

三重再摄取抑制剂从单胺转运体解离的拉伸分子动力学模拟研究

涂高^{1,2}, 姚小军^{2*}, 薛伟伟^{1*} (1.重庆大学药学院, 重庆 401331; 2.澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室, 澳门药物与健康应用研究院, 埃文内尔博士生物物理与创新药物实验室, 中国澳门 999078)

摘要: 目的 研究三重再摄取抑制剂(triple reuptake inhibitors, TRIs)与人类单胺转运体(human monoamine transporters, hMATs)的解离机制。方法 采用拉伸分子动力学的方法模拟3个TRIs从hSERT、hNET和hDAT主要结合位点解离的动态过程;通过计算解离过程中施加的外力随模拟时间的变化,分析抑制剂解离过程中重要的蛋白-配体间的相互作用;最后通过Jarzynski方程的二次累积展开式计算抑制剂在3种转运蛋白的平均力势。结果 力谱图曲线表明影响TRIs解离的残基在单胺转运蛋白上的分布主要如下:跨膜区域(TM1b、TM3、TM6a、TM10)和胞外Loop区域(EL2、EL4、EL5、EL6),其中主要结合口袋附近的残基极大地阻碍TRIs的解离。比较每个体系的平均力势数值,结果表明EB1020相比NS2359和SEP225289更容易从蛋白中解离。结论 本研究从原子水平揭示了hMATs与TRIs结合-解离机制,为基于结构的选择性抗抑郁药物设计提供了理论依据。

关键词: 单胺转运体;三重再摄取抑制剂;拉伸分子动力学模拟;解离机制

中图分类号: R913 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)21-2887-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.21.027

引用本文: 涂高, 姚小军, 薛伟伟. 三重再摄取抑制剂从单胺转运体解离的拉伸分子动力学模拟研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(21): 2887-2893.

Study on the Unbinding of Triple Reuptake Inhibitor from Monoamine Transporters by Steered Molecular Dynamics Simulations

TU Gao^{1,2}, YAO Xiaojun^{2*}, XUE Weiwei^{1*} (1.School of Pharmaceutical Sciences, Chongqing University, Chongqing 401331, China; 2.State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, Macau Institute for Applied Research in Medicine and Health, Dr. Neher's Biophysics Laboratory for Innovative Drug Discovery, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the unbinding mechanism between triple reuptake inhibitors(TRIs) and human monoamine transporters(hMATs). **METHODS** Steered molecular dynamics was used to explore the unbinding process of three inhibitors from hSERT, hNET and hDAT. The important protein-ligand interactions during dissociation were analyzed by calculating the external force-time profiles. Finally, the results of potential of mean force of the three inhibitors in each transporter were calculated by using the second cumulant expansion of Jarzynski's equality. **RESULTS** The force-time curve indicated that residues located in transmembrane domains(TM1b, TM3, TM6a and TM10) and extracellular loops domains(EL2, EL4, EL5 and EL6) were mainly involved in the ligand unbinding. The residues were located on the center binding site of protein could greatly hinder ligand dissociation. The average power potential of each system was computed and the result denoted that the dissociation of EB1020 from the hMATs was easier than that of NS2359 and SEP225289. **CONCLUSION** This study reveals the unbinding dissociation mechanism of hMATs and TRIs at the atomic level, which provides a theoretical basis for structure-based antidepressant drug design with higher potency and selectivity.

KEYWORDS: steered molecular dynamics; human monoamine transporters; triple reuptake inhibitors; dissociation mechanism

单胺转运体(monoamine transporters, MATs)属于溶质载体转运蛋白家族(SCL6),包括五羟色胺转运体(serotonin transporter, SERT)、去甲肾上腺素转运体(norepinephrine transporter, NET)和多巴胺转运体蛋白(dopamine transporter, DAT)^[1],这些转运蛋白可将底物如多巴胺、去甲肾上腺素、

五羟色胺从胞外转运至突触前神经元胞质内,以维持神经递质稳态^[2]。单胺转运蛋白的功能失调会引发抑郁症和其他神经系统精神疾病相关的症状,因此,与人类单胺转运体(human monoamine transporters, hMATs)可作为开发抗抑郁药物的潜在靶点^[1,3-5]。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(21505009)

作者简介: 涂高, 男, 博士生 E-mail: 2009853qct30001@student.must.edu.mo *通信作者: 姚小军, 男, 博士, 教授 E-mail: xjyao@must.edu.mo 薛伟伟, 男, 博士, 副教授 E-mail: xueww@cqu.edu.cn

