

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2020 年 3 月 12 日 (12.03.2020)



(10) 国际公布号  
**WO 2020/047962 A1**

(51) 国际专利分类号:  
**G16B 5/00** (2019.01) **G16B 5/00** (2019.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/111676

(22) 国际申请日: 2018 年 10 月 24 日 (24.10.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
201811017889.9 2018 年 9 月 3 日 (03.09.2018) CN

(71) 申请人: 南京大学(NANJING UNIVERSITY) [CN/  
CN]; 中国江苏省南京市栖霞区仙林大道 163  
号刘红玲, Jiangsu 210093 (CN)。

(72) 发明人: 刘红玲(LIU, Hongling); 中国江苏省  
南京市栖霞区仙林大道 163 号刘红玲,  
Jiangsu 210093 (CN)。 石来昊(SHI, Laihao); 中  
国江苏省南京市栖霞区仙林大道 163 号  
石来昊, Jiangsu 210093 (CN)。

(74) 代理人: 北京盛凡智荣知识产权代  
理有限公司(BEIJING SHENGFANZHIRONG  
INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO. LTD);

中国北京市海淀区苏州街 1 号 9 层 057A  
梁永昌, Beijing 100080 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家  
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,  
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,  
CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,  
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,  
JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,  
LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,  
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,  
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,  
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,  
US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区  
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,  
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,  
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,  
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,  
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(54) Title: CONSTRUCTION OF MODEL FOR DISTINGUISHING BETWEEN ANDROGEN AND ANTI-ANDROGEN EFFECTS OF SUBSTANCE AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 区分物质雄激素与抗雄激素效应模型的构建和应用

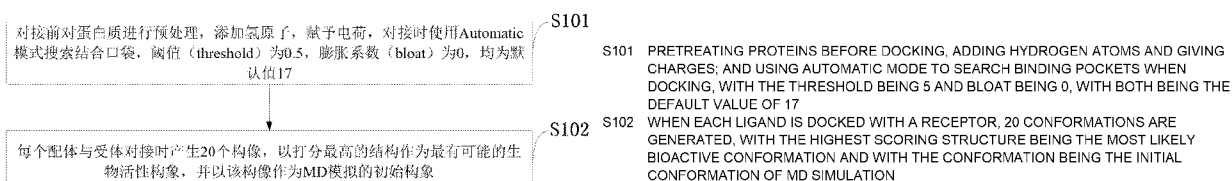


图 1

(57) Abstract: Disclosed are a model for distinguishing between androgen and anti-androgen effects of a substance and a construction method therefor and the use thereof. The model for distinguishing between androgen and anti-androgen effects of the substance uses a Surflex-Dock program of SYBYL to dock a ligand into an AR. The model is established by means of the binding mode of dihydrotestosterone (DHT) and hydroxyflutamide (HFT) with an AR, and is further used in a new type of brominated flame retardant; after the simulation is ended, the consistent effect between the antagonist-bound H12 helix and other structures is significantly weakened, so that the stability of the H12 helix is reduced, but the agonist can maintain the stability of H12; and the method can be used to initially screen the agonism and antagonism of the substance.

(57) 摘要: 一种区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型及构建方法和应用, 区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型采用 SYBYL 的 Surflex-Dock 程序将配体对接到 AR 内。通过双氢睾酮 (DHT) 与羟基氟他胺 (HFT) 与 AR 的结合模式建立, 并进一步用于新型溴代阻燃剂, 发现在模拟结束后, 拮抗剂结合的 H12 螺旋与其他结构之间的相符作用明显减弱, 使得 H12 螺旋的稳定性下降, 而激动剂则能维持 H12 的稳定性; 通过这种方法可以对物质的激动以及拮抗进行初步的筛分。

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

## 区分物质雄激素与抗雄激素效应模型的构建和应用

### 技术领域

本发明属于借助于测定化学或物理性质来测试或分析技术领域，尤其涉及一种区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型及构建方法和应用。

### 背景技术

目前，业内常用的现有技术是这样的：化学物质的内分泌干扰效应是其综合毒性的重要组成部分。根据美国 EPA 的定义，内分泌干扰物是指能通过干扰内源性激素的合成、分泌、转运、代谢、结合和去除过程来影响生物的稳态、生殖和发育过程的环境物质，其中环境雄激素类物质是一类重要的污染物，其中能模拟天然雄激素激活雄激素受体的物质称为拟雄激素，而抑制天然雄激素物质的称为抗雄激素。近年来研究发现，很多野生动物，如鱼类、鸟类等，会出现不同程度的生殖紊乱、性器官畸形和雄性雌性化等症状。之前这种现象的机理研究主要集中在环境雌激素上。野外调查发现雌酮，雌二醇，雌马酚等雌激素无法解释辽东湾野生梭鱼雌雄同体的高发生率。随着研究的推进，辽东湾中具有抗雄激素效应的 p, p'-DDE 以及雌马酚可能是其原因。现有的筛选方法主要有实验法和计算法。实验法可分为体外法和体内法。体外实验包括细胞增殖实验，报告基因实验，竞争结合实验，酵母双杂交实验。体内实验主要使用动物喂养和啮齿类动物（如鼠等）激素依赖组织（如前列腺、精囊、子宫等）割除后增重实验，体内生物标志实验等。体外试验与体内实验各有优缺点，体内实验被合理开发应用到各种高通量测试筛选方法中，以应对数量巨大的潜在危害化合物，以及动物体内测试的巨大开销和道德风险。但是体外实验无法完全模拟动物体内复杂的分布，吸收，代谢，排出过程以及其它因素的影响，因此无法得到体内测试般准确的结果，且这两个方法都耗时费力，无法应付数量日益增长的化学品。因此，亟需发展化学品内分泌干扰效应筛选的计算毒理学。

计算毒理学方法指通过综合体内、体外实验和计算机模拟等不同来源的数据，开发数学或计算机模型，以更好理解或预测化合物干扰效应的方法。传统的定量构效关系（QSAR）已被大量应用，并取得较好的效果。但是现实中的化合物结构相似，却有的具有活性有的没有活性，这使得单纯依赖结构来预测效应的传统 QSAR 方法无法预测活性的有无。而分子对接与分子动力学是模拟配体与受体结合成稳定复合体时两者的相互作用。通过两者相互作用这种方法来识别潜在的内分泌干扰物。

但是现有的分子对接只关注特定构象的对接情况。分子动力学方法也是运行有限时间的构象变化，且只关注于一类结构类似的化合物，在作用模式识别上也相对单一。例如王小享等将分子动力学应用于筛选核受体介导的内分泌干扰物，但是该方法仅对受体对接后的均方根偏差的波动情况进行判断，预测精度低。

综上所述，现有技术存在的问题是：

(1) 现有的体内体外筛选方法无法应付数量日益庞大的化学品。

(2) 现有的传统 QSAR 无法区分活性，而分子对接与分子动力学往往只关注化合物的某个特定构象和有限时间内的构象变化。

解决上述技术问题的难度和意义：

针对每一种环境有机污染物的拟/抗雄激素效应的生物实验筛查方法需要消耗大量时间和财力。目前已有的虚拟筛选方法存在无法预测活性有无（QSAR）或者只能预测一类物质的活性有无的问题。本发明的目的是基于分子动力学分析配体与受体之间的相互作用与能量变化，以及受体的变构效应来提供一种对于多种不同结构的化合物的拟/抗雄活性识别的方法。

## 发明内容

针对现有技术存在的问题，本发明提供了一种区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型及构建方法和应用。

本发明是这样实现的，一种区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型，所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型采用 SYBYL 的 Surflex-Dock 程序将配体对接到 AR 内。

本发明的另一目的在于提供一种所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的构建方法，所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的构建方法包括以下步骤：

步骤一，对接前对蛋白质进行预处理，添加氢原子，赋予电荷，对接时使用 Automatic 模式搜索结合口袋，阈值为 0.5，膨胀系数为 0，均为默认值 17；

步骤二，每个配体与受体对接时产生 20 个构象，以打分最高的结构作为最有可能的生物活性构象，并以构象作为 MD 模拟的初始构象。

本发明的另一目的在于提供一种应用所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法，所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法包括以下步骤：

