

• 研究论文 •

## Bcl-2 蛋白与 Bcl-x<sub>L</sub> 蛋白活性腔比较和底物选择性

郑灿辉 周有骏\* 朱 驹 陈 军 李耀武 盛春泉  
宋云龙 蒋庆锋 吕加国

(第二军医大学药学院药物化学教研室 上海 200433)

**摘要** Bcl-2 蛋白与 Bcl-x<sub>L</sub> 蛋白是 Bcl-2 蛋白家族抗凋亡亚家族最主要的两个成员, 是目前抗肿瘤药物研究很具前景的新靶点. 两者具有类似的结构和功能, 但在很多方面也存在差异, 如高表达的肿瘤谱有所不同; 与其他抗凋亡亚家族成员的结合具有一定的选择性; 在不同凋亡刺激下对细胞的保护作用也有较大差异等. 本文通过对两者的氨基酸序列联配和活性腔结构比较, 表面静电性质的计算和比较, 及对几类底物选择性的研究, 明确了它们活性腔特性的主要差异所在及对底物选择性的影响. 研究结果为理解 Bcl-2 蛋白与 Bcl-x<sub>L</sub> 蛋白功能差异的分子机制及设计合成具有良好选择性的小分子抑制剂打下了坚实基础.

**关键词** Bcl-2 蛋白家族; 序列联配; 结构比较; 表面静电势; 分子对接

## Comparison between the Active Sites of Bcl-2 and Bcl-xL Proteins and Their Substrate Binding Selection

ZHENG, Can-Hui ZHOU, You-Jun\* ZHU, Ju CHEN, Jun LI, Yao-Wu  
SHENG, Chun-Quan SONG, Yun-Long JIANG, Qing-Feng LÜ, Jia-Guo

(Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

**Abstract** Bcl-2 and Bcl-x<sub>L</sub> proteins are main members of Bcl-2 protein family, which are new targets of anticancer drugs with bright prospect. These two proteins have similar structure and functions, while differ in many aspects, such as the tumor spectra with high expression of these two proteins, binding selection with other proapoptosis subfamily members, and cell protection function under various apoptosis stimulations. By sequence aligning, structure and surface electrostatic potential comparing of the active sites in Bcl-2 and Bcl-x<sub>L</sub> proteins, the dominant differences between them are identified. Then the effect of these differences on substrates binding selection is showed by studies of some substrates for example. The result of this paper provides good basis for understanding molecular mechanism of the function difference between Bcl-2 and Bcl-x<sub>L</sub> proteins, and design, synthesis of small molecule inhibitors with good selection.

**Keywords** Bcl-2 protein family; sequence alignment; structure comparison; surface electrostatic potential; molecular docking

Bcl-2 蛋白家族在细胞凋亡通路起重要的调节作用. 研究表明其抗凋亡亚家族成员通过其表面的疏水凹槽与促凋亡亚家族成员的 Bcl-2 蛋白家族保守区域(BH)3 结合而发生相互作用, 调节细胞正常的生理凋亡. 抗凋

亡亚家族成员的过度表达阻止细胞正常的生理凋亡, 是肿瘤产生及发生耐药的重要原因之一<sup>[1,2]</sup>. 因此抑制抗凋亡亚家族成员的过度表达, 干扰两者的结合将促进肿瘤细胞的凋亡, 是抗肿瘤治疗的新策略.

\* E-mail: zhouyoujun2006@yahoo.com.cn; Tel.: 021-25070383.

Received July 11, 2006; revised September 11, 2006; accepted September 19, 2006.

第二军医大学博士创新基金(2005 年度)资助项目.