在过去的十几年里,随着网络药理学的不断兴起,为复杂疾病的多重药理学(一个药物同时作用于多个靶点)发展奠定了基础,同时,相对于单一靶点对应单一药物,也为复杂疾病的多靶点药物研究提供了新范式^[6-8]。三重再摄取抑制剂(triple reuptake inhibitors, TRIs)能够同时作用于 hSERT、hNET 和 hDAT,进而参与突触前神经递质 DA、NE 和 5-HT 的释放并诱导单胺系统协同调节作用。近年来,部分 TRIs 已进入临床研究阶段,通过调节神经递质水平进而达到治疗抑郁症的目的^[9-10]。目前部分基于同源性蛋白(如亮氨酸转运体 LeuT 和果蝇 DAT)以及人源性蛋白(如 hSERT)的晶体结构已被解析^[11-12],见图 1, hSERT 蛋白晶体结构由 12 段跨膜区域(TM)组成,并通过胞内和胞外 Loop 区域连接(ILs 和 ELs)形成的膜蛋白。钠离子、底物和药物的结合位点主要位于蛋白跨膜区域(TM1、TM3、TM6 和 TM8)。在此基础上相关研究通过计算机模拟手段研究了 3 种转运体的热力学性质,这些研究为基于结构的抗抑郁药物设计提供了基础^[13-14]。然而由于传统实验方法如 X-ray 和 NMR 难以捕捉到靶点-配体之间的结合-解离的动态过程,目前 TRIs 抑制剂在 hMATs 中相关结合-解离等动力学性质的研究尚不清楚。其次由于单胺转运蛋白主要结合位点残基的保守型较高且跨膜区域序列相似性>50%,这为设计选择性较好、活性较高的多靶点抗抑郁剂药物带来挑战。

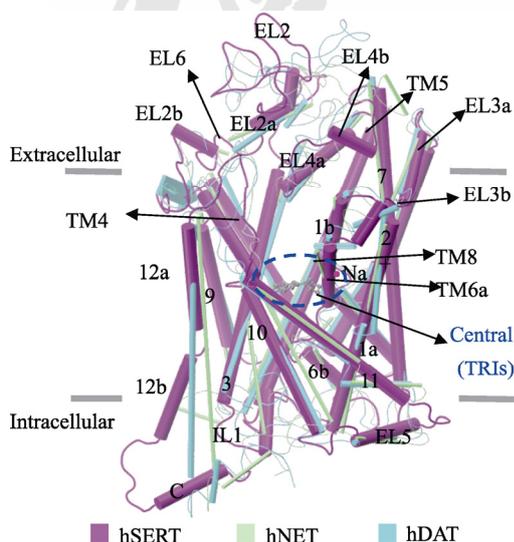


图 1 人类单胺转运蛋白 hSERT 与建模的 hNET 和 hDAT 结构示意图

Fig. 1 Structural diagram of human monoamine transporter hSERT, the modeled hNET and modeled hDAT

因此,本研究通过恒速拉伸分子动力学模拟(steered molecular dynamics, SMD)方法来表征 3 个活性较好且进入临床试验的 TRIs(NS2359、SEP225289 和 NS2359)在 hMATs 解离机制。在纳秒时间尺度内,揭示了 3 个 TRIs 在 3 种转运蛋白中可能的转运路径,并从中发现了 2~3 个短暂且稳定相互作用的复合物构象。此外,根据平均力势的计算对 3 个 TRIs 的解离难易程度进行评估。这些信息也有助于从原子水平解释 TRIs 在 hMATs 中的选择性作用机制,为设计活性更佳、选择性更专一、不良反应更少的抗抑郁药物设计提供有用的信息。

1 方法

1.1 体系准备

1.1.1 蛋白准备 hSERT 晶体结构来自 PDB 数据库(PDB ID: 5i71),通过 Pymol 软件^[15]将 hSERT 的突变位点(Y110A-I291A-T439S)进行修改得到野生型 hSERT 蛋白,并通过 Maestro 的 Protein Preparation Wizard 模块对野生型 hSERT 结构进行优化。由于人源性 hDAT 和 hNET 晶体结构尚未解析出来,所以本研究以 hSERT 晶体结构为模板,使用 Chimera 软件构建 hDAT 和 hNET 的三维结构。其中 hDAT 和 hNET 的一级氨基酸序列从 UniPort 网址(Entries: P23975 和 Q01959)获得。通过对优化后的 3D-晶体结构的主要结合位点定义蛋白格点文件,使用 Maestro 的 Receptor Grid Generation 模块生成格点文件以备用。

1.1.2 抑制剂准备 3 个抑制剂的化合物结构导入 Maestro 中,通过 LigPrep 模块^[16]给小分子施加力场(OPLS-2005 力场),然后对其进行构象和能量的优化,并在 pH 值为 7.0 ± 2.0 条件下,使用 Epik 进行离子化处理。

1.1.3 分子对接 选择 SP 精确度,将预处理的 3 个配体分子分别对接到蛋白中。为提高对接构象的采样,设置每次对接至少产生 30 个对接构象。

1.1.4 分子动力学模拟体系准备 9 个复合物的模拟代表构象来自文献^[14]。首先利用 PPM^[17]和 CHARMM-GUI 在线网址^[18]将 9 个起始对接构象进行跨膜蛋白定向和 POPC 磷脂双分子的添加。为了构建的体系更接近真实的生理环境,对体系中添加额外的抗衡离子 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 用以中和体系的电荷以及水分子的混合溶剂模型。其中水分子模型 TIP3P 的厚度为 20 \AA ,分别位于蛋白

