

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.05.002

低心血管疾病风险选择性环氧合酶-2 抑制剂的虚拟筛选*

萧耿苗 穆云萍 千爱君 李芳红 赵子建^Δ

(广东工业大学生物医药学院 广东 广州 510006)

摘要 目的:寻找具有血栓素 A2 受体(Thromboxane A2 receptor, TP)抑制作用的选择性环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂,以期降低其心血管疾病风险。**方法:**本研究从公开数据库中获取了 512 种 TP 抑制剂,通过分子对接、分子动力学模拟和 ADMET 预测,筛选出化合物 TP84。**结果:**分子对接结果显示,与先前获批的选择性 COX-2 抑制剂罗非昔布相比,TP84 对 COX-2 的亲合力更高,对环氧合酶-1(Cyclooxygenase-1, COX-1)的亲合力更低;分子动力学模拟进一步表明,模拟过程中 TP84 与 COX-1 的结合不稳定,而 TP84 能稳定结合 COX-2,与 COX-2 的结合自由能是 COX-1 的 3 倍;此外,根据 ADMET 预测,TP84 的药物化学、吸收、分布、代谢、排泄和毒性处于类药物候选物的可接受范围内。**结论:**TP84 是一种潜在的低心血管疾病风险选择性 COX-2 抑制剂。

关键词:虚拟筛选;选择性 COX-2 抑制剂;TP 抑制剂;低心血管疾病风险

中图分类号:Q55;Q78;R54 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)05-807-06

Virtual Screening of Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors with Low Cardiovascular Disease Risk*

XIAO Geng-miao, MU Yun-ping, QIAN Ai-jun, LI Fang-hong, ZHAO Zi-jian^Δ

(School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, Guangzhou, Guangdong, 510006, China)

ABSTRACT Objective: To find selective Cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors with thromboxane A2 receptor (TP) inhibition with the aim of reducing their cardiovascular disease risk. **Method (s):** In this study, a total of 512 TP inhibitors were obtained from public databases. Through molecular docking, molecular dynamics simulation, and ADMET prediction, a compound named TP84 was identified. **Result (s):** The molecular docking results demonstrate that TP84 exhibits higher affinity for COX-2 and lower affinity for Cyclooxygenase-1 (COX-1) compared with rofecoxib, a previously approved selective COX-2 inhibitor. Furthermore, molecular dynamics simulation reveals that TP84 binds unstably to COX-1 during simulations, whereas TP84 can bind COX-2 stably. The binding free energy of TP84 to COX-2 was three times higher than that of COX-1. Furthermore, the medicinal chemistry, absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicological properties of TP84 are predicted by ADMET to be within the acceptable range for drug-like candidates. **Conclusion(s):** TP84 is a potential selective COX-2 inhibitor drug with low cardiovascular disease risk.

Key words: Virtual screening; Selective COX-2 inhibitors; TP inhibitors; Low cardiovascular disease risk

Chinese Library Classification (CLC): Q55; Q78; R54 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)05-807-06

前言

环氧合酶(Cyclooxygenase, COX)是机体合成前列腺素的关键酶,具有 COX-1 和 COX-2 两种异构体^[1]。COX-1 主要功能是保护胃黏膜和促进血小板聚集,在胃肠道、血小板和肾脏等组织中均有表达。COX-2 在生理状态下表达量较低,但在创伤和发热等病理情况下会大量表达,从而引发炎症和疼痛^[2,3]。

COX 抑制剂分为两大类:非选择性 COX 抑制剂和选择性 COX-2 抑制剂,在临床上均可用于缓解炎症和疼痛^[4]。由于非选择性 COX 抑制剂具有较强的 COX-1 抑制作用,长期服用会严重损害胃黏膜,引起恶心、呕吐、胃溃疡和胃出血等胃肠道副

作用^[4]。选择性 COX-2 抑制剂对 COX-1 的抑制作用明显减弱,从而避免了胃肠道副作用,但其心血管疾病风险明显增加。其中最典型的例子为罗非昔布,因引发大范围患者心肌梗死而被撤市^[4,5]。导致这一现象的原因在于,选择性 COX-2 抑制剂破坏了体内血栓素 A2 和前列环素的平衡^[4]。血栓素 A2 具有促进血小板聚集作用,前列环素则抑制血小板聚集,两者对血栓形成有拮抗作用^[6]。选择性 COX-2 抑制剂对 COX-2 的过度抑制显著降低了体内前列环素水平,进而导致血小板过度聚集引发血栓^[7]。

