

# 基于分子对接和分子动力学模拟的中药CLK4抑制剂虚拟筛选

李 通, 周 微, 曹灵修\*

郑州大学第五附属医院, 河南 郑州

收稿日期: 2026年8月9日; 录用日期: 2026年9月2日; 发布日期: 2026年9月8日

## 摘 要

目的: 基于计算机的方法筛选中药天然产物数据库中潜在的新型Cdc2样激酶4 (CLK4)抑制剂。方法: 利用分子对接、分子动力学模拟、结合自由能计算等方法进行虚拟筛选。结果: 筛选得到1个化合物, 它能够通过特异性非共价相互作用与CLK4蛋白结合, 分子动力学模拟也表明这个复合物体系在模拟时间内保持稳定。结论: 这个化合物具有潜在的CLK4抑制活性。本研究为发现新的CLK4抑制剂提供了新思路, 并为后续实验验证和药物开发提供了一个候选化合物。

## 关键词

Cdc2样激酶4, 抑制剂, 分子对接, 分子动力学模拟

# Virtual Screening of CLK4 Inhibitors from Traditional Chinese Medicine Based on Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulation

Tong Li, Wei Zhou, Lingxiu Cao\*

The Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou Henan

Received: August 9, 2026; accepted: September 2, 2026; published: September 8, 2026

## Abstract

**Objective:** To screen potential novel Cdc2-like kinase 4 (CLK4) inhibitors from a traditional Chinese

\*通讯作者。

**文章引用:** 李通, 周微, 曹灵修. 基于分子对接和分子动力学模拟的中药 CLK4 抑制剂虚拟筛选[J]. 计算生物学, 2026, 16(3): 103-111. DOI: 10.12677/hjcb.2026.163009

medicine natural product database by computer-based methods. Methods: Virtual screening was conducted with molecular docking, molecular dynamics simulation, and binding free energy calculations. Results: One compound was identified, which interacted with CLK4 protein through specific non-covalent interactions. Molecular dynamics simulations showed that this complex system remained stable throughout the simulation. Conclusion: The compound shows potential CLK4 inhibitory activity. This research introduces a novel concept for uncovering new CLK4 inhibitors and identifies a potential compound for future experimental testing and drug development.

## Keywords

CLK4, Inhibitor, Molecular Docking, Molecular Dynamics Simulation

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

胰腺癌(Pancreatic adenocarcinoma, PAAD)恶性程度高,早期转移倾向显著[1],多数患者确诊时处于晚期已失去手术机会[2],5年生存率仅约13%[3]。当前化疗及外科切除疗效有限,且现有化疗药物往往隐藏着难以预期的副作用[1][4],因此亟需开发针对PAAD关键分子靶点的靶向治疗策略。

RNA选择性剪接(Alternative splicing, AS)异常是PAAD发展的重要驱动因素[5],当富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子(Serine/Arginine-Rich Splicing Factor, SRSF)家族成员(如SRSF1、SRSF5、SRSF6)在PAAD中高表达或异常激活, RNA的AS过程显著失调,进而促进癌细胞迁移、侵袭及转移;而敲除或下调这些因子则抑制上述恶性表型[6]-[8]。Cdc2样激酶4(Cdc2-like kinase 4, CLK4)作为双特异性CMGC激酶[9],通过磷酸化SRSF蛋白调控前体mRNA的AS过程,进而影响致癌基因表达及肿瘤细胞增殖、侵袭[10][11]。近期研究表明,CLK4在PAAD细胞中表达显著上调,且其高表达与癌细胞增殖、侵袭密切相关;抑制CLK4活性可有效降低PAAD细胞生长和存活率[12]。这些证据明确了CLK4是PAAD治疗的潜在药物靶点。

目前,针对CLK4的小分子抑制剂研究尚处于初期阶段[13]。仅有少数CLK4抑制剂被报道,例如TG003、CTX-712、SM08502等,它们在体外显示出对CLK4的抑制作用,但其靶向性和体内活性仍有待进一步优化,以降低风险[14]-[16]。至今尚无获批上市的CLK4靶向药物,该领域存在巨大空白。因此,开发新型、高效的CLK4抑制剂仍是该领域亟待解决的重要课题。

中药天然产物具有来源广泛、结构多样及副作用较低等优势,为新型CLK4抑制剂的发现提供了丰富的化合物筛选库[17]。计算机辅助药物设计借助计算算法与分子三维结构模拟,能够模拟分子间相互作用,从而从海量化合物中快速、准确地筛选出潜在活性分子,为湿实验提供理论指导[18][19]。本研究综合运用分子对接、分子动力学模拟及自由能计算等方法,从中药天然产物数据库中筛选具有潜力的CLK4抑制剂,旨在为抗癌药物研发提供新型先导化合物。

