

УДК 577.152.161; 577.151.02

Поиск ингибиторов лактатдегидрогеназы А человека с использованием компьютерного моделирования

Д. К. Нилов^{1,2*}, Е. А. Прохорова², В. К. Швядас^{1,2}¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 73

*E-mail: nilov@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию 10.12.2014

РЕФЕРАТ Изоформа А лактатдегидрогеназы человека играет важную роль в жизнеобеспечении опухолевых клеток с анаэробным метаболизмом, поэтому поиск эффективных ингибиторов фермента является перспективным направлением создания новых лекарственных препаратов. С целью выявления новых ингибиторов, конкурентных по отношению к субстрату и к кофактору, созданы полноатомные модели лактатдегидрогеназы А (со связанной молекулой NADH и без нее), разработаны структурные критерии отбора потенциальных ингибиторов и проведен компьютерный скрининг библиотеки низкомолекулярных соединений. Это позволило обнаружить потенциальный ингибитор STK381370, положение которого стабилизировано дополнительными взаимодействиями с петлей 96–111, обеспечивающей переход из открытой конформации в закрытую.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА докинг, ингибитор, лактатдегидрогеназа, молекулярное моделирование.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ЛДГ – лактатдегидрогеназа; ЛДГ-А – изоформа А лактатдегидрогеназы; 88N – название ингибитора, представленное в кристаллической структуре 4ajr.

ВВЕДЕНИЕ

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент, превращающий пируват в лактат на последнем этапе анаэробного гликолиза. Принимая во внимание особенности энергетического метаболизма опухолей, связанные с активацией гликолиза и снижением работы митохондриальной дыхательной цепи (так называемый эффект Варбурга) [1], ЛДГ человека рассматривается как фермент, важный для пролиферации опухолевой ткани и перспективная мишень для терапии опухолей. Одна из причин усиления гликолитической активности в опухолевых клетках – повышенный уровень экспрессии изоформы А ЛДГ (ЛДГ-А) [2, 3]. Селективное ингибирование ЛДГ-А способно, таким образом, эффективно подавить синтез АТФ в опухолевых клетках и способствовать их гибели [4–6]. Отдельную задачу представляет обеспечение селективности в отношении изоформ фермента А и В (изоформа из сердечной мышцы), которые обладают высоким структурным сходством [7]. Доступные

кристаллографические структуры ЛДГ-А человека, а также ясное представление о строении активного центра и механизме катализа служат хорошей предпосылкой поиска и оптимизации ингибиторов.

ЛДГ-А состоит из четырех субъединиц, каждая из которых содержит активный центр. Сначала с субъединицей связывается кофермент NADH, затем молекула пирувата. Среди участвующих в связывании аминокислотных остатков можно выделить Arg168, боковая цепь которого образует вилочковое взаимодействие с карбоксильной группой пирувата [8]. В ходе реакции происходит перенос гидрид-иона с NADH на карбонильный углерод пирувата и протона с His192 на карбонильный кислород. Важную роль в катализе играет петля 96–111, закрывающая активный центр ЛДГ-А после связывания кофермента и субстрата. Переход в закрытую конформацию обеспечивает образование водородных связей между пируватом и остатком Arg105 для последующей стабилизации переходного состояния и является

лимитирующей стадией восстановления пирувата [9]. Кристаллическая структура тройного комплекса ЛДГ-А человека с NADH и оксаматом (PDB ID 1i10) показала, что после связывания субстратов сохраняется некоторая вероятность существования петли 96–111 в открытой конформации [7]. Две из восьми субъединиц в асимметрической ячейке (D и G) при этом остаются открытыми. Недавно были получены кристаллические структуры апоформы и двойного комплекса NADH с ЛДГ-А человека (PDB ID 4l4r и 4l4s соответственно), которые подтвердили, что связывание кофермента вызывает лишь небольшие локальные изменения структуры петли [10].

Несмотря на то что структура и физико-химические свойства ЛДГ-А хорошо изучены, описаны лишь несколько классов ее ингибиторов, большинство из которых обладают невысокой ингибирующей активностью [11]. Референтным соединением для изучения ингибирования ЛДГ является оксамат – структурный аналог пирувата, с константой ингибирования 26 мкМ по отношению к ЛДГ-А человека [12]. N-замещенные оксаматы также подавляют активность различных изоформ ЛДГ в микромолярном диапазоне концентраций [13, 14]. В недавних публикациях компаний AstraZeneca и ARIAD Pharmaceuticals сообщается о новых ингибиторах ЛДГ-А – производных малоновой и никотиновой кислоты [15, 16]. Эти ингибиторы получены путем линкерного соединения молекулярных фрагментов, взаимодействующих с участками связывания субстрата и кофактора. Фрагменты были обнаружены при помощи высокопроизводительного экспериментального скрининга коллекций соединений, при этом на отдельных этапах дополнительно применялись методы молекулярного моделирования. Установлена кристаллическая структура комплекса одного из наиболее эффективных ингибиторов с ЛДГ-А человека (PDB ID 4a1p), в котором петля 96–111 представлена в закрытой конформации. Интересно, что переход петли в закрытую конформацию не обязателен для эффективного связывания, поскольку известны несколько фермент-ингибиторных комплексов с открытой структурой ЛДГ-А [17–19].