为了降低选择性 COX-2 抑制剂的心血管疾病风险,应尽可能减少血栓素 A2 的血小板聚集作用,如抑制其受体 TP 的

* 基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFA0800603);广东省“珠江人才计划”项目(2016ZT06Y432);

广东省重点领域研发计划项目(2019B020201015)

作者简介:萧耿苗(1994-),男,博士研究生,主要研究方向:内分泌, E-mail: 2111706036@mail2.gdut.edu.cn

Δ 通讯作者:赵子建(1962-),男,博士生导师,教授,主要研究方向:生殖、肥胖、代谢性疾病和创新药物研发, E-mail: azzhao@gdut.edu.cn

(收稿日期:2023-09-18 接受日期:2023-10-13)

功能。这可以通过联合使用现有选择性 COX-2 抑制剂和 TP 抑制剂来实现^[8]。然而,不同药物的药代动力学参数不同,同时发挥最佳生物学效应的概率很低。因此,寻找具有抑制 TP 功能作用的选择性 COX-2 抑制剂是一种更好的选择^[9,10]。本研究从公开数据库中获取并筛选出 512 种 TP 小分子抑制剂,通过分子对接、分子动力学模拟和 ADMET 参数预测,初步筛选得到潜在的低心血管疾病风险选择性 COX-2 抑制剂。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究从公开数据库 PubChem 中获取所有以人源 TP 蛋白为靶点的活性测试数据(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>),在去除重复测量的数据、分子量大于 1000 Da 以及无 TP 抑制活性的化合物后,得到 512 种经过实验验证的 TP 小分子抑制剂。从 PubChem 中下载抑制剂的 3D 结构。COX-1 和 COX-2 蛋白的晶体结构从 RCSB 蛋白质数据库(<https://www.rcsb.org/>)中下载,其 PDB ID 分别为 4olz 和 5kir。删除晶体结构中所有的小分子配体和水分子,利用 AutoDock Tool 软件添加氢原子和原子电荷^[11,12]。

1.2 分子对接

本研究基于原配体小分子与蛋白的结合位点确定对接位点的中心坐标。对于 COX-1,中心坐标设置为 $x=252.481\text{ Å}$ 、 $y=107.594\text{ Å}$ 、 $z=4.698\text{ Å}$;对于 COX-2,中心坐标设置为 $x=22.902\text{ Å}$ 、 $y=1.64\text{ Å}$ 、 $z=32.519\text{ Å}$ 。对接盒子大小为 $30\text{ Å}\times30\text{ Å}\times30\text{ Å}$ 。利用 Quick Vina 2 进行分子对接,随机探索 20 个构象,并保存结合能最优的构象^[13,14]。使用 LigPlot+ 软件分析小分子化合物与蛋白之间的相互作用,以 2D 结构展示^[15]。

1.3 分子动力学模拟

使用 Amber20 软件^[16,17]中的 pdb4amber 和 leap 模块生成 COX-1、COX-2 蛋白的二硫键,并填充缺失的氢原子。对于小分子化合物,使用在线工具 protein+ (<https://proteins.plus/>)进行加氢,并使用 antechamber 模块生成电荷文件,parmchk2 模块生

成键长、键角和二面角。蛋白选用 ff14SB 力场,小分子化合物采用 GAFF 力场。蛋白和小分子化合物均溶解在一个正八面体的 TIP3P 水盒子中,盒子边缘与蛋白质之间的距离不小于 12 Å 。为了维持电中性,在系统中引入了 Na^+ 或 Cl^- 。使用陡坡下降法和共轭梯度法进行能量最小化,随后将系统从 0 K 加热至 300 K。在恒温恒压条件下,使用 pmemd.cuda 模块进行 50 ns 的分子动力学模拟,其中积分时间步长设置为 2 fs。模拟结束后,利用 CPPTRAJ 模块对轨迹进行分析,计算 COX-1、COX-2 蛋白和小分子化合物的均方根偏差(Root mean square deviation,RMSD)。此外,对模拟最后 10 ns 的轨迹做进一步分析,采用 MM/GBSA 方法计算 COX-1、COX-2 蛋白和小分子化合物之间的结合自由能以及能量分解分析。

1.4 ADMET 预测

本研究使用 ADMETLab 2.0 在线预测平台(<https://admetmesh.scbdd.com/>)对目标化合物的药物代谢动力学特性进行预测。在 ADMETLab 2.0 平台中输入目标化合物的 SMILES 表达式,平台自动对化合物进行标准化处理,并计算其理化、吸收、分布、代谢、排泄和毒理学特性参数^[18]。