的上下两端，最终形成约 86 000 个原子的复合物模拟体系。其次，蛋白和磷脂双分子层分别选择 ff14SB 力场和 Lipid14 力场描述。小分子配体分子参数化使用 Gaussian 09^[19]软件和 antechamber 程序^[20]对 3 个小分子配体进行 HF/6-31G*RESP 电荷参数的拟合。最后，使用 AMBER16^[21]中的 tleap 工具生成 9 个复合物体系进行分子动力学模拟前所需的拓扑文件和坐标文件。

1.2 分子动力学模拟

1.2.1 常规分子动力学模拟

NAMD-GPU(版本: 2.12)软件用于复合物体系的常规分子动力学模拟。其过程共分为 3 个部分: 能量最小化、能量平衡以及模拟过程。首先, 对系统进行能量最小化, 第 1 步, 限制除磷脂分子亲水性头部以外的所有原子, 只允许磷脂分子亲水性头部运动, 优化 0.1 ns, 并平衡 0.5 ns。第 2 步, 固定配体除氢以外的所有重原子, 蛋白的 C α 原子, 其余原子自由移动, 也进行 0.1 ns 的优化并平衡 0.5 ns。优化完成后, 模拟体系进入平衡阶段, 解除约束限制, 使所有原子处于自由运动状态。最后在恒温恒压条件下进行 5 ns 成品动力学模拟以获得拉伸模拟所需要的输入文件。其中, 温度和压力设置为 310 K 和 1 个大气。特定的准备文件及周期性边界的数值大小使用 VMD1.9.3 软件^[22]获得。模拟体系静电作用截断值为 10.0 Å, 采用 PME 计算方法^[23], 所有包含氢原子的键的伸缩通过 SHAKE 算法^[24]进行限制。模拟过程中积分步长为 2 fs, 轨迹每 5 000 步写入一个数据。

1.2.2 拉伸模拟

在进行拉伸模拟前, 首先对蛋白 α -碳骨架进行约束限制、对配体重原子施加一个外力。拉伸的起始位置位于蛋白的主要结合位点区域, 拉伸方向朝蛋白胞外一侧。其中范德华相互作用的截断值设置为 13 Å, switchdist 为 10 Å, pairlistdist 为 13.5 Å。温度由朗之万动力学 (Langevin Dynamics) 控制^[25]。通过预实验对 2 个关键参数弹性系数(k)和速度(v)进行摸索, 最终选定拉伸速度 v 为 4 Å·ns⁻¹, 弹性系数 k 为 30 kcal·mol⁻¹·Å⁻²时能够达到匀速拉伸的要求。为了减小 PMF 统计误差, 本实验对每一个体系平行 10 次分子动力学模拟, 然后计算平均 PMF 值。最后, 经过 10 ns 模拟轨迹得到 1 000 帧蛋白-配体复合物的动态解离构象以及力随模拟时间变化的力谱图。

2 结果

2.1 TRIs 在解离过程中拉力随模拟时间的变化

2.1.1 3 个抑制剂在 hSERT 中的解离机制

通过计算拉力随模拟时间的变化, 在 9 个 hMATs-TRIs 复合物体系中观察到 3~4 个显著的力峰值, 表明 hMATs-TRIs 模拟过程中出现短暂且稳定的相互作用, 进而需要更大的外力维持抑制剂的匀速移动。出现第 1 个力的峰值分别在 0.57~0.65 ns, 0.55~0.71 ns 和 0.46~0.55 ns 左右附近, 此时 NS2359、SEP225289 和 EB1020 在 hSERT 中的拉力分别约为 46.40 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹, 28.24 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹, 30.73 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹, 结果见图 2。在对应的代表结构 P1 中, 可以观察到抑制剂的质子化氮基团与