Bcl-2 蛋白与 Bcl-x<sub>L</sub> 蛋白是抗凋亡亚家族最主要的两个成员, 两者具有类似的结构和功能, 但在很多方面存在差异, 如: 二者高表达的肿瘤谱有所不同<sup>[3]</sup>; 二者与线粒体外膜的结合方式不同<sup>[4,5]</sup>; 在不同凋亡刺激下, 二者对细胞的保护作用有较大差异<sup>[6~8]</sup>; 二者在体内与其他抗凋亡亚家族成员的结合也具有一定的选择性<sup>[9,10]</sup>. 然而, 存在这些差异的分子机制及结构因素尚未非常清楚. 大部分现有的抗肿瘤 Bcl-2 蛋白抑制剂对二者也缺乏好的选择性. 因此, 阐明存在差异的分子机制, 尤其是二者蛋白的结构差异因素, 对于设计高选择性的小分子蛋白抑制剂, 研制高效、低毒的抗肿瘤药物<sup>[11]</sup>具有重要意义.

本文首先通过对两者活性腔的氨基酸序列和结构的比较及表面静电性质的计算和比较, 明确它们活性腔特性的主要差异所在; 而后进行 Bad 蛋白作用面静电性质计算, 对两个蛋白与同一小分子底物结合的复合物结构的比较研究及一个已知高选择性抑制剂与 Bcl-2 的柔性对接研究, 通过这些具体实例进一步明确上述活性腔特性的差异对底物选择性的影响. 本研究结果为理解 Bcl-2 蛋白与 Bcl-x<sub>L</sub> 蛋白功能差异的分子机制及设计合成具有良好选择性的小分子抑制剂打下了坚实基础.

## 1 材料与方法

本文采用的 Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub>, Bad 氨基酸序列数据(编号分别为 P10415, Q07817, Q92934)从 SWISSPROT 数据库中获取. 本文采用的结构 1GJH<sup>[12]</sup>, 1LXL<sup>[13]</sup>, 1G5J<sup>[14]</sup>, 1YSW, 1YSN<sup>[15]</sup>从 Brookhaven Protein Databank (PDB) 数据库中获取. 所有的计算在 Origin300 服务器上由 SYBYL6.9<sup>[16]</sup>, InsightII2000<sup>[17]</sup>软件包完成.

### 1.1 序列联配

采用 InsightII2000 中 Align2D 模块联配 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 的序列, 确定序列的一致性和相似性. 计算时设置打分矩阵为 Blosum62 和合适的插入罚分和空位延伸罚分值, 并根据已有的经验知识对联配结果进行手工调整.

### 1.2 蛋白结构的简单优化

以上从 PDB 数据库直接获取的结构中存在一定不合理碰撞和张力, 用于进一步研究前我们先对它们进行简单的分子力学能量优化. 优化在 SYBYL 中进行, 能量计算相关参数设置如下: Tripos 力场, 蛋白与肽采用 Kollman\_all 电荷, 小分子抑制剂采用 Gasteiger-Huckel 电荷, 并采用距离依赖的介电常数. 能量优化采用逐步放开的策略, 最终优化至能量梯度收敛于  $41.8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{nm}^{-1}$ .

### 1.3 对应蛋白结构的叠合比较

将 1GJH 与 1LXL 优化后得到的结构模型以靶点蛋白不包括氮末端、碳末端和环区的所有残基(根据序列联配结果 Bcl-2 取 N11-D34, V92-G203; Bcl-x<sub>L</sub> 取 N5-S28, A85-G196)的 C $\alpha$  原子为叠合点进行叠合. 叠合后比较分析两者活性腔的结构差异, 并与序列联配结果相对应. 1YSW, 1YSN 优化后得到的结构模型通过同样的方法叠合后比较其中小分子底物结合模式的异同.

### 1.4 蛋白表面静电性质的计算与显示

蛋白静电势采用 InsightII2000 中 Delphi 模块进行. 体系中溶液的离子强度设为 0.145, 以模拟生理 pH 值下的环境. 蛋白质内部的介电常数设为 2, 其外部溶剂的介电常数设为 80. 计算时通过有限差分近似来求解非线性 Poisson-Boltzmann 方程<sup>[18]</sup>, 反复迭代直到收敛至连续两次得到的静电势值之差小于  $10^{-6}KT/e$  ( $K$  为波尔兹曼常数,  $T$  为绝对温度,  $e$  为电子电荷). 然后用 InsightII2000 计算蛋白的 Connolly 表面, 相应表面点上的静电势用不同颜色及深浅加以标记, 使我们可以直接观察静电势在蛋白表面的分布情况.