2 结果

2.1 分子对接结果

本研究将 513 种小分子化合物(罗非昔布和 512 种 TP 抑制剂)分别与 COX-1 和 COX-2 蛋白进行分子对接,并分析其结合能。结合能数值越低,表明化合物和蛋白的亲合力越强^[19]。因此,与 COX-2 结合能数值较低,而与 COX-1 结合能数值较高的化合物,均为潜在的选择性 COX-2 抑制剂^[20]。罗非昔布是本研究重要的对照药物,也是 COX-2 晶体结构中的共晶分子。进行虚拟筛选工作之前,首先将罗非昔布对接到 COX-2 蛋白的活性口袋中,显示其结合能为 -10.2 kcal/mol 。为筛选出结合能与罗非昔布接近或更优的化合物,本研究以 -10.2 kcal/mol 作为筛选标准^[21],得到 6 个候选化合物(见表 1)。

表 1 分子对接结果
Table 1 Molecular docking results

	PubChem CID	Binding energy of COX-2 (kcal/mol)	Binding energy of COX-1 (kcal/mol)
TP428	10249316	-10.8	-9.2
TP84	14953120	-10.6	-7.4
TP115	44366545	-10.6	-8.9
TP117	10601707	-10.6	-9.2
TP161	44209494	-10.6	-9.2
TP27	18675848	-10.4	-9.8
Rofecoxib	5090	-10.2	-7.9

结果显示,与 COX-2 结合能数值低于罗非昔布(-10.2 kcal/mol)的化合物有 TP428、TP84、TP115、TP117、TP161、TP27,表明这 6 个化合物与 COX-2 的亲合力高于罗非昔布。罗非昔布与 COX-1 的结合能为 -7.9 kcal/mol ,而在 6 个候选化合

物中,仅有 TP84 与 COX-1 的结合能高于 -7.9 kcal/mol ,达到 -7.4 kcal/mol 。因此,在 512 种 TP 小分子抑制剂中,TP84 具有比罗非昔布更高的 COX-2 亲合力、更低的 COX-1 亲合力,是潜在的选择性 COX-2 抑制剂。

2.2 相互作用分析

本研究利用对接后的构象进行相互作用分析。罗非昔布与 COX-1 蛋白的 Ile345、Val349、Leu352、Tyr355、Leu359、Trp387、Ala527、Ser530、Leu531 和 Leu534 共 10 个氨基酸残基形成疏水相互作用,没有形成任何氢键相互作用(见图 1A)。相比于罗非昔布,TP84 与 COX-1 蛋白之间有相互作用的氨基酸残基较少,其中 TP84 与 COX-1 蛋白的 Glu347、Gln350、Gln351、Gly354、Phe580 和 His581 形成疏水相互作用,与

Gln350 和 Tyr355 形成氢键相互作用(见图 1B)。对于 COX-2 蛋白,罗非昔布和 TP84 具有相似的结合模式。罗非昔布与 COX-2 蛋白的 His90、Val349、Leu352、Ser353、Tyr355、Trp387、Arg513、Ala516、Phe518、Val523、Gly526 和 Ala527 形成疏水相互作用,与 Phe518 形成氢键相互作用(见图 1C)。TP84 与 COX-2 蛋白的 Arg120、Val349、Leu352、Ser353、Tyr355、Leu359、Trp387、Phe518、Val523、Gly526、Ala527 和 Leu531 形成疏水相互作用,与 Arg120 形成氢键相互作用(见图 1D)。