## 2. 方法

### 2.1. 受体蛋白晶体结构准备

从RCSB蛋白质数据库[20]中下载CLK4的晶体结构(PDBID: 6FYV),同时去除水分子、离子及其他

非配体小分子。CLK4 蛋白结构缺失的残基使用 Modeller [21] 程序进行修复。使用 ADFR suite [22] 对晶体结构进行加氢和格式转化。基于共晶分子坐标确定筛选口袋位置及大小，用于接下来的对接过程。

## 2.2. 高通量虚拟筛选

### 2.2.1. 基于 AI 药物的高通量虚拟筛选

DrugCLIP [23] 作为当前最新一代人工智能驱动的高通量药物虚拟筛选平台，兼具超高通量筛选效率与高精度结合亲和力预测能力，且经实验验证具有较高的命中率，适用于大规模候选分子的快速初筛。

首先将来自 Herb [24] 的中药天然产物数据库(包含约 4.6 万种化合物)上传至 DrugCLIP 的用户个人库，以备接下来的高通量筛选过程使用。接着进入 DrugCLIP 首页，进行高通量筛选，受体蛋白为 1.1 中处理好的 CLK4 的晶体结构，通过晶体结构中的共晶分子确定蛋白结合口袋，筛选数据库为已上传的 Herb 数据库，参数选择为默认模型。参照 DrugCLIP 官方筛选流程([https://github.com/THU-ATOM/DrugCLIP\\_screen\\_pipeline](https://github.com/THU-ATOM/DrugCLIP_screen_pipeline)) 的推荐阈值，最终保留 DrugCLIP 评分大于 3 的分子用于后续分析。

### 2.2.2. 基于分子对接的虚拟筛选

首先，对 2.2.1 中 DrugCLIP 评分大于 3 的化合物，使用 DataWarrior [25] 生成其三维构型，并在 MMFF94s 力场下进行能量最小化，通过这些步骤确保生成的结构是能量最小的构象异构体。然后通过 OpenBabel [26] 确定化合物在 pH=7.4 的环境下的质子化状态，为化合物结构中每个原子添加 Gasteiger 电荷，并将化合物文件转变为 pdbqt 文件，用于接下来的对接过程。蛋白和小分子对接通过 AutoDock Vina [27] 完成，并筛选对接得分小于 -9 kcal/mol 的化合物。选择最佳结合构象导入 PyMOL 中进行进一步分析。

## 2.3. 成药性参数预测

使用 DataWarrior 对候选化合物进行成药性参数预测，计算包括 cLogP、致突变性、致肿瘤性、致畸性、刺激性和药物评分，以进一步评估对人体的安全性和成药性。

## 2.4. 分子动力学模拟

使用 Amber24 [28] 软件对未结合配体的蛋白质以及候选化合物与蛋白的复合物分别进行 100 ns 的分子动力学模拟。首先，利用 tleap 模块调用 Amber ff19SB 力场，构建受体蛋白的拓扑文件。随后，针对复合物中的候选配体，采用 antechamber 程序调用 GAFF2 力场生成其力场参数，并计算 AM1-BCC 电荷；同时，使用 parmchk2 工具检查并补全缺失参数，以确保后续分子动力学模拟的顺利进行。SHAKE 算法约束含氢原子的键，并使其维持在平衡值。每个体系都在 OPC 水模型的立方盒中溶剂化。从盒子表面到溶质原子的最近距离设置为 10 Å，添加盐离子(Na<sup>+</sup>或 Cl<sup>-</sup>)以中和体系。对于每个体系，能量最小化分两步完成。在第一步中，优化溶剂分子，同时对溶质施加 100.0 kcal/(mol·Å<sup>2</sup>) 的力进行约束。第二步，取消约束对整个体系能量最小化。然后，使用朗之万动力学控制温度，在 0.3 ns 内将体系温度从 0 K 逐渐加热到 300 K，时间步长为 1 fs，在此期间为保持蛋白质结构稳定对溶质中的重原子施加 10.0 kcal/(mol·Å<sup>2</sup>) 力进行约束。在正式的分子动力学模拟运行之前，在温度为 300 K 和压力为 1 bar 的恒温恒压条件下运行 1 ns 模拟，以完全平衡体系。使用 Amber24 的 pmemd.cuda 模块，在 300 K 下以 2 fs 的时间步长，在恒温恒容条件下运行 100 ns 模拟。

## 2.5. 数据分析

使用 cpptraj [29] 分析轨迹数据，计算蛋白质的均方根偏差、均方根涨落，回转半径和候选化合物与蛋白质间的氢键；使用 VMD [30] 分析候选化合物和蛋白质的盐桥相互作用；使用 ProLIF [31] 分析候选化

