S L. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF[J]. *Science*, 2001, 294(5545): 1337-1340.
- [10] LIEB M E, MENZIES K, MOSCHELLA M C, et al. Mammalian EGLN genes have distinct patterns of mRNA expression and regulation[J]. *Biochemistry and cell biology*, 2002, 80(4): 421-426.
- [11] WU Y, WANG N, LEI Y, et al. Small-molecule inhibitors of HIF-PHD2: a valid strategy to renal anemia treatment in clinical therapy[J]. *MedChemComm*, 2016, 7(7): 1271-1284.
- [12] BAO W, QIN P, NEEDLE S, et al. Chronic inhibition of hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylase improves ventricular performance, remodeling, and vascularity after myocardial infarction in the rat[J]. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 2010, 56(2): 147-155.
- [13] SCHNEIDER M, VAN GEYTE K, FRAISL P, et al. Loss or silencing of the PHD1 prolyl hydroxylase protects livers of mice against ischemia/reperfusion injury[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(3): 1143-1154.
- [14] KUNZE R, ZHOU W, VELTKAMP R, et al. Neuron-specific prolyl-4-hydroxylase domain 2 knockout reduces brain injury after transient cerebral ischemia[J]. *Stroke*, 2012, 43(10): 2748-2756.
- [15] OGLE M E, GU X, ESPINERA A R, et al. Inhibition of prolyl hydroxylases by dimethyloxaloylglycine after stroke reduces ischemic brain injury and requires hypoxia inducible factor-1 α [J]. *Neurobiology of disease*, 2012, 45(2): 733-742.
- [16] VAN WELDEN S, LAUKENS D, FERDINANDE L, et al. Differential expression of prolyl hydroxylase 1 in patients with ulcerative colitis versus patients with Crohn's disease/infectious colitis and healthy controls[J]. *Journal of Inflammation*, 2013, 10(1): 36.
- [17] RAJAGOPALAN S, RANE A, CHINTA S J, et al. Regulation of ATP13A2 via PHD2-HIF1 α signaling is critical for cellular iron homeostasis: implications for Parkinson's disease[J]. *Journal of Neuroscience*, 2016, 36(4): 1086-1095.
- [18] RABINOWITZ M H. Inhibition of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase domain oxygen sensors: tricking the body into mounting orchestrated survival and repair responses[J]. *Journal of medicinal chemistry*, 2013, 56(23): 9369-9402.
- [19] KIM S Y, YANG E G. Recent advances in developing inhibitors for hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylases and their therapeutic implications[J]. *Molecules*, 2015, 20(11): 20551-20568.
- [20] AHMED S, AYSCOUGH A, BARKER G R, et al. 1, 2, 4-Triazolo-[1, 5-a] pyridine HIF prolylhydroxylase domain-1 (PHD-1) inhibitors with a novel monodentate binding interaction[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 60(13): 5663-5672.
- [21] HAN C, QING-XIU H, JUAN W, et al. In silico design novel dihydropyrimidino [4, 5-d] pyrimidine derivatives as inhibitors for colony-stimulating factor-1 receptor based on 3D-QSAR, molecular docking and molecular dynamics simulation[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2020: 128617.
- [22] CRAMER R D, PATTERSON D E, BUNCE J D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1988, 110(18): 5959-5967.
- [23] KLEBE G, ABRAHAM U, MIETZNER T. Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity[J]. *Journal of medicinal chemistry*, 1994, 37(24): 4130-4146.
- [24] HE Q, CHU H, WANG Y, et al. In silico design novel vibsanin B derivatives as inhibitor for heat shock protein 90 based on 3D-QSAR, molecular docking and molecular dynamics simulation[J]. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2019: 1-12.
- [25] CHU H, HE Q-X, WANG J-W, et al. 3D-QSAR, molecular docking, and molecular dynamics simulation of a novel thieno [3, 4-d] pyrimidine inhibitor targeting human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase[J]. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2019: 1-12.
- [26] WANG Y-Q, LIN W-W, WU N, et al. Structural insight into the serotonin (5-HT) receptor family by molecular docking,

molecular dynamics simulation and systems pharmacology analysis[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2019, 40(9): 1138-1156.