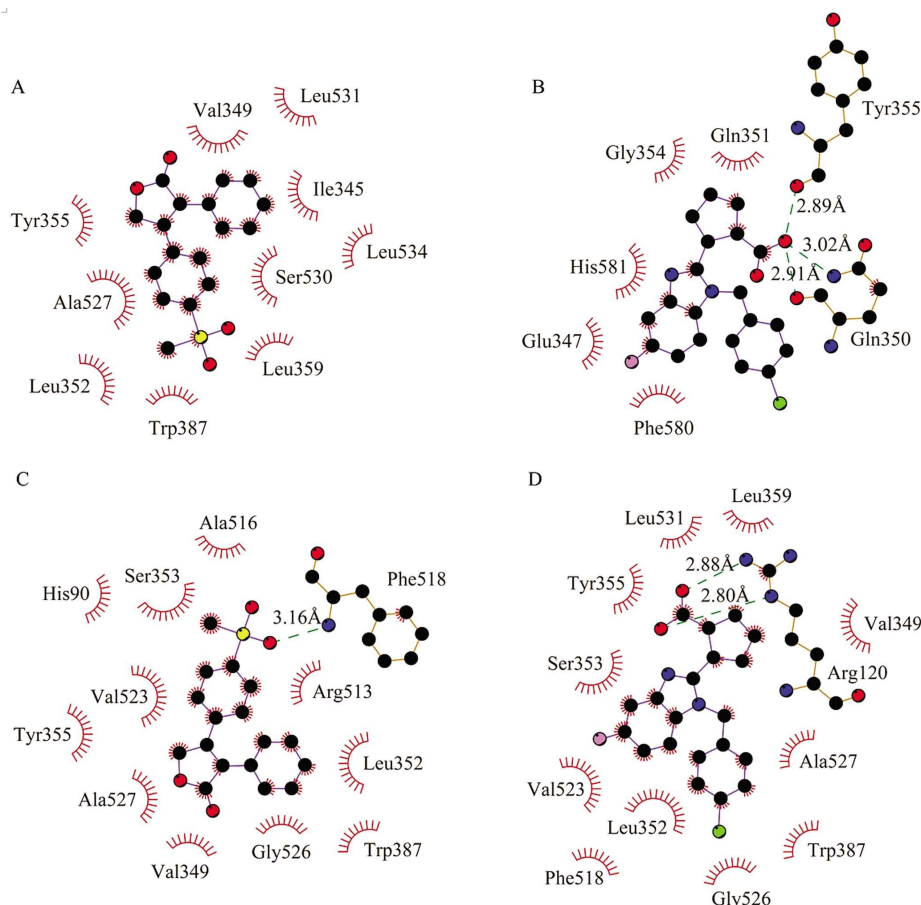


图 1 相互作用示意图

Fig.1 Schematic representation of the interaction

Note: A represents the interaction between rofecoxib and COX-1; B represents the interaction between TP84 and COX-1; C represents the interaction between rofecoxib and COX-2; D represents the interaction between TP84 and COX-2.

虽然 COX-1 和 COX-2 蛋白高度同源,但其活性区域的氨基酸残基存在一定的差异,这是开发选择性 COX-2 抑制剂的重要基础^[22]。在活性区域中,COX-1 的 523 号氨基酸残基为异亮氨酸(Ile),而在 COX-2 中则为缬氨酸(Val),这种差异是罗非昔布具有高 COX-2 选择性的重要因素之一。当 COX-2 的 Val523 突变为 Ile 时,罗非昔布对 COX-2 的抑制活性明显减弱^[23]。与罗非昔布一致,TP84 与 COX-2 的 Val523 有相互作用,而与 COX-1 的 Ile523 无相互作用,进一步说明 TP84 是潜在的选择性 COX-2 抑制剂。此外,Arg120 是 COX-1 和 COX-2 的关键活性位点之一^[24]。相互作用分析表明,TP84 与 COX-2 的 Arg120 形成氢键相互作用,而与 COX-1 的 Arg120 无相互作用。

2.3 分子动力学模拟

分子动力学模拟是最接近真实实验的模拟方法,能够实时

观察蛋白和配体在水溶液中的构象变化^[25]。为了进一步了解 TP84 和 COX-1、COX-2 蛋白在真实环境的结合模式,以及验证对接结果的可靠性,本研究选择对接后的复合物为初始构象进行分子动力学模拟,RMSD 曲线用于评估模拟过程中复合物的状态是否稳定。在 10 ns 后,COX-1 蛋白的 RMSD 稳定在 2 Å 左右,模拟已经达到稳定状态。然而,TP84 的 RMSD 变化非常明显,在 0.26 Å 至 2.86 Å 之间波动(见图 2A),表明 TP84 和 COX-1 的结合状态非常不稳定。对于 TP84 和 COX-2 形成的复合物,在约 40 ns 时 RMSD 趋于收敛,TP84 的 RMSD 维持在 2.2 Å 左右(见图 2B),表明 TP84 能够稳定地结合 COX-2 蛋白。

MM/GBSA 计算结果显示(见图 3),在最后 10 ns 的分子动力学模拟过程中,TP84 与 COX-1 之间的平均结合自由能为 -6.14 kcal/mol。然而,TP84 与 COX-2 的结合自由能为 -20.64