### 1.5 Bcl-2 高选择性抑制剂的柔性对接研究

用 SYBYL 构建已知 Bcl-2 高选择性抑制剂 YC137 的分子结构并进行分子力学和动力学优化, 选取代表性低能构象用于下一步的分子对接研究. 以 1GJH 优化后结构模型为对接靶点, 采用 InsightII 的 Affinity 模块进行柔性对接. 对接过程中抑制剂周围  $8 \text{ \AA}$  范围内的所有残基侧链都可以自由移动. 我们以前发现的活性腔中在结合底物时能发生显著诱导契合部分<sup>[19]</sup>的骨架原子在对接过程中也被设定可以在一定的限定下发生移动. 对接时采用了 Affinity 程序提供的溶剂化格点来考虑溶剂效应<sup>[20]</sup>. 对接时采用蒙特卡罗方法搜寻抑制剂在活性腔内的取向空间, 如果得到的酶底物复合物的能量在预设的容许值内则进行优化. 得到的复合物结构模型能量如果在上一个结果能量的预设范围内, 且与之比较 RMSD 大于 1 则接受. 将接受的结构模型进行分子动力学模拟退火, 高温 500 K, 低温 300 K, 降温过程中共分为 100 步, 每步下做 100 fs 的分子动力学模拟, 最终优化 3000 步至收敛. 计算过程中, 采用 cell multipole 模型计算非键相互作用.

## 2 结果与讨论

### 2.1 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 序列联配与活性腔结构比较的结果与讨论

图 1 显示了 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 序列联配的结果, 表明

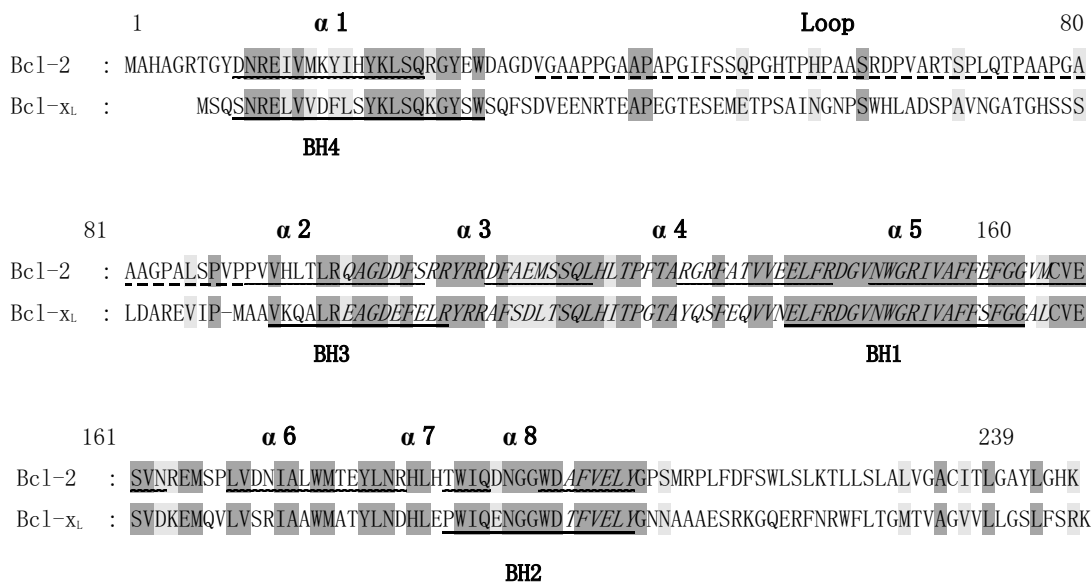


图 1 Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub> 序列联配结果

以深灰色和浅灰色为底色的分别是 Bcl-2 和 Bcl-x<sub>L</sub> 之间相同和相似的残基。序列上标注了 Bcl-2 的序列号和两个蛋白的 α 螺旋和环区所在。序列下方标注了 Bcl-2 同源区 1-4。活性腔周围的残基用斜体表示