步骤一，使用 SYBYL7.3 中的 Sketch Module 构建配体分子以及阳性对照的结构，对配体分子进行能量最小化，采用 Powell 方法进行优化，赋予 Gasteiger-Huckel 电荷，并使用 Tripos 标准分子力场，能量优化；Tripos 标准分子力场进行能量优化的能量收敛标准为  $0.001\text{kcal}/(\text{mol}\cdot\text{\AA})$ ，最大迭代次数为 1000 次。

步骤二，将雄激素受体序列导入 Swiss-Model 服务器，以激动状态的雄激素受体结构为模版同源模建，建立人源 AR 的激活构象；

步骤三，采用 SYBYL 的 Surflex-Dock 程序将配体对接到 AR 内，对接前对蛋白质进行预处理，添加氢原子，赋予电荷，每个配体与受体对接时产生 20 个构象，以打分最高的结构作为最有可能的生物活性构象，并将构象作为 MD 模拟的初始构象；

步骤四，MD 模拟采用 CHARMM27 力场，在复合体系周围加上 TIP3P 球形水分子层，复合物体系距离溶剂边缘为 1.5nm，加入氯离子以中和体系中的电

荷，复合体系使用最速下降法进行能量优化，能量优化在 40ps 内将温度从 0K 上升至 300K 对体系进行平衡，在一个大气压下保持 300K 平衡 1ns。之后进行分子动力学模拟，模拟进行 30ns，其中步长 2fs，每 2ps 保存一次。

综上所述，本发明的优点及积极效果为：

通过双氢睾酮（DHT）与羟基氟他胺（HFT）与 AR 的结合模式建立，并进一步用于新型溴代阻燃剂，发现在模拟结束后，拮抗剂结合的 H12 螺旋与其他结构之间的相符作用明显减弱，使得 H12 螺旋的稳定性下降，并导致 H12 螺旋与配体结合域的距离轻微增加，而激动剂则能维持 H12 的稳定性；通过这种方法可以对多种结构不相似的物质的激动以及拮抗进行初步的筛分。

本发明采用建构分子动力学模型的方法，分子动力学模拟是模拟分子体系的运动过程、计算系统的结构和性质，描述化合物于空间中的运动轨迹进而模拟分子微观行为的研究方法，可用于对分子对接体系的再度对接以及探索受体实际构象，避免了实验法中出现的问题。通过分子动力学方法模拟雄激素受体 H12 链与配体结合域的相互作用以及距离的变化来识别有机物的拟/抗雄激素受体性质。

## 附图说明

图 1 是本发明实施例提供的区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的构建方法流程图。

图 2 是本发明实施例提供的区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法流程图。

图 3 是本发明实施例提供的雄激素受体拮抗剂与激动剂区分的体系稳定性评估示意图。

图 4 是本发明实施例提供的雄激素受体拮抗剂与激动剂区分方法的配体 DHT, HFT, TBB, TBCO, TBPH, TBBPA 以及 BDE155 与 AR 相互作用的残基形式图。

图 5 是本发明实施例提供的雄激素受体拮抗剂与激动剂区分方法的模拟前

结合 DHT 的受体 H874 与 W741 以及 R871 与 H12 螺旋之间的距离示意图。

图 6 是本发明实施例提供的雄激素受体拮抗剂与激动剂区分方法的模拟后结合 DHT 的受体 H874 与 W741 以及 R871 与 H12 螺旋之间的距离示意图。

图 7 是本发明实施例提供的雄激素受体拮抗剂与激动剂区分方法的结合 HFT 的受体，R871 与 H12 螺旋之间的距离示意图。

图 8 是本发明实施例提供的雄激素受体拮抗剂与激动剂区分方法的结合能示意图。

## 具体实施方式

为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合实施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

环境中广泛存在环境类雄激素物质与抗雄激素物质，物质在环境中存在浓度微量，却能严重干扰环境中生物的内分泌功能，产生雌雄同体等现象。面对日益增多的潜在雄激素受体干扰物质，迫切需要发展一种快速筛选方法。本发明通过分子动力学模拟雄激素受体与一系列配体的结合过程来建立区分物质雄激素效应与抗雄激素效应的模型。

下面结合附图对本发明的应用原理作详细的描述。

本发明实施例提供的区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型采用 SYBYL 的 Surflex-Dock 程序将配体对接到 AR 内。

如图 1 所示，本发明实施例提供的区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的构建方法包括以下步骤：

S101：对接前对蛋白质进行预处理，添加氢原子，赋予电荷，对接时使用 Automatic 模式搜索结合口袋，阈值（threshold）为 0.5，膨胀系数（bloat）为 0，均为默认值 17；

S102：每个配体与受体对接时产生 20 个构像，以打分最高的结构作为最有

可能的生物活性构象，并以将该构象作为 MD 模拟的初始构象。

如图 2 所示，本发明实施例提供的区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法包括以下步骤：

S201：使用 SYBYL7.3 中的 Sketch Module 构建配体分子以及阳性对照的结构，对配体分子进行能量最小化，采用 Powell 方法进行优化，赋予 Gasteiger-Huckel 电荷，并使用 Tripos 标准分子力场，进行能量优化；

S202：人源 AR 受体序列来自 Uniprot。现有解析出来 AR 结构均是激活构象，缺乏 AR 的抑制结构，因此通过同源模建，建立人源 AR 的激活构象；

S203：采用 SYBYL 的 Surflex-Dock 程序将配体对接到 AR 内，对接前对蛋白质进行预处理，添加氢原子，赋予电荷，每个配体与受体对接时产生 20 个构象，以打分最高的结构作为最有可能的生物活性构象，并将该构象作为 MD 模拟的初始构象；

S204：MD 模拟通过 Gromacs5.1.2 软件包进行，采用 CHARMM27 力场，在复合体系周围加上 TIP3P 球形水分子层，复合物体系距离溶剂边缘为 1.5nm，加入氯离子以中和体系中的电荷，复合体系使用最速下降法进行能量优化，进行分子动力学模拟，模拟进行 30ns，其中步长 2fs，每 2ps 保存一次。

本发明实施例提供的配体分子为 TBB，TBCO，TBPH，TBBPA，BDE155，其中，TBB，TBCO，TBPH，TBBPA 在之前的文献报道中具有雄激素受体拮抗性质。

本发明实施例提供的 Tripos 标准分子力场进行能量优化的能量收敛标准为 0.001kcal/(mol·Å)，最大迭代次数为 1000 次。

本发明实施例提供的人源 AR 的激活构象是在 Swiss-model 平台上使用结合了 5 $\alpha$ -DHT 的 AR-LBD 作为模板构建人源 AR 激活构象的结构。

本发明实施例提供的对接时使用的 Automatic 模式搜索结合口袋，阈值为 0.5，膨胀系数为 0，均为默认值。

本发明实施例提供的复合体系使用的最速下降法进行能量优化即在 40ps 内

将温度从 0K 上升至 300K 对体系进行平衡,在一个大气压下保持 300K 平衡 1ns。

下面结合附图对本发明的应用效果做详细的描述。

如图 3-图 8 所示:

### 1、MMPBSA 能量计算

为了定量配体与受体之间的相互作用,计算了配体与受体之间的结合能。通过 mmpbsa 方法和配体与受体结合后产生轨迹文件来计算结合产生的自由能<sup>22</sup>。mmpbsa 计算自由能的公式如下:

$$\Delta G_{\text{binding}} = G_{\text{complex}} - (G_{\text{protein}} + G_{\text{ligand}});$$

