

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20240322002

陈欢, 何家乐, 肖子君, 等. 分子动力学模拟揭示 PFAS 诱导 PPAR α 激活的分子机制[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(3): 1-8

Chen H, He J L, Xiao Z J, et al. Molecular dynamics simulation reveals the molecular mechanism of PFAS-induced PPAR α activation [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2024, 19(3): 1-8 (in Chinese)

分子动力学模拟揭示 PFAS 诱导 PPAR α 激活的分子机制

陈欢, 何家乐, 肖子君, 苏利浩, 陈景文*

工业生态与环境工程教育部重点实验室, 大连市化学品风险防控及污染防治技术重点实验室, 大连理工大学环境学院, 大连 116024

收稿日期: 2024-03-22 录用日期: 2024-05-18

摘要: 全/多氟烷基化合物(PFAS)可通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)诱导肝毒性,然而 PFAS 与 PPAR α 相互作用的分子机制尚不清晰。本研究基于高斯加速分子动力学(GaMD)和分子力学-广义波恩表面积法(MM-GBSA),计算了 7 种传统和新型 PFAS 与 PPAR α 的结合自由能(ΔG_{bind}),结果发现 ΔG_{bind} 与 PFAS 激活 PPAR α 的半数效应浓度的对数值(logEC₅₀)之间存在显著的相关性($r=0.82$, $P<0.05$)。此外,氟化碳原子的数量与 ΔG_{bind} 正相关,且含羧基的 PFAS 的 ΔG_{bind} 通常比含磺酸基的 PFAS 更低。通过分析结构稳定性、氢键分布和配体-残基接触,揭示了 PFAS 的激活活性与其在 PPAR α 口袋内的结合模式直接相关。活性较强的 PFAS,优先结合到由螺旋(H) H3, H7, H11 和 H12 组成的口袋中,与 ILE354, HIS440 和 CYS276 等关键残基形成相互作用。结果有助于筛选具有 PPAR α 激活效应的 PFAS,支持 PFAS 类化学品的毒性效应评估。

关键词: 全/多氟烷基化合物;过氧化物酶体增殖物激活受体 α ;肝毒性;分子动力学

文章编号: 1673-5897(2024)3-001-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Molecular Dynamics Simulation Reveals the Molecular Mechanism of PFAS-induced PPAR α Activation

Chen Huan, He Jiale, Xiao Zijun, Su Lihao, Chen Jingwen*

Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering (Ministry of Education), Dalian Key Laboratory on Chemicals Risk Control and Pollution Prevention Technology, School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China

Received 22 March 2024 accepted 18 May 2024

Abstract: Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) could induce hepatotoxicity through the activation of peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α). However, the molecular mechanism of PFAS-induced PPAR α activation remains unclear. This study calculated the binding free energy (ΔG_{bind}) of seven legacy and emerging PFASs with PPAR α based on Gaussian accelerated molecular dynamics (GaMD) and molecular mechanics-generalized Born surface area (MM-GBSA). The results indicated a significant correlation ($r=0.82$, $P<0.05$) between ΔG_{bind} and the logarithmic value of half maximal effective concentration (logEC₅₀) of PFAS activating PPAR α . Additionally, the number of fluorocarbon atoms positively correlated with ΔG_{bind} , and PFAS containing carboxyl groups generally

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(22136001);国家重点研发计划项目(2022YFC3902100)

第一作者: 陈欢(1998—),男,硕士研究生,研究方向为计算毒理学, E-mail: huan_chen98@mail.dlut.edu.cn

* 通信作者(Corresponding author), E-mail: jwchen@dlut.edu.cn

had a lower ΔG_{bind} compared to those containing sulfonate groups. The activation activity of PFAS towards PPAR α was found to be directly associated with their binding patterns within the PPAR α ligand-binding pocket, as revealed through the analysis of structural stability, hydrogen bond distribution and ligand-residue contacts. PFAS with stronger activities were observed to preferentially bind within the pocket composed of H3, H7, H11 and H12, interacting with key residues such as ILE354, HIS440 and CYS276. These results contribute to the screening of PFAS with PPAR α activation effect, and support the evaluation of toxic effects of PFAS.