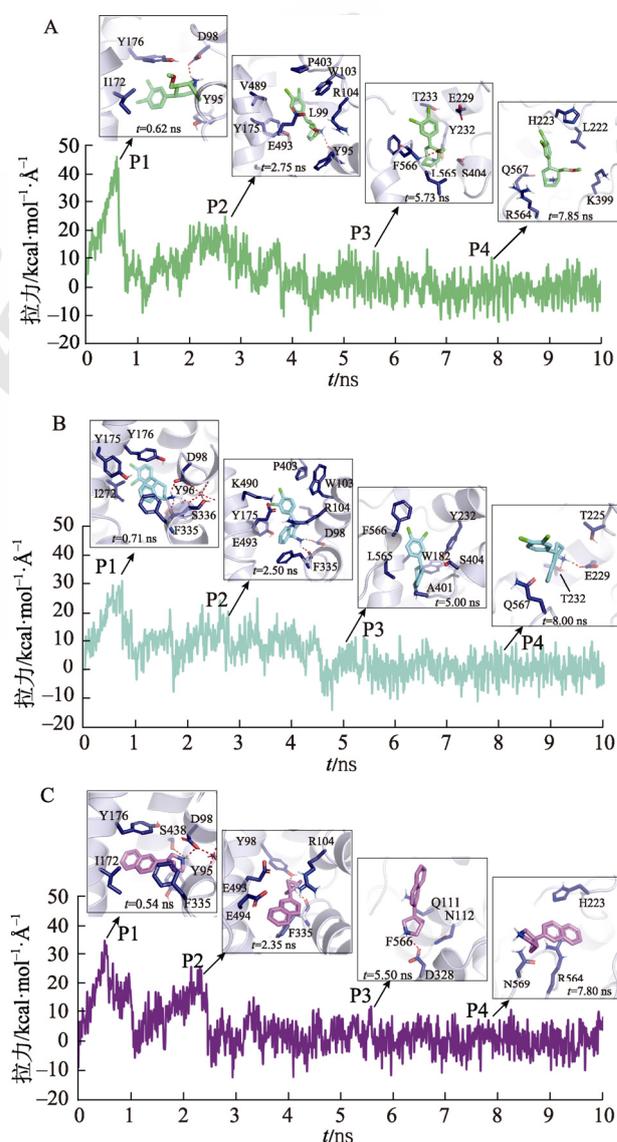


图 2 TRIs-hSERT 体系的拉伸分子动力学模拟
A-hSERT-NS2359; B-hSERT-SEP225289; C-hSERT-EB1020。
Fig. 2 Steered molecular dynamics of TRIs in hSERT
A-hSERT-NS2359; B-hSERT-SEP225289; C-hSERT-EB1020.

带负电的天冬氨酸之间的氢键相互作用仍然存在。同时随着抑制剂不断移动,残基 Y176 的侧链形成显著的空间阻碍,从而出现较大的峰值。此外,抑制剂 SEP225289 与残基(S336 和 F335)骨架氧原子形成 2 个氢键相互作用,EB1020 与残基 S438 侧链氧原子形成一个氢键相互作用。由于这些短暂的氢键相互作用促使抑制剂的质子化氮端基团(定义为头端)稳定在中心结合口袋,而含芳香模块的一端(定义为末端)经历显著的构象翻转。在 2.35~2.75 ns 时,出现第 2 个力峰值,通过提取对应的代表结构 P2 进行结合模式分析,可以观察到残基 F355 的骨架氧原子均与 3 个抑制剂形成氢键相互作用。同时,抑制剂 NS2359 和 SEP225289 与口袋附近的残基(Y175、V489、E493、E494、F335、R104 和 W103)形成疏水性相互作用。值得注意的是,门控开关(残基 R104 和 E493)与抑制剂的芳香基团形成强烈的空间阻碍。在 5.00~5.73 ns 左右,通过对代表结构 P3 进行分析,NS2359 主要与 EL2 和 TM10 区域的残基(T233、E229、Y232、F566、L566 和 S404)相互作用,其中 F566 与 NS2359 形成氢键相互作用。SEP225289 主要与残基(Y323、W182、A401、S404、L565 和 F566)相互作用。而此时 EB1020 的头端基团除了与残基 D328 存在氢键相互作用外,抑制剂的萘基团几乎完全从 hSERT 通道中解离。在 8.00 ns 附近,对代表结构 P4 进行分析,除了少数残基如 E229、T232 与 SEP225289 形成氢键相互作用外,3 个小分子抑制剂基本从靠近胞外 Loop 区域解离。

2.1.2 3 个抑制剂在 hNET 中的解离机制 3 个抑制剂在 hNET 中力与时间变化的曲线图见图 3。在起始 1.24 ns 附近,拉力急剧增大。通过代表构象 P1 可以观察到,由于小分子配体的质子化氮基团同时与残基 D75 侧链羧基、残基 F317 骨架氧原子形成氢键相互作用。同时,3 个抑制剂的末端基团经历显著的构象变化,残基侧链 L76 和 Y152 显著阻碍抑制剂的解离。在 0.48~1.24 ns 附近,NS2359、SEP225289 和 EB1020 出现第一个力的峰值分别约为 $35.38 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-1}$, $27.70 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-1}$ 和 $36.98 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-1}$ 。随着抑制剂不断移动,这些短暂的相互作用被打破,外力急剧变小。此时,在 1.72~2.98 ns 附近,配体在解离过程中出现第二个力峰值。其中,保守性残基 D75 侧链的羧基仍与抑制剂 SEP225289 和 EB1020 形成氢键相互作用。