Figure 1 Sequence alignment of Bcl-2 and Bcl-x<sub>L</sub>

The identical and similar residues between Bcl-2 and Bcl-x<sub>L</sub> are dark and light gray shaded. The sequence number of Bcl-2, α-helices and loop of two proteins are denoted above the sequence. The Bcl-2 homology (BH) 1-4 regions are denoted under the sequence. The residues around the active site are showed in italic

Bcl-x<sub>L</sub>, Bcl-2 的全长序列一致性为 40.1%, 相似性为 50.9%, 除了对于蛋白发挥抗凋亡功能意义不显著的 Loop 区, 其他部位氨基酸序列具有较高的同源性。根据序列联配结果叠合 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 的自由状态结构 1G5J 与 1LXL, 得到的结果如图 2(主要显示活性腔部分)。

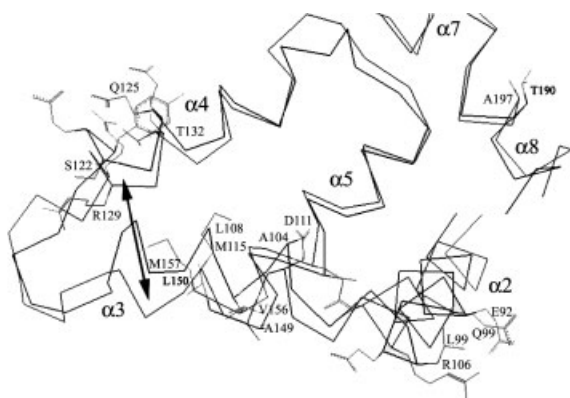


图 2 Bcl-2 和 Bcl-x<sub>L</sub> 活性腔部位的 Ca 叠合图  
浅灰色的是 Bcl-2 的结构

Figure 2 Superimposed Ca representation of active sites in Bcl-x<sub>L</sub> and Bcl-2

The structure of Bcl-2 are colored in light gray

根据叠合的 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 结构可知两者的活性腔都由在空间上互相靠近的 BH1-3, 与 α3, α4 共同构成, 对应序列为 Bcl-2: 99~157, 197~202; Bcl-x<sub>L</sub>: 92~150, 190~195。这部分序列是本文比较分析的重点。总体来说构成

活性腔的残基在 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 之间具有较高的同源性, 特别是 BH1-3 区域, 这个区域中包括了两者对于结合底物共同的关键残基<sup>[19]</sup>。

发生改变的序列很多是静电性质相似的氨基酸替换, 但也有一些差异较大的氨基酸改变, 改变发生最多的部分位于 α3 至 α4 区域。这可能也是两者的活性腔在此区域结构差异最为显著的原因, 活性腔由 α3 至 α4 区域构成的这一端, Bcl-2 的明显比 Bcl-x<sub>L</sub> 的开口大, 如图 2 箭头所示。其中对于结构影响最为明显的氨基酸改变位置是 Bcl-x<sub>L</sub> 的 Y120, 它能与蛋白的 W169, T172 和 Y173 形成疏水作用将活性腔的这一末端往该方向拉, 而 Bcl-2 对应部位静电性质差异很大的 R127 不能形成类似的作用。而从结构比较看在这些氨基酸改变中位于活性腔内部最可能直接影响底物结合选择性的残基为 Bcl-2: D111, R129, T132; 对应 Bcl-x<sub>L</sub>: A104, S122, Q125。另外活性腔其他部位还存在着几处静电性质差异较大的氨基酸改变, 包括 Bcl-2: Q99, R106, A197; 对应 Bcl-x<sub>L</sub>: E92, L108, T190。

除了以上静电性质差异较大的氨基酸改变外, 活性腔周围还有几个疏水残基的改变, 由于体积的变化一定程度上改变了疏水口袋的形状, 包括 Bcl-2: M115, V156, M157; 对应 Bcl-x<sub>L</sub>: L108, A149, L150。以上两个蛋白在活性腔周围的序列差异是导致活性腔特性差异及对底物选择性的基础。

## 2.2 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 表面静电性质计算与比较的结果与讨论

用 InsightII2000 中 Delphi 模块计算得到了优化后的 1G5J 与 1LXL 蛋白结构的静电势, 并将结果映射到分子表面上. 图 3 I, II 是 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 活性腔附近的表面静电势分布. 静电势显示范围为  $-5KT/e$  至  $5KT/e$ , 而静电势的数值大小用深浅表示.