合物和蛋白质的疏水相互作用，同时分析这些关键指标随时间的变化。并从 80~100 ns 轨迹中提取 200 帧轨迹文件，通过 MM-GBSA 方法进行结合自由能计算，评估结合强度及能量贡献。

3. 结果

3.1. 分子对接结果分析

为充分利用 Herb 中药天然产物数据库中多样化的分子，筛选靶向 CLK4 蛋白的潜在抑制剂，我们参照图 1 所示流程进行逐步筛选，在此阶段获得 3 个符合条件的化合物(详见表 1 和图 2)，各项评分均表现优异。为评估候选化合物对人体的安全性，进一步分析了它们的化合物相关性质(详见表 2)，综合结果表明这些化合物成药性良好，对人体较为安全，可以进行下一步的研究。

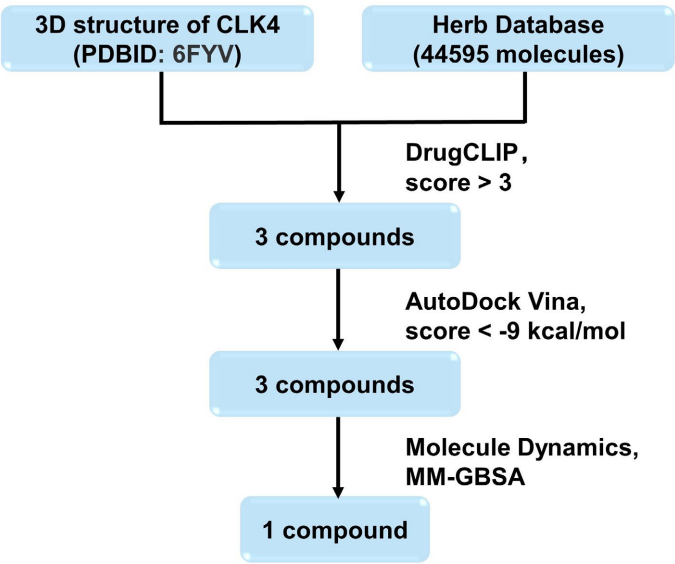


Figure 1. Virtual screening process  
图 1. 虚拟筛选流程

Table 1. Scores of candidate compounds  
表 1. 候选化合物得分

| 化合物  | Herb Id    | DrugCLIP Score | Docking score (kcal/mol) |
|------|------------|----------------|--------------------------|
| TCM1 | HBIN000967 | 3.68           | -9.38                    |
| TCM2 | HBIN026574 | 3.02           | -9.47                    |
| TCM3 | HBIN033946 | 3.02           | -9.12                    |

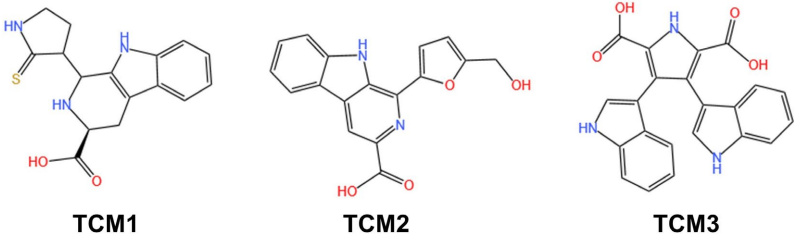


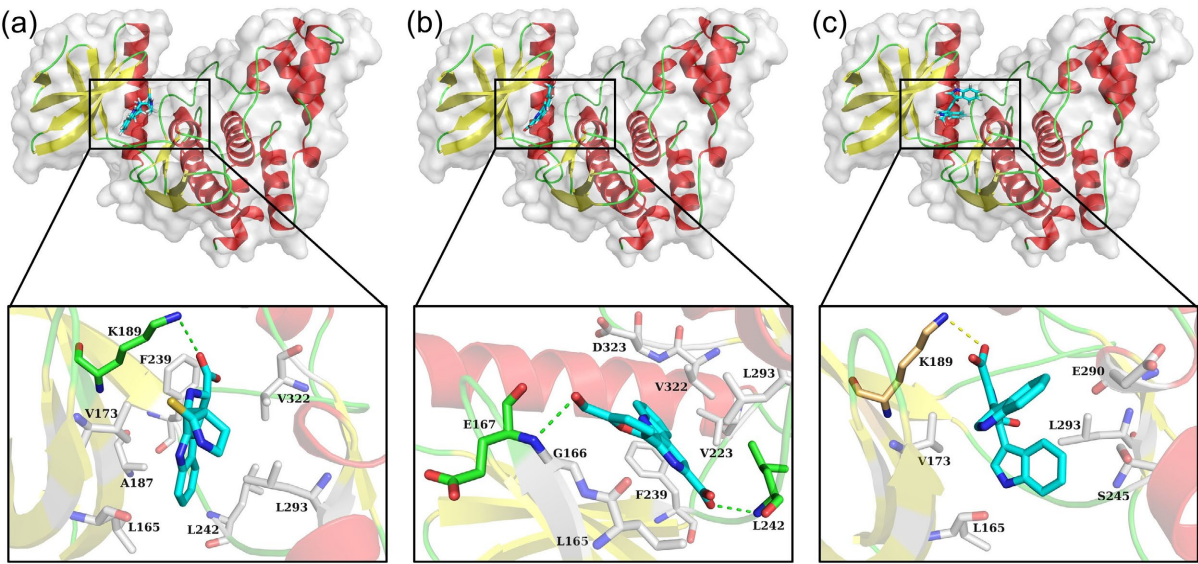
Figure 2. 2D structure of candidate compounds  
图 2. 候选化合物的 2D 结构