Keywords: per- and polyfluoroalkyl substances; peroxisome proliferator-activated receptor α ; hepatotoxicity; molecular dynamics

全/多氟烷基化合物(PFAS)是一类备受关注的化学品,被广泛应用在工业产品中^[1]。PFAS 具有高持久性和高生物蓄积性,在各种环境介质、野生动物以及人类血清中被检出^[2-3]。长期暴露于 PFAS 会导致肝毒性^[4],其背后的重要机制是 PFAS 诱导过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)激活^[5-7]。

PPAR α 是一种由配体激活的核转录因子,参与调控肝脏中的脂肪酸氧化代谢途径,在脂质和能量代谢中起关键作用^[8]。尽管传统实验方法能够测定 PFAS 对 PPAR α 的激活活性,但 PFAS 种类繁多,对其逐一测试的成本高且效率低。近期有研究通过机器学习模型预测 PFAS 与 PPAR α 的结合亲和力^[9],但模型预测结果与实验数据的相关性较低($r=0.42$),且难以从分子层面上解释 PFAS 与 PPAR α 相互作用的分子机制,影响筛选具有潜在 PPAR α 激活活性的 PFAS。分子动力学(MD)模拟可准确定量配体和受体的结合亲和力,提供实验难以观测的结合模式和构象变化^[10-12]。

本研究基于高斯加速分子动力学(GaMD),对 7 种传统和新型 PFAS 进行微秒级的全原子 MD 模拟,揭示了实验观测与计算的结合自由能(ΔG_{bind})之间存在相关性,阐明了 PFAS 诱导 PPAR α 激活的分子机制,可为 PFAS 类化学品的毒性效应评估提供支持。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 结构准备与分子对接

从蛋白质数据库(RCSB PDB, <https://www.rcsb.org/>)获得了分辨率为 2.50 Å(0.25 nm)的人 PPAR α 的晶体结构(PDB ID: 3ET1, Chain B),配体小分子的基本信息见表 1。PFAS 半数效应浓度值(EC_{50})来自体外荧光素酶报告基因实验,该数据表征 PFAS 对人 PPAR α 的激活活性^[13-14]。配体结构源自 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)。使用 AutodockTools (v1.5.6)对蛋白质和小分子进行预处理, Autodock Vina (v1.1.2)进行半柔性分子对接,

每次对接生成 10 个构象。为确保对接结果的一致性,进行 3 次重复对接。选择预测的 ΔG_{bind} 最低的构象作为后续模拟的初始构象。

1.2 MD 模拟

使用 AMBER 20 软件包进行 MD 模拟^[15]。使用 AmberTools 创建复合物的拓扑结构和参数,蛋白质力场使用 FF14SB^[16],小分子力场使用 GAFF2^[17],使用 AM1-BCC 方法拟合电荷^[18]。将蛋白质-配体复合物置于距离表面至少 10 Å(1.0 nm)的长方体的水盒中,添加 Na⁺ 和 Cl⁻ 使体系达到电中性并维持 150 mmol·L⁻¹ 的生理浓度。首先进行 2 500 步的最速下降和 2 500 步的共轭梯度下降,以实现体系结构的初弛豫。能量最小化后,在正则系综(NVT)下进行平衡,对蛋白质施加约束,并在 500 ps 完成体系的升温和平衡。在等温等压(NPT)下,使用图形处理单元(GPU)进行常规 MD 模拟^[19],步长设置为 2 fs。SHAKE 算法用于约束包含氢原子的共价键^[20],模拟采用周期性边界条件,非键相互作用截断值为 10 Å(1.0 nm),采用粒子网格埃瓦尔德方法(PME)计算长程静电相互作用^[21]。

1.3 高斯加速分子动力学(GaMD)

在大生物分子系统中,构象变化通常发生在微秒甚至是毫秒时间尺度上,常规 MD 模拟难以跨越势能的极小值。为克服常规 MD 模拟的限制,使用了 GaMD 方法,这是一种无约束的增强采样方法^[22]。当体系的势能 $V(r)$ 低于截止值(E)时,对系统势能添加一个提升势 $\Delta V(r)$,使得体系更容易克服能垒,从而加速采样:

$$V^*(r) = V(r) + \Delta V(r)$$

$$\Delta V(r) = \begin{cases} \frac{1}{2} k(E - V(r))^2, & V(r) < E \\ 0, & V(r) \geq E \end{cases}$$

其中: $V(r)$ 是系统的总势能(kcal·mol⁻¹), $\Delta V(r)$ 是提升势(kcal·mol⁻¹), $V^*(r)$ 是系统被提升后的总势能

($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), $r = (r_1, r_2, \dots, r_n)$ 是系统中 n 个原子的坐标, k 是力常数($\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$), E 是截止值($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)。

GaMD 模拟通过 AMBER 20 使用 GPU 实现, 采用双重提升方法(应用提升势到二面角势能项和总势能项), 并通过两段预模拟收集和更新 GaMD 所需的参数, 最后对所有体系进行 1 000 ns 的模拟。