上式中的  $\Delta G_{\text{complex}}$  是蛋白质-配体复合物总自由能,  $G_{\text{protein}}$  和  $G_{\text{ligand}}$  分别是溶剂中分离的蛋白质和配体的总能量。每个  $G_x$  可以通过下式来计算:

$$G_x = E_{\text{MM}} - TS + G_{\text{solvation}};$$

上式中的 EMM 是真空中平均分子力学势能, TS 表示熵的贡献, 其中 T 和 S 分别表示温度和熵,  $G_{\text{solvation}}$  是溶剂化的自由能。其中 EMM 包括键能, 静电相互作用, 范德华作用三块, 如下式所示:

$$E_{\text{MM}} = E_{\text{bonded}} + E_{\text{electrostatic}} + E_{\text{vdw}};$$

溶剂化自由能由两部分组成: 极性与非极性溶剂化自由能, 如下式所示:

$$G_{\text{solvation}} = G_{\text{polar}} + G_{\text{non-polar}};$$

其中  $G_{\text{non-polar}}$  基于溶剂可接触表面积 (SASA) 模型计算。

### 2、结果

#### 体系稳定性评估

模拟结束后,提取模拟前后的构象进行叠合比较,发现各个受体在模拟 30ns 后构象并未产生明显的变化。之后对所有体系的 H12 链以及配体分子的 RMSD 进行分析。可以看到所有体系均在 30ns 前达到平衡状态。所有体系在平衡后, H12 链的变动大小都接近 0.1nm, 但是 BDE-155 的 RMSD 变化接近于 0.15, 明显高于其他的配体,但是这并不能做出较好的区分。而由配体的 RMSD 可以看出,除了 TBCO 外,拮抗剂的配体的 RMSD 在 15ns 前无法达到平衡,或者在

平衡后 RMSD 高于 0.1nm。而激动剂在结合后均可较快的达到平衡，且平衡后 RMSD 小于 0.1nm。

#### 配体受体相互作用残基

从各个配体与 AR 相互作用的残基来看，与这几种物质相互作用的残基的保守性较差，无法通过识别与配体相互作用残基的形式来区分拮抗剂与激动剂。

#### H12 链氢键状态

在氟他胺以及恩扎鲁胺等抗雄激素药物出现耐药性是因为 AR 受体的残基序列出现突变造成的。进一步对于 AR 突变的研究得了 L701H, W741L, H874Y, T877A 以及 M895T 突变会造成这些氨基酸残基之间氢键网络的变化，从而导致氟他胺等拮抗类药物的抗药性。由此观察雄激素受体结合这几个配体之后，这些氨基酸残基之间相互作用的变化情况。

在模拟的前后，构象变化并不显著。在初始状态下，受体 H12 链的 C 端与 H11 链形成两个氢键。

在于 DHT 等激动剂结合后，在配体的作用下，W741 的亲水基团朝向 H874，两者的距离由原来的 3.9Å 缩小到 2.2Å，这同时带动 H874 周围的残基 R203，使其与 H12 螺旋之间的距离缩小，距离缩小到 2.2Å，维持了 H11 螺旋与 H12 螺旋之间的氢键。而与初始构象相比，H12 螺旋上的 M895 与 LBD 区域相互接近。

但是在拮抗剂（HFT 为例）结合的受体模拟 30ns 后，恰恰相反，W741 的疏水苯环部分朝向 H874，或者 W741 远离 H874，这使得 H874 远离 W741，H874 周围的残基 R871 远离 H12 链，距离增加到 5.8Å。H11 螺旋与 H12 螺旋之间的氢键消失。这说明拮抗剂结合后导致 H12 的结构出现更加不稳定的现象。同时与初始构象相比，H12 螺旋上的 M895 与 LBD 区域相互远离。

从结合能可以看出，结合拮抗剂后，H12 螺旋上的氨基酸的结合能明显小于和激动剂结合是的结合能。这说明结合拮抗剂后 H12 与 LBD 之间作用牢固程度下降，相比于激动剂结合的 AR 受体，H12 趋于不稳定的状态。

以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发

明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

## 权 利 要 求 书

1、一种区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型，其特征在于，所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型采用 SYBYL 的 Surflex-Dock 程序将配体对接到 AR 内。

2、一种如权利要求 1 所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的构建方法，其特征在于，所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的构建方法包括以下步骤：

步骤一，对接前对蛋白质进行预处理，添加氢原子，赋予电荷，对接时使用 Automatic 模式搜索结合口袋，阈值为 0.5，膨胀系数为 0，均为默认值；

步骤二，每个配体与受体对接时产生 20 个构像，以打分最高的结构作为最有可能的生物活性构象，并以该构像作为 MD 模拟的初始构象。

3、一种应用权利要求 1 所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的模型的区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法，其特征在于，所述区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法包括以下步骤：

步骤一，使用 SYBYL7.3 中的 Sketch Module 构建配体分子以及阳性对照的结构，对配体分子进行能量最小化，采用 Powell 方法进行优化，赋予 Gasteiger-Huckel 电荷，并使用 Tripos 标准分子力场，能量优化；

步骤二，通过同源模建，建立人源 AR 的激活构象；

步骤三，采用 SYBYL 的 Surflex-Dock 程序将配体对接到 AR 内，对接前对蛋白质进行预处理，添加氢原子，赋予电荷，每个配体与受体对接时产生 20 个构像，以打分最高的结构作为最有可能的生物活性构象，并将构像作为 MD 模拟的初始构象；

步骤四，MD 模拟采用 CHARMM27 力场，在复合体系周围加上 TIP3P 球形水分子层，复合物体系距离溶剂边缘为 1.5nm，加入氯离子以中和体系中的电荷，复合体系使用最速下降法进行能量优化，进行分子动力学模拟，模拟进行 30ns，其中步长 2fs，每 2ps 保存一次。

4、如权利要求 3 所述的区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法，其特征在

于, Tripos 标准分子力场进行能量优化的能量收敛标准为  $0.001\text{kcal}/(\text{mol}\cdot\text{\AA})$ , 最大迭代次数为 1000 次。

5、如权利要求 3 所述的区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法, 其特征在于, 能量优化在 40ps 内将温度从 0K 上升至 300K 对体系进行平衡, 在一个大气压下保持 300K 平衡 1ns。

6、如权利要求 3 所述的区分物质雄激素与抗雄激素效应的方法, 其特征在于, 模拟结果区分方式为以下步骤: 利用 mmpbsa 计算结合能, 并观察 H12 螺旋上氨基酸与配体结合域之间的距离。