Высокопроизводительное компьютерное моделирование взаимодействий с белком должно облегчить поиск потенциальных ингибиторов в обширных библиотеках соединений. Однако при таком моделировании следует учитывать подвижность петли 96–111, которая может вносить вклад в эффективность связывания ингибитора. Цель настоящей работы состояла в выборе подходящей для моделирования кристаллической структуры ЛДГ-А, построении полноатомной модели фермента и оценке пригодности модели для скрининга потенциальных ингибиторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Модели ЛДГ-А человека были созданы на основе кристаллографической структуры 1i10 [7] с помощью пакетов программ AmberTools 1.2 и Amber 10 (<http://ambermd.org>) [20]. К структуре белка и лигандов добавляли атомы водорода, после этого молекулу белка помещали в ячейку воды типа TIP3P с минимальным расстоянием 12 Å от белка до края ячейки (при этом сохранялись кристаллические молекулы воды). Для нейтрализации заряда в систему добавляли ионы хлора. Минимизацию энергии полученной системы (2500 шагов по методу наискорейшего спуска, затем 2500 шагов по методу сопряженных градиентов) проводили с позиционными ограничениями 2 ккал/(моль × Å²) на тяжелых атомах белка и лигандов. Белок описывали с использованием силового поля *ff99SB* [21]. Для описания молекул NADH использовали параметры из базы данных AMBER parameter database [22], молекул оксамата – параметры из силового поля *GAFF* [23]. Из оптимизированной структуры удаляли молекулы воды и ионы хлора, в результате чего была получена модель 0 ЛДГ-А. Модели 1 и 2 для проведения докинга получены после удаления из модели 0 оксамата и оксамата с NADH соответственно.

Структуры пирувата и известных ингибиторов ЛДГ моделировали в программе ACD/ChemSketch 8.17 [24]. Компьютерный скрининг ингибиторов ЛДГ-А проводили в коммерческой библиотеке низкомолекулярных соединений Vitas-M [25]. Прежде всего структуры соединений протонировали с помощью OpenBabel 2.3.0 [26], и их геометрию оптимизировали с помощью CORINA 3.4 [27]. С использованием программы ACD/Spectrus DB 14.0 [28] из библиотеки отобрали производные пирувата и оксамата, удовлетворяющие правилу Липинского [29].

Молекулярный докинг соединений в активный центр моделей 1 и 2 с фиксированным положением аминокислотных остатков проводили с помощью программы Lead Finder 1.1.15 [30]. Потенциальная решетка (карта потенциала взаимодействия в активном центре) была построена для субъединицы А модели белка таким образом, чтобы охватить область связывания оксамата (в случае модели 1) или область связывания оксамата и NADH (в случае модели 2). Для этого вокруг указанных лигандов (координаты которых заимствованы из модели 0) строили минимальную по размеру решетку, и затем ее стороны сдвигали на 6 Å от центра, чтобы охватить близлежащее пространство. При оценке энергии связывания лиганда с белком учитывали Ван-дер-Ваальсово взаимодействие, наличие водородных связей, электростатическое взаимодействие, а также энтропийные эффекты, связанные с десольватацией и фиксацией