比较两种蛋白的表面静电分布可知, 它们的活性腔中心 B 部位的整体静电势分布较相似, 这也是两者共同的底物结合关键残基分布的主要部位. 但它们在此部位中的一角 D 部位的静电势分布有较大的差异, Bcl-2 中带强负电性, 而 Bcl-x<sub>L</sub> 偏中性. 经分析主要是由 Bcl-2: D111, E152; 对应 Bcl-x<sub>L</sub>: A104, S145 的残基变化引起. 而它们在活性腔两端的 A, C 部位的静电势分布也有明显差异. 在 A 部位 Bcl-2 表面带一定的正电性, 而 Bcl-x<sub>L</sub> 不同, 还分布有一定的负电性, 经分析主要是由 Bcl-2: A113, R127, G128, R129, A131; 对应 Bcl-x<sub>L</sub>: S106, Y120, Q121, S122, E124 的残基变化引起. 在 C 部位 Bcl-x<sub>L</sub> 表面带强负电性, 而 Bcl-2 相应部位负电性较弱, 经分析主要是由 Bcl-2: Q99, S105, R106, A197; 对应 Bcl-x<sub>L</sub>: E92, E98, L99, T190 的残基的变化引起.

## 2.3 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 结合底物选择性的结构基础

### 2.3.1 Bad 蛋白

研究表明 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 在体内都能与多种 Bcl-2 蛋白家族促凋亡亚家族成员结合发挥功能, 但是它们与后者结合能力有差异. 如研究表明 Bad 蛋白与 Bcl-x<sub>L</sub> 的结合要强于 Bcl-2<sup>[9]</sup>. 目前 Bad 的 BH3 肽片段与 Bcl-x<sub>L</sub> 结合复合物的三维结构(1G5J)已经测得. 本文对 Bad 肽片段作用面的表面静电性质进行了计算分析(结果如图 3 III), 发现对应于靶点蛋白活性腔 A 部位的位置 A'部位呈现弱正电性, 与 Bcl-x<sub>L</sub> 的活性腔较匹配, 但与 Bcl-2 的相应部位匹配不佳. 另外对应于靶点蛋白活性腔 D 部位的位置 D'部位中有一处具有较强的负电性, 而 Bcl-2 活性腔相应部位也具有明显负电性, 推测这将不利于它们的结合. 以上静电性质的差异为 Bad 的 BH3 肽片段与 Bcl-2 和 Bcl-x<sub>L</sub> 亲和力的差异提供了可能的解释. 进一步考察 Bad 的 BH3 肽片段氮端延伸部分的一级序列(93-102 FRGRSRSAPP), 发现含多个碱性残基, 虽然不知道这部分序列在结合状态下将形成的确切三维结构, 但预计它们将使 Bad 的作用面呈现强正电性, 而与 Bcl-x<sub>L</sub> 活性腔 A 部位的静电性质相匹配, 这将有助于进一步解释 Bad 蛋白与 Bcl-x<sub>L</sub> 的结合要强于 Bcl-2 的实验事实.