1.4 MD 模拟分析

CPPTRAJ 模块进行 MD 轨迹的后处理和分

析^[23]。计算受体蛋白 α -碳原子(α -C)的均方根偏差(D_{RMS}), 定量蛋白整体结构的稳定性。计算受体蛋白氨基酸残基的均方根波动(F_{RMS}), 定量蛋白局部结构的灵活性。计算配体与蛋白形成氢键的频率, 定量氢键的分布特征。如果残基和配体的任何 2 个重原子, 在至少 75% 的模拟时间内落在 $4.5 \text{ \AA}$ (0.45 nm) 距离以内, 则认为两者之间建立稳定接触^[24]。使用 Python 脚本计算所有体系中的稳定接触(接触频率

表 1 配体小分子的基本信息

Table 1 Overview of the ligand molecules

名称 Name	类别 Category	分子式 Molecular formula	结构式 Constitutional formula	半数效应浓度 /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) $\text{EC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
全氟壬酸 PFNA	全氟烷基羧酸 Perfluoroalkyl carboxylic acid	$\text{C}_9\text{HF}_{17}\text{O}_2$		9.6 ^[13]
全氟辛酸 PFOA		$\text{C}_8\text{HF}_{15}\text{O}_2$		9.5 ^[13]
全氟庚酸 PFHpA		$\text{C}_7\text{HF}_{13}\text{O}_2$		45.0 ^[13]
六氟环氧丙烷-二聚酸 GenX	全氟烷基醚羧酸 Perfluoroalkyl ether carboxylic acids	$\text{C}_6\text{HF}_{11}\text{O}_3$		2.1 ^[13]
全氟辛烷磺酸 PFOS	全氟烷基磺酸 Perfluorosulfonic acid	$\text{C}_8\text{HF}_{17}\text{O}_3\text{S}$		24.0 ^[13]
全氟己烷磺酸 PFHxS		$\text{C}_6\text{HF}_{13}\text{O}_3\text{S}$		61.0 ^[13]
Nafion 副产物 2 NPB2	多氟烷基醚磺酸 Polyfluoroalkyl ether sulfonic acid	$\text{C}_7\text{H}_2\text{F}_{14}\text{O}_5\text{S}$		24.0 ^[13]
GW7647	药物 Drug	$\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$		6.0×10^{-3} ^[14]
WY14643		$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$		5.0 ^[14]

≥75%), 并采用最小方差法进行分层聚类^[25]。

1.5 结合自由能计算

基于分子力学-广义波恩表面积法(MM-GBSA)计算 ΔG_{bind} ^[26], 该方法已被证实在计算 PFAS 与核受体之间 ΔG_{bind} 的准确性^[27], 可用下述公式表示:

$$\Delta G_{\text{bind}} = G_{\text{complex}} - G_{\text{receptor}} - G_{\text{ligand}} = \Delta E_{\text{vdw}} + \Delta E_{\text{ele}} + \Delta G_{\text{GB}} + \Delta G_{\text{SA}} - T\Delta S$$

其中: G_{complex} , G_{receptor} 和 G_{ligand} 分别代表复合物、受体和配体的结合自由能; ΔE_{ele} 和 ΔE_{vdw} 分别表示气相中的静电作用能和范德华作用能; ΔG_{GB} 和 ΔG_{SA} 表示极性和非极性溶剂化自由能; $-T\Delta S$ 是配体结合时的构象熵的变化。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 分子对接结果

各复合物的最佳构象的关键特征如图 1 所示。PFAS 与 PPAR α 结合的关键残基包括: PHE218, MET220, SER280, THR283, THR334 和 TYR464。结果表明, PFOA, PFOS, PFHpA 和 PFHxS 具有类似的结合特征, 其氟化碳链与 PHE218 和 MET220 残基形成疏水作用。GenX 和 PFNA 则展现出与活性化合物 ET1 类似的氢键结合特征, 与 TYR464 和 SER280 形成氢键。有研究表明这种特征有助于稳定 H12 结构, 促进共激活因子的结合^[28]。

2.2 MM-GBSA 计算结合自由能

基于 MM-GBSA 计算的 ΔG_{bind} 与实验测定的

$\log EC_{50}$ 的相关关系如图 2 所示。 $\log EC_{50}$ 与 ΔG_{bind} 存在显著的相关性($r=0.82$, $P<0.05$), 表明 ΔG_{bind} 是预测 PFAS 活性的重要因子。体外实验结果也支持 PPAR α 的活性与 PFAS 的结合亲和力相关^[29]。因此, MM-GBSA 计算的 ΔG_{bind} 为筛选具有 PPAR α 激活效应的 PFAS 提供了一种有效的方法。对于直链 PFAS, 氟化碳原子的数量与其结合亲和力正相关, 这与 Ishibashi 等^[30]的实验结果相同。含有支链和醚键结构的 PFAS (GenX 和 NPB2) 与 PPAR α 的结合能力高于大部分 PFAS。分子对接结果表明(图 1), 这 2 种 PFAS 在 PPAR α 结合口袋中与残基形成了更多的氢键和疏水相互作用。此外, 全氟羧酸(PFCA)的 ΔG_{bind} 普遍低于全氟磺酸(PFSA), 以往实验中也观察到 PFCA 比 PFSA 具有更强的激活活性^[13]。