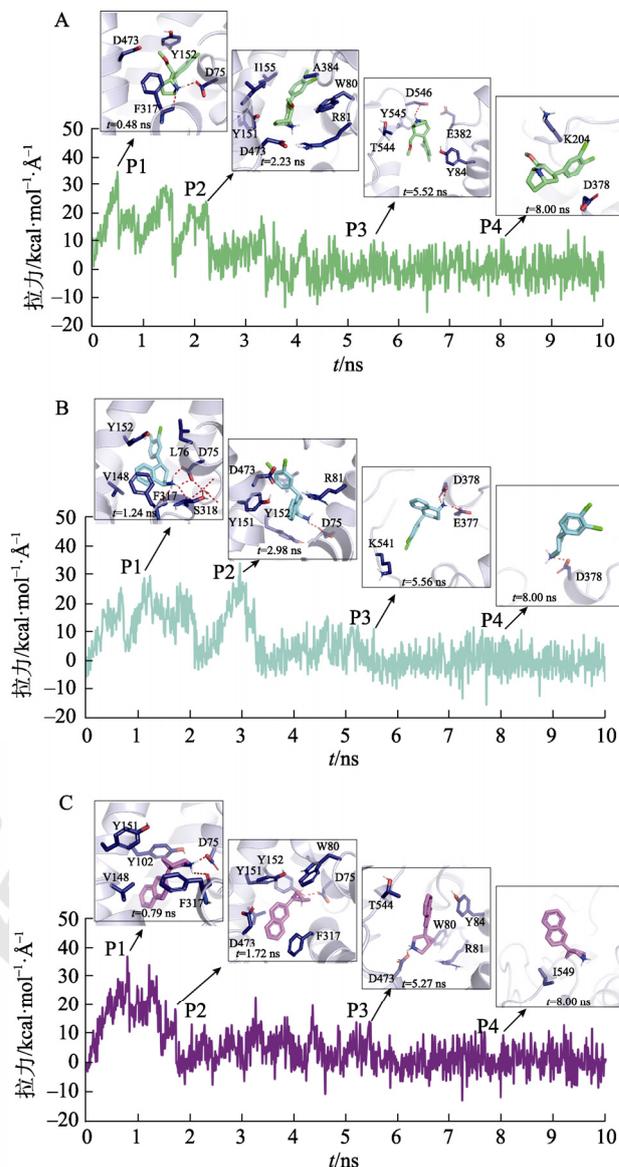


图 3 TRIs-hNET 体系的拉伸分子动力学模拟 A-hNET-NS2359; B-hNET-SEP225289; C-hNET-EB1020。
Fig. 3 Steered molecular dynamics of TRIs-hNET system A-hNET-NS2359; B-hNET-SEP225289; C-hNET-EB1020.

用。残基 Y152 也与抑制剂 EB1020 形成氢键相互作用。此外,NS2359 与残基(W80、R81、L76、Y151、Y152、I155、F388、A384、D473 和 L469),SEP225289 与残基(W158、I155、Y151、Y152、D473、R81、L76 和 W80),EB1020 与蛋白区域 TM1b、TM3 和 TM10 残基(W80、D75、F317、D473、Y151 和 Y152)形成疏水相互作用。与起始构象相比较,3 个抑制剂的解离过程与门控开关(R81 和 D473)存在显著的构象重排。在 2.98 ns 之后,随着拉伸的距离变大,抑制剂与保守型残基 D75 的氢键相互作用完全消失,同时,抑制剂 NS2359 和 SEP225289 的末端基团的朝向再次发生

显著的构象变化。第三个力的峰值出现在 5.00 ns 附近,抑制剂 NS2359 和 EB1020 分别与残基 D546 和 D473 侧链形成氢键相互作用。同时, NS2359 与蛋白区域(EL4、TM6a 和 EL5), SEP225289 与蛋白区域(TM1b、EL4 和 EL5), EB1020 与蛋白区域(TM1b、EL4、TM10 和 EL5)部分残基主要形成疏水性相互作用见图 3。在模拟时间为 5.50 ns 时,蛋白残基(D378 和 E337)与 SEP25289 的质子化基团(-NH₃⁺)形成明显的静电相互作用,且氢键相互作用距离 <2.0 Å, 5.00~6.00 ns 平均力值为 2.20 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹。在模拟进行到 8.10 ns 时,尽管配体的构象发生较大的翻转,残基 D378 与 SEP225289 的相互作用仍然维持,其中 5.50~8.0 ns 的平均力值为 0.94 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹,表明随着配体逐渐靠近胞外 EL4a 区域时,力值的变小以及残基(D378 和 E337)与配体形成氢键相互作用的倾向可能有利于配体的解离。在 8.00 ns 附近,通过 P4 代表结构,可以看出少数残基与抑制剂有较弱的相互作用如 EB1020 与 T544 和 Y545、SEP225289 与 D378 参与氢键相互作用。整体而言,3 个抑制剂完全从 hNET 口袋中解离。

2.1.3 3 个抑制剂在 hDAT 中的解离机制 在 3 个 hDAT-hTRIs 复合物体系中,第一个力的峰在 1.42~1.51 ns(NS2359), 0.57~0.74 ns(SEP225289) 和 0.70~0.81 ns(EB1020)附近,对应的力峰值分别约为 33.50 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹, 40.97 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹ 和 39.00 kcal·mol⁻¹·Å⁻¹。结果见图 4。

