

[Article]

www.whxb.pku.edu.cn

二酮酸类 HIV-1 整合酶抑制剂的定量构效关系

石雅玮 刘振明 金宏威 张亮仁* 张礼和

(北京大学药学院天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083)

摘要: 应用遗传函数分析法(GFA)和分子场分析法(MFA)对一系列二酮酸类整合酶抑制剂分别进行了二维和三维定量构效关系研究, 并对随机选择的 5 个化合物组成的测试集进行了预测, 外在预测的 r_{pred}^2 值分别达到 0.987 和 0.759, 表明模型具有良好的预测能力, 同时利用药效团分析的方法, 验证了 QSAR (quantitative structure-activity relationship)模型, 并概括了疏水作用对抑制剂活性的重要影响. 研究表明, 电性描述符(Apo1)对活性有重要影响, 意味着抑制剂与金属离子的螯合作用, 同时空间和结构因素特别是疏水作用也对活性有重要作用. 利用这些规律进行了分子设计, 在理论上获得了一些具有较高抑制剂活性的新的二酮酸类衍生物, 并期待实验证实.

关键词: HIV-1 整合酶抑制剂; 二酮酸; 遗传函数分析法; 分子场分析法; 药效团
中图分类号: O641

Quantitative Structure-Activity Relationships of HIV-1 Integrase Inhibitors of DKAs

SHI Ya-Wei LIU Zhen-Ming JIN Hong-Wei ZHANG Liang-Ren* ZHANG Li-He

(State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, P. R. China)

Abstract: The quantitative structure-activity relationships (QSAR) of a series of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) integrase inhibitors of the derivatives of diketone acids (DKAs) were investigated using genetic function approximation (GFA) and molecular field analysis (MFA) models and then validated by *F*-test and predictive-ability test. The r_{pred}^2 of these two models reached 0.987 and 0.759, respectively, which demonstrated that the models had perfect predictive ability. Furthermore pharmacophore analysis was used to confirm the models and demonstrate the importance of hydrophobic interactions. Based on the above conclusions, three new molecules of DKAs with higher activity have been theoretically designed and are waiting for support from experiment. The findings in this research will give some guidance for designing novel effective HIV-1 integrase inhibitors.

Key Words: Inhibitors of HIV-1 integrase; DKAs; GFA; MFA; Pharmacophore

人类免疫缺陷病毒(HIV)所引起的艾滋病(AIDS)是人类目前所经历的最严重的疾病之一, 它会引起许多并发症如多种常见感染, 癌症等或其他疾病. HIV的复制过程需要三种酶, 分别是, 逆转录酶(RT)、蛋白酶(PR)和整合酶(IN)^[1]. 其中 HIV 整合酶因其在人体内没有发现同源蛋白, 被认为是一个非常具有前

景的艾滋病治疗靶点, 从而受到广泛关注^[2]. 整合酶通过两个步骤催化病毒 DNA 向宿主 DNA 的整合: 第一步称为 3'-加工过程(3'-processing), 第二步称为链转移过程(strand transfer). 在整合过程中不需要能量来源(如 ATP), 但需要二价金属离子如 Mn^{2+} 或 Mg^{2+} 的参与^[3]. 尽管许多不同结构类型的HIV整合酶抑制

Received: March 5, 2007; Revised: May 25, 2007; Published on Web: July 3, 2007.

*Corresponding author. Email: liangren@bjmu.edu.cn; Tel: +8610-82802567.

国家重点基础研究发展规划(863 项目)(2006AA020401)资助

剂已被报道,但是还没有一个此类药物被批准上市^[4].二酮酸类化合物(DKAs)具有高的抗病毒活性,并且选择性较好,其中的 L-708906 和 L-731988 (见表 1, 化合物 35 和 36)^[5] 等已进入临床试验阶段.二酮酸类抑制剂可以在整合酶活性位点与二价离子发生螯合作用,从而选择性地抑制链转移过程,并可以在受感染的细胞中阻断 HIV-1 病毒的复制^[5,6].目前