**Table 2.** Drug-likeness parameters of candidate compounds  
**表 2.** 候选化合物的成药性参数

| 化合物  | cLogP | 致突变性 | 致肿瘤性 | 致畸性  | 刺激性  | 药物评分 |
|------|-------|------|------|------|------|------|
| TCM1 | -1.61 | none | none | none | none | 0.66 |
| TCM2 | 1.99  | low  | none | none | none | 0.55 |
| TCM3 | 2.86  | none | none | none | none | 0.52 |

注：cLogP (化合物亲水性)：推荐范围 < 5；药物评分：参考范围为 0~1。

三个候选化合物与 CLK4 的对接结果如图 3 所示。TCM1 与 CLK4 的残基 K189 形成了 1 个氢键 (hydrogen bonds, Hb), 并与残基 L165、V173、A187、F239、L242、L293 和 V322 形成多个疏水(hydrophobic, hp)相互作用, 增强了亲和力, 使形成的复合物结构更加稳定; TCM2 分别与 CLK4 的残基 E167 和 L242 形成了 1 个 Hb, 也与 CLK4 的残基 L165 等形成多个 Hp 相互作用; TCM3 与 CLK4 的残基 K189 形成了 1 个盐桥(salt bridg, Sb)相互作用, 同时又与多个残基形成 Hp 相互作用。



**Figure 3.** Molecular docking of TCM1 (a), TCM2 (b) and TCM3 (c) with CLK4  
**图 3.** TCM1 (a)、TCM2 (b)、TCM3 (c)与 CLK4 蛋白对接结果

两次筛选和化合物成药性参数分析结果表明, 3 种化合物均可以与 CLK4 蛋白稳定结合, 且具有良好的安全性, 具备成为 CLK4 抑制剂的潜力。

### 3.2. 分子动力学模拟结果

为了验证蛋白质和配体结合的稳定性, 我们对未结合配体(Apo)蛋白和每个蛋白质 - 配体结合复合物进行了时长为 100 ns 的分子动力学模拟。图 4(a)显示每个体系蛋白骨架的均方根偏差(root mean square deviation, RMSD), 它们在稳定后均收敛良好, 表明在模拟过程中所有化合物都能够稳定结合到预测口袋, 并且每个复合物在 100 ns 模拟期间均能达到相应的平衡状态。值得注意的是, 与 TCM1 结合后的 CLK4 蛋白 RMSD 值小于 Apo 的状态, 表明化合物结合对 CLK4 稳定性的贡献; 与 TCM3 结合后的 CLK4 蛋白显示出比相应 apo 状态更小或相似的 RMSD 值, 这表明在结合化合物的分子动力学模拟期间 CLK4 蛋白没有发生明显的构象变化。然而, TCM2 结合后导致产生了比 apo 状态相对更大的 RMSD 值, 这可能

意味着 TCM2 结合模式不佳或诱导了非适应性构象变化。

均方根涨落(root mean square fluctuation, RMSF)可以反映蛋白质中单个结构域的波动,这可以用于评估化合物结合对蛋白质结构稳定性的影响。图 4(b)显示了 CLK4 蛋白结合化合物状态与 apo 状态 RMSF 值的对比,其中与 TCM1 结合的蛋白质展示出明显较低的灵活性,尤其在其所在口袋附近的氨基酸,表明 TCM1 可能通过强相互作用稳定了蛋白质的结构;其余处于结合化合物状态的 CLK4 都显示出与其 apo 状态相似或偏大的 RMSF,这与 RMSD 值结果一致。

回转半径(radius of gyration, Rg)可以反映蛋白质分子紧凑程度,这可以用于评估化合物结合后蛋白质紧密程度。图 4(c)显示了 CLK4 蛋白结合化合物状态与 apo 状态 Rg 值的对比,表明蛋白在模拟过程中始终处于相对紧凑和稳定的构象状态,与 RMSD 及 RMSF 结果基本一致。