从代表结构 P1 可以看出,小分子抑制剂的质子化氮基团仍位于中心结合口袋,并与残基 D79 侧链羧基形成氢键相互作用。此外,抑制剂 NS2359 与残基 F320, EB1020 与残基(F76 和 S321)也参与氢键相互作用。与起始构象相比,小分子配体的尾端芳香模块也经历显著的构象变化。同时,抑制剂的解离必须通过克服残基 Y145 和配体芳香环之间的空间位阻才能越过能量壁垒。这些观察结果有助于理解 TRIs 的动力学行为的差异。第二个峰值出现在 3.78~3.84 ns(NS2359), 2.41~2.52 ns (SEP225289)和 2.63~2.73 ns(EB1020)附近,通过代表结构 P2 可以看出,3 个抑制剂与残基 D78 的氢键相互作用消失。NS2359 中-CH₂CH₃ 基团与残基 R85 形成氢键相互作用。抑制剂的末端朝向胞外一侧主要与疏水性残基相互作用(Y548、F472、D476、F387、R85、W84 和 P387),尤其是门控开关残基

R85 和 D476 的盐桥相互作用与抑制剂中芳香基团两侧存在较强的空间阻碍,可能会影响抑制剂从主要结合口袋中解离。在第三个力的峰值中,抑制剂(NS2359 和 EB1020)与残基(I469、F472、H547、P387、D385、F217、Y548、I392 和 A214),SEP225289 和残基(Y470、T419、L541、L224 和 L222)主要参与疏水性相互作用。此外,NS2359 和 EB1020 分别与残基 H547 和 P387 形成氢键相互作用。在 7.00~8.00 ns 附近,抑制剂 SEP225289 和 EB1020 几乎完全从蛋白通道中解离。NS2359 再次经历构象翻转,头端与残基(E218 和 A214)形成氢键相互作用,之后 NS2359 也从 hDAT 蛋白通道中完全解离。

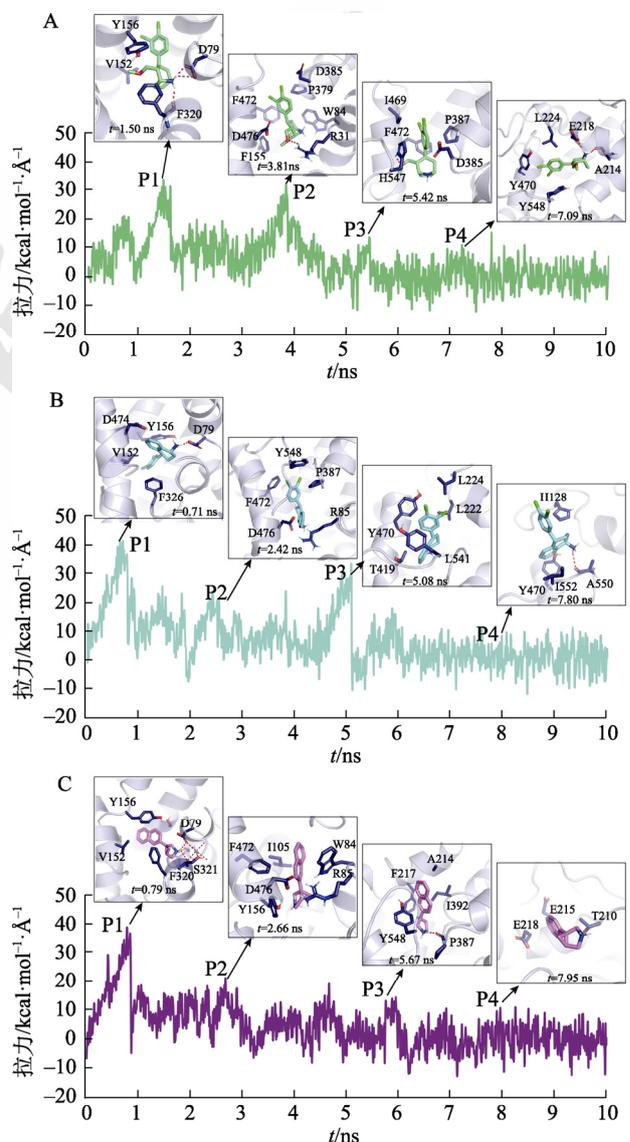


图 4 TRIs-hDAT 体系的拉伸分子动力学模拟
A-hDAT-NS2359; B-hDAT-SEP225289; C-hDAT-EB1020。
Fig. 4 Steered molecular dynamics of TRIs-hDAT system
A-hDAT-NS2359; B-hDAT-SEP225289; C-hDAT-EB1020.

2.2 平均力势随反应坐标的变化

为了进一步研究 3 个抑制剂在 hMATs 中的解离机制,本研究通过 Jarzynski 方程二次累积展开式计算 9 个复合物体系的 PMF。3 个抑制剂 NS2359、SEP225289 和 EB1020 在 hDAT、hNET 和 hSERT 中的 ΔG_{off} 分别为 261.52, 200.91, 199.41, 262.24, 270.84, 212.47, 183.67, 160.79, 158.15 kcal·mol⁻¹, 见图 5A~C。

3 个抑制剂在 hDAT 中的 PMF 值均大于 hSERT-TRIs 体系,表明抑制剂在 hDAT 中的解离比后者较难,这也与实验值 K_i 一致,见图 5。此外,除了 SEP225289-TRIs 体系外,也发现 NS2359 和 EB1020 在 hNET 和 hSERT 中的 PMF 值相差不大。然而在 EB1020-hNET 模拟体系中,解离自由能数值与实验值的趋势不一致,可能的原因是抑

