基于结构的新型 CDK7 抑制剂的设计、合成及其抗肿瘤活性

刘 滔* 孙茂堂 董晓武 任 欣 杨 欣 杜立林 胡永洲

(浙江大学药学院, 浙江大学-巴黎高师药物化学联合实验室, 杭州 310058)

摘要: 根据细胞周期依赖性激酶 7(CDK7)的蛋白结构, 利用 Discovery Studio 2.1 程序包中的 LigandFit 模块建立了 CDK7 抑制剂的分子对接模型, 采用受试者工作特征曲线(ROC)方法选择 LigScore2 为最佳打分函数(ROC 曲线下的面积为 0.95), 并验证了该模型的准确性. 利用该模型对设计的化合物与 CDK7 蛋白进行对接分析, 得到了 2 个打分最高的化合物 **16**、**17**, 进而通过 13 步的合成路线, 以中等至高的收率得到目标化合物, 并测定其体外抗肿瘤活性. 结果表明, 所合成的化合物对急性前髓细胞性白血病细胞(HL60)、鼻咽癌细胞(KB)、肝癌细胞(SMMC-7721)、结肠腺癌细胞(HCT-116)、肺癌细胞(A549)细胞株均有抑制作用(IC_{50} 值为 0.84–19.70 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 其中化合物 **16** 对 HL60 细胞株的 IC_{50} 值最低, 为 0.84 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

关键词: 分子对接; CDK7 抑制剂; LigandFit 模块; LigScore2 打分函数; 合成; 抗肿瘤活性

中图分类号: O641

Structure-Based Drug Design, Synthesis and Antitumor Activities of Novel CDK7 Inhibitors

LIU Tao* SUN Mao-Tang DONG Xiao-Wu REN Xin

YANG Xin DU Li-Lin HU Yong-Zhou

(Zhejiang University-Ecole Normale Supérieure Joint Laboratory of Medicinal Chemistry, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, P. R. China)

Abstract: A novel and reliable docking model based on the protein structure of cyclin dependent kinase 7 (CDK7) for CDK7 inhibitors was developed using LigandFit module within Discovery Studio 2.1 package. Receiver operating characteristic curves (ROC) were applied as a method of validation to evaluate the accuracy of the established model. LigScore2 was selected as the best score function. The area under curve (AUC) of the ROC curve was 0.95. Compounds designed by our group were docked with CDK7 to study the binding mode between the target molecules and the receptor protein CDK7. Two compounds, namely **16** and **17**, with favorable scores from the docking studies were selected for synthesis and required a thirteen-step route but they were obtained in moderate to good yields. The two synthesized compounds were then evaluated for their *in vitro* cytotoxic activities against five human cancer cell lines including human acute promyelocytic leukemia cells (HL60), human nasopharynx carcinoma cells (KB), human hepatoma cells (SMMC-7721), human colon adenocarcinoma cells (HCT-116), and human lung cancer cells (A549). Both tested compounds showed potent cytotoxic activities with IC_{50} values ranging from 0.84 to 19.70 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Compound **16** showed the most potent antitumor activity against HL60 human cancer cell lines with IC_{50} value of 0.84 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key Words: Molecular docking; CDK7 inhibitor; LigandFit module; LigScore2 score function; Synthesis; Antitumor activity

细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 目前已知的共有 13 种, 包括

CDK1–CDK13, 可与相应的周期蛋白(cyclin)形成蛋白激酶复合物, 直接或间接调节细胞完成细胞周期

Received: April 24, 2009; Revised: July 2, 2009; Published on Web: September 15, 2009.

*Corresponding author. Email: lt601@zju.edu.cn; Tel: +86-571-88208458

© Editorial office of Acta Physico-Chimica Sinica

G1-S-G2-M 各期的转换, 其中仅 CDK(1、2、3、4、6) 直接介入细胞周期^[1-4].