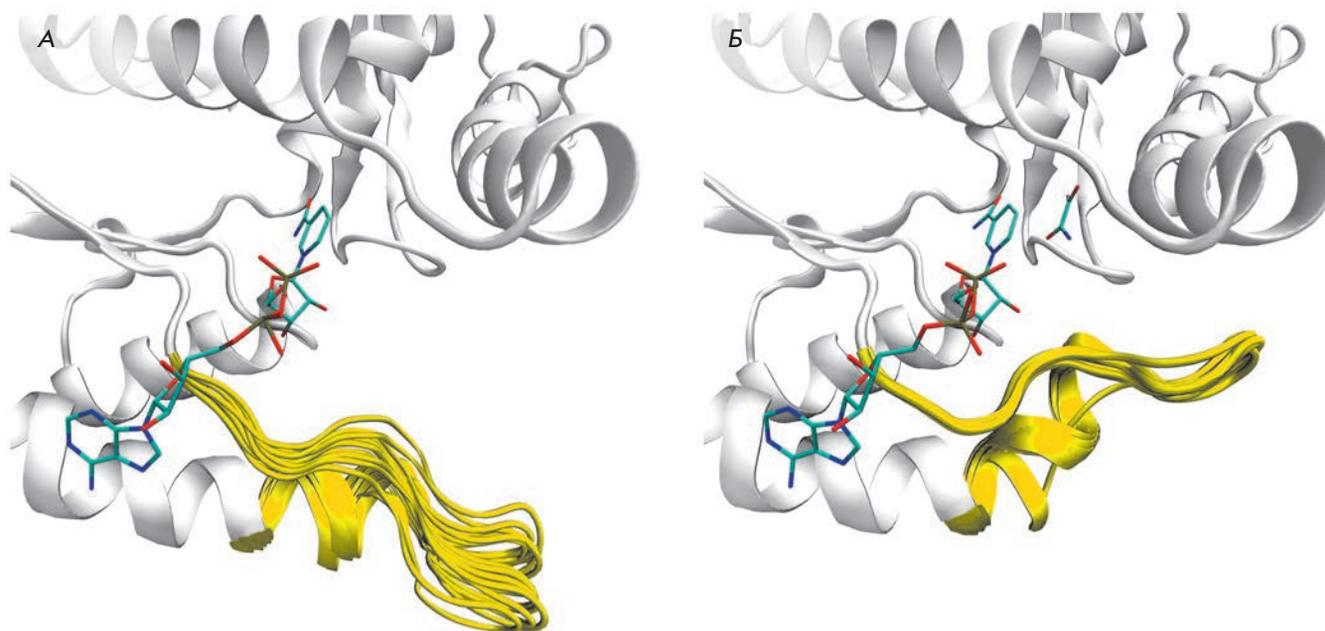


Рис. 1. Открытая (А) и закрытая (Б) конформации ЛДГ-А человека по данным рентгеноструктурного анализа. Петля 96–111 показана желтым цветом, позиции молекул NADH и оксамата раскрашены по атомам. Ансамбль открытых конформаций петли 96–111 получен путем наложения отдельных субъединиц из структур 4jnk (А, С, D), 4m49 (А–D), 4l4r (А, Н), 4l4s (А, Н), 4qo7 (А, С, D), 4qo8 (А, С, D) по C^{α} -атомам. Ансамбль закрытых конформаций получен путем наложения субъединиц из структур 1i10 (А–С, Е, F, Н), 4ajr (А–D)

торсионных углов. Поиск позиции соединений проводили с использованием генетического алгоритма в режиме «extra precision». Для расчета среднеквадратичного отклонения позиции ингибитора в модели использовали референсные координаты соединений из структур 1i10 и 4ajr (субъединица А). Автоматическую структурную фильтрацию комплексов осуществляли путем отбраковки структур, в которых расстояние между углеродом карбоксильной группы лиганда и углеродом гуанидиновой группы Arg168 составляло более 4.5 Å.

Визуализацию, наложение и анализ структур осуществляли с помощью программ VMD 1.8.6 [31] и Swiss-PdbViewer 4.1.0 [32].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор кристаллической структуры

В базе данных Protein Data Bank представлены следующие структуры ЛДГ-А человека: апоформа (PDB ID 4l4r), двойной комплекс с NADH (4l4s), комплексы с ингибиторами в открытой (4jnk, 4m49, 4qo7, 4qo8) и в закрытой (1i10, 4ajr) конформации. Чтобы проанализировать конформационное пространство подвижной петли 96–111, мы наложили отдельные субъединицы из этих структур на субъединицу

А из структуры 1i10 по C^{α} -атомам. Сравнение показало, что в открытой конформации петля может быть расположена различным образом, причем даже в пределах одного тетрамера (рис. 1А). Так, при наложении субъединиц из структуры апоформы 4l4r среднее квадратичное отклонение по C^{α} -атомам петли составляет 2.09 Å. В закрытой конформации, напротив, петля фактически находится в одном положении, небольшое отклонение имеет место только в субъединице Е комплекса 1i10 (рис. 1Б).

Целый ансамбль положений петли 96–111 в открытой конформации ЛДГ-А делает затруднительным выбор конкретной структуры для построения модели фермента. В недавней работе по моделированию конформационной подвижности ЛДГ-А было предложено использовать так называемый ансамблевый докинг, когда позицию потенциального ингибитора находят для различающихся структур белка, после чего анализируют набор полученных комплексов [33]. Однако такой подход генерирует большой объем данных, усложняет их анализ и выбор адекватных критериев оценки эффективности потенциальных ингибиторов.