制剂作用于不同蛋白时的活性值(K_i)差异较小。

3 结论

本研究中,SMD 揭示了 TRIs 从 3 种转运蛋白口袋中结合到解离的动态过程。力谱图表明 3 个 TRIs 在解离过程中经历蛋白 TM 区域(TM1b、TM3、TM6a、TM10)以及胞外 Loop 区域(EL2、EL4、EL5 和 EL6),位于这些区域的氨基酸在 TRIs 解离过程参与重要的作用,同时 TRIs 解离过程中出现短暂的相互作用为基于结构的药物设计提供了有用的信息。此外,通过 PMF 曲线图定量地比较了解离自由能与抑制剂的结合亲和力的相关性。以上结果表明通过对模拟轨迹的构象分析以及能量计算能够预测 TRIs 抑制剂在 hMATs 的动力学性质,这将有助于多靶点抗抑郁药物的设计。

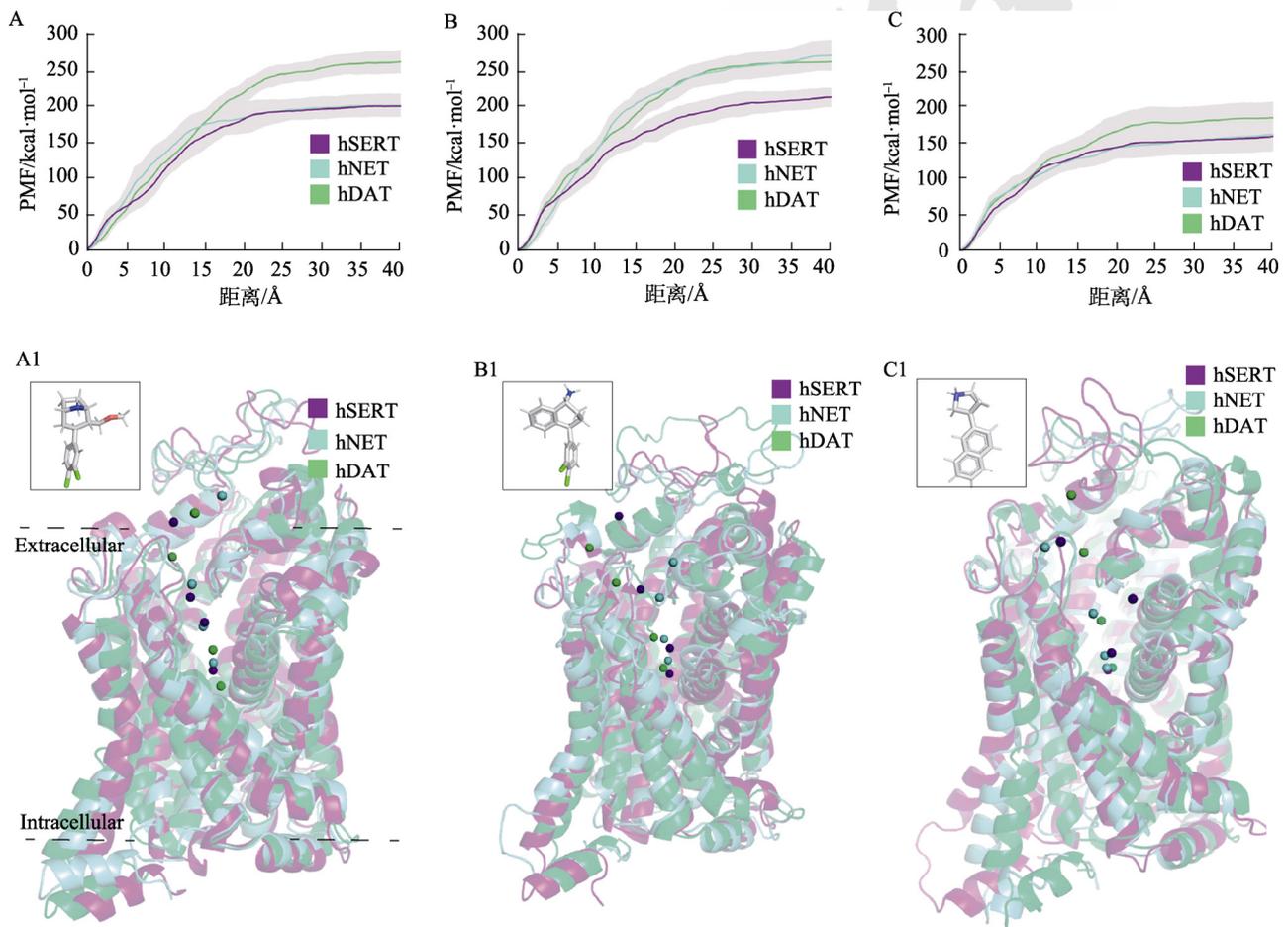


图 5 抑制剂从 hMATs 蛋白解离过程中 PMF 随反应坐标的变化

A-NS2359 复合物体系; B-SEP225289 复合物体系; C-EB1020 复合物体系; A1-NS2359 的解离路径; B1-SEP225289 的解离路径; C1-EB1020 的解离路径。球体代表配体的质心。

Fig. 5 Potential of mean force(PMF) profiles of inhibitors dissociate from center binding site of hMATs

A-NS2359-bound complexes system; B-SEP225289-bound complexes system; C-EB1020-bound complexes system; A1-unbinding pathway of NS2359 to hMATs; B1-unbinding pathway of SEP225289 to hMATs; C1-unbinding pathway of EB1020 to hMATs. The ligands were represented by sphere.