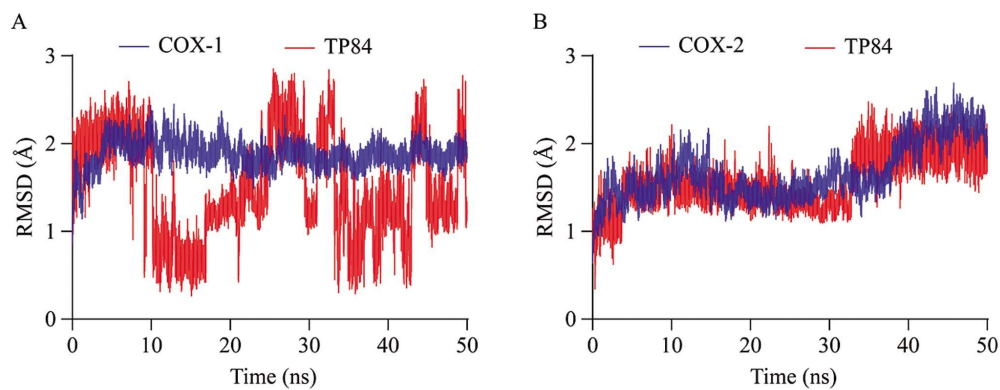


图2 模拟过程中 RMSD 变化曲线

Fig.2 RMSD change curves during simulation

Note: A represents COX-1 and TP84; B represents COX-2 and TP84.

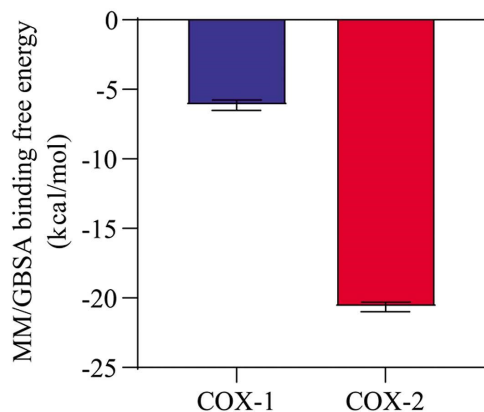


图3 TP84 与 COX-1 或 COX-2 之间的 MM/GBSA 结合自由能

Fig.3 MM/GBSA binding free energy between TP84 and COX-1 or COX-2

kcal/mol, 超过与 COX-1 结合自由能的 3 倍。接着, 通过 MM/GBSA 方法进行能量分解分析, 计算每个氨基酸残基对结合自由能的贡献。结合自由能数值低于 -1 kcal/mol 的氨基酸残基定义为热点氨基酸, 它们是结合自由能的重要贡献者^[26]。COX-1 蛋白中的热点氨基酸为 Gln192 和 His581 (见图 4A), 而 COX-2 蛋白的热点氨基酸为 His90、Arg120、Tyr355、Val523、Glu524 和 Ala527 (见图 4B), 其中 Val523、Arg120 和 Glu524 对结合自由能的贡献最大, 分别为 -2.15 kcal/mol、-2.81

kcal/mol 和 -4.58 kcal/mol。在 COX-1 蛋白中, Ile523 和 Arg120 对结合能的贡献仅为 -0.0038 kcal/mol 和 0.093 kcal/mol, 进一步表明 TP84 与 COX-1 蛋白的 Ile523 和 Arg120 无相互作用, 而与 COX-2 蛋白的 Val523 和 Arg120 有重要相互作用。

2.4 ADMET 预测

为了评估 TP84 的药代动力学和毒性, 本研究使用 ADMETlab 2.0 在线平台预测 TP84 的理化、药物化学、吸收、分布、代谢、排泄和毒理学特性 (见表 2), 并与罗非昔布^[27]进行比较。预测结果表明 TP84 具有和罗非昔布相似的理化性质, 并且符合 Lipinski 类药物五原则。此外, 与罗非昔布相比, TP84 具有更好的吸收特性, 其中 Caco-2 细胞膜渗透性、Pgp 抑制活性、人肠道吸收性和口服生物利用度均满足作为口服药物的标准。除血浆蛋白结合率偏高以外, TP84 和罗非昔布的分布特性均处于类药物候选物可接受的范围内。在代谢和排泄特性方面, TP84 与罗非昔布类似。根据毒理学评估的结果, TP84 被预测为没有肝毒性和遗传毒性。综上所述, TP84 的 ADMET 特性处于类药物候选物可接受的范围内, 具有潜在的成药性^[28, 29]。