2.3 结构稳定性分析

不同 PFAS-PPAR α 体系中受体蛋白 α -C 的 D_{RMS} 如图 3 所示。激活活性最强的 3 种 PFAS (GenX, PFOA 和 PFNA, $EC_{50} < 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 体系能够迅速达到平衡状态。相较于未结合配体蛋白体系, 这些 PFAS 体系的 D_{RMS} 在整个模拟时间内变化较小(其 D_{RMS} 的标准偏差分别为 0.15, 0.15 和 0.19), 表明与具有较强激活活性的 PFAS 结合后促进了 PPAR α 整体结构的稳定性。相反, 活性最弱的 2 种 PFAS (PFHxS 和 PFHpA, $EC_{50} > 40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 体系在整个模拟时间内的 D_{RMS} 的波动较大(其 D_{RMS} 的标准偏差分别为 0.25 和 0.26), 表明主链骨架在 PFHxS 和

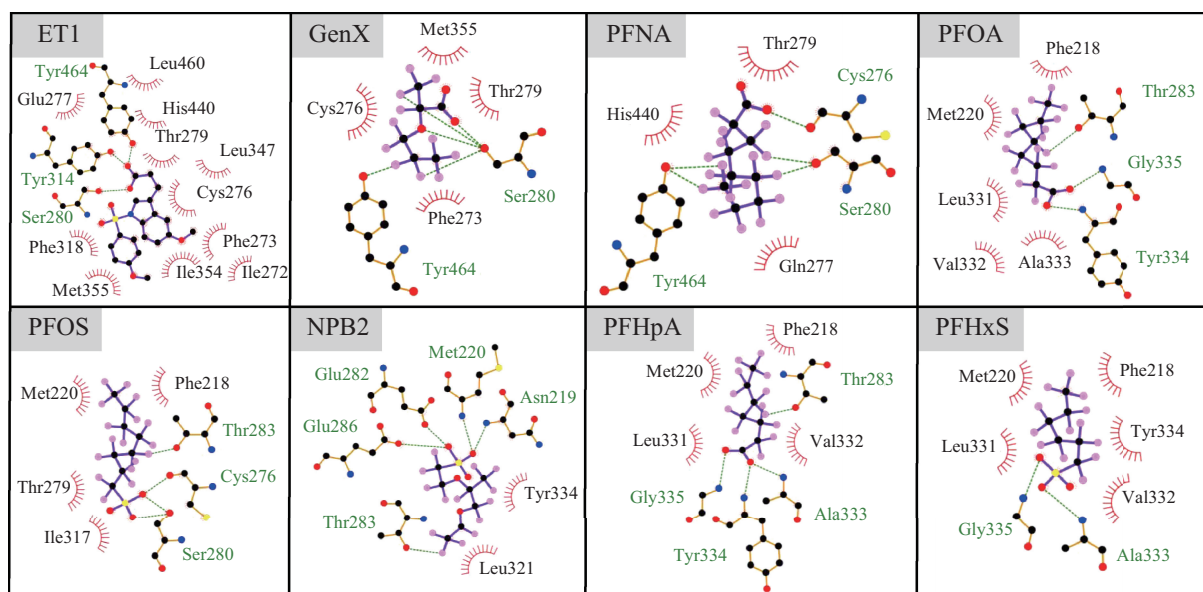


图 1 PFAS 与 PPAR α 的分子对接结果 (ET1 为实验结构)

Fig. 1 Molecular docking results of PFAS and PPAR α (ET1 is the experimental structure)

PFHpA 的影响下持续发生迁移。以上说明 PFAS 的激活活性会影响与其结合的 PPAR α 结构稳定性。

2.4 氢键分布分析

不同配体与 PPAR α 的氢键分布如图 4 所示。结果表明,关键的氢键相互作用主要发生在 THR279, SER280, ILE354 和 HIS440 等残基中。整体上,配体的激活活性强弱与其能够形成的氢键数量正相关,说明了氢键在 PPAR α 与配体相互作用中的重要性。具有羧基官能团的 GenX, PFOA 和 PFNA,通过其羟基与 PPAR α 残基 ILE354 的氧原子形成氢键。活性较弱的 NPB2 和 PFHpA 则具有相似的氢键分布模式,说明这 2 种 PFAS 在结合口袋内具有相似的取向。