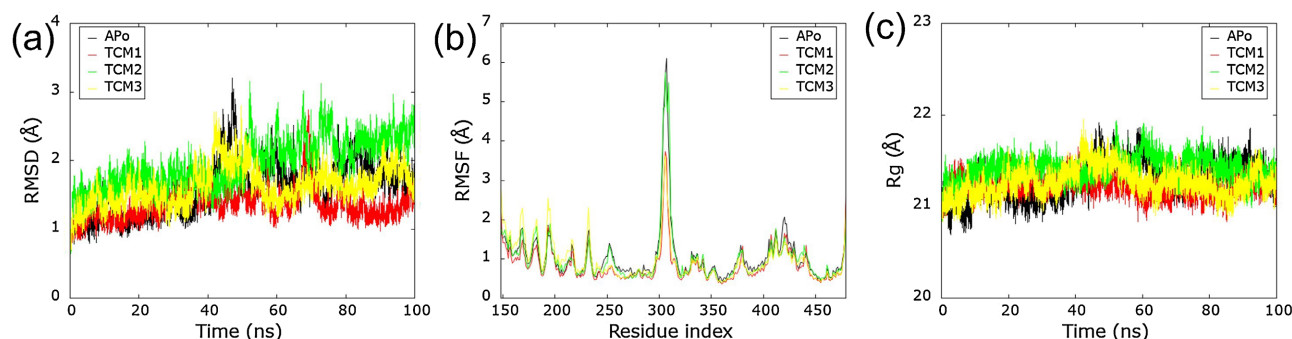


Figure 4. Molecular dynamics simulation results

图 4. 分子动力学模拟结果

综上,在分子动力学模拟过程中,CLK4 蛋白质在与 TCM1 结合后表现出较高的稳定性和较低灵活性,表明 TCM1 的结合对 CLK4 是具有明显的稳定作用;CLK4 在与 TCM2 和 TCM3 结合后表现出相似或偏大的灵活性,仍需通过结合自由能计算进一步评估。

### 3.3. 结合自由能计算结果分析

结合自由能用于评估不同小分子与 CLK4 蛋白结合的稳定性及结合亲和力。结合能分项包括范德华作用能、静电能、溶剂化极化能、非极性溶剂化能、气相自由能和溶剂化自由能,总结合自由能是评估蛋白配体结合稳定性和亲和力的重要指标。根据表 3 的结果,TCM1 的总结合自由能表现优异在-30 kJ/mol 以下,具有较高的亲和力,是潜在的优质候选药物,在结合中范德华作用能、静电能、非极性溶剂化能和气相自由能都有助于蛋白配体的结合。其中,静电能和气相自由能的作用尤为显著。而 TCM2 和 TCM3 的结合自由能与 TCM1 差值较大,表现一般,这之前分子动力学模拟结果基本一致,表明它们与靶蛋白的结合稳定性较弱,具有较差的特异性,因此予以排除。