CDK7 是 CDKs 家族的重要一员, 又称为 CDK 活化激酶(CDKs activating kinase, CAK). CDK7 主要通过两种间接的方式调节细胞周期: 第一, CDK7-cyclin H 二元复合物或 CDK7-cyclin H-MAT1 三元复合物经磷酸化激活后生成有活性的 CAK, 可进一步使 CDK(1、2、3、4、6)活性区域的苏氨酸残基被磷酸化, 从而激活它们的活性, 主导细胞周期的启动、进行和结束; 第二, 磷酸化的 CDK7-cyclin H-MAT1 复合物能磷酸化 RNA 聚合酶 II(RNAP II)大亚基的羧基末端结构域(CTD)的大亚基, 从而促使启动子的清除, 诱导转录的开始^[5,6], 另外CDK7-cyclin H-MAT1 复合物还是转录因子 IIH(TFIH)的亚基组

成部分, 参与 II 型转录和核苷酸切除修复. 由此可知, 抑制 CDK7 活性区域的磷酸化, 就能抑制其在调节细胞周期中的作用, 既阻断 CDK(1、2、3、4、6)在细胞周期中的主导作用, 又影响转录过程, 达到抑制肿瘤细胞增殖的目的. 基于 CDK7 对细胞周期及转录的重要调节作用, 以 CDK7 为靶点设计全新骨架结构的 CDK7 抑制剂将成为抗肿瘤药物研究领域的热点之一.

迄今为止, 文献报道的 CDK7 抑制剂很少, 仅有吡啶-吡唑类和嘧啶-氨基嘧啶类两大类化合物, 其中吡啶-吡唑类化合物 **1** 活性最佳, 对 CDK7 的 IC_{50} 值为 $11 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[7], 嘧啶-氨基嘧啶类化合物 **2** 的 IC_{50} 值为 $21 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[8](结构见图 1).

近年来, 在先导物的发现及优化过程中, 基于分

图 1 已知的 CDK7 抑制剂的化学结构

Fig.1 Chemical structures of the known CDK7 inhibitors

子对接模型的药物分子设计已经广泛应用于那些晶体结构已知、作用位点明确,特别是那些配体结构类型相对较少的蛋白靶点^[9-13]. Discovery Studio 软件包(version 2.1)/LigandFit 模块^[14]是较为常用的分子对接软件,已应用于多个靶点的虚拟筛选研究^[15-18]. 由于该模块的 6 种不同评价函数的适用范围及评价结果存在较大的差异,本文拟采用较为常用的统计学方法——ROC 法^[19-21]从中优选最佳打分函数,利用所建立的 CDK7 抑制剂分子的对接模型,对所设计的化合物进行对接研究,选取其中评价打分较高的化合物进行合成,并评价其体外的抗肿瘤活性,为进一步合理地开发有效的 CDK7 抑制剂提供参考.

1 材料与方法

1.1 受体蛋白的准备

从蛋白质数据库(PDB)中获得 CDK7 蛋白与 ATP 复合物的晶体结构数据(PDB 的编号为 1UA2,分辨率为 0.3 nm). 用 Discovery Studio 2.1 软件包去除复合物晶体中的水分子及 ATP,再根据价键原理将缺失的氢原子补充完整.

1.2 训练集数据库

采用 Pipeline Pilot(student edition)软件从 ACD 数据库中随机选取1200个化合物与15个已知 CDK7 抑制剂(图1),采用Discovery Studio 2.1/diverse conformation generation 生成化合物的三维构象,并利用 Discovery Studio 2.1/minimize molecule 模块对化合物进行能量优化,最后建立一个包括 1215 个化合物的训练集数据库.

1.3 基于 CDK7 蛋白结构的分子对接

用 LigandFit 模块中基于配体的方法定义结合口袋,在定义结合口袋时其网格的分辨率设定为默认值 0.05 nm,结合空腔的网格与受体氢原子之间的最小距离定义为 0.20 nm,与受体非氢原子的最小距离定义为 0.25 nm,再将结合口袋扩大至 0.30 nm,并将远离蛋白表面的网格点去除.

对数据库进行基于结合口袋形状的分子对接,并计算结合能量(DockScore)^[15]. 在计算过程中将蒙特卡罗参数定义为 1000,所有的对接计算步骤都在 Dreiding 力场^[22]下完成. 对接得到的结果经由 10 次 steepest descent(SD)及 20 次 boyden fletcher goldfarb shanno(BFGS)优化后,根据 DockScore 评价结果,每个化合物将保留 20 个不同的构象. 之后利用 LigandFit 中的六个评价函数(Jain^[15], LigScore1^[23],

LigScore2^[23], PLP1^[24], PLP2^[24], PMF^[15])中的最佳函数对这 20 个构象进行评价,每个化合物取其中打分最高的一个构象作为对接结果进行进一步的研究.