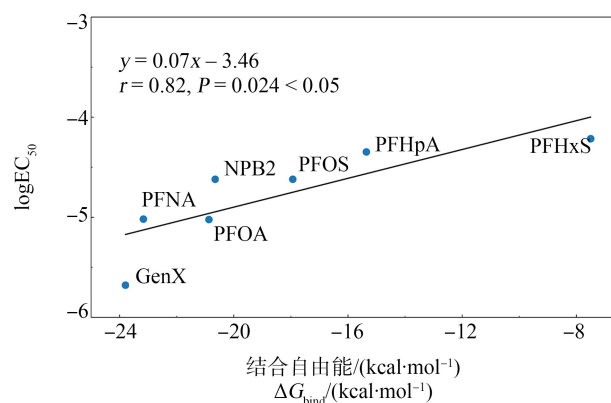


图 2 实验的 $\log EC_{50}$ 与计算的 ΔG_{bind} 的相关关系

Fig. 2 Correlation between the experimental $\log EC_{50}$ and the calculated ΔG_{bind}

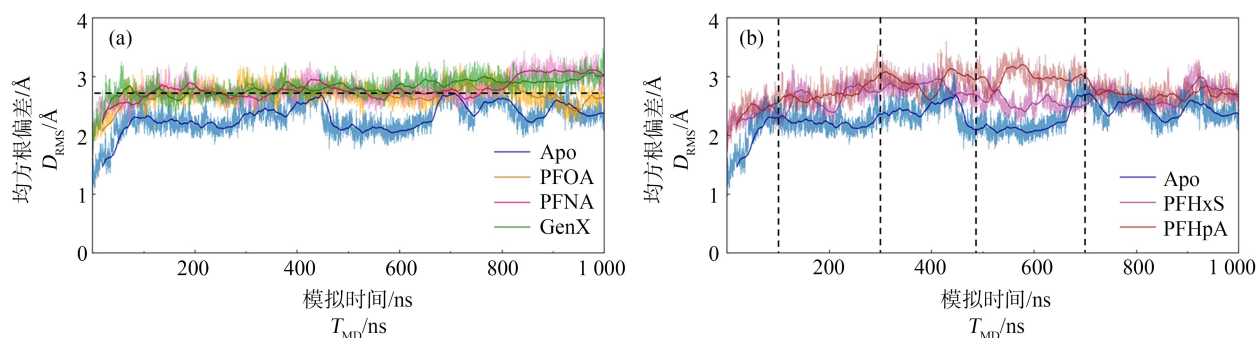


图 3 不同 PFAS-PPAR α 体系中蛋白 α -C 的均方根偏差(D_{RMS})随时间的变化(Apo 是未结合配体体系)

Fig. 3 Root-mean-square deviation (D_{RMS}) variation of α -C in different PFAS-PPAR α systems over time (Apo represents uncomplexed ligand system)