专门针对二酮酸类整合酶抑制剂的构效关系报道很少^[7,8], 研究结果证实, 1,3-二酮基官能团是抑制酶活性的必需官能团, 其两端连接的取代基的不同导致了活性的差异. 但是影响活性差异的物理化学因素, 特别是疏水作用还没有研究清楚, 同时还缺乏一个直观、有效的活性预测模型. 因此, 进一步深入研究已有二酮酸类抑制剂的构效关系, 找到影响其活

表 1 训练集和测试集的 GFA 和 MFA 计算结果
Table 1 The GFA and MFA results of the training set and test set

No.	Structure	Activity	No.	Structure	Activity	No.	Structure	Activity
1*		4.000	2		4.000	3		4.456
		4.652			4.124			5.306
		5.099			5.099			4.851
4*		4.616	5*		4.721	6		4.943
		3.994			4.519			5.025
		4.402			5.268			4.980
7		5.071	8		5.161	9*		5.215
		5.869			4.883			5.557
		5.347			5.146			5.609
10		5.276	11*		5.569	12		5.602
		5.557			5.970			5.557
		5.226			5.646			5.592
13		5.699	14*		5.699	15*		5.710
		6.590			5.976			5.955
		5.433			5.971			5.776
16		5.745	17*		5.815	18*		5.845
		5.673			5.557			5.700
		5.535			5.149			5.711
19		5.893	20*		6.000	21		6.000
		5.565			5.909			6.795
		5.730			5.873			6.447
22		6.167	23*		6.222	24		6.284
		5.796			6.644			6.247
		6.470			6.316			6.203
25		6.301	26		6.432	27*		6.444
		6.314			5.667			6.104
		6.037			6.814			6.081
28*		6.495	29*		6.495	30		6.585
		6.597			6.280			6.509
		7.093			6.971			6.191
31		6.602	32*		6.658	33		6.745
		6.316			6.338			7.653
		6.506			6.519			7.706
34*		6.854	35		7.000	36*		7.301
		6.569			6.585			6.377
		6.299			7.426			6.515
37		7.301	38*		7.398			
		7.368			7.352			
		7.213			6.881			

*The molecules are in the training set of the pharmacophore analysis. The activity data of each molecule are experiment activity, GFA predicted activity, and MFA predicted activity from top to down, respectively.

性的物理化学和立体结构因素,得到合理、可信的活性预测模型,可以指导我们对其进行结构优化,进一步提高其选择性和抗病毒活性。

遗传函数分析方法(GFA)被广泛应用于二维构效关系研究当中,利用它可以建立高预测性的模型,得到抑制剂活性与各类物理化学参数之间的定量关系,并且相比其他传统分析方法它可以提供更多的信息^[9]。而分子场分析方法(MFA)与 CoMFA 类似,通过分析一系列化合物立体场和静电场的分布特征,找到调控抑制剂活性的三维结构因素^[10]。

本文针对已报道的一系列二酮酸类抑制剂,利用 Cerius2 分子模拟软件^[10]中的 GFA 和 MFA 两种方法分别建立了二维和三维 QSAR 模型,探求对其活性有主要影响的物理化学参数,包括立体参数、电性参数、热力学参数等等;同时利用 Catalyst 软件包^[11]对体系进行了三维药效团分析。

1 计算方法

1.1 数据集

所选用的38个二酮酸类抑制剂均来自文献[5,7,12-15](见表1),其活性差异达4个数量级,并且活性之间具有较好的可比性。从中随机挑选5个化合物(2、6、22、34、37)作为测试集,其它作为训练集。文中用以计算的活性数据采用 pIC_{50} 值, $pIC_{50} = -\lg IC_{50}$ 。

选取的活性构象来自于 PDB 库中的 5-CITEP (表 1 化合物 13)与 HIV-1 整合酶复合物晶体结构(1QS4),以 5-CITEP 的晶体结构为起始构象,并以其为模板,其它分子在其基础上利用 Cerius2 中的 3D-sketcher 模块进行搭建,并在 Universal1.01 力场^[10]中进行分子力学优化,分子电荷采用 Gasteiger 算法,并进一步在 Minimizer 模块中进行能量优化直到均方根偏差达到 $4.187 \times 10^{-3} \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{nm}^{-1}$ 。然后采用目标叠加方法,以 5-CITEP 的晶体结构作为目标分子,选取化合物的二酮基结构为公共骨架进行柔性叠加。