1.4 打分函数的选择

对于所建立的分子对接方法,本研究采用了较为常用的 ROC 法验证其准确性,并选取最佳打分函数^[20].

ROC 法基于对“true positive rate(Se)”与“false positive rate(1-Sp)”进行非线性回归,再计算 ROC 曲线下的面积(AUC),通过分析 AUC 的大小验证打分函数评价的准确性,其计算公式如下:

$$Se = \frac{N_{\text{selected actives}}}{N_{\text{total actives}}}; \quad Sp = \frac{N_{\text{discarded inactives}}}{N_{\text{total inactives}}} \quad (1)$$

ROC 曲线下面积(AUC):

$$AUC = \sum_{x=2}^N Se(x) [(1-Sp)(x) - (1-Sp)(x-1)] \quad (2)$$

式(1)、(2)中 N 表示化合物数目; $Se(x)$ 表示在化合物数目为 x 处筛选得到的活性化合物与总的活性化合物数目之比; $(1-Sp)(x)$ 表示在化合物数目为 x 处筛选得到的无活性化合物与总的无活性化合物数目之比.

本文所有对接工作所用的计算程序为 Accelrys 公司开发的 Discovery Studio(version 2.1)软件包及 Pipeline Pilot(student edition)计算平台(见 <http://accelrys.com/>).

1.5 新型 CDK7 抑制剂的设计

利用 Discovery Studio 2.1/LigandFit 模块,根据所选择的最佳打分函数分析化合物 1 与 CDK7 的对接结果(图 2),表明该化合物与 CDK7 的结合主要

图 2 化合物 1 与 CDK7 对接结果
Fig.2 Docking result of compound 1 and CDK7

是通过吡啶环上1,2-位的N原子与Met94和 Asp92, 5-位的腈基与 Asp155, 吡啶环 1-位的 N 原子与 Met94 氨基酸残基之间形成氢键相互作用。

本文拟以化合物 **1** 为先导物, 根据电子等排原理, 以吡啶环代替吡啶的苯环得到氮杂吡啶结构, 与先导物中具有的吡啶环偶联, 构建了氮杂吡啶-吡啶母核, 这种母核结构保留与关键氨基酸残基 Met94 和 Asp92 形成氢键相互作用的结构片段, 同时在氮杂吡啶的苯环中引入不同的疏水基团, 以期与由 Thr96, Val100, Pro310 氨基酸残基组成的疏水区域形成相互作用^[5], 据此设计了一系列具有氮杂吡啶-吡啶母核的化合物, 结构通式如图 3 所示。

1.6 新型 CDK7 抑制剂合成

目标化合物的合成路线以化合物 **16** 为例(图 4), 以 2-氨基-6-甲基吡啶为原料, 根据文献报道通过硝化、叔丁氧羰基(BOC)保护、甲基取代、环合、再次 BOC 保护碘代得到中间体 **18**^[25,26], 以邻甲基苯胺为原料, 经重氮化环合、碘代、格氏交换得到中间体 **19**^[7]。

在氮气保护下, 将中间体 **18**(3.1 g, 6.2 mmol)、中间体 **19**(2.8 g, 5.8 mmol)、钯试剂(0.7 g, 0.5 mmol)与甲苯(118.0 mL)加入反应瓶中, 85 °C 反应 12 h, 薄层层析(TLC)跟踪反应。反应结束, 抽滤, 滤液加水后, 用乙酸乙酯萃取(20 mL×3), 饱和氯化钠洗涤(20 mL×3), 无水硫酸钠干燥, 减压回收溶剂得黄色油状物, 柱层析分离(洗脱剂为石油醚:丙酮, 体积比为 15:1)得到淡黄色液体 **20**(3.35 g), 收率: 60%。

化合物 **20**(1.6 g, 2.8 mmol)溶于乙醇(37.0 mL), 加入浓盐酸(37.0 mL), 室温搅拌 3 h。反应结束后, 用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 至中性, 乙酸乙酯萃取(15 mL×3), 饱和氯化钠洗涤(15 mL×3), 无水硫酸钠干燥, 减压回收溶剂得黄色粗品, 柱层析分离(洗脱剂为石油醚:乙醇, 体积比为 4:1)得到黄绿色固体 **21**

L: C₆-C₈ alkyl;