Table 3. Binding free energy decomposition of simulation systems

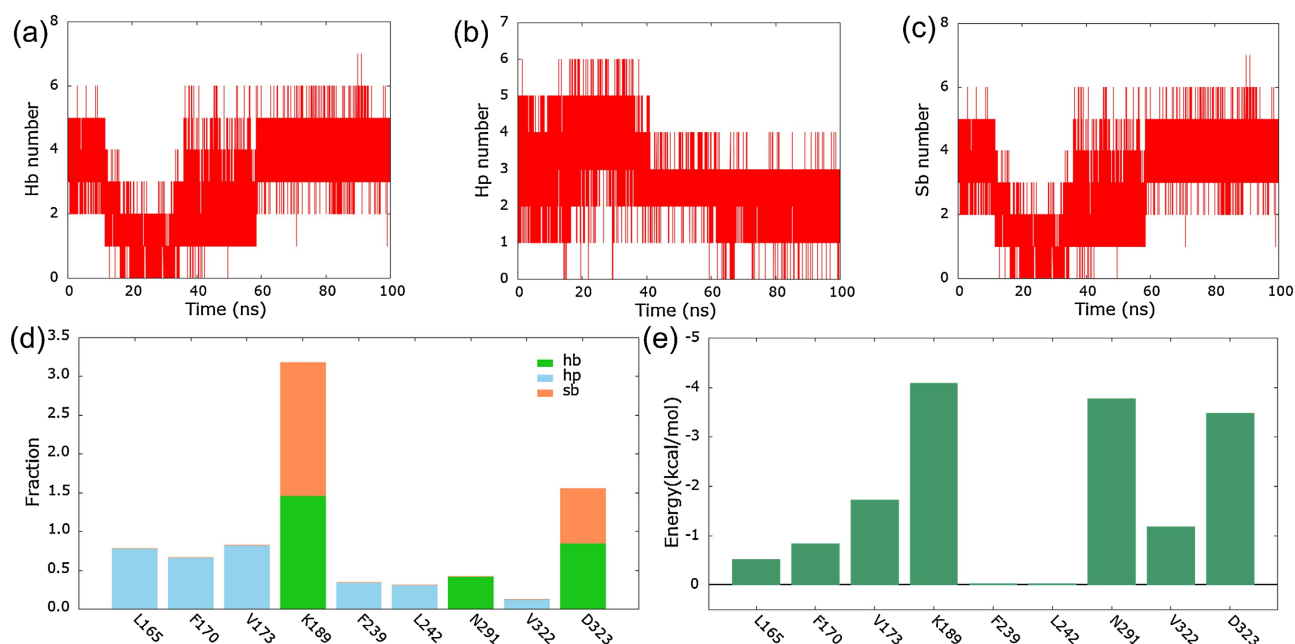
表 3. 模拟体系结合自由能分解

| 化合物  | 范德华作用能 | 静电能    | 溶剂化极化能 | 非极性溶剂化能 | 气相自由能   | 溶剂化自由能 | 总结合自由能 |
|------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|
| TCM1 | -27.02 | -84.39 | 84.95  | -3.76   | -111.41 | 81.20  | -30.21 |
| TCM2 | -35.29 | 85.79  | -63.43 | -4.23   | 50.50   | -67.66 | -17.16 |
| TCM3 | -39.11 | 89.36  | -60.57 | -4.67   | 50.25   | -65.24 | -14.98 |

综上结果表明,TCM1 这个候选化合物与 CLK4 的结合稳定性较高,结合自由能达到了较高的水平,在热力学上表现出了较强的结合倾向,这一系列结果均表明 TCM1 是潜在优良的 CLK4 抑制剂。

### 3.4. 潜在抑制剂的结合模式

TCM1 在动力学过程中氢键变化如图 5(a)所示。在整个模拟过程中,它在 80%以上的时间里都与 CLK4 保持了连续且多个氢键相互作用,TCM1 与 CLK4 最高形成了 7 个氢键;如图 5(b)所示,TCM1 几乎始终与 CLK4 保持了连续且多个疏水相互作用,与 CLK4 最高形成了 6 个相互作用。如图 5(c)所示,盐桥相互作用与氢键形成数量基本类似,在 80%以上的时间里都与 CLK4 保持了连续且多个盐桥相互作用。



**Figure 5.** Changes in the number of key interactions of TCM1 during molecular dynamics simulation and the contribution of potential key residues

**图 5.** TCM1 在分子动力学模拟过程中关键相互作用数量的变化及潜在关键残基的贡献

为进一步分析 TCM1 与 CLK4 结合的关键位点,我们统计整个轨迹中能稳定形成相互作用的氨基酸及其对蛋白质稳定性的贡献。如图 5(d)~(e)所示,L165、F170、V173 和 V322 通过与 TCM1 形成疏水相互作用,既稳定 TCM1 的构象,又降低蛋白质体系的能量;K189、N291 和 D323 通过与 TCM1 形成稳定的氢键和盐桥相互作用,对蛋白质稳定性有较大贡献;遗憾的是尽管 F239 和 L242 与 TCM1 形成了疏水相互作用,但是对蛋白质本身稳定性贡献几乎为零,只起到稳定化合物构象的作用。因此,TCM1 与 K189 和 D323 这两个位点形成的强相互作用对与 CLK4 的结合起到关键作用。

## 4. 讨论

PAAD 致死率高、缺乏有效治疗药物,已成为严峻的社会问题。中药天然产物因成分多样且对肿瘤具有良好的靶向性,是宝贵的药物研发资源。鉴于 CLK4 与 PAAD 细胞的迁移侵袭高度相关,抑制其功能对 PAAD 治疗具有重要意义,本研究基于 CLK4 三维结构,从中药天然产物数据库出发,综合运用分子对接、分子动力学模拟及结合自由能计算等方法,经多轮筛选获得一个对 CLK4 具有明显抑制活性的潜在化合物。结果显示,该化合物能与 CLK4 形成稳定复合物且结合亲和力强,同时具有良好成药性与

结构稳定性。进一步发现 K189 和 D323 为关键结合位点, 它们不仅与化合物形成稳定相互作用以维持其构象, 还显著降低蛋白体系能量, 增强蛋白空间稳定性。

综上, 本研究通过计算机辅助筛选获得一个有潜力的 CLK4 天然抑制剂, 为解决 PAAD 治疗药物匮乏问题提供了新线索。但当前结论仅基于计算预测, 后续需通过细胞、动物及临床研究进一步验证其疗效与机制, 从而为中药治疗 PAAD 提供更坚实的实验依据。