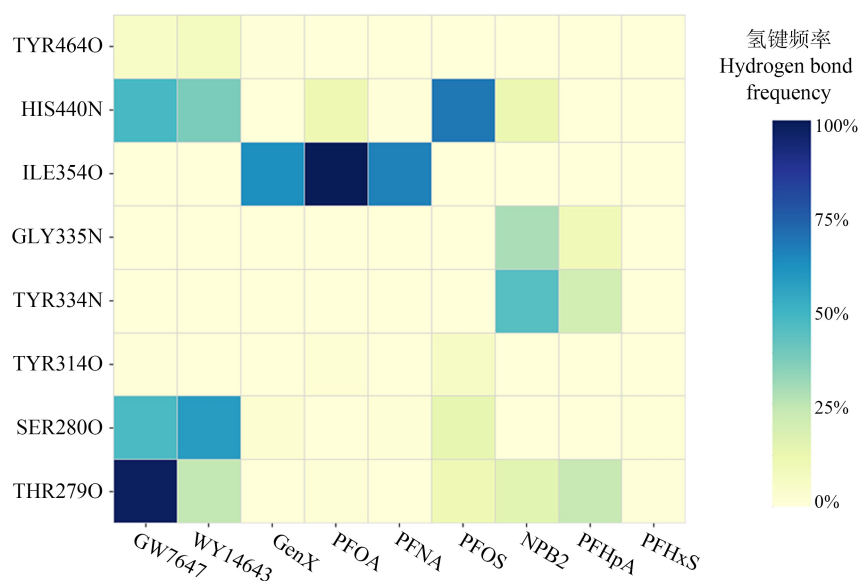


图 4 PFAS-PPAR α 的氢键分布

Fig. 4 Hydrogen bond distribution of PFAS-PPAR α

2.5 配体-残基接触分析

通过分析配体-氨基酸残基的接触情况,区分配体活性并识别关键的结合特征。不同配体与 PPAR α 氨基酸残基之间的接触情况如图 5 所示。所有配体都与螺旋 H3 和 H5 存在稳定接触,说明这些结构在配体与 PPAR α 的结合中起到关键作用。对配体与残基的接触进行分层聚类,配体被分为两大类,簇 1 对应活性较弱的配体,簇 2 和 3 对应活性较强的配体。对于活性较强的配体,其与 H7, H11 和 H12 的相互作用尤为显著(如图 5 中红框所示),说明这些螺旋结构与激活活性密切相关,并且这些螺旋组成了区分 PFAS 活性水平的关键结合口袋。对于簇 2 和 3 中的配体,关键的氨基酸残基包括 ILE354, HIS440, SER280, CYS276 和 LEU321,其中 ILE354, HIS440 和 SER280 与 PFAS 形成氢键。此外,激活活性较弱的配体表现出较少的稳定接触,说明这些 PFAS 和 PPAR α 的结合口袋的匹配度较低。

2.6 结合模式分析

PFAS 在 PPAR α 口袋内的结合构象的聚类结果如图 6 所示。这些 PFAS 分别占据“Y”形结合口袋的 A, B 和 C 这 3 个区域(A: GenX, PFNA, PFOA 和 PFOS; B: PFHxS; C: PFHpA 和 NPB2)。以激活活性最强的 GenX 为例,其处于 H3, H7 和 H11 组成的口袋 A 中,一端与 H12 相互作用,另一端向其他区域延伸。同时 GenX 与残基 ILE354 (H7)形成氢键,与残基 TYR464 (H12), HIS440 (H11)和 CYS276 (H3) 等形成疏水相互作用。对比 X 射线晶体结构,PPAR α 激动剂通常位于口袋 A 中^[31],与这些 PFAS 的结合模式类似。此外,如图 7 所示,上述结合模式有助于稳定结构 H3 和 H12 (这 2 处的 F_{RMS} 值较低),为共激活因子结合提供更加稳定的表面(图 6 中绿色虚线所示)。而 PFHxS 和 PFHpA 则倾向聚集在 β 片层和 H2 ~ H3 区域附近,不直接参与共激活因子结合区域的稳定。原因在于这些链长较短的

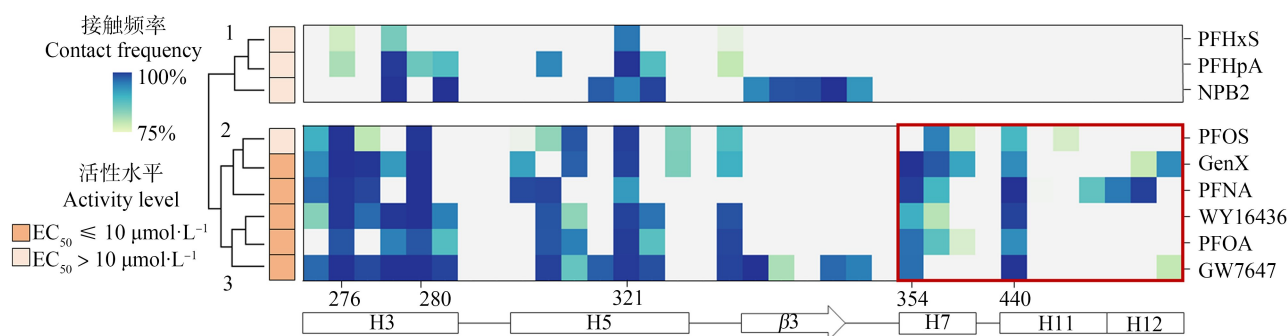


图 5 配体与 PPAR α 氨基酸残基接触(横轴数字代表与配体接触的重要残基)

Fig. 5 Contacts between ligands and amino acid residues of PPAR α (horizontal axis numbers represent key residues in contact with ligands)

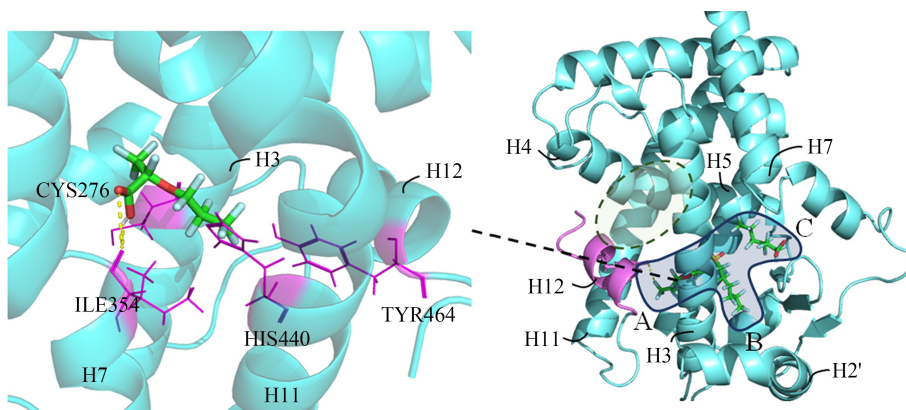


图 6 3 种 PFAS-PPAR α 复合物的 3D 结构(绿色为共激活因子结合区域,蓝色为 PFAS 结合区域)