1.2 GFA 分析

在 Cerius 2 软件的 QSAR 表单中,采用缺省设置分别计算叠加后的各分子的电性、空间、结构和热力学等四大类共 28 个描述符。GFA 法设定的参数为进化 2×10^5 次,产生类型为 linear 和 spline,方程初始长度定为 5,并设为定值,拟合光滑度设为 1.0,其它均采用缺省设置。产生方程后采用每次剔除一个样本的交叉验证方法“leave-one-out”考察该 QSAR

方程的内在预测能力。然后用模型预测测试集中抑制剂的活性,得到活性预测值,并计算 r_{pred}^2 。 r_{pred}^2 是衡量方程外部预测能力的指标,计算方法为 $r_{\text{pred}}^2 = (\text{SD-PRESS})/\text{SD}$,其中 SD 是测试集中所有分子的活性实验值与训练集中平均活性值的平方差的总和,而 PRESS 是测试集中所有分子的活性实验值与预测值的平方差的总和。

1.3 MFA 分析

分子场分析法(MFA)将叠加后的分子置于一个三维网格当中,每 0.2 nm 的距离产生一个格点,共包括 480 个计算格点,用探针离子 H^+ 和 CH_3 分别计算每个格点的静电场能量和立体场能量。计算得到每个化合物的分子场后,再从所有格点能量数据中选取前 10% 最有代表性的用于 3D-QSAR 模型的建立。采用遗传偏小二乘法(G/PLS)建立模型,进化 10000 次,其它均采用默认设置。产生方程后分别检验内在和外在的预测能力(方法同 GFA 法),得到 r_{cv}^2 和 r_{pred}^2 等参数。

1.4 药效团分析

药效团分析是在 Catalyst 软件的 HypoGen 模块当中完成的。由于药效团分析不适用于数目过大的训练集,故从前面提到的 QSAR 训练集中选取 18 个化合物(表 1)作为新的训练集,要求化合物结构类型和活性数值都有一定的差异性。根据化合物的结构特征和属性,选择疏水性、氢键受体、氢键供体、芳香族疏水性以及脂肪族疏水性五种算符进行计算处理,得到 10 个相关的药效团模型。最后,为验证药效团分析的结果,采用 ligplot 软件分析 5-CITEP 与整合酶的疏水和氢键作用^[17,18],氢键给体-受体的最大距离为 0.35 nm,氢键给体-氢-受体间的键角大于 120° ,疏水基团间的最大距离为 0.4 nm。

2 结果与讨论

2.1 GFA 模型及分析

采用 GFA 法共产生了 100 个方程,这 100 个方程中使用的描述符几乎都相同,说明这个模型是很稳定的。从描述符使用频率可以看出分子旋转半径(RadOfGyration)、水溶解自由能(F_{H_2O})、总原子极化率(Apol)和氢键供体(Hbond donor)在所有 28 个描述符中出现频率最高,也就是对活性影响最大。以预测性能、变量使用率和 LOF (lack of fit, 拟合缺乏)值作为衡量标准,从方程群中选出最优的三个方程(表 2)。这三个方程在内在预测性能和外在预测性能上都相

表 2 GFA 模型中三个最优方程及其参数
Table 2 GFA best equations and their parameters

No.	Equation	LOF	r^2	r_{cv}^2	r_{bs}^2	F-test	r_{pred}^2
1	BA=-0.128817"Dipole-X"-0.847068" F_{oct} " + 0.000363"Apol"-2.46676"RadOfGyration"+1.84469	0.409	0.724	0.644	0.724	26.170	0.952
2	BA=0.105885"Dipole-mag"-0.861274" F_{oct} " - 2.5213"RadOfGyration"+0.000382"Apol"+1.1549	0.431	0.721	0.649	0.721	25.809	0.962
3	BA=-0.127441"Dipole-X"-2.41502"RadOfGyration"- 0.833572" F_{H_2O} " +0.000344"Apol"+0.93388	0.419	0.717	0.618	0.717	25.301	0.987

LOF: lack of fit; r^2 : correlation coefficient; r_{cv}^2 : cross-validation coefficient; r_{bs}^2 : boot-strapped r^2 ; F-test: significance test; r_{pred}^2 : outside-prediction

差不大, r_{cv}^2 都约为 0.6, r_{pred}^2 都接近 1, r_{bs}^2 都在 0.7 左右, LOF 值集中在 0.4 附近. 所有的方程都通过了显著性验证, 都是有显著意义的. 最后选择 r_{pred}^2 最高 (0.987) 的第三个方程作为最终的研究模型, 这个方程的训练集和测试集活性预测结果见表 2. 在这个方程中引用的描述符与活性的相关性一共占到了 80%, 每一个描述符对抑制剂活性都有比较重要的影响. 同时对方程中的描述符进行了彼此间的相关性分析, 发现这些描述符之间均无自相关.