В то же время структура закрытой конформации ЛДГ-А привлекательна для компьютерного поиска ингибиторов четко заданным положением петли 96–

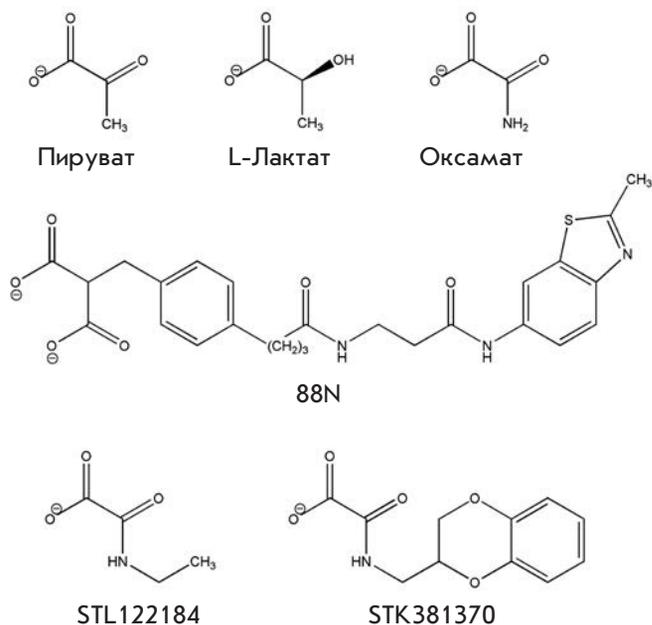


Рис. 2. Химические структуры субстратов и ингибиторов ЛДГ-А человека

111, а пригодность построенной на ее основе модели можно оценить путем докинга субстратов и известных ингибиторов. Поэтому далее мы сосредоточили внимание на структурах ЛДГ-А человека в закрытой конформации 1i10 и 4ajr. Структура 1i10 с разрешением 2.30 Å представляет комплекс с коферментом NADH и оксаматом, а структура 4ajr с разрешением 2.38 Å – комплекс с высокоэффективным ингибитором 88N, занимающим участки связывания субстрата и кофермента. Для моделирования была выбрана структура 1i10, ввиду более высокого разрешения и присутствия координат всех остатков в пределах тетрамера.

Построение полноатомных моделей фермента

К тетрамеру ЛДГ-А, взятому из кристаллической структуры 1i10, добавили атомы водорода. При этом остаток His192 был протонирован по N^{δ1}- и N^{ε2}-атомам имидазольного кольца, а другие ионогенные остатки активного центра (Arg98, Arg105, Arg168) были сконструированы в стандартной, заряженной форме. Для оптимизации координат добавленных атомов водорода проведена минимизация энергии сольватированной структуры. После удаления воды и связанных в активном центре лигандов (NADH и/или оксамата) получили две модели ЛДГ-А для молекулярного докинга. Модель 1, содержащую в активном центре молекулу NADH, для поиска конкурентных в отношении пирувата ингибиторов и мо-

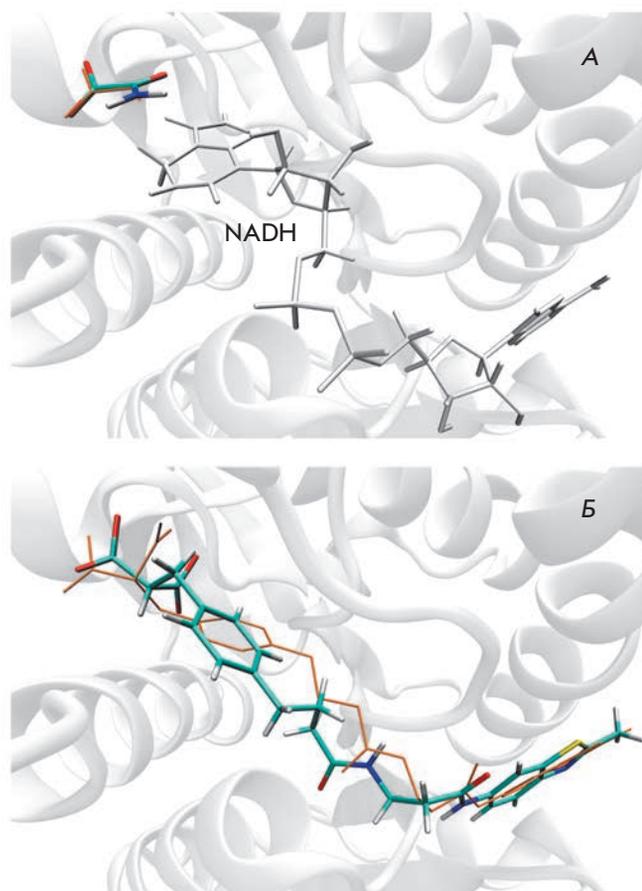


Рис. 3. Положения известных ингибиторов в активном центре ЛДГ-А человека, предсказанные методом молекулярного докинга. А – позиция оксамата в модели 1, содержащей молекулу NADH, $\Delta G^{\text{calc}} = -4.8$ ккал/моль. Б – позиция ингибитора 88N в модели 2, $\Delta G^{\text{calc}} = -9.6$ ккал/моль. Оранжевым цветом показаны координаты соединений в кристаллических структурах 1i10 и 4ajr

дель 2, не содержащую лигандов, для поиска ингибиторов, конкурирующих одновременно за участки связывания пирувата и NADH.