Fig. 6 3D structure of three PFAS-PPAR α complexes (green represents the co-activator binding region; blue represents the PFAS binding region)

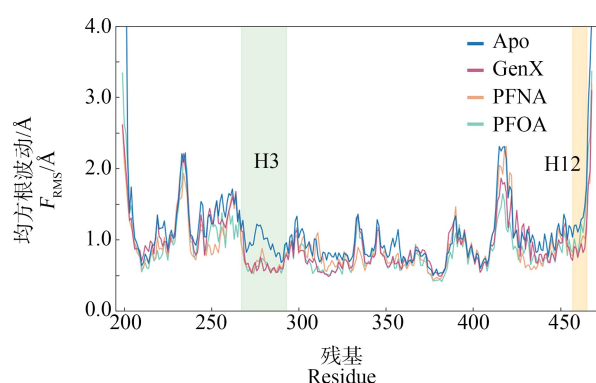


图7 结合不同 PFAS 的 PPAR α 残基的均方根波动 (F_{RMS})

Fig. 7 Root-mean-square fluctuation (F_{RMS}) of PPAR α residues bound to different PFAS

PFAS 难以同时与 H7, H11 和 H12 上的多个关键残基形成相互作用,不能稳定结合到与激活活性密切相关的口袋 A 中。

综上,本研究对 7 种 PFAS 与 PPAR α 复合体系进行了 MD 模拟,计算了 7 种传统和新型 PFAS 与 PPAR α 的 ΔG_{bind} ,揭示了 $\log EC_{50}$ 和 ΔG_{bind} 之间存在良好的相关性,且氟化碳原子的数量与 ΔG_{bind} 正相关,含羧基的 PFAS 的 ΔG_{bind} 通常比含磺酸基的 PFAS 更低。阐明了活性配体与 PPAR α 的关键相互作用特征,可为 PFAS 类化学品毒性效应评估提供支持。

通信作者简介:陈景文(1969—),男,博士,教授,主要研究方向为新污染物治理技术、环境计算毒理学和化学品风险预测技术。

参考文献 (References):

- [1] Glüge J, Scheringer M, Cousins I T, et al. An overview of the uses of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) [J]. Environmental Science Processes & Impacts, 2020, 22 (12): 2345-2373
- [2] Kotlarz N, McCord J, Collier D, et al. Measurement of novel, drinking water-associated PFAS in blood from adults and children in Wilmington, North Carolina [J]. Environmental Health Perspectives, 2020, 128(7): 77005
- [3] Ding G H, Xue H H, Yao Z W, et al. Occurrence and distribution of perfluoroalkyl substances (PFASs) in the water dissolved phase and suspended particulate matter of the Dalian Bay, China [J]. Chemosphere, 2018, 200: 116-123
- [4] Khan E A, Grønnestad R, Krøkje Å, et al. Alteration of hepato-lipidomic homeostasis in A/J mice fed an environmentally relevant PFAS mixture [J]. Environment International, 2023, 173: 107838
- [5] Murase W, Kubota A, Ikeda-Araki A, et al. Effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) on gene expression profiles via nuclear receptors in HepaRG cells: Comparative study with *in vitro* transactivation assays [J]. Toxicology, 2023, 494: 153577
- [6] Yang W, Ling X, He S J, et al. PPAR α /ACOX1 as a novel target for hepatic lipid metabolism disorders induced by per- and polyfluoroalkyl substances: An integrated approach [J]. Environment International, 2023, 178: 108138
- [7] Li C H, Ren X M, Ruan T, et al. Chlorinated polyfluorinated ether sulfonates exhibit higher activity toward peroxisome proliferator-activated receptors signaling pathways than perfluorooctanesulfonate [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(5): 3232-3239
- [8] Bougarne N, Weyers B, Desmet S J, et al. Molecular actions of PPAR α in lipid metabolism and inflammation [J]. Endocrine Reviews, 2018, 39(5): 760-802
- [9] Maeda K, Hirano M, Hayashi T, et al. Elucidating key characteristics of PFAS binding to human peroxisome proliferator-activated receptor alpha: An explainable machine learning approach [J]. Environmental Science & Technology, 2024, 58(1): 488-497
- [10] 朱婧涵, 薛娇, 刘嫻, 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 [J]. 生态毒理学报, 2017, 12(3): 214-224
Zhu J H, Xue Q, Liu X, et al. Theoretical investigation on agonism mechanism of p,p'-DDE via interacting with androgen receptor mutants H874Y and T877A [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(3): 214-224 (in Chinese)
- [11] Tan H Y, Wang X X, Hong H X, et al. Structures of endocrine-disrupting chemicals determine binding to and activation of the estrogen receptor α and androgen receptor [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(18): 11424-11433
- [12] Guan R N, Luan F, Li N Q, et al. Identification of molecular initiating events and key events leading to endocrine disrupting effects of PFOA: Integrated molecular dynamic, transcriptomic, and proteomic analyses [J]. Chemosphere, 2022, 307(Pt 2): 135881
- [13] Brown P J, Stuart L W, Hurley K P, et al. Identification of a subtype selective human PPAR α agonist through parallel-array synthesis [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2001, 11(9): 1225-1227
- [14] Nielsen G, Heiger-Bernays W J, Schlezinger J J, et al. Predicting the effects of per- and polyfluoroalkyl sub-