第三个方程中包含以下四个描述符, Apol 是一个在所有 100 个方程中都出现了的重要描述符, 它是指原子极化率的总和, 它与分子中价电子的个数以及价电子与相应原子核的紧密程度成正比. 二酮酸类衍生物都具有一个以上的羟基, 可以在 HIV-1 整合酶的活性位点与 Mg^{2+} 发生螯合作用^[9]. 由于这种螯合作用通常与价电子有关, 所以 Apol 值的大小与 HIV-1 整合酶的抑制活性是正相关的. Dipole-X 也是一个电性描述符, 指的是偶极矩 X 分量, 它可以用来衡量一个分子在静电场中的能量和取向. 由于 Dipole-X 在方程中与活性负相关, 所以意味着当偶极矩的 X 轴分量比较小(如果为负值, 则其绝对值应较大) 的时候对活性有利. 有意思的是, 在另外一个方程中出现了 dipole-mag(偶极矩总量)却是与活性正相关的, 也就是说偶极矩的总量比较大的时候对活性有利, 说明 dipole 在不同取向下对活性影响是不同的. F_{H_2O} 是一个热力学参数, 代表分子在水中的溶解自由能, 由于大多数二酮酸类抑制剂都是含有一OH、—COOH、—COO—、—CONH—等基团的极性分子, 与 HIV-1 整合酶活性位点之间主要发生氢键、疏水和静电作用, 在结合过程中很少涉及溶解熵, 因此 F_{H_2O} 与活性是负相关的. 与之类似的是, 在另外两个方程中出现的 F_{oct} 代表分子在正丁醇中的溶解自由能, 也是与活性负相关的. 空间描述符 RadOfGyration 代表分子旋转半径, 与分子的体积大小相关, 由于整合酶活性位点空间通常比较小, 这就

限制了抑制剂分子的体积, 如果分子体积过大, 不能很好地与活性位点结合, 就会使活性值大大下降.

同时在描述符引用频率中可以看到 Hbond Donor 出现次数也比较多, 这是因为抑制剂多含有一OH、—COOH 等氢键给体与整合酶活性位点氨基酸残基发生氢键作用, 因此氢键给体的个数对活性也有重要影响. 目前已有许多关于抑制剂与整合酶作用模式的研究和报道, 证明其作用类型主要包括氢键、疏水作用和静电作用^[20], 本文的 QSAR 模型中的描述符从另一角度阐述了这些结合模式.

2.2 MFA 模型及分析

以探针分子与训练集分子的相互作用能作为描述符, 用 G/PLS 法分析得到了 100 个方程, 方程长度为 15 项(包括常数项), 对方程的预测能力进行了验证, 其中预测性能最好的方程是:

$$\begin{aligned} \text{BA} = & -1.36329 - 0.016259 \text{"H"}^+/327 \text{"} + \\ & 0.015544 \text{"CH}_3/267 \text{"} + 0.026945 \text{"CH}_3/133 \text{"} + \\ & 0.014162 \text{"CH}_3/394 \text{"} + 0.024431 \text{"H"}^+/216 \text{"} + \\ & 0.015038 \text{"CH}_3/436 \text{"} + 0.018282 \text{"H"}^+/253 \text{"} + \\ & 0.019419 \text{"H"}^+/166 \text{"} - 0.046483 \text{"CH}_3/91 \text{"} + \\ & 0.017672 \text{"H"}^+/106 \text{"} + 0.006844 \text{"CH}_3/386 \text{"} + \\ & 0.033653 \text{"CH}_3/316 \text{"} + 0.013847 \text{"CH}_3/326 \text{"} + \\ & 0.017902 \text{"CH}_3/344 \text{"} \end{aligned}$$

该模型的 $r^2=0.757$, $r_{cv}^2=0.628$, $r_{pred}^2=0.759$, 说明这个方程具有很好的预测性能. 该方程对训练集和测试集分子的活性预测值见表 1.