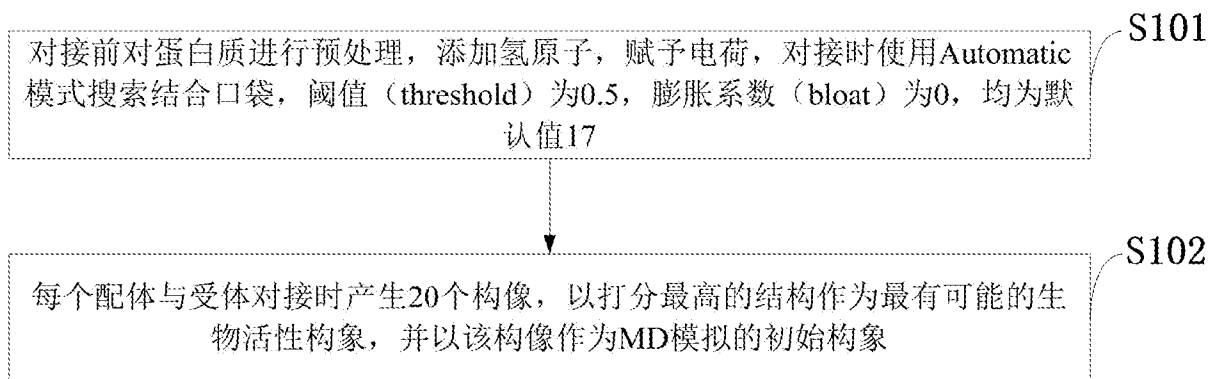


图 1

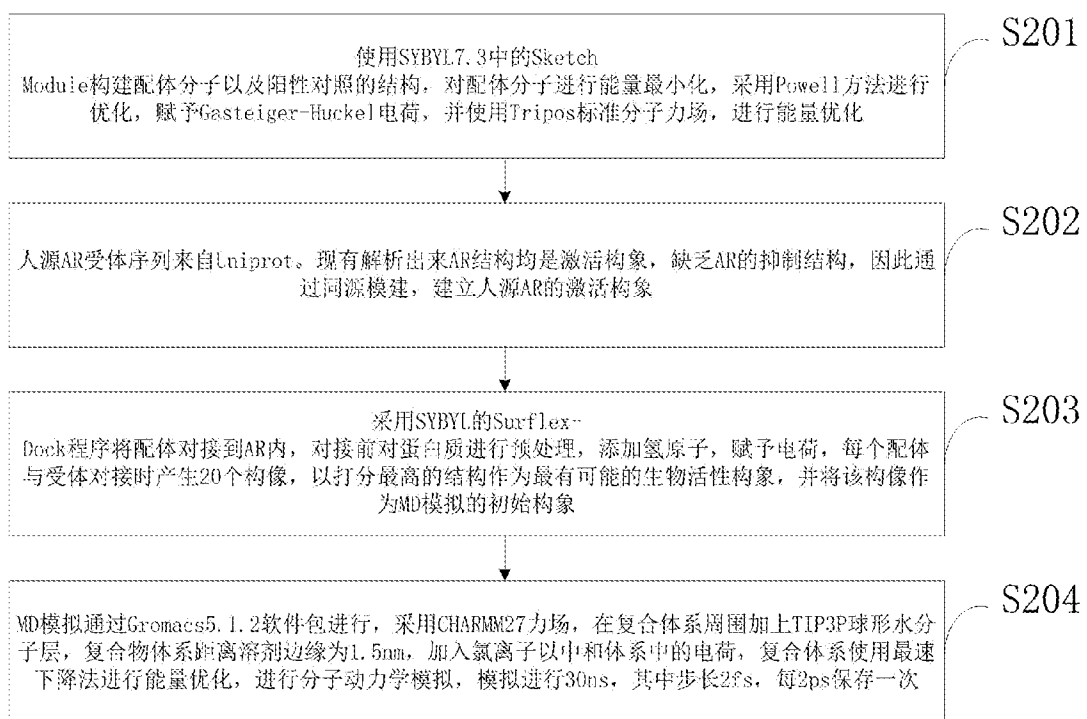
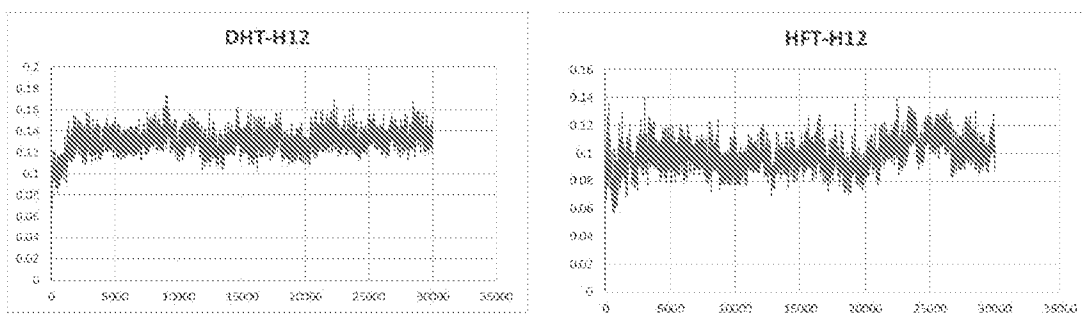
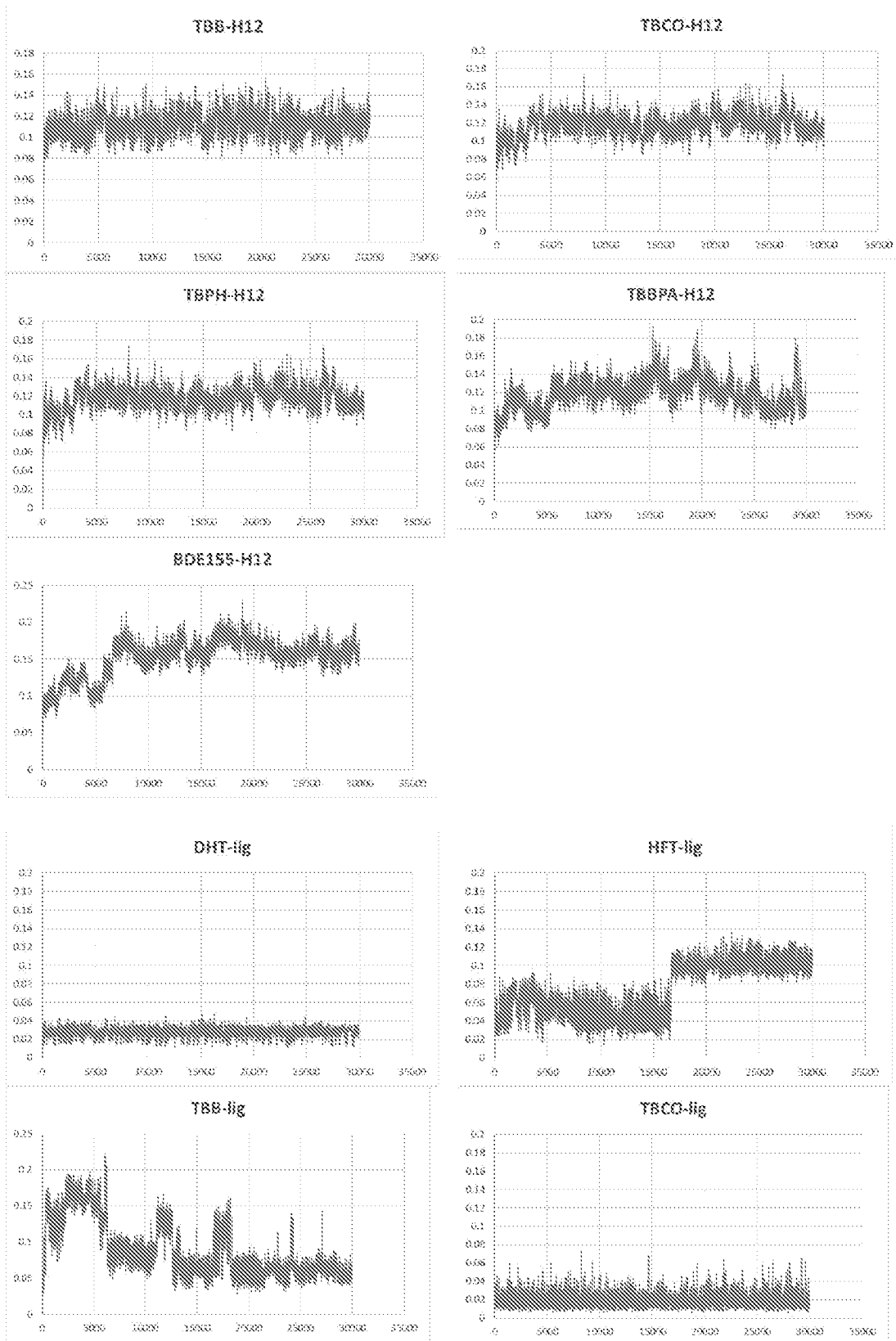