- stance mixtures on peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity *in vitro* [J]. *Toxicology*, 2022, 465: 153024
- [15] Muegge I, Hu Y. Recent advances in alchemical binding free energy calculations for drug discovery [J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2023, 14(3): 244-250
- [16] Tian C, Kasavajhala K, Belfon K A A, et al. ff19SB: Amino-acid-specific protein backbone parameters trained against quantum mechanics energy surfaces in solution [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2020, 16(1): 528-552
- [17] He X B, Man V H, Yang W, et al. A fast and high-quality charge model for the next generation general AMBER force field [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(11): 114502
- [18] Jakalian A, Jack D B, Bayly C I. Fast, efficient generation of high-quality atomic charges. AM1-BCC model: II. Parameterization and validation [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2002, 23(16): 1623-1641
- [19] Götz A W, Williamson M J, Xu D, et al. Routine microsecond molecular dynamics simulations with AMBER on GPUs. 1. Generalized born [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(5): 1542-1555
- [20] Elber R, Ruymgaart A P, Hess B. SHAKE parallelization [J]. *The European Physical Journal Special Topics*, 2011, 200(1): 211-223
- [21] Harvey M J, De Fabritiis G. An implementation of the smooth particle mesh Ewald method on GPU hardware [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2009, 5(9): 2371-2377
- [22] Miao Y L, Feher V A, McCammon J A. Gaussian accelerated molecular dynamics: Unconstrained enhanced sampling and free energy calculation [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2015, 11(8): 3584-3595
- [23] Roe D R, Cheatham T E 3rd. PTRAJ and CPPTRAJ: Software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2013, 9(7): 3084-3095
- [24] Madhu M K, Shewani K, Murarka R K. Biased signaling in mutated variants of β 2-adrenergic receptor: Insights from molecular dynamics simulations [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2024, 64(2): 449-469
- [25] Mays S G, Hercules D, Ortlund E A, et al. The nuclear receptor LRH-1 discriminates between ligands using distinct allosteric signaling circuits [J]. *Protein Science*, 2023, 32(10): e4754
- [26] Rastelli G, del Rio A, Degliesposti G, et al. Fast and accurate predictions of binding free energies using MM-PBSA and MM-GBSA [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2010, 31(4): 797-810
- [27] Lai T T, Eken Y, Wilson A K. Binding of per- and poly-fluoroalkyl substances to the human pregnane X receptor [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(24): 15986-15995
- [28] Rosenmai A K, Ahrens L, le Godec T, et al. Relationship between peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity and cellular concentration of 14 perfluoroalkyl substances in HepG2 cells [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2018, 38(2): 219-226
- [29] Apaza Ticona L, Sánchez Sánchez-Corral J, Flores Sepúlveda A, et al. Novel 1,2,4-oxadiazole compounds as PPAR- α ligand agonists: A new strategy for the design of antitumour compounds [J]. *RSC Medicinal Chemistry*, 2023, 14(7): 1377-1388
- [30] Ishibashi H, Hirano M, Kim E Y, et al. *In vitro* and *in silico* evaluations of binding affinities of perfluoroalkyl substances to Baikal seal and human peroxisome proliferator-activated receptor α [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(4): 2181-2188
- [31] Kamata S, Oyama T, Saito K, et al. PPAR α ligand-binding domain structures with endogenous fatty acids and fibrates [J]. *iScience*, 2020, 23(11): 101727 ◆