### 2.3.2 N-酰基磺胺类抑制剂

N-酰基磺胺类是一类具有较好生物活性的 Bcl-2 和 Bcl-x<sub>L</sub> 抑制剂<sup>[15]</sup>. 研究者对它们与 Bcl-2 和 Bcl-x<sub>L</sub> 的结合

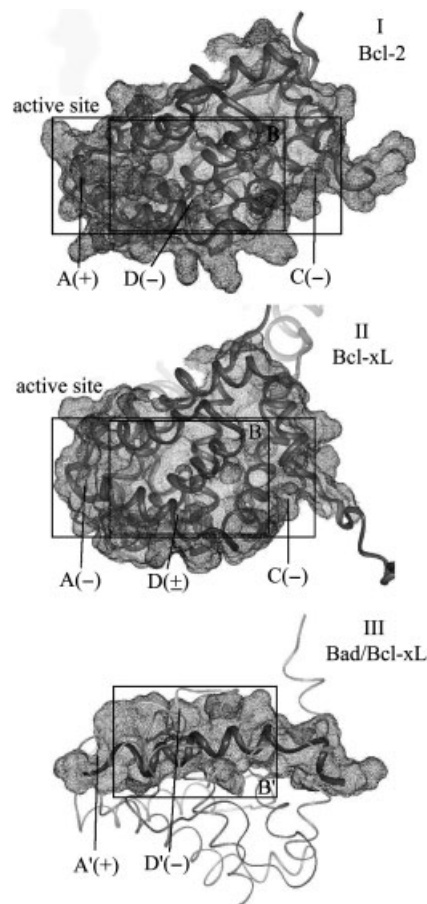


图 3 Bcl-2 (I), Bcl-x<sub>L</sub> (II) 活性腔表面和 Bad 肽片段(III) 作用面静电势分布图

Figure 3 The surface electrostatic potential distribution map of the active site in Bcl-2 (I), Bcl-x<sub>L</sub> (II) and the interaction face of Bad peptide (III) derived from Delphi program

模式有了深入的探索, 测得了某代表活性化合物(结构如图 4)分别与两个蛋白结合的复合物三维结构 1YSW, 1YSN. 为了更清楚它与两个蛋白结合模式的差异, 我们将两个结构进行了叠合, 结果如图 4 所示. 我们发现化合物的 2-苯乙基苯并噻唑部分与两个蛋白的结合模式有明显区别. 与 Bcl-2 结合时, 这部分结构能深入活性腔的 P1 口袋形成强疏水作用, 而与 Bcl-x<sub>L</sub> 结合时这部分结构只能附在活性腔的表面. Bcl-2 在活性腔由  $\alpha 3$  至  $\alpha 4$  区域构成的这一端的明显比 Bcl-x<sub>L</sub> 的开口大, 可能是造成此化合物与 Bcl-2 结合时容易通过诱导契合深入 P1 口袋的原因.

### 2.3.3 抑制剂 YC137

目前已经发现的抑制剂中与 Bcl-2 和 Bcl-x<sub>L</sub> 结合选择性很好的较少, YC137(结构如图 5)是其中一个<sup>[21]</sup>. 为了能对其结合模式和选择性的结构基础有进一步的认识, 我们在考虑活性腔诱导契合的基础上对其与 Bcl-2 进行了柔性对接研究. 得到的总能量最低的抑制剂结合复合物的结构模型如图 5 所示, 结合时 Bcl-2 活性腔相