图 2





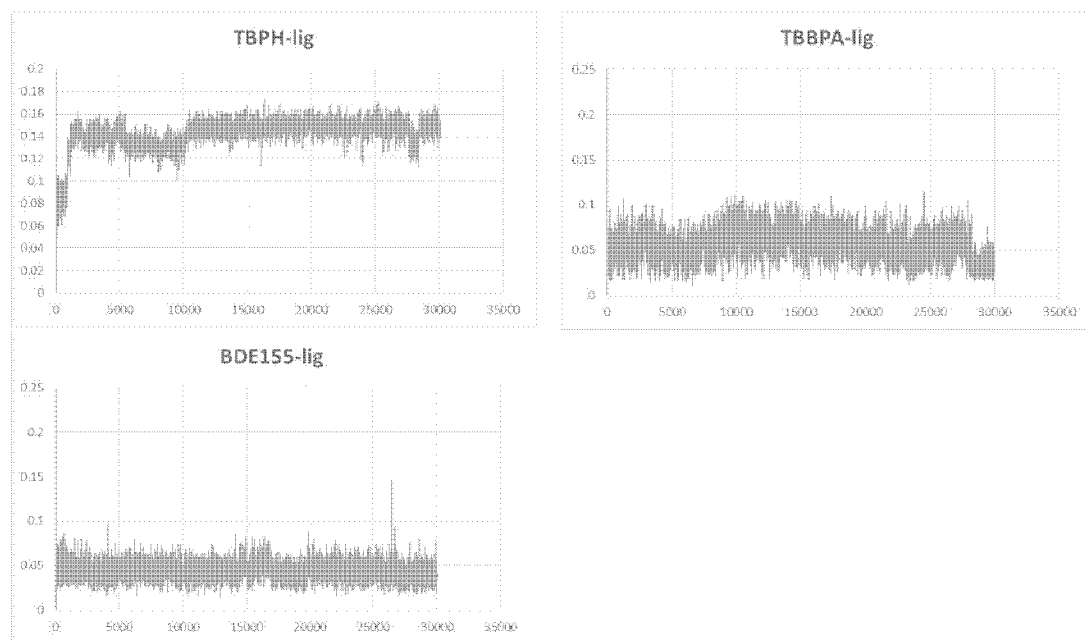
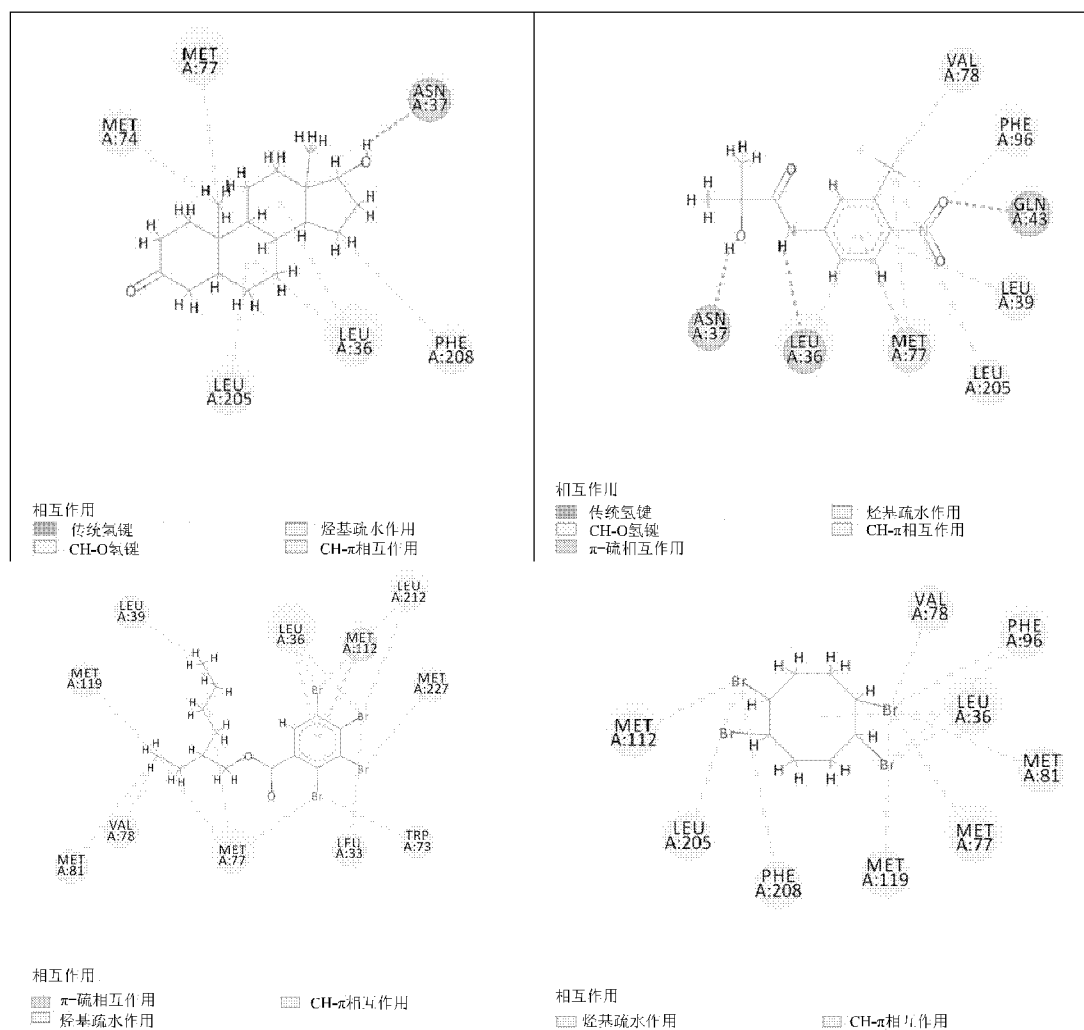