3 讨论

为寻找低心血管疾病风险的选择性 COX-2 抑制剂, 本研究通过分子对接、分子动力学模拟和 ADMET 预测, 从 512 种

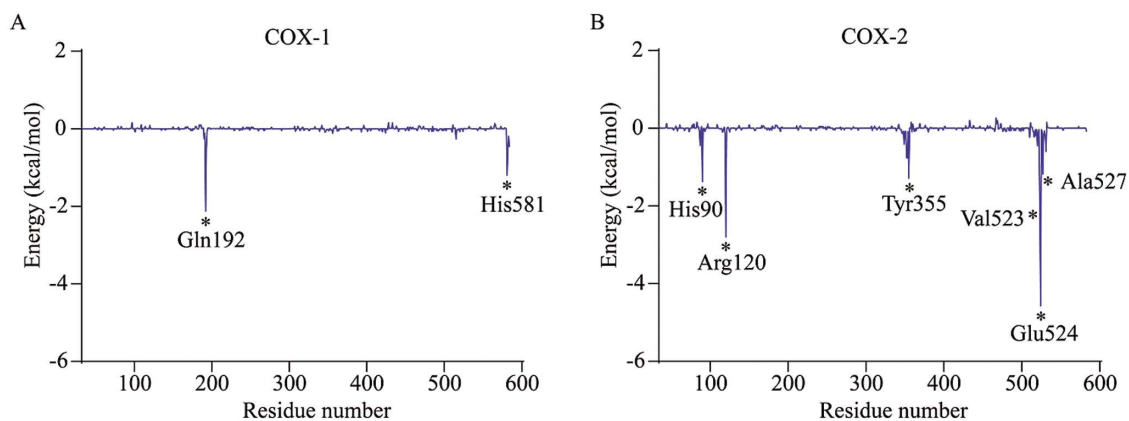


图4 MM/GBSA 结合自由能分解分析

Fig.4 MM/GBSA binding free energy decomposition analysis

Note: A represents COX-1; B represents COX-2. Asterisks indicate hot spot residues.

表 2 ADMET 预测结果
Table 2 Results of ADMET prediction

ADMET properties		Permissible rang	Rofecoxib	TP84
Physicochemical property	MW	100~600	314.06	372.1
	nHA	0~12	4	4
	nHD	0~7	1	1
	TPSA	0~140	67.51	55.12
	logP (log mol/L)	0~5	3.014	4.667
Medicinal Chemistry	NPscore	-5~5	-0.256	-1.134
	Lipinski Rule	-	Accepted	Accepted
Absorption	Caco-2 Permeability (log cm/s)	> -5.15	-5.598	-4.69
	Pgp-inhibitor	0~0.3	0.01	0.007
	HIA	0~0.3	0.005	0.003
	F _{30%}	0~0.3	0.003	0.004
Distribution	PPB	≤ 0.9	0.99	0.976
	VD (L/kg)	0.04~20	0.626	0.477
	BBB (cm/s)	0~1	0.037	0.165
	Fu	≥ 0.05	0.02	0.0135
Metabolism	CYP inhibitor	0~1	0.146	0.096
	CYP substrate	0~1	0.358	0.297
Excretion	CL (ml/min/kg)	≥ 5	0.535	3.319
	T _{1/2}	0~0.7	0.116	0.075
Toxicology	H-HT	0~0.7	0.592	0.35
	AMES Toxicity	0~0.7	0.006	0.053

Note: MW, Molecular Weight; nHA, Number of hydrogen bond acceptors; nHD, Number of hydrogen bond donors; TPSA, Topological polar surface area; logP, Logarithm of the n-octanol/water distribution coefficient; NPscore, Natural Product-likeness score; Caco-2, Human colon adenocarcinoma cell lines; Pgp, P-glycoprotein; HIA, Human intestinal absorption; F_{30%}, The human oral bioavailability 30%; PPB, Plasma protein binding; VD, Volume Distribution; BBB, Blood-brain barrier; Fu, Fraction unbound in plasma; CYP, Cytochrome P450; CL, Clearance; T_{1/2}, Half time; H-HT, Human hepatotoxicity.