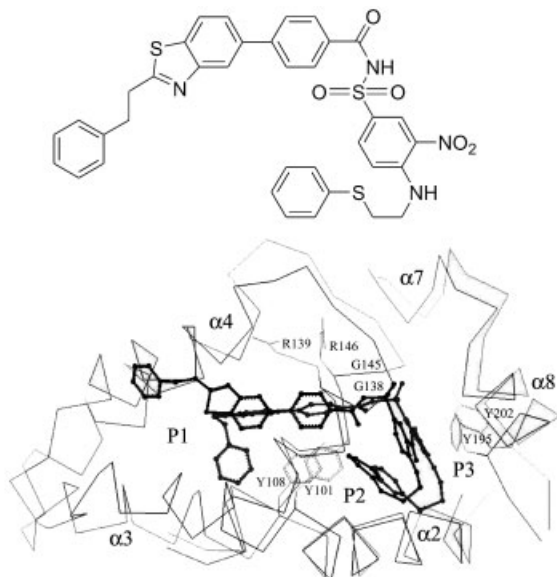


图4 1YSW 和 1YSN 活性腔部位的  $\alpha$  叠合图  
浅灰色的是 1YSW 结构

Figure 4 Superimposed  $\alpha$  representation of active sites in 1YSW and 1YSN

The structure of 1YSW are colored in light gray

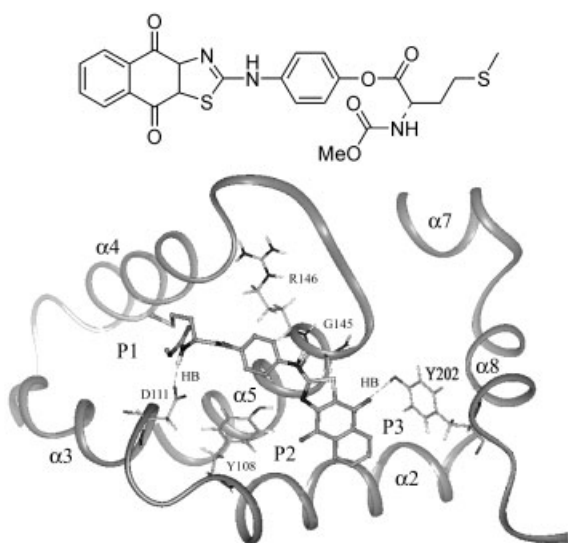


图5 YC137 与 Bcl-2 的结合模式  
氢键(HB)用虚线表示

Figure 5 The binding mode representation of YC137 to Bcl-2  
The hydrogen bonds (HB) are indicated with dotted lines

应的骨架和残基发生了一定的诱导契合, 与 YC137 形成多个疏水和氢键作用。而最值得注意的是 YC137 结构中的甲氧甲酰胺基链上的氮氢与活性腔 D 部位的 D111 形成了氢键结合。而 Bcl-x<sub>L</sub> 中 D111 相应位置是一个丙氨酸, 这可能是引起 YC137 对两个蛋白结合选择性的最重要原因。另外, 和 N-酰基磺胺类代表化合物情况类似, 抑制剂与 Bcl-2 结合时更容易通过诱导契合与 P1 口袋形成更强疏水作用也可能是造成选择性的原因之一。

### 3 结论

通过对 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 活性腔部分的序列和结构比较, 发现在活性腔  $\alpha 3$  至  $\alpha 4$  区域序列变化最大, 结构差异也较大, Bcl-2 在此处的开口明显比 Bcl-x<sub>L</sub> 大。接着通过对两个蛋白活性腔表面静电性质计算和比较, 发现在 A, C, D 部位存在显著的差异。最后通过表面静电性质计算、结构叠合比较及柔性对接等方法详细分析了 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 与底物(Bad 蛋白、N-酰基磺胺类代表化合物及 YC137)的结合, 提出了结合选择性可能的结构基础, 通过这些具体实例进一步说明了上述活性腔特性的差异对底物选择性的影响。本研究明确了 Bcl-2 与 Bcl-x<sub>L</sub> 活性腔特性的差异及其对底物选择性的影响, 为理解两个蛋白功能差异的分子机制及今后设计合成具有良好选择性的小分子抑制剂打下了坚实基础。