图 3



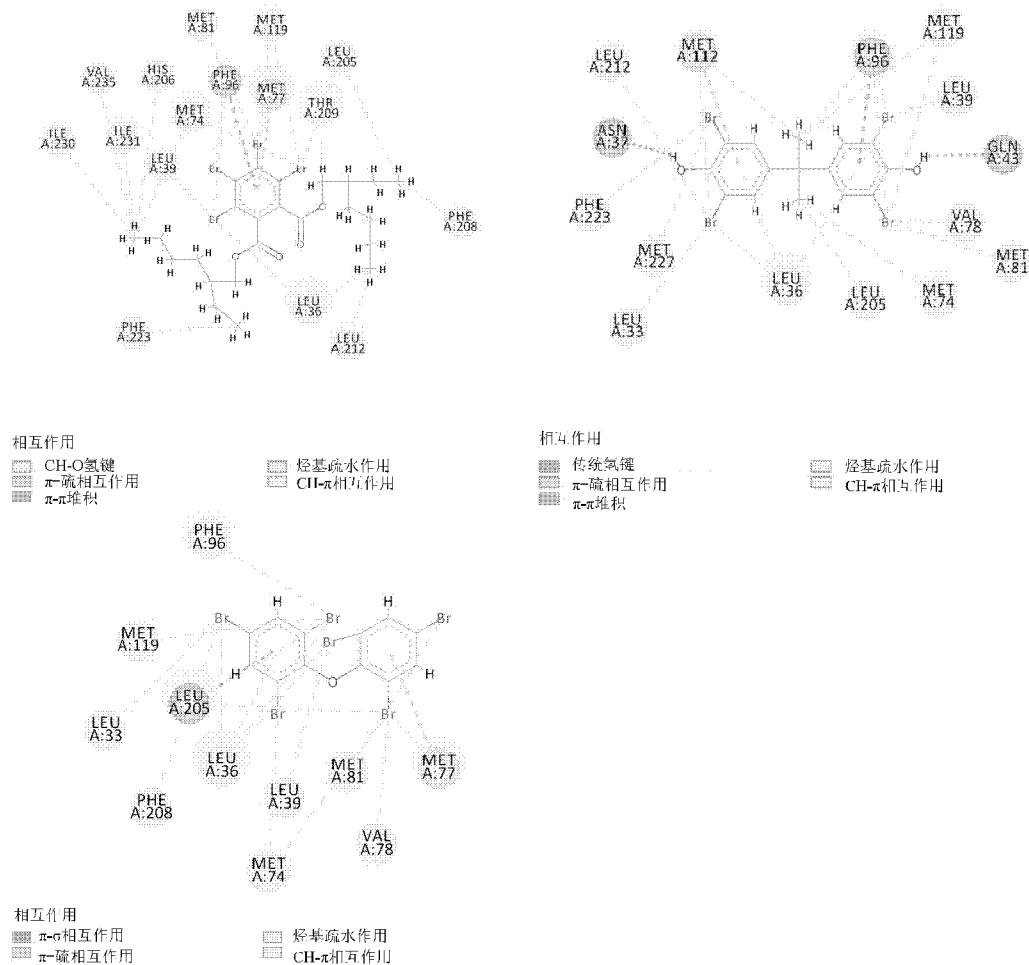


图 4

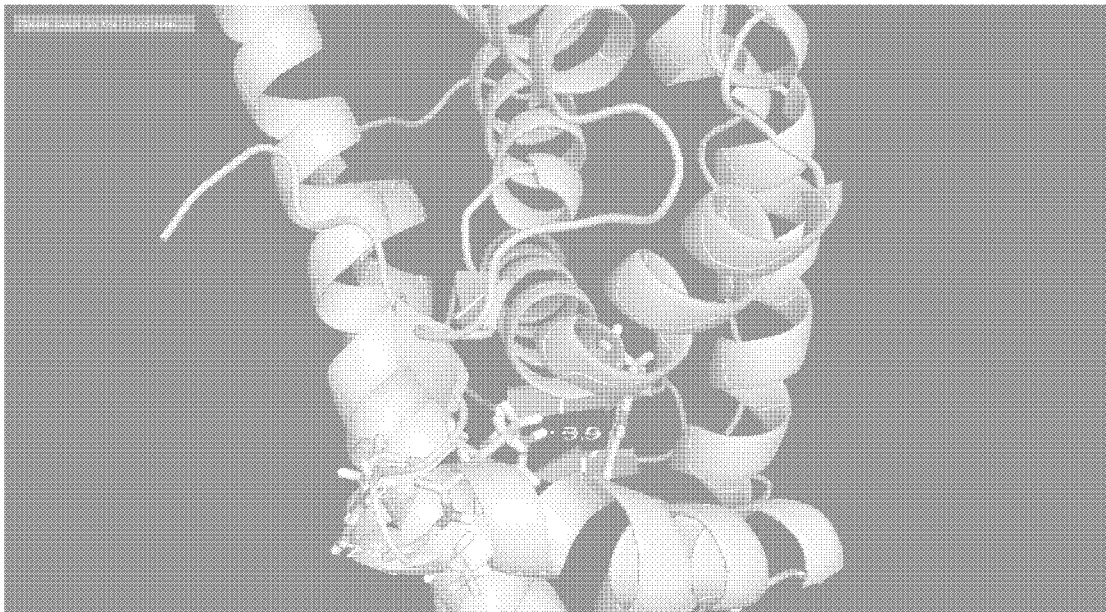


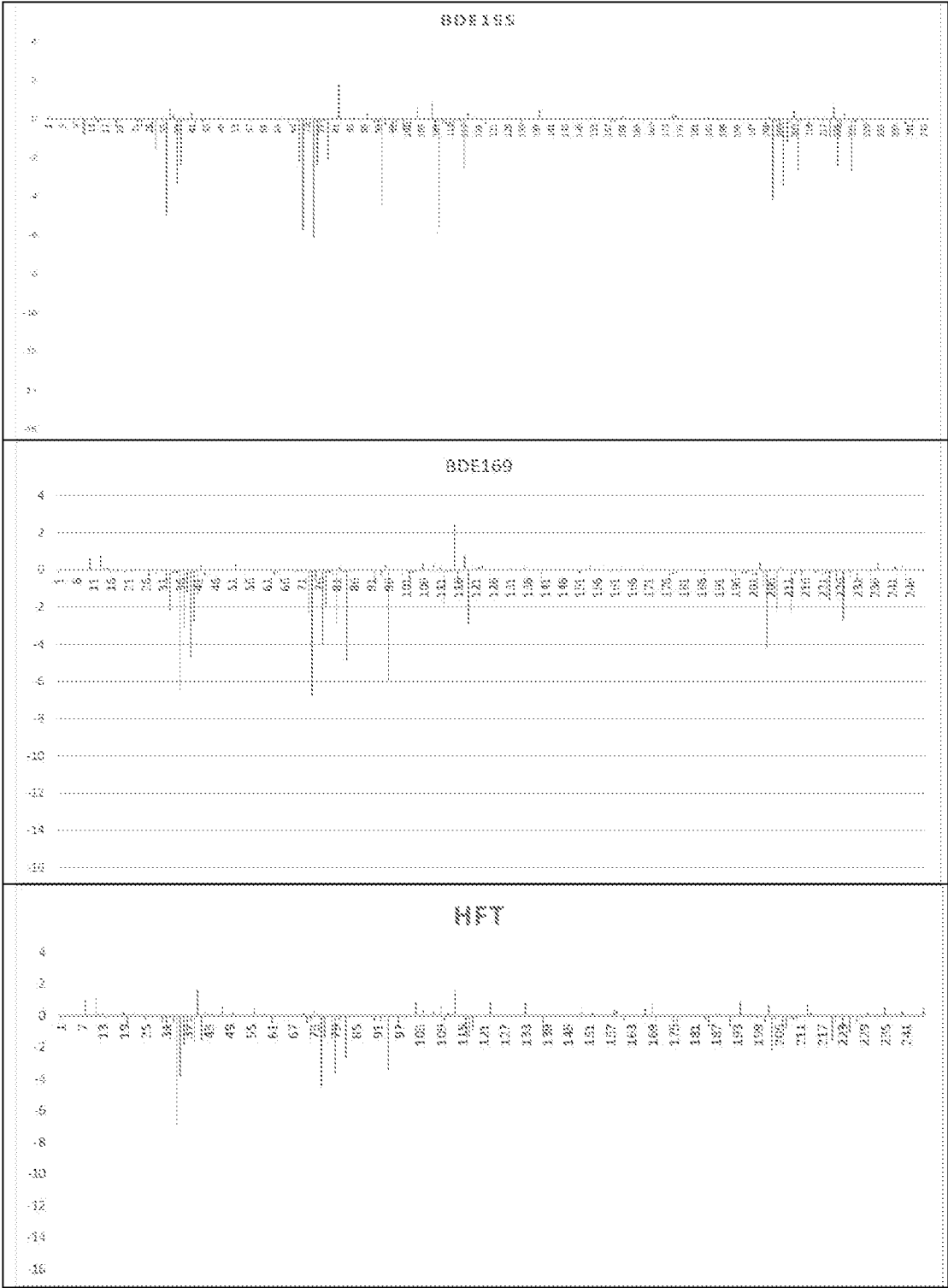
图 5

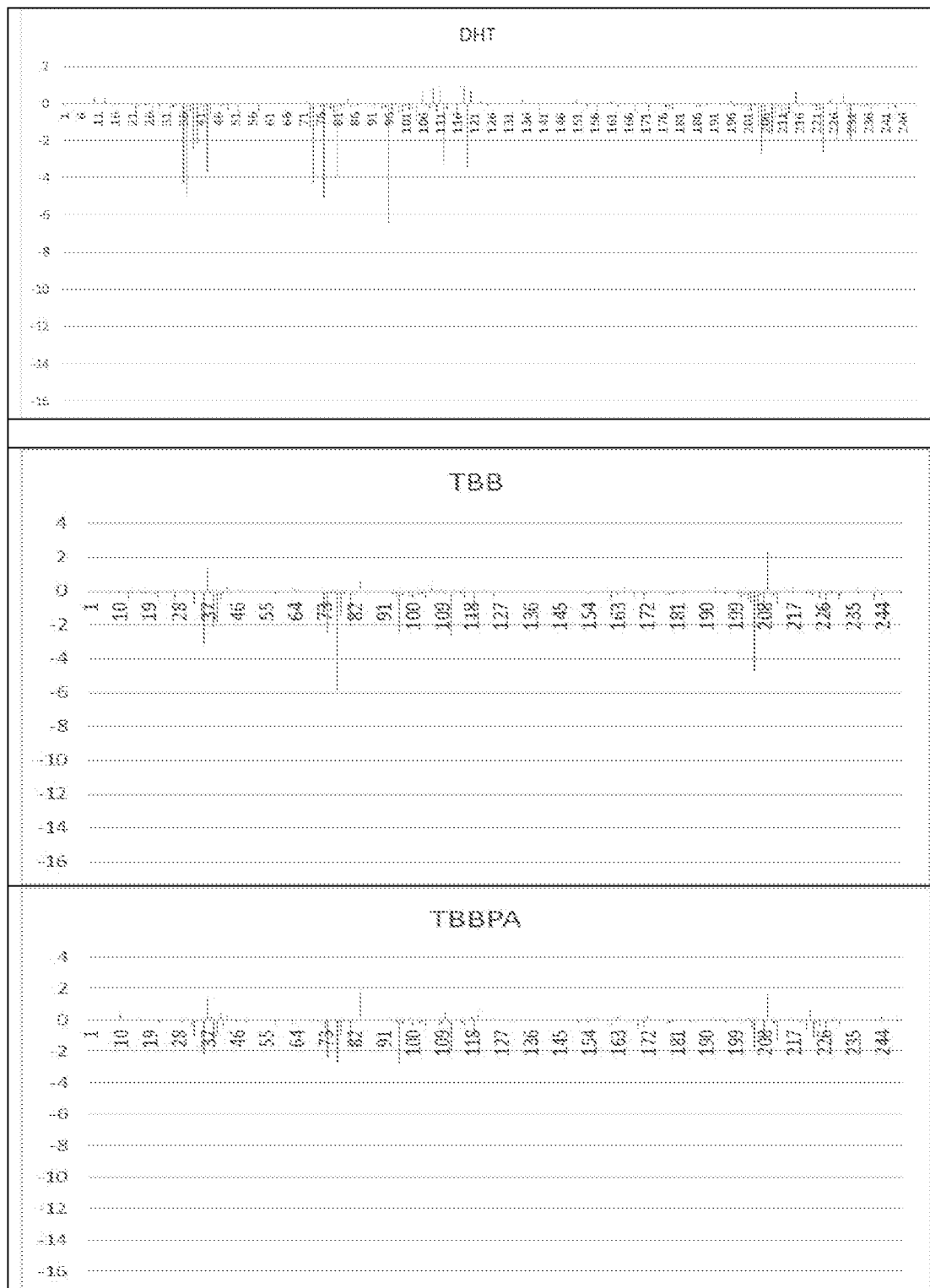


图 6



图 7





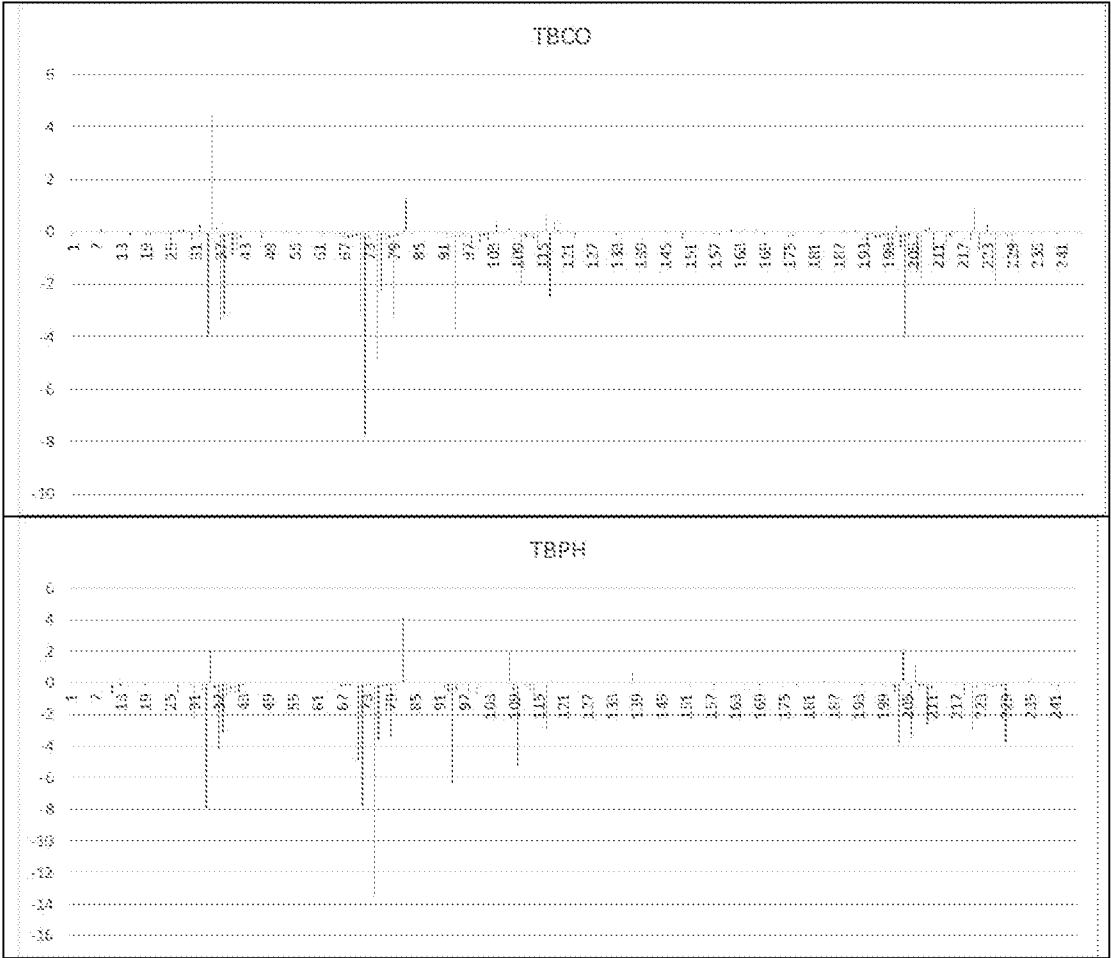


图 8

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/111676

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

G16B 5/00(2019.01)i; G16B 50/00(2019.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G16B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNKI, google, baidu, patentics, 万方, WANGFANG, 读秀, DUXIU, 南京大学, 刘红玲, 石来昊, 端粒, 端粒酶, 端粒酶抑制剂, 雄激素, 抗雄激素效应, 模型, Surflex-Dock程序, 配体, 对接, Automatic模式, 搜索结合口袋, 膨胀系数, 构像, 生物活性构象, MD模拟, 构象, Powell方法, Gasteiger-Huckel电荷, Tripos标准分子力场, 能量优化, 同源模建, 人源AR, 激活构象, CHARMM27力场, 复合体系, TIP3P球形水分子层, 复合体系, 分子动力学模拟, 步长, 能量收敛标准, 迭代次数, 结合能, H12螺旋, 双氢睾酮, 羟基氟他胺, 溴代阻燃剂, 拮抗剂, 稳定性, 激动剂, SYBYL, Surflex-Dock, Powell, Gasteiger-Huckel, Tripos, Sketch Module, CHARMM27, TIP3P, AR, mmpbsa, DHT, HFT, hong ling liu, lai hao shi.