Валидацию моделей проводили путем докинга известных ингибиторов с установленной структурой комплекса с ЛДГ-А человека (рис. 2). В активный центр модели 1 докировали оксамат, структурный аналог субстрата. Среднеквадратичное отклонение предсказанной позиции оксамата от позиции в структуре 1i10 составило 0.24 Å (рис. 3А). При моделировании связывания субстрата показано, что пируват занимает схожую с оксаматом позицию, обеспечивающую необходимые для катализа взаимодействия с Arg105, Arg168, His192 и никотинамидным кольцом NADH. При докировании ингибитора 88N

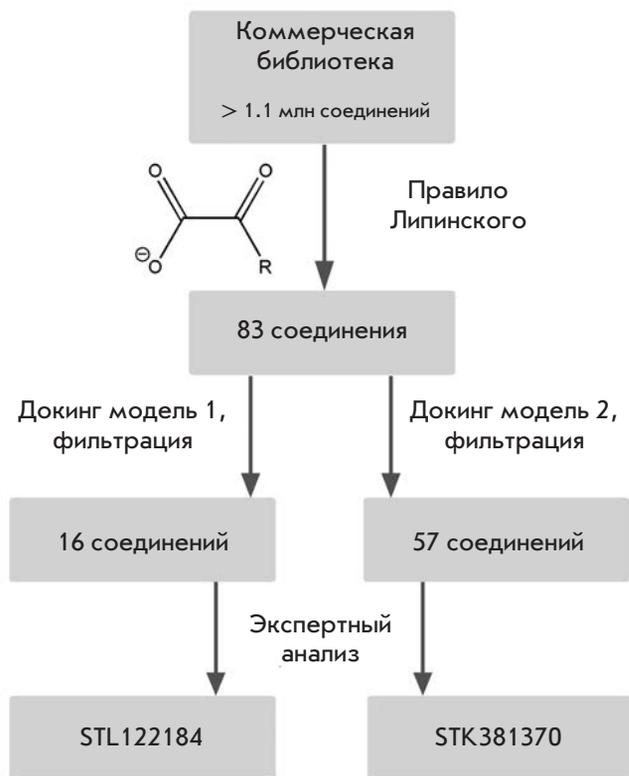


Рис. 4. Схема компьютерного поиска ингибиторов ЛДГ-А человека в коммерческой библиотеке низкомолекулярных соединений

в активный центр модели 2 отклонение от позиции в кристаллической структуре 4ajr составило 1.65 Å (рис. 3Б). Известные ингибиторы ЛДГ-А были правильно ориентированы в активном центре со среднеквадратичным отклонением от референсной позиции в пределах 2 Å, что доказывает эффективность использованного алгоритма докинга.

Учет взаимодействий с петлей 96–111

При компьютерном скрининге с использованием полученных моделей ЛДГ-А следует учитывать взаимодействия субстратов и ингибиторов с петлей 96–111, за счет которых поддерживается закрытая конформация фермента. Чтобы установить водородные связи и гидрофобные контакты, которые возникают при переходе петли 96–111 в закрытую конформацию, мы сравнили структуры апоформы 4l4r и фермент-ингибиторных комплексов 1i10 и 4ajr.

В комплексе 1i10 оксамат, структурный аналог пирувата, образует водородные связи с гуанидиновой группой остатка Arg105. Это взаимодействие с петлей хорошо известно, поскольку важно для стабилизации переходного состояния в ходе превращения

субстрата. Также имеют место водородная связь 3'-ОН-группы никотинамидной части NADH с кислородом остова Ala97, гидрофобный контакт между C2'- и C3'-атомами никотинамидной части NADH и C^β-атомом боковой цепи Arg98, электростатическое взаимодействие между пирофосфатной группой NADH и гуанидиновой группой Arg98 (таблица). В комплексе 4ajr карбоксильные группы ингибитора 88N взаимодействуют с Arg105 схожим с оксаматом образом, кроме того, одна из карбоксильных групп образует водородную связь с боковой цепью Gln99. C21-атом метиленовой группы и C27-атом бензольного кольца ингибитора образуют гидрофобный контакт с C^β-атомом Arg98. При этом следует отметить отсутствие сближения полярных групп ингибитора с гуанидиновой группой Arg98. Перечисленные водородные связи, электростатические взаимодействия и гидрофобные контакты с петлей 96–111 представлены в полученных методом докинга комплексах с пируватом, оксаматом, ингибитором 88N и могут быть использованы в качестве структурных критериев отбора потенциальных ингибиторов ЛДГ-А в ходе компьютерного скрининга.