MFA 法的特点是它以分子场中不同格点上探针分子(包括 H^+ 和 CH_3) 与抑制剂分子的相互作用能作为描述符建立方程, 一方面该方程可以用来预测新的抑制剂的活性, 另一方面可以从分子场三维图中显示出与活性有密切关系的格点的空间位置, 也就是建立了构效关系的三维模型. Cerius2 软件中的 MFA 模块虽然不能给出静电场和立体场三维等势图, 但是从模型描述符与训练集分子 38 的叠加图(图1)中, 也可以定性地看出, CH_3 描述符出现频率高

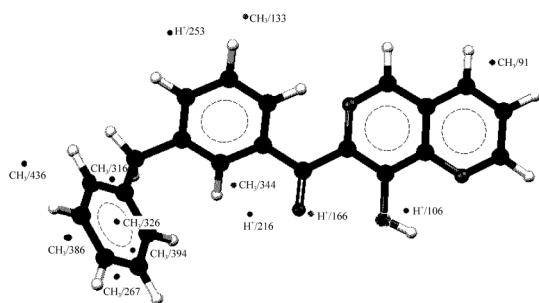


图1 MFA描述符与化合物38的叠合图

Fig.1 Mapping of MFA descriptors onto molecule 38 的区域也就是疏水作用比较强的区域主要是在苯环区,这个区域的CH₃描述符多与活性成正相关,因此增加疏水基团对活性有利.同时在二酮酸骨架处,H⁺描述符出现频率较高,证明这个区域的静电作用比较强,可能含有氢键给体或受体.

2.3 药效团模型与分析

用 Catalyst 软件包中的 HypoGen 模块计算给出了 10 个得分最高的药效团模型及其相应的统计评价得分. 通过比较,最后选定线性回归系数较高,具有较好的预测能力的药效团模型(totalcost=69.60, RMS=1.271, correl=0.893). 该模型含有两个疏水基团,一个氢键受体以及一个氢键供体. 目前针对 HIV-1 整合酶抑制剂已报道了多种药效团模型,但大多是以阐述氢键作用为主的,而本文则阐明了疏水作用(2个疏水基团)在二酮酸类抑制剂与受体的结合模式当中的重要意义. 5-CITEP 的吡啶环在本文得到的模型中占据了一个疏水团(A1, 图2). 用 ligplot 软件作图可以观察到,吡啶环附近存在着 Ile151 等非极性疏水性氨基,它们之间很有可能发生疏水作用(图3). 还有报道认为^[20], 4 个水分子配位结合的 Mg²⁺与吡啶环平面距离很近,可视为他们之间以范德华力相互作用(离子- π 作用). 而另一疏水团 A2 可以用来解释化合物活性的差异. 将训练集中活性最高的化合物38与药效团进行叠加(图4),发现它的结构与