### References

- 1 Reed, J. C.; Miyashita, T.; Takayama, S.; Wang, H. G.; Sato, T.; Krajewski, S.; Aime-Sempe, C.; Bodrug, S.; Kitada, S.; Hanada, M. *J. Cell Biochem.* **1996**, *60*, 23.
- 2 Yin, X. M.; Oltvai, Z. N.; Korsmeyer, S. J. *Nature* **1994**, *369*, 321.
- 3 Rutledge, S. E.; Chin, J. W.; Schepartz, A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 479.
- 4 Hsu, Y. T.; Wolter, K. G.; Youle, R. J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1997**, *94*, 3668.
- 5 Chen-Levy, Z.; Nourse, J.; Cleary, M. L. *Mol. Cell Biol.* **1989**, *9*, 701.
- 6 Lee, J. U.; Hosotani, R.; Wada, M.; Doi, R.; Kosiba, T.; Fujimoto, K.; Miyamoto, Y.; Tsuji, S.; Nakajima, S.; Nishimura, Y.; Imamura, M. *Eur. J. Cancer* **1999**, *35*, 1374.
- 7 Simonian, P. L.; Grillot, D. A.; Nunez, G. *Blood* **1997**, *90*, 1208.
- 8 Sonnemann, J.; Gekeler, V.; Sagrauske, A.; Muller, C.; Hofmann, H. P.; Beck, J. F. *Int. J. Oncol.* **2004**, *25*, 1171.
- 9 Yang, E.; Zha, J.; Jockel, J.; Boise, L. H.; Thompson, C. B.; Korsmeyer, S. J. *Cell* **1995**, *80*, 285.
- 10 Willis, S. N.; Chen, L.; Dewson, G.; Wei, A.; Naik, E.; Fletcher, J. I.; Adams, J. M.; Huang, D. C. *Genes Dev.* **2005**, *19*, 1294.
- 11 Osford, S. M.; Dallman, C. L.; Johnson, P. W.; Ganesan, A.; Packham, G. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1031.
- 12 Petros, A. M.; Medek, A.; Nettekheim, D. G.; Kim, D. H.; Yoon, H. S.; Swift, K.; Matayoshi, E. D.; Oltersdorf, T.; Fesik, S. W. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98*, 3012.
- 13 Muchmore, S. W.; Sattler, M.; Liang, H.; Meadows, R. P.; Harlan, J. E.; Yoon, H. S.; Nettekheim, D.; Chang, B. S.; Thompson, C. B.; Wong, S. L.; Ng, S. L.; Fesik, S. W. *Nature* **1996**, *381*, 335.
- 14 Petros, A. M.; Nettekheim, D. G.; Wang, Y.; Olejniczak, E.

- T.; Meadows, R. P.; Mack, J.; Swift, K.; Matayoshi, E. D.; Zhang, H.; Thompson, C. B.; Fesik, S. W. *Protein Sci.* **2000**, *9*, 2528.
- 15 Oltersdorf, T.; Elmore, S. W.; Shoemaker, A. R.; Armstrong, R. C.; Augeri, D. J.; Belli, B. A.; Bruncko, M.; Deckwerth, T. L.; Dinges, J.; Hajduk, P. J.; Joseph, M. K.; Kitada, S.; Korsmeyer, S. J.; Kunzer, A. R.; Letai, A.; Li, C.; Mitten, M. J.; Nettesheim, D. G.; Ng, S.; Nimmer, P. M.; O'Connor, J. M.; Oleksijew, A.; Petros, A. M.; Reed, J. C.; Shen, W.; Tahir, S. K.; Thompson, C. B.; Tomaselli, K. J.; Wang, B.; Wendt, M. D.; Zhang, H.; Fesik, S. W.; Rosenberg, S. H. *Nature* **2005**, *435*, 677.
- 16 *SYBYL*, Version 6. 9, Tripos Associates Inc., USA, **1999**.
- 17 *InsightII*, Version 2000, Accelrys Inc., San Diego, **2000**.
- 18 Honig, B.; Sharp, K. A.; Yang, A. S. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 1101.
- 19 Zheng, C. H.; Zhou, Y. J.; Zhu, J.; Chen, J.; Li, Y. W.; Sheng, C. Q.; Song, Y. L.; Jiang, Q. F.; Lü, J. G. *Acta Chim. Sinica*, in press (in Chinese).  
(郑灿辉, 周有骏, 朱驹, 陈军, 李耀武, 盛春泉, 宋云龙, 蒋庆锋, 吕加国, 化学学报, 出版中.)
- 20 Luty, B. A.; Wasserman, Z. R.; Stouten, P. F. W.; Hodge, C. N.; Zacharias, M.; McCammon, J. A. *J. Comput. Chem.* **1995**, *16*, 454.
- 21 Real, P. J.; Cao, Y.; Wang, R.; Nikolovska-Coleska, Z.; Sanz-Ortiz, J.; Wang, S.; Fernandez-Luna, J. L. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 7947.

(A0607115 QIN, X. Q.; ZHENG, G. C.)