Компьютерный скрининг ингибиторов

При исследовании пригодности созданных моделей ЛДГ-А для скрининга новых ингибиторов из коммерческой библиотеки были отобраны 83 производных пирувата и оксамата (α-оксокарбоновые кислоты и их соли), удовлетворяющих правилу Липинского. Данное правило определяет диапазон физико-химических параметров, которым характеризуется большинство известных лекарственных средств: молекулярная масса ≤ 500, log P ≤ 5, доноры водородной связи ≤ 5, акцепторы водородной связи ≤ 10. После докинга выбранных соединений в активный центр моделей 1 и 2 и структурной фильтрации из дальнейшего рассмотрения были исключены производные, не образующие вилочкового взаимодействия с остатком активного центра Arg168 (это взаимодействие ключевое для связывания пирувата и оксамата, поэтому должно быть свойственно селективным ингибиторам). При экспертном анализе оставшихся структур отбирали соединения, способные образовать дополнительные взаимодействия с белком (водородные связи и гидрофобные контакты). При этом необходимым условием для отбора соединения в качестве потенциального ингибитора было наличие хотя бы одного (для модели 1) или двух (для модели 2) взаимодействий с остатками петли 96–111 из таблицы. В результате для моделей ЛДГ-А 1 и 2 были отобраны соединения STL122184 ($\Delta G^{\text{calc}} = -4.9$ ккал/моль) и STK381370 ($\Delta G^{\text{calc}} = -7.9$ ккал/моль) соответственно (рис. 2, 4).

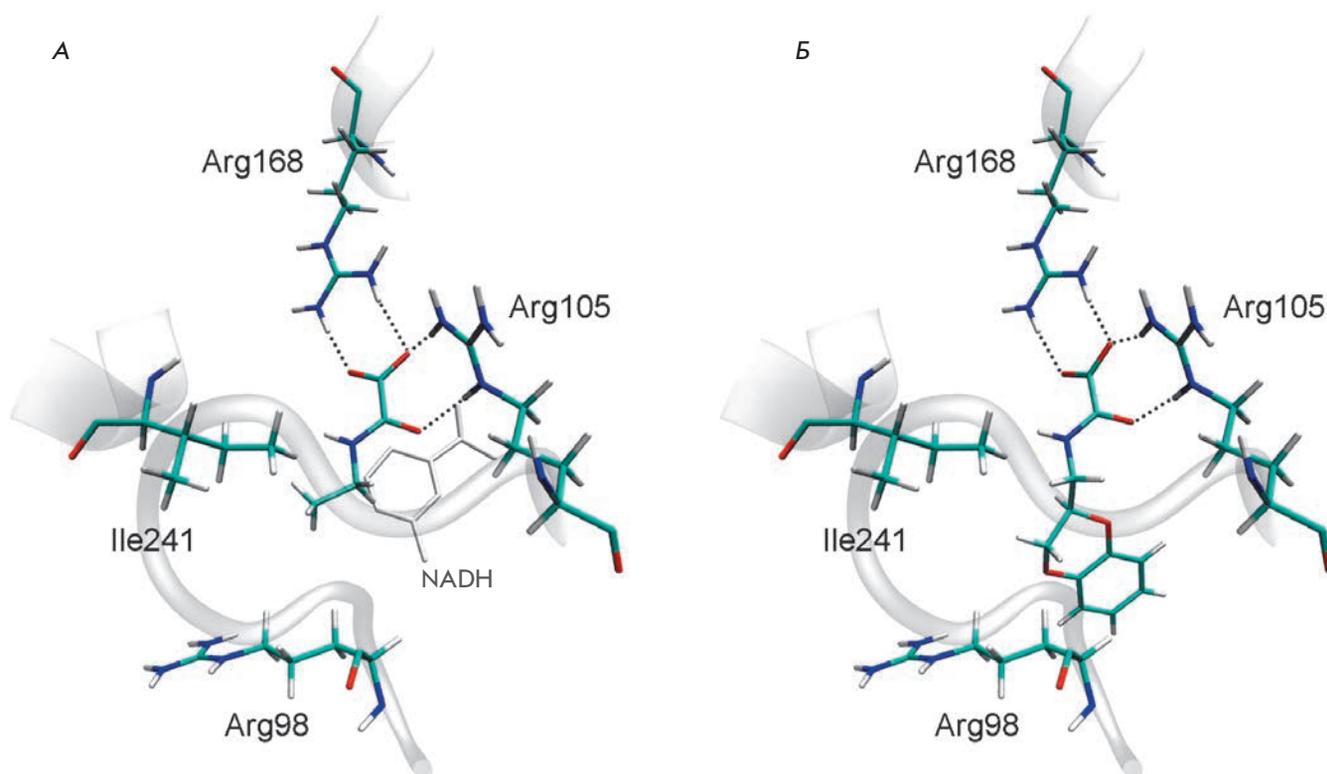


Рис. 5. Позиции потенциальных ингибиторов в активном центре ЛДГ-А человека, найденные в результате компьютерного скрининга коммерческой библиотеки соединений. А – позиция соединения STL122184 в модели 1. Б – позиция соединения STK381370 в модели 2. На рисунках показаны остатки подвижной петли 96–111 Arg98 и Arg105