X: -SO₂-N-, -CO-O-, -N-SO₂-, -N-CO-, -O-CO-, -SO-N-, -N-SO-, -O-, -S-, -N-, -N-CO-N-

R: C₆-C₈ alkyl, C₄-C₇ cycloalkyl, substituted aryl, or heteroaromatic ring

图 3 所设计的化合物的通式

Fig.3 General formula of designed compounds

(0.3 g), 收率: 42%; 熔点: 270 °C(分解)。

将化合物 **21**(263 mg, 1 mmol)、对溴苯磺酰氯(256 mg, 1 mmol)和吡啶(20 mL)加入反应瓶中, 55-60 °C 反应 12 h。反应结束后, 减压回收吡啶, 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠调 pH 值至 8, 二氯甲烷萃取(10 mL×2), 饱和氯化钠洗涤(10 mL×2), 无水硫酸钠干燥, 减压回收溶剂, 残留物经柱层析分离(洗脱剂为石油醚:乙醇, 体积比为 8:1)得到淡黄色固体 **16**(360 mg), 收率: 42%; 熔点: 80-82 °C。

1.7 化合物体外抗肿瘤活性的测定

选取肿瘤细胞 HL60、KB、SMMC-7721、HCT-116、A549, 于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育, 待细胞密度长到 70%-90% 时传代(贴壁细胞用 Puck's 乙二胺四乙酸消化后传代), 备用。

MTT 法(四甲基偶氮唑蓝法)测定化合物 **16**、**17** 对不同瘤株的体外抑制作用: 将化合物用二甲基亚砜(DMSO)溶解, 稀释, 肿瘤细胞 HL60、KB、SMMC-7721、HCT-116、A549 在 96 孔板上种入 4000 个/200 μL/孔, 每孔加入化合物 2 μL, 终浓度为 12.0、6.0、3.0、1.5 μmol·L⁻¹, 共同于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 72 h, 以 DMSO(1%, 体积分数)为空白对照。72 h 后, 加入终浓度为 0.25 mg·mL⁻¹ 的 MTT, 置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中 4 h, 之后吸干溶

图 4 目标化合物 16 的合成路线

Fig.4 Synthetic route of the target compound 16

BOC: *t*-butoxycarbonyl

剂, 每孔加入 100 μL DMSO, 用酶联免疫仪于 570 nm 处测定吸光度(OD值), 所得数据用于计算 IC_{50} 。

2 结果与讨论

2.1 分子对接方法的建立及评价函数的选择

利用 CDK7 的蛋白结构, 采用 LigandFit 软件模块, 我们建立了 CDK7 抑制剂分子的对接方法。用此方法对训练集数据库进行对接研究, 用 ROC 法(图 5)对该对接结果进行分析, 并计算 AUC(表 1)。相比于其他 5 个打分函数, LigScore2 具有较高的 AUC(0.9541), 这说明该打分函数具有较强的预测能力, 其中打分较高的化合物有 95% 的概率是具有 CDK7 抑制活性的。因此, 采用 LigScore2 作为评价函数的 CDK7 抑制剂分子对接模型是准确可靠的。

2.2 新型 CDK7 抑制剂的选择

利用建立的 CDK7 抑制剂分子对接模型, 对所设计的一系列化合物进行对接研究, 选取 LigScore2 打分最高的 2 个化合物(图 6)进行合成及体外抗肿瘤

瘤活性的研究。其中打分最高的化合物 **16** 与 CDK7 的对接结果如图 7 所示, 该化合物保留了与 Met94、Asp92 之间的三个关键氢键作用, 另外, 化合物 **16** 中的疏水片段(对溴苯磺酰基)可与 CDK7 中由 Thr96、Val100 和 Pro310 构成的疏水区域形成疏水作用。

2.3 目标化合物的合成及其体外抗肿瘤活性的测定
根据上述结果, 选取打分最高的 2 个化合物 **16** 和 **17** 进行合成, 并进行体外的抗肿瘤活性研究。

N-(2-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡咯[3,2-*b*]吡啶-5-基)-4-溴-*N*-甲基苯磺酰胺(化合物 **16**): 黄绿色固体, 收率: 42%; 熔点: 80–82 $^{\circ}\text{C}$ 。 ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ): 13.58(s, 1H), 12.03(s, 1H), 8.22(d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.84(d, 1H, $J=8.8$ Hz), 7.76(d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.62(d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.48(d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.43(t, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.28(d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.23(t, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.19(s, 1H), 3.23(s, 3H)。电喷雾离子质谱(ESI-MS): $m/z=482$ $[\text{M}+1]^+$ 。