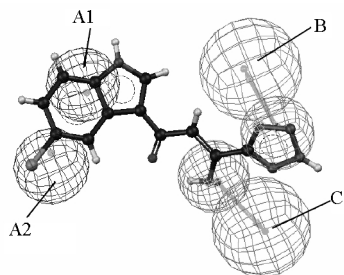


图2 药效团与 5-CITEP 的叠合图

Fig.2 Mapping of pharmacophores onto 5-CITEP

A (A1, A2): hydrophobe; B: hydrogen bond acceptor;
C: hydrogen bond donor

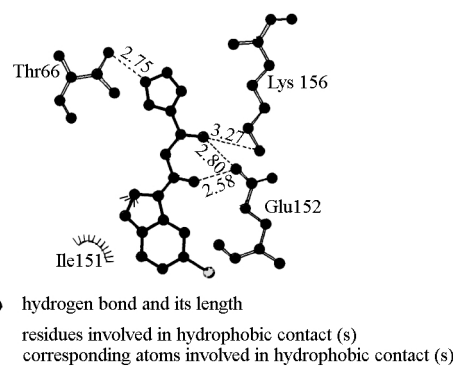


图3 5-CITEP 与整合酶的结合模式简图

Fig.3 The binding mode of 5-CITEP to the integrase

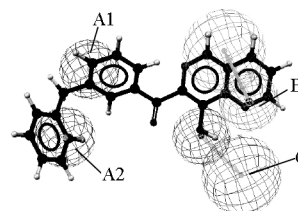


图4 药效团与化合物38的叠合图

Fig.4 Mapping of pharmacophores onto molecule 38

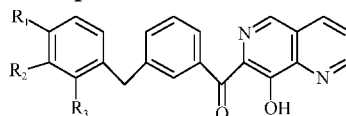
A (A1, A2): hydrophobe; B: hydrogen bond acceptor;
C: hydrogen bond donor

四个药效团特征完全吻合,其它能够占据A2疏水团的抑制剂也都表现出良好的生物活性. 而化合物18与化合物38相比,由于缺少了一个疏水团,活性就降低了两个数量级. 因此这两个疏水团都具有重要的作用. 同时该药效团与前面得出的MFA三维QSAR模型的结果也是相符合的,以化合物38为例,其苯环区为疏水团,正是MFA模型中CH₃探针出现频率高的区域,同时二酮酸骨架作为氢键供体和受体,也正是MFA模型中H⁺探针出现频率高的区域.

3 基于构效关系结果的分子设计

2D/3D-QSAR 研究结果表明,二酮酸类抑制剂结构当中的二酮酸骨架作为氢键受体和供体应该保留或者等效替换,同时需要有疏水基团如芳香环占据两个重要的疏水药效团. 本研究以活性最高的化合物38为母体进行了分子设计和结构修饰,以期得到活性更高的化合物. 由于该化合物的骨架结构与药效团模型符合得很好,所以对该系列化合物的结构修饰可重点放在苯环取代基的选择上. 构效关系表明增加分子的极化率(Apo1)和偶极矩绝对值(Dipole-X)可以提高活性,据此设计了3个新的化合物,分别在苯环的对位、间位和邻位引入-NH₂,目的是为化合物引入新的极性中心,增大偶极矩,并对化合物的活性进行了预测(见表3). 根据 GFA 和 MFA

表3 理论设计的3个化合物的结构和活性预测值
Table 3 Structures and predicted activities of designed compounds



Compound	R ₁	R ₂	R ₃	Dipole-X	RadOfGyration	F _{H₂O}	Apol	pIC ₅₀ (GFA)	pIC ₅₀ (MFA)
a	NH ₂	H	H	-26.50	5.216	-32.19	1.54×10 ⁴	8.346	6.798
b	H	NH ₂	H	-24.83	5.251	-32.19	1.54×10 ⁴	8.048	6.993
c	H	H	NH ₂	-22.30	5.139	-32.18	1.54×10 ⁴	7.996	7.153

模型计算得到的这些化合物的抑制剂活性分别在 7.996–8.346 和 6.798–7.153 之间, 计算结果预示这些化合物可能具有高活性. 这些结果有待今后的实验验证.

4 结论

采用 GFA 和 MFA 两种方法对一系列二酮酸类 HIV-1 整合酶抑制剂分子分别进行二维和三维定量构效关系研究, 所得到的 QSAR 模型通过了显著性和预测能力的检验. 从 GFA 模型中可以看出, 电性描述符(Apol)对活性有重要影响, 意味着抑制剂与金属离子的螯合作用; 同时空间和结构因素也对活性有重要作用. 而 MFA 模型的建立, 既提供了一个具有良好预测性能的 3D-QSAR 模型, 又定性地给出了立体场和静电场的分布特征. 通过三维药效团分析, 阐明了疏水作用对抑制剂活性的重要影响, 并验证了 QSAR 模型的结果. 从多个角度对已报道的二酮酸类 HIV-1 整合酶抑制剂的构效关系进行了研究, 利用该结果进行了分子设计, 在理论上提出了一些具有较高抑制剂活性的新的二酮酸类衍生物, 为实验工作者合成新药提供理论参考.