REFERENCES

- [1] XUE W W, FU T T, ZHENG G X, et al. Recent advances and challenges of the drugs acting on monoamine transporters[J]. *Curr Med Chem*, 2020, 27(23): 3830-3876.
- [2] CHENG M H, BAHAR I. Monoamine transporters: Structure, intrinsic dynamics and allosteric regulation[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2019, 26(7): 545-556.
- [3] AGGARWAL S, MORTENSEN O V. Overview of monoamine transporters[J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2017(79): 12.16.1-12.16.17.
- [4] MORTENSEN O V, KORTAGERE S. Designing modulators of monoamine transporters using virtual screening techniques[J]. *Front Pharmacol*, 2015(6): 223.
- [5] HOWELL L L, NEGUS S S. Monoamine transporter inhibitors and substrates as treatments for stimulant abuse[J]. *Adv Pharmacol*, 2014(69): 129-176.
- [6] BOLOGNESI M L. Harnessing polypharmacology with medicinal chemistry[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2019, 10(3): 273-275.
- [7] PRATI F, ULIASSI E, BOLOGNESI M. Two diseases, one approach: Multitarget drug discovery in Alzheimer's and neglected tropical diseases[J]. *MedChemComm*, 2014(5): 853-861.
- [8] EL MANSARI M, GUIARD B P, CHERNOLOZ O, et al. Relevance of norepinephrine-dopamine interactions in the treatment of major depressive disorder[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2010, 16(3): e1-e17.
- [9] SHARMA H, SANTRA S, DUTTA A. Triple reuptake inhibitors as potential next-generation antidepressants: A new hope? [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7(17): 2385-2406.
- [10] PAUDEL S, KIM E, ZHU A L, et al. Structural requirements for modulating 4-benzylpiperidine carboxamides from serotonin/norepinephrine reuptake inhibitors to triple reuptake inhibitors[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2021, 29(4): 392-398.
- [11] PENMATSU A, WANG K H, GOUAUX E. X-ray structure of dopamine transporter elucidates antidepressant mechanism[J]. *Nature*, 2013, 503(7474): 85-90.
- [12] COLEMAN J A, GREEN E M, GOUAUX E. X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter[J]. *Nature*, 2016, 532(7599): 334-339.
- [13] XUE W W, WANG P P, TU G, et al. Computational identification of the binding mechanism of a triple reuptake inhibitor amitifadine for the treatment of major depressive disorder[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2018, 20(9): 6606-6616.
- [14] TU G, FU T T, YANG F Y, et al. Understanding the polypharmacological profiles of triple reuptake inhibitors by molecular simulation[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12(11): 2013-2026.
- [15] PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.3[Z]. Schrödinger, LLC: New York, NY, USA, 2010.
- [16] LigPrep, Version 2.3[Z]. Schrödinger, LLC: New York, NY, 2009.
- [17] LOMIZE M A, POGOZHEVA I D, JOO H, et al. OPM database and PPM web server: Resources for positioning of proteins in membranes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(Database issue): D370-D376.
- [18] WU E L, CHENG X, JO S, et al. CHARMM-GUI Membrane Builder toward realistic biological membrane simulations[J]. *J Comput Chem*, 2014, 35(27): 1997-2004.
- [19] FRISCH M, TRUCKS G, SCHLEGEL H, et al. Gaussian 09, Version 5.0[Z]. Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, USA, 2009.
- [20] WANG J M, WANG W, KOLLMAN P A, et al. Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations[J]. *J Mol Graph Model*, 2006, 25(2): 247-260.
- [21] AMBER, Version 16[Z]. University of California: San Francisco, CA, USA, 2016.
- [22] HUMPHREY W, DALKE A, SCHULTEN K. VMD: visual molecular dynamics[J]. *J Mol Graph*, 1996, 14(1): 33-38, 27-8.
- [23] PRASAD R. A theoretical study of the fine and hyperfine interactions in the NCO and CNO radicals[J]. *J Chem Phys*, 2004, 120(21): 10089-10100.
- [24] SPRINGBORG M, KIRTMAN B. Efficient vector potential method for calculating electronic and nuclear response of infinite periodic systems to finite electric fields[J]. *J Chem Phys*, 2007, 126(10): 104107.
- [25] PASTOR R W, BROOKS B R, SZABO A. An analysis of the accuracy of Langevin and molecular dynamics algorithms[J]. *Mol Phys*, 1988, 65(6): 1409-1419.

收稿日期: 2022-08-25
(本文责编: 沈倩)