N-(2-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡咯[3,2-*b*]吡啶-5-基)-2,5-二甲氧基-*N*-甲基苯磺酰胺(化合物 **17**): 黄绿色固体, 收率: 32%; 熔点: 90–92 $^{\circ}\text{C}$ 。 ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ): 13.47(s, 1H), 11.86(s, 1H), 8.22(d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.73(d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.61(d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.42(t, 1H, $J=7.2$ Hz), 7.32(d, 1H, $J=2.8$ Hz), 7.23(t, 1H, $J=7.2$ Hz), 7.22(d, 1H, $J=8.8$ Hz), 7.17(s, 1H), 7.15(d, 1H, $J=2.8$ Hz), 7.07(d, 1H, $J=9.2$ Hz),

图 5 1215 个化合物与 CDK7 蛋白进行对接后 6 个评价函数对应的 ROC 曲线回归图

Fig.5 ROC curves obtained with the ensemble docking approach for 1215 compounds and plotted for six scoring functions

Se: true positive rate; (1-Sp): false positive rate

表 1 1215 个化合物与 CDK7 蛋白进行对接研究之后得到的 AUC

Table 1 Area under the ROC curves (ROC-AUC) for the molecular docking performed on CDK7 with the collection of 1215 compounds

Scoring function	AUC
LigScore2	0.9541
LigScore1	0.8964
PLP1	0.9298
PLP2	0.9000
Jain	0.9167
PMF	0.8792

图 6 对接后评价打分最高的 2 个化合物
Fig.6 Two compounds with the highest scores originated from molecular docking

图 7 化合物 **16** 与 CDK7 对接结果
Fig.7 Docking result of compound **16** and CDK7

表 2 化合物 16 和 17 的 LigScore2 打分结果及体外细胞毒性

Table 2 LigScore2 scoring results and cytotoxicity of compounds 16 and 17

Compound	LigScore2	IC ₅₀ (μmol·L ⁻¹)				
		HL60	KB	SMMC-7721	HCT-116	A549
16	6.26	0.84	4.38	4.28	8.40	19.40
17	5.81	6.24	7.15	11.53	9.85	19.70
taxol	—	0.02	0.06	0.22	0.02	0.05

HL60, KB, SMMC-7721, HCT-116, and A549: five different tumor cells; taxol: positive control

3.74(s, 3H), 3.48(s, 3H), 3.37(s, 3H). 电喷雾离子质谱(ESI-MS): $m/z=464$ [M+1]⁺.

化合物 16、17 对 HL60、KB、SMMC-7721、HCT-116、A549 这 5 种细胞株的体外抗肿瘤活性实验结果见表 2. 实验结果表明, 所合成的 2 个化合物对 5 种不同的肿瘤细胞株均有较强的抑制作用(IC₅₀ 值为 0.84–19.70 μmol·L⁻¹), 且活性高低与对接结果打分高低变化趋势一致; 其中化合物 16 对 HL60 细胞株的抑制作用最强, IC₅₀ 值达到 0.84 μmol·L⁻¹, 说明其对肿瘤细胞具有较强的抑制作用. 综上所述, 该结果提示这是一类值得进一步结构优化和应用研究的化合物.

3 结 论

基于 CDK7 蛋白结构, 采用 Discovery Studio 2.1/LigandFit 模块建立了具有较强预测能力的 CDK7 抑制剂的分子对接模型, 利用 ROC 法选取了 LigScore2 作为可靠的打分函数, 并验证了所建立模型的准确性. 通过对所设计的化合物进行分子对接研究, 得到了 2 个打分最高的化合物. 将所合成的 2 个化合物进行体外抗肿瘤活性测定, 结果表明它们均具有较好的体外抗肿瘤活性. CDK7 蛋白抑制活性还在进一步的研究中.