## 基金项目

2025 年度河南省中医药科研专项课题(课题编号 2025ZY2048): 基于功能性近红外光谱技术的电针对卒中后认知障碍患者脑激活及功能网络研究。

## 参考文献

- [1] Stoop, T.F., Javed, A.A., Oba, A., Koerkamp, B.G., Seufferlein, T., Wilmink, J.W., *et al.* (2025) Pancreatic Cancer. *The Lancet*, **405**, 1182-1202. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(25\)00261-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(25)00261-2)
- [2] Connor, A.A. and Gallinger, S. (2022) Pancreatic Cancer Evolution and Heterogeneity: Integrating Omics and Clinical Data. *Nature Reviews Cancer*, **22**, 131-142. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00418-1>
- [3] National Cancer Institute (2026) Cancer Stat Facts: Pancreatic Cancer. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>
- [4] Wainberg, Z.A., Manji, G.A., Bahary, N., Ulahannan, S.V., Pant, S., Spigel, D.R., *et al.* (2026) Quemliclustat and Chemotherapy with or without Zimberelimab in Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma: A Randomized Phase 1 Trial. *Nature Medicine*, **32**, 1267-1277. <https://doi.org/10.1038/s41591-026-04283-z>
- [5] Kawalerski, R.R., Leach, S.D. and Escobar-Hoyos, L.F. (2021) Pancreatic Cancer Driver Mutations Are Targetable through Distant Alternative RNA Splicing Dependencies. *Oncotarget*, **12**, 525-533. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27901>
- [6] Xu, Y.F., Xu, X., Gin, A., Nshimiyimana, J.D., Mooers, B.H.M., Caputi, M., *et al.* (2020) SRSF1 Regulates Exosome microRNA Enrichment in Human Cancer Cells. *Cell Communication and Signaling*, **18**, 130-142. <https://doi.org/10.1186/s12964-020-00615-9>
- [7] Chen, S., Yang, C., Wang, Z.W., Hu, J., Pan, J., Liao, C., *et al.* (2021) CLK1/SRSF5 Pathway Induces Aberrant Exon Skipping of METTL14 and Cyclin L2 and Promotes Growth and Metastasis of Pancreatic Cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, **14**, 60-83. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01072-8>
- [8] Li, M., Wu, P., Yang, Z., *et al.* (2020) miR-193a-5p Promotes Pancreatic Cancer Cell Metastasis through SRSF6-Mediated Alternative Splicing of OGDHL and ECM. *American Journal of Cancer Research*, **10**, 38-59.
- [9] Schultz, J., Jones, T., Bork, P., Sheer, D., Blencke, S., Steyrer, S., *et al.* (2001) Molecular Characterization of a cDNA Encoding Functional Human CLK4 Kinase and Localization to Chromosome 4q35. *Genomics*, **71**, 368-370. <https://doi.org/10.1006/geno.2000.6447>
- [10] Liu, Y., Conaway, L., Rutherford Bethard, J., Al-Ayoubi, A.M., Thompson Bradley, A., Zheng, H., *et al.* (2013) Phosphorylation of the Alternative mRNA Splicing Factor 45 (SPF45) by CLK1 Regulates Its Splice Site Utilization, Cell Migration and Invasion. *Nucleic Acids Research*, **41**, 4949-4962. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt170>
- [11] Karlas, A., Machuy, N., Shin, Y., Pleissner, K., Artarini, A., Heuer, D., *et al.* (2010) Genome-Wide RNAi Screen Identifies Human Host Factors Crucial for Influenza Virus Replication. *Nature*, **463**, 818-822. <https://doi.org/10.1038/nature08760>
- [12] Yang, C., Wu, Y., Tu, H., Yeh, Y., Lin, T.E., Sung, T., *et al.* (2025) Identification and Biological Evaluation of a Novel CLK4 Inhibitor Targeting Alternative Splicing in Pancreatic Cancer Using Structure-Based Virtual Screening. *Advanced Science*, **12**, Article ID: 2416323. <https://doi.org/10.1002/adv.202416323>
- [13] Jiang, Y., Tang, Z., Jiang, M., Wang, J. and Wang, Y. (2025) Small Molecule Inhibitors Targeting Cdc2-Like Kinase 4: Advances, Challenges, and Opportunities. *Chemical Biology & Drug Design*, **105**, e70087. <https://doi.org/10.1111/cbdd.70087>
- [14] Tam, B.Y., Chiu, K., Chung, H., Bossard, C., Nguyen, J.D., Creger, E., *et al.* (2020) The CLK Inhibitor SM08502 Induces Anti-Tumor Activity and Reduces Wnt Pathway Gene Expression in Gastrointestinal Cancer Models. *Cancer Letters*, **473**, 186-197. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.09.009>
- [15] Fedorov, O., Huber, K., Eisenreich, A., Filippakopoulos, P., King, O., Bullock, A.N., *et al.* (2011) Specific CLK Inhibitors