References

- Jing, N. J.; Clercq, E. D.; Randoi, R. F.; Pallansch, L.; Lackman-Smith, C.; Lee, S.; Hogan, M. F. *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*: 3421
- Neamati, N.; Sunder, S.; Pommier, Y. *Drug Disc. Today*, **1997**, *2*: 487
- Marchand, C.; Zhang, X. C.; Pais, G. C.; Cowansage, K.; Neamati, N.; Burke, T. R.; Pommier, Y. *J. Biol. Chem.*, **2002**, *277*: 12596
- Johnson, A. A.; Marchand, C.; Pommier, Y. *Curr. Topics Med. Chem.*, **2004**, *4*: 1059
- Hazuda, D. J.; Felock, P.; Witmer, M.; Wolfe, A.; Stillmock, K.; Grobler, J. A.; Espeseth, A.; Gabryelski, L.; Schleif, W.; Blau, C.; Miller, M. D. *Science*, **2000**, *287*: 646
- Grobler, J. A.; Stillmock, K.; Hu, B.; Witmer, M.; Felock, P.; Espeseth, A. S.; Solfe, A.; Egberson, M.; Bourgeois, M.; Bourgeois, M.; Melamed, J.; Wai, J. S.; Young, S.; Vacca, J.; Hazuda, D. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, *99*: 6661
- Pais, G. C. G.; Zhang, X. C.; Marchand, C.; Neamati, N.; Cowansage, K.; Svarovskaia, E. S.; Pathak, V. K.; Tang, Y.; Nicklaus, M.; Pommier, Y.; Burke, T. R. *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*: 3184
- Barreca, M. L.; Ferro, S.; Rao, A.; Luca, L. D.; Zappala, M.; Monforte, A.; Debyser, Z.; Witvrouw, M.; Chimirri, A. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*: 7084
- Rogers, D.; Hopfinger, A. J. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1994**, *34*: 854
- Cerius2 4.10 [CP] Accelrys Inc.; San Diego, CA, 1999, USA
- Catalyst 4.0 [CP] Accelrys Inc.; San Diego, CA, 2002, USA
- Zhang, X.; Pais, G.; Svarovskaia, E. S.; Marchand, C.; Johnson, A. A.; Karki, R. G.; Nicklaus, M. C.; Pathak, V. K.; Pommier, Y.; Burke, T. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*: 1215
- Zhang, X.; Marchand, C.; Pommier, Y.; Burke, T. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*: 1205
- Wai, J. S.; Egbertson, M. S.; Payne, L. S.; Fisher, T. E.; Embrey, M. W.; Tran, L. O.; Melamed, J. Y.; Langford, H. M.; Guare, J. P.; Zhuang, L.; Grey, V. E.; Vacca, J. P.; Holloway, M. K.; Naylor-Olsen, A. M.; Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Wolfe, A. L.; Stillmock, K. A.; Schleif, W. A.; Gabryelski, L. J.; Young, S. D. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*: 4923
- Zhuang, L.; Wai, J. S.; Embrey, M. W.; Fisher, T. E.; Egbertson, M. S.; Payne, L. S.; Guare, J. P.; Vacca, J. P.; Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Wolfe, A. L.; Stillmock, K. A.; Witmer, M. V.; Moyer, G.; Schleif, W. A.; Gabryelski, L. J.; Leonard, Y. M.; Lynch, J. J.; Michelson, S. R.; Young, S. D. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*: 453
- Rappe, A. K.; Casewit, C. J.; Colwell, K. S.; Goddaard, W. A.; Skiff, W. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*: 10024
- Murtaugh, F. *Comp. J.*, **1983**, *26*: 354
- Wallace, A. C.; Laskowski, R. A.; Thornton, J. M. *Prot. Eng.*, **1995**, *8*: 127
- Neamati, N.; Turpin, J. A.; Winslow, H. E.; Christensen, J. L.; Williamson, K.; Orr, A.; Rice, W. G.; Pommier, Y.; Garofalo, A.; Brizzi, A.; Campiani, G.; Fiorini, I.; Nacci, V. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*: 3334
- Dayam, R.; Detig, F. X.; Neamati, N. *Med. Res. Rev.*, **2006**, *26*: 271
- Goldrug, Y.; Craigie, R.; Gerson, H.; Fujiwara, T.; Yoshinaga, T.; Fujishita, T.; Sugimoto, H.; Endo, T.; Murai, H.; David, R. D. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1999**, *96*: 13040