References

- Lundberg, A. S.; Weinberg, R. A. *Mol. Cell Biol.*, **1998**, *18*: 753
- Evan, G. I.; Vouaden, K. H. *Nature*, **2001**, *411*: 342
- Lees, E. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1995**, *7*: 773
- Meyer, T.; Regenass, U.; Fabbro, D.; Alteri, E.; Rosel, J.; Muller, M.; Caravatti, G.; Matter, A. *Int. J. Cancer*, **1989**, *43*: 851
- Lolli, G.; Lowe, E. D.; Brown, N. R.; Johnson, L. N. *Structure*, **2004**, *12*: 2067
- Fisher, R. P. *J. Cell Sci.*, **2005**, *118*: 5171
- Fraley, M. E.; Steen, J. T.; Brnardic, E. J.; Arrington, K. L.; Spencer, K. L.; Hanney, B. A.; Kim, Y.; Hartmen, G. D.; Stirdivant, S. M.; Drakas, B. A.; Richert, K.; Walsh, E. S.; Hamilton, K.; Buser, C. A.; Hardwick, J.; Tao, W.; Beck, S. C.; Mao, X. Z.; Lobell, R. B.; Lorenzino, L. S.; Yan, Y. W.; Ikuta, M.; Munshi, S. K.; Kuo, L. C.; Kreatsoulas, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*: 6049
- Shimamura, T.; Shibata, J.; Kurihara, H.; Mita, T.; Otsuki, S.; Sagara, T.; Hirai, H.; Iwasawa, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*: 3751
- Luo, X. M.; Jiang, H. L.; Shen, J. H.; Chen, K. X. *Bull. Chin. Acad. Sci.*, **2003**, *18*: 255 [罗小民, 蒋华良, 沈建华, 陈凯先. 中国科学院院刊, **2003**, *18*: 255]
- Zhao, L. Q.; Xiao, J. H.; Li, S. *Acta Biophys. Sin.*, **2002**, *18*: 263 [赵丽琴, 肖军海, 李 松. 生物物理学报, **2002**, *18*: 263]
- Zhang, T.; Dong, X. C.; Chen, H. F.; Chen, M. B. *Acta Chim. Sin.*, **2006**, *64*: 899 [张 涛, 董喜成, 陈海峰, 陈敏伯. 化学学报, **2006**, *64*: 899]
- Wei, Z.; Zhang, H.; Cui, W.; Ji, M. J. *Acta Phys. -Chim. Sin.*, **2009**, *25*: 890 [魏 卓, 张 怀, 崔 巍, 计明娟. 物理化学学报, **2009**, *25*: 890]
- Zhang, X. T.; Liu, B.; He, H. Q.; Yang, D.; Wang, C. X. *Acta Phys. -Chim. Sin.*, **2009**, *25*: 817 [张小铁, 刘 斌, 何红秋, 杨 东, 王存新. 物理化学学报, **2009**, *25*: 817]
- <http://accelrys.com/>
- Venkatachalam, C. M.; Jiang, X.; Oldfield, T.; Waldman, M. *J. Mol. Graph. model.*, **2003**, *21*: 289
- Sato, H.; Shewchuk, L. M.; Tang, J. J. *Chem. Inf. Model.*, **2006**, *46*: 2552
- Krovat, E. M.; Langer, T. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2004**, *44*: 1123
- Montes, M.; Miteva, M. A.; Villoutreix, B. O. *Proteins*, **2007**, *68*: 712
- Li, X. D.; Hou, T. J.; Xu, X. J. *Acta Phys. -Chim. Sin.*, **2005**, *21*: 504 [李旭东, 侯廷军, 徐筱杰. 物理化学学报, **2005**, *21*: 504]
- Wang, R.; Lu, Y. P.; Wang, S. M. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*: 2287
- Triballeau, N.; Acher, F.; Brabet, I.; Pin, J. P.; Bertrand, H. O. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*: 2534
- Mayo, S. L.; Olafson, B. D.; Goddard, W. A. *J. Phys. Chem.*, **1990**, *94*: 8897
- Krammer, A.; Kirchhoff, P. D.; Jiang, X.; Venkatachalam, C. M.; Waldman, M. *J. Mol. Graph. model.*, **2005**, *23*: 395
- Gehlhaar, D. K.; Verkhivker, G. M.; Rejto, P. A.; Sherman, C. J.; Fogel, D. B.; Fogel, L. J.; Freer, S. T. *Chem. Biol.*, **1995**, *2*: 317
- Macor, J. E.; Ryan, K.; Chalabi, P. M.; Windels, J. C.; Roth, R. W. *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **1990**, *28*: 1293
- Krein, D. M.; Lowary, T. L. *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*: 4965