- from a Novel Chemotype for Regulation of Alternative Splicing. *Chemistry & Biology*, **18**, 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2010.11.009>
- [16] Kawakita, Y., Kojima, T., Nii, N., Ito, Y., Sakauchi, N., Banno, H., *et al.* (2025) Discovery of Rogocekib (CTX-712): A Potent and Selective CLK Inhibitor for Cancer Treatment. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **16**, 1870-1875. <https://doi.org/10.1021/acsmmedchemlett.5c00412>
  - [17] Li, S., Chen, X., Shi, H., Yi, M., Xiong, B. and Li, T. (2025) Tailoring Traditional Chinese Medicine in Cancer Therapy. *Molecular Cancer*, **24**, Article No. 27. <https://doi.org/10.1186/s12943-024-02213-6>
  - [18] Yen, S.C., Chen, L.C., Huang, H.L., HuangFu, W., Chen, Y., Eight Lin, T., *et al.* (2022) Identification of a Dual FLT3 and MNK2 Inhibitor for Acute Myeloid Leukemia Treatment Using a Structure-Based Virtual Screening Approach. *Bioorganic Chemistry*, **121**, Article ID: 105675. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105675>
  - [19] Shi, M., He, J., Weng, T., Shi, N., Qi, W., Guo, Y., *et al.* (2022) The Binding Mechanism of NHWD-870 to Bromodomain-Containing Protein 4 Based on Molecular Dynamics Simulations and Free Energy Calculation. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **24**, 5125-5137. <https://doi.org/10.1039/d1cp05490b>
  - [20] Burley, S.K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich, S., Chen, L., Crichlow, G.V., *et al.* (2021) RCSB Protein Data Bank: Powerful New Tools for Exploring 3D Structures of Biological Macromolecules for Basic and Applied Research and Education in Fundamental Biology, Biomedicine, Biotechnology, Bioengineering and Energy Sciences. *Nucleic Acids Research*, **49**, D437-D451. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1038>
  - [21] Webb, B. and Sali, A. (2017) Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER. *Current Protocols in Bioinformatics*, **54**, 5.6.1-5.6.37. <https://doi.org/10.1002/cpbi.3>
  - [22] Ravindranath, P.A., Forli, S., Goodsell, D.S., Olson, A.J. and Sanner, M.F. (2015) AutoDockFR: Advances in Protein-Ligand Docking with Explicitly Specified Binding Site Flexibility. *PLOS Computational Biology*, **11**, e1004586. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004586>
  - [23] Jia, Y., Gao, B., Tan, J., *et al.* (2026) Deep Contrastive Learning Enables Genome-Wide Virtual Screening. *Science*, **391**, ads9530. <https://doi.org/10.1126/science.ads9530>
  - [24] Gao, K., Liu, L., Lei, S., Li, Z., Huo, P., Wang, Z., *et al.* (2025) HERB 2.0: An Updated Database Integrating Clinical and Experimental Evidence for Traditional Chinese Medicine. *Nucleic Acids Research*, **53**, D1404-D1414. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1037>
  - [25] López-López, E., Naveja, J.J. and Medina-Franco, J.L. (2019) DataWarrior: An Evaluation of the Open-Source Drug Discovery Tool. *Expert Opinion on Drug Discovery*, **14**, 335-341. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1581170>
  - [26] O'Boyle, N.M., Banck, M., James, C.A., Morley, C., Vandermeersch, T. and Hutchison, G.R. (2011) Open Babel: An Open Chemical Toolbox. *Journal of Cheminformatics*, **3**, Article No. 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
  - [27] Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A.F. and Forli, S. (2021) AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **61**, 3891-3898. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>
  - [28] Case, D.A., Cheatham, T.E., Darden, T., Gohlke, H., Luo, R., Merz, K.M., *et al.* (2005) The Amber Biomolecular Simulation Programs. *Journal of Computational Chemistry*, **26**, 1668-1688. <https://doi.org/10.1002/jcc.20290>
  - [29] Roe, D.R. and Cheatham, T.E. (2013) PTRAJ and CPPTRAJ: Software for Processing and Analysis of Molecular Dynamics Trajectory Data. *Journal of Chemical Theory and Computation*, **9**, 3084-3095. <https://doi.org/10.1021/ct400341p>
  - [30] Humphrey, W., Dalke, A. and Schulten, K. (1996) VMD: Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, **14**, 33-38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
  - [31] Bouysset, C. and Fiorucci, S. (2021) ProLIF: A Library to Encode Molecular Interactions as Fingerprints. *Journal of Cheminformatics*, **13**, Article No. 72. <https://doi.org/10.1186/s13321-021-00548-6>