经实验验证的 TP 小分子抑制剂中筛选出化合物 TP84。与罗非昔布相比,TP84 对 COX-2 的亲合力更高,而对 COX-1 的亲合力更低。分子动力学结果进一步显示,TP84 与 COX-2 的结合自由能明显高于 COX-1。ADMET 预测结果显示,TP84 的 ADMET 特性处于类药物候选物可接受的范围内,且被预测为无肝毒性和遗传毒性。

虚拟筛选是目前寻找新型药物最有效的工具之一,能够最大限度地减少生物测试实验^[30]。当前,国内外研究大多集中在 COX-2 单一靶点小分子药物的虚拟筛选,但这类药物存在一定的胃肠道副作用^[4,27]。尽管选择性 COX-2 抑制剂在发挥抗炎和镇痛作用的同时,能够有效降低胃肠道副作用,却增加了罹患心血管疾病的风险,严重限制了选择性 COX-2 抑制剂的临床应用^[4]。鉴于 TP 抑制剂能够明显减少心血管疾病事件的发生^[31],寻找具有 TP 抑制作用的选择性 COX-2 抑制剂是降低其心血管疾病风险的有效策略^[9]。Selg 等^[10]发现,选择性 COX-2 抑制剂罗美昔布具有 TP 抑制活性,证实了单一化合物同时具备

COX-2 和 TP 双重抑制作用是可能的。然而,尽管罗美昔布的胃肠道副作用和心血管疾病风险明显降低,但因为肝毒性问题,其上市申请被美国 FDA 拒绝^[32,33]。在本研究中,ADMET 预测显示 TP84 没有肝毒性,是一种副作用更低的小分子化合物。TP84 与 COX-2 蛋白的关键氨基酸残基 Val523 和 Arg120 有相互作用,与 COX-1 蛋白的结合自由能明显低于 COX-2,表明 TP84 是潜在的选择性 COX-2 抑制剂。此外,TP84 的 TP 抑制活性已得到实验验证^[34]。综上所述,TP84 是一种潜在的低心血管疾病风险选择性 COX-2 抑制剂。

参考文献(References)

- [1] Xu D, Cai J, Wan Z K, et al. Pathophysiological role of prostaglandin E synthases in liver diseases [J]. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2021, 154: 106552.
- [2] Cui J, Jia J. Natural COX-2 Inhibitors as Promising Anti-inflammatory Agents: An Update[J]. Curr Med Chem, 2021, 28(18): 3622-3646.
- [3] Morita I. Distinct functions of COX-1 and COX-2 [J]. Prostaglandins