Ранее было показано, что соединение STL122184 (N-этилоксаминовая кислота) является конкурентным в отношении пирувата ингибитором ЛДГ-А из скелетных мышц мышей ($K_i = 140 \text{ мкМ}$) [34]. В полученной модели комплекса STL122184 образует вилочковое взаимодействие с гуанидиновой группой Arg168, водородные связи с Arg105, а также гидрофобный контакт между этильным заместителем и боковой цепью Ile241 (рис. 5А). Следует отметить, что ближайшие структурные аналоги STL122184 – STK499896 (N-изопропилоксаминовая кислота) и STK501930 (N-пропилоксаминовая кислота) были отбракованы в ходе компьютерного скрининга ввиду отсутствия вилочкового взаимодействия с остатком Arg168 и по причине неблагоприятного контакта гидрофобного заместителя с остовом Thr247 соответственно. Экспериментальные данные по ингибированию ЛДГ-А мышей также свидетельствуют о низкой активности этих соединений [34, 35].

Ингибиторные свойства второго отобранного соединения, STK381370, не описаны. Этот потенциальный ингибитор ЛДГ-А образует необходимые взаимодействия, перечисленные выше для модели 2:

Взаимодействия между петлями 96–111, никотинамидной частью NADH, оксаматом (ОХМ) и ингибитором 88N в закрытой конформации. Расстояния до NADH и оксамата усреднены по субъединицам А–С, F, H структуры 1i10, до ингибитора 88N – по субъединицам А–D структуры 4ajp

Взаимодействие	Расстояние, Å	
	1i10	4ajp
Ala97:O ... NADH:O3'	2.88	
Arg98:CB ... NADH:C2'	3.71	
Arg98:CB ... NADH:C3'	3.56	
Arg98:NH1 ... NADH:P	4.0	
Arg105:NH2 ... ОХМ:O _{карбоксил}	2.86	
Arg105:NE ... ОХМ:O _{карбонил}	2.93	
Arg98:CB ... 88N:C21		4.38
Arg98:CB ... 88N:C27		4.45
Gln99:NE2 ... 88N:O _{карбоксил2}		2.72
Arg105:NH2 ... 88N:O _{карбоксил1}		3.14
Arg105:NE ... 88N:O _{карбоксил2}		3.04

вилочковое взаимодействие с Arg168, водородные связи с Arg105 и гидрофобный контакт с боковой цепью Arg98 (рис. 5Б). Кроме того, полициклическая часть STK381370 может образовывать водородную связь с боковой цепью Asn137 и гидрофобный контакт с Val30.

ВЫВОДЫ

Мобильность петли 96–111, участвующей в формировании активного центра ЛДГ-А человека, играет важную роль в механизме эффективного связывания ингибиторов. Анализ кристаллографических данных показал, что в открытой конформации петля может располагаться различным образом. При переходе в закрытую конформацию положение петли 96–111 стабилизируется за счет водородных связей и ги-

дрофобных контактов остатков Ala97, Arg98, Gln99 и Arg105 с субстратами и ингибиторами.

На основе кристаллической структуры тетрамера 1i10 для поиска новых ингибиторов ЛДГ-А созданы полноатомные модели ЛДГ-А человека (с молекулой NADH и без нее), показана их пригодность для скрининга библиотеки низкомолекулярных соединений. В качестве структурных критериев отбора потенциальных ингибиторов выбрано наличие водородных связей и гидрофобных контактов с петлей 96–111. Это позволило обнаружить потенциальный ингибитор STK381370, положение которого стабилизировано дополнительными взаимодействиями с остатками Arg105 и Arg98. ●