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                  | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y         | CN 106407740 A (NANJING UNIVERSITY) 15 February 2017 (2017-02-15)<br>claims 1-6, and description, pages 1-5                                                                                                                                                                                                         | 1-6                   |
| Y         | 朱靖涵 等 (ZHU, Jinghan et al.). "p, p'-DDE与雄激素受体突变体H874Y及T877A激动性作用机制的理论研究. (Theoretical Investigation on Agonism Mechanism of p, p'-DDE via Interacting with Androgen Receptor Mutants H874Y and T877A)"<br><i>Asian Journal of Ecotoxicology</i> , Vol. 12, No. (3), 31 December 2017 (2017-12-31),<br>pages 214-224 | 1-6                   |
| A         | 吴建军 等 (WU, Jianjun et al.). "3-氨基酞苯甲酸类AKR1C3抑制剂的3D-QSAR和分子对接研究. (3D-QSAR and Molecular Docking Study of 3-Sulfamoylbenzoic Acid Derivatives as AKR1C3 Inhibitors)"<br><i>Chemistry</i> , Vol. vol. 78, 31 December 2015 (2015-12-31),<br>discourse w2015014, and pages 1-9                                          | 1-6                   |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 March 2019

Date of mailing of the international search report

05 May 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

State Intellectual Property Office of the P. R. China  
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing  
100088  
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/111676

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                     | Relevant to claim No. |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | GHALEB, A. et al. "3D-QSAR Modeling and Molecular Docking Studies on a Series of 1, 2, 4 Triazole Containing Diarylpyrazolyl Carboxamide as CB1 Cannabinoid Receptor Ligand." <i>International Research Journal of Pure &amp; Applied Chemistry</i> , Vol. 15, No. (2), 06 December 2017 (2017-12-06), paper, discourse no.IRJAC.37695, and pages 1-13 | 1-6                   |
| A         | LUNIWAL, A. et al. "Molecular Docking and Enzymatic Evaluation to Identify Selective Inhibitors of Aspartate Semialdehyde Dehydrogenase." <i>Bioorganic &amp; Medicinal Chemistry</i> , Vol. 20, No. (9), 01 May 2012 (2012-05-01), pages 1-19                                                                                                         | 1-6                   |
| A         | HAO, Ming et al. "In Silico Identification of Structure Requirement for Novel Thiazole and Oxazole Derivatives as Potent Fructose 1, 6-Bisphosphatase Inhibitors." <i>International Journal of Molecular Sciences</i> , Vol. vol. 12, 18 November 2011 (2011-11-18), pages 8161-8180                                                                   | 1-6                   |
| A         | KASHYAP, M.P. et al. "4-Hydroxy-trans-2-nonenal (4-HNE) Induces Neuronal SH-SY5Y Cell Death via Hampering ATP Binding at Kinase Domain of Akt1." <i>Arch Toxicol</i> , Vol. vol. 89, 14 May 2014 (2014-05-14), pages 243-258                                                                                                                           | 1-6                   |
| A         | US 2011/0269938 A1 (COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANISATION) 03 November 2011 (2011-11-03)<br>entire document                                                                                                                                                                                                                     | 1-6                   |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2018/111676**

| Patent document<br>cited in search report |              |    | Publication date<br>(day/month/year) | Patent family member(s) |            |    | Publication date<br>(day/month/year) |
|-------------------------------------------|--------------|----|--------------------------------------|-------------------------|------------|----|--------------------------------------|
| CN                                        | 106407740    | A  | 15 February 2017                     | None                    |            |    |                                      |
| US                                        | 2011/0269938 | A1 | 03 November 2011                     | EP                      | 2344545    | A4 | 03 October 2012                      |
|                                           |              |    |                                      | US                      | 2014039155 | A1 | 06 February 2014                     |
|                                           |              |    |                                      | WO                      | 2010040175 | A1 | 15 April 2010                        |
|                                           |              |    |                                      | US                      | 8524863    | B2 | 03 September 2013                    |
|                                           |              |    |                                      | AU                      | 2009301631 | A1 | 15 April 2010                        |
|                                           |              |    |                                      | EP                      | 2344545    | A1 | 20 July 2011                         |

## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/111676

## A. 主题的分类

G16B 5/00(2019.01)i; G16B 50/00(2019.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

G16B

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNKI, google, baidu, patentics, 万方, 读秀, 南京大学, 刘红玲, 石来昊, 端粒, 端粒酶, 端粒酶抑制剂, 雄激素, 抗雄激素效应, 模型, Surflex-Dock程序, 配体, 对接, Automatic模式, 搜索结合口袋, 膨胀系数, 构像, 生物活性构象, MD模拟, 构象, Powell方法, Gasteiger-Huckel电荷, Tripos标准分子力场, 能量优化, 同源模建, 人源AR, 激活构象, CHARMM27力场, 复合体系, TIP3P球形水分子层, 复合物体系, 分子动力学模拟, 步长, 能量收敛标准, 迭代次数, 结合能, H12螺旋, 双氢睾酮, 羟基氟他胺, 溴代阻燃剂, 拮抗剂, 稳定性, 激动剂, SYBYL, Surflex-Dock, Powell, Gasteiger-Huckel, Tripos, Sketch Module, CHARMM27, TIP3P, AR, mmpbsa, DHT, HFT, hong ling liu, lai hao shi。

## C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落                                                                                                       | 相关的权利要求 |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Y    | CN 106407740 A (南京大学) 2017年 2月 15日 (2017 - 02 - 15)<br>权利要求第1-6项, 说明书第1-5页                                              | 1-6     |
| Y    | 朱婧涵 等. "p, p' -DDE与雄激素受体突变体H874Y及T877A激动性作用机制的理论研究."<br>生态毒理学报, 第12卷, 第3期, 2017年 12月 31日 (2017 - 12 - 31),<br>第214-224页 | 1-6     |
| A    | 吴建军 等. "3-氨基磺酰苯甲酸类AKR1C3抑制剂的3D-QSAR和分子对接研究."<br>化学通报, 第78卷, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31),<br>第w2015014篇, 第1-9页        | 1-6     |

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&amp;” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2019年 3月 15日

国际检索报告邮寄日期

2019年 5月 5日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局 (ISA/CN)  
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

朱宁

电话号码 86-(10)-53961956

## C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 相关的权利要求 |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| A    | GHaleb, A. 等. "3D-QSAR Modeling and Molecular Docking Studies on a Series of 1, 2, 4 Triazole Containing Diarylpyrazolyl Carboxamide as CB1 Cannabinoid Receptor Ligand."<br>International Research Journal of Pure & Applied Chemistry, 第15卷, 第2期, 2017年 12月 6日 (2017 - 12 - 06), 论文no. IRJPAC. 37695篇, 第1-13页 | 1-6     |
| A    | LUNIWAL, A. 等. "Molecular docking and enzymatic evaluation to identify selective inhibitors of aspartate semialdehyde dehydrogenase."<br>Bioorg Med Chem., 第20卷, 第9期, 2012年 5月 1日 (2012 - 05 - 01), 第1-19页                                                                                                      | 1-6     |
| A    | HAO, M. 等. "In Silico Identification of Structure Requirement for Novel Thiazole and Oxazole Derivatives as Potent Fructose 1, 6-Bisphosphatase Inhibitors."<br>Int. J. Mol. Sci., 第12卷, 2011年 11月 18日 (2011 - 11 - 18), 第8161-8180页                                                                            | 1-6     |
| A    | KASHYAP, M. P. 等. "4-Hydroxy-trans-2-nonenal (4-HNE) induces neuronal SH-SY5Y cell death via hampering ATP binding at kinase domain of Akt1."<br>Arch Toxicol, 第89卷, 2014年 5月 14日 (2014 - 05 - 14), 第243-258页                                                                                                   | 1-6     |
| A    | US 2011/0269938 A1 (COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANISATION) 2011年 11月 3日 (2011 - 11 - 03)<br>全文                                                                                                                                                                                           | 1-6     |

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/111676

| 检索报告引用的专利文件 |              |    | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 |            |    | 公布日<br>(年/月/日) |
|-------------|--------------|----|----------------|------|------------|----|----------------|
| CN          | 106407740    | A  | 2017年 2月 15日   | 无    |            |    |                |
| US          | 2011/0269938 | A1 | 2011年 11月 3日   | EP   | 2344545    | A4 | 2012年 10月 3日   |
|             |              |    |                | US   | 2014039155 | A1 | 2014年 2月 6日    |
|             |              |    |                | WO   | 2010040175 | A1 | 2010年 4月 15日   |
|             |              |    |                | US   | 8524863    | B2 | 2013年 9月 3日    |
|             |              |    |                | AU   | 2009301631 | A1 | 2010年 4月 15日   |
|             |              |    |                | EP   | 2344545    | A1 | 2011年 7月 20日   |

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)