- Other Lipid Mediat, 2002, 68-69: 165-75.
- [4] Stiller C O, Hjemdahl P. Lessons from 20 years with COX-2 inhibitors: Importance of dose-response considerations and fair play in comparative trials[J]. *J Intern Med*, 2022, 292(4): 557-574.
 - [5] Strekalova T, Pavlov D, Trofimov A, et al. Hippocampal Over-Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) Is Associated with Susceptibility to Stress-Induced Anhedonia in Mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4).
 - [6] Badimon L, Vilahur G, Rocca B, et al. The key contribution of platelet and vascular arachidonic acid metabolism to the pathophysiology of atherothrombosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(9): 2001-2015.
 - [7] Cho S K, Choi S, Kim H, et al. COX-2 Inhibitor Use as an Early Treatment Option for Knee Osteoarthritis Patients in Korea: A Population-Based Cross-Sectional Study[J]. *J Korean Med Sci*, 2022, 37(18): e148.
 - [8] Brunner H R. Compositions and methods involving the combination of a thromboxane A₂ receptor antagonist and an inhibitor of cyclooxygenase-2: US2008113973[P]. 2008-05-15.
 - [9] Davì G, Santilli F, Vazzana N. Thromboxane receptors antagonists and/or synthase inhibitors [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2012, (210): 261-86.
 - [10] Selg E, Buccellati C, Andersson M, et al. Antagonism of thromboxane receptors by diclofenac and lumiracoxib [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 152(8): 1185-95.
 - [11] Zhang Q, Luo P, Chen J, et al. Dissection of Targeting Molecular Mechanisms of Aristolochic Acid-induced Nephrotoxicity via a Combined Deconvolution Strategy of Chemoproteomics and Metabolomics[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(5): 2003-2017.
 - [12] Ye Y, Huang Z, Chen M, et al. Luteolin Potentially Treating Prostate Cancer and COVID-19 Analyzed by the Bioinformatics Approach: Clinical Findings and Drug Targets [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 802447.
 - [13] Alhossary A, Handoko S D, Mu Y, et al. Fast, accurate, and reliable molecular docking with QuickVina 2 [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31 (13): 2214-6.
 - [14] Bender B J, Gahbauer S, Luttsen A, et al. A practical guide to large-scale docking[J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(10): 4799-4832.
 - [15] Zhuang Y, Wang L, Guo J, et al. Molecular recognition of formylpeptides and diverse agonists by the formylpeptide receptors FPR1 and FPR2[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1054.
 - [16] Cheng M T, Chen Y, Chen Z P, et al. Structural insights into the activation of autoinhibited human lipid flippase ATP8B1 upon substrate binding[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(14): e2118656119.
 - [17] Minamino T, Kinoshita M, Inoue Y, et al. Conserved GYXLI Motif of FlhA Is Involved in Dynamic Domain Motions of FlhA Required for Flagellar Protein Export [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10 (4): e0111022.
 - [18] Xiong G, Wu Z, Yi J, et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(W1): W5-W14.
 - [19] Wong F, Krishnan A, Zheng E J, et al. Benchmarking AlphaFold-enabled molecular docking predictions for antibiotic discovery [J]. *Mol Syst Biol*, 2022, 18(9): e11081.
 - [20] Ayman R, Radwan A M, Elmetwally A M, et al. Discovery of novel pyrazole and pyrazolo[1,5-a]pyrimidine derivatives as cyclooxygenase inhibitors (COX-1 and COX-2) using molecular modeling simulation [J]. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2023, 356(2): e2200395.
 - [21] 殷智鑫, 杨盛刚, 张吉泉, 等. PI3K α 抑制剂的虚拟筛选、分子动力学模拟及活性验证[J]. *化学研究与应用*, 2022, 34(12): 2847-2856
 - [22] Marnett L J. The COXIB experience: a look in the rearview mirror[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2009, 49: 265-90.
 - [23] Gierse J K, McDonald J J, Hauser S D, et al. A single amino acid difference between cyclooxygenase-1 (COX-1) and -2 (COX-2) reverses the selectivity of COX-2 specific inhibitors [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(26): 15810-4.
 - [24] Vecchio A J, Orlando B J, Nandagiri R, et al. Investigating substrate promiscuity in cyclooxygenase-2: the role of Arg-120 and residues lining the hydrophobic groove [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (29): 24619-30.
 - [25] Mehmood A, Nawab S, Wang Y, et al. Discovering potent inhibitors against the Mpro of the SARS-CoV-2. A medicinal chemistry approach[J]. *Comput Biol Med*, 2022, 143: 105235.
 - [26] Wang J. Fast Identification of Possible Drug Treatment of Coronavirus Disease-19 (COVID-19) through Computational Drug Repurposing Study[J]. *J Chem Inf Model*, 2020, 60(6): 3277-3286.
 - [27] Jain P, Satija J, Sudandiradoss C. Discovery of andrographolide hit analog as a potent cyclooxygenase-2 inhibitor through consensus MD-simulation, electrostatic potential energy simulation and ligand efficiency metrics[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 8147.
 - [28] Flores-Holguin N, Frau J, Glossman-Mitnik D. In Silico Pharmacokinetics, ADMET Study and Conceptual DFT Analysis of Two Plant Cyclopeptides Isolated From Rosaceae as a Computational Peptidology Approach[J]. *Front Chem*, 2021, 9: 708364.
 - [29] Danel T, Wojtuch A, Podlowska S. Generation of new inhibitors of selected cytochrome P450 subtypes- In silico study[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, 20: 5639-5651.
 - [30] Skariyachan S, Gopal D, Muddebihalkar A G, et al. Structural insights on the interaction potential of natural leads against major protein targets of SARS-CoV-2: Molecular modelling, docking and dynamic simulation studies[J]. *Comput Biol Med*, 2021, 132: 104325.
 - [31] Unsworth A J, Bye A P, Sage T, et al. Antiplatelet properties of Pim kinase inhibition are mediated through disruption of thromboxane A₂ receptor signaling[J]. *Haematologica*, 2021, 106(7): 1968-1978.
 - [32] Schnitzer T J, Burmester G R, Mysler E, et al. Comparison of lumiracoxib with naproxen and ibuprofen in the Therapeutic Arthritis Research and Gastrointestinal Event Trial (TARGET), reduction in ulcer complications: randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2004, 364 (9435): 665-74.
 - [33] Farkouh M E, Kirshner H, Harrington R A, et al. Comparison of lumiracoxib with naproxen and ibuprofen in the Therapeutic Arthritis Research and Gastrointestinal Event Trial (TARGET), cardiovascular outcomes: randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2004, 364(9435): 675-84.
 - [34] Nicolai E, Goyard J, Benchetrit T, et al. Synthesis and structure-activity relationships of novel benzimidazole and imidazo [4,5-b] pyridine acid derivatives as thromboxane A₂ receptor antagonists[J]. *J Med Chem*, 1993, 36(9): 1175-87.