Работа поддержана РФФИ (грант № 14-08-01251).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Warburg O. // *Science*. 1956. V. 124. P. 269–270.
- Goldman R.D., Kaplan N.O., Hall T.C. // *Cancer Res*. 1964. V. 24. P. 389–399.
- Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Bougioukas G., Didilis V., Gatter K.C., Harris A.L. // *Br. J. Cancer*. 2003. V. 89. P. 877–885.
- Fantini V.R., St-Pierre J., Leder P. // *Cancer Cell*. 2006. V. 9. P. 425–434.
- Le A., Cooper C.R., Gouw A.M., Dinavahi R., Maitra A., Deck L.M., Royer R.E., Vander Jagt D.L., Semenza G.L., Dang C.V. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. P. 2037–2042.
- Miao P., Sheng S., Sun X., Liu J., Huang G. // *IUBMB Life*. 2013. V. 65. P. 904–910.
- Read J.A., Winter V.J., Eszes C.M., Sessions R.B., Brady R.L. // *Proteins*. 2001. V. 43. P. 175–185.
- Dunn C.R., Wilks H.M., Halsall D.J., Atkinson T., Clarke A.R., Muirhead H., Holbrook J.J. // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*. 1997. V. 332. P. 177–184.
- Gerstein M., Chothia C. // *J. Mol. Biol*. 1991. V. 220. P. 133–149.
- Dempster S., Harper S., Moses J.E., Dreveny I. // *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr*. 2014. V. 70. P. 1484–1490.
- Granchi C., Bertini S., Macchia M., Minutolo F. // *Curr. Med. Chem*. 2010. V. 17. P. 672–697.
- Eszes C.M., Sessions R.B., Clarke A.R., Moreton K.M., Holbrook J.J. // *FEBS Lett*. 1996. V. 399. P. 193–197.
- Yu Y., Deck J.A., Hunsaker L.A., Deck L.M., Royer R.E., Goldberg E., Vander Jagt D.L. // *Biochem. Pharmacol*. 2001. V. 62. P. 81–89.
- Choi S.R., Beeler A.B., Pradhan A., Watkins E.B., Rimoldi J.M., Tekwani B., Avery M.A. // *J. Comb. Chem*. 2007. V. 9. P. 292–300.
- Ward R.A., Brassington C., Breeze A.L., Caputo A., Critchlow S., Davies G., Goodwin L., Hassall G., Greenwood R., Holdgate G.A., et al. // *J. Med. Chem*. 2012. V. 55. P. 3285–3306.
- Kohlmann A., Zech S.G., Li F., Zhou T., Squillace R.M., Commodore L., Greenfield M.T., Lu X., Miller D.P., Huang W.S., et al. // *J. Med. Chem*. 2013. V. 56. P. 1023–1040.
- Dragovich P.S., Fauber B.P., Corson L.B., Ding C.Z., Eigenbrot C., Ge H., Giannetti A.M., Hunsaker T., Labadie S., Liu Y., et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2013. V. 23. P. 3186–3194.
- Fauber B.P., Dragovich P.S., Chen J., Corson L.B., Ding C.Z., Eigenbrot C., Giannetti A.M., Hunsaker T., Labadie S., Liu Y., et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2013. V. 23. P. 5533–5539.
- Dragovich P.S., Fauber B.P., Boggs J., Chen J., Corson L.B., Ding C.Z., Eigenbrot C., Ge H., Giannetti A.M., Hunsaker T., et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2014. V. 24. P. 3764–3771.
- Case D.A., Darden T.A., Cheatham T.E., III, Simmerling C.L., Wang J., Duke R.E., Luo R., Crowley M., Walker R.C., Zhang W., et al. // *AMBER 10*. University of California, San Francisco. 2008.
- Hornak V., Abel R., Okur A., Strockbine B., Roitberg A., Simmerling, C. // *Proteins*. 2006. V. 65. P. 712–725.
- Walker R.C., de Souza M.M., Mercer I.P., Gould I.R., Klug D.R. // *J. Phys. Chem. B*. 2002. V. 106. P. 11658–11665.
- Wang J., Wolf R.M., Caldwell J.W., Kollman P.A., Case D.A. // *J. Comput. Chem*. 2004. V. 25. P. 1157–1174.
- ACD/ChemSketch Freeware, version 8.17. Advanced Chemistry Development, Inc., www.acdlabs.com. 2005.
- ST(K/L) collection. Vitas-M Laboratory, Ltd, www-vitasm-lab.com. 2012.
- O’Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G.R. // *J. Cheminform*. 2011. V. 3. P. 33.
- Sadowski J., Gasteiger J., Klebe G. // *J. Chem. Inf. Comput. Sci*. 1994. V. 34. P. 1000–1008.
- ACD/Spectrus DB, version 14.01. Advanced Chemistry Development, Inc., www.acdlabs.com. 2012.
- Lipinski C.A. // *Drug Discov. Today Technol*. 2004. V. 1. P. 337–341.
- Stroganov O.V., Novikov F.N., Stroylov V.S., Kulkov V., Chilov G.G. // *J. Chem. Inf. Model*. 2008. V. 48. P. 2371–2385.
- Humphrey W., Dalke A., Schulten K. // *J. Mol. Graphics*. 1996. V. 14. № 1. P. 33–38.
- Guex N., Peitsch M.C. // *Electrophoresis*. 1997. V. 18. P. 2714–2723.
- Buonfiglio R., Ferraro M., Falchi F., Cavalli A., Masetti M., Recanatini M. // *J. Chem. Inf. Model*. 2013. V. 53. P. 2792–2797.
- Rodríguez-Pérez L., Chena-Taboada M.A., Cabrera-Hernández A., Cordero-Martínez J., Wong C. // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*. 2011. V. 26. P. 579–586.
- Wong C., Rodríguez-Pérez L., Nogueira B., Pérez A., Baeza I. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1997. V. 1343. P. 16–22.