• 研究论文 •

基于 HPPD 靶标酶的分子对接研究

林 军^{a,b} 李祖光^{*,b} 邹建卫^a 陆绍永^a

(^a 浙江大学宁波理工学院 宁波 315104)

(^b 浙江工业大学化学工程与材料学院 杭州 310014)

摘要 对羟基苯丙酮酸双氧化酶(HPPD)是一类新型化学除草剂的重要靶标酶。首先研究了底物小分子与 HPPD 的对接模型, 分析了不同价态铁离子对对接结果的影响, 并最终确定铁离子是以二价的方式与底物发生作用。随后, 采用类似方法, 对文献报道的一系列环己二酮类 HPPD 抑制剂进行了对接研究, 并得到了对接结合自由能与除草活性之间良好的线性关系, 其相关性系数达到 0.916。这一结果为设计新的 HPPD 抑制剂提供一定的理论指导。

关键词 对羟基苯丙酮酸双氧化酶; 环己二酮; 分子对接

Molecular Docking Study Based on Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase as a Target of Herbicides

Lin, Jun^{a,b} Li, Zuguang^{*,b} Zou, Jianwei^a Lu, Shaoyong^a

(^a Ningbo Institute of Technology, Zhejiang University, Ningbo 315104)

(^b College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014)

Abstract The hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) is an important target for developing herbicides. In the present paper, molecular docking of HPPD with the substrate was first studied, the effect of valence state of Fe ion on the docking result was analyzed. The result disclosed that, it was the Fe²⁺ that interacted with the substrate. Adopting similar procedure, we investigated the docking of HPPD with a series of cyclohexanediones as HPPD inhibitors. It has been shown that there exists an excellent linear relationship between free energy of binding and the experimentally determined herbicidal activity ($R=0.916$). Such a work may provide a useful guide for designing and screening new more potent HPPD inhibitors.

Keywords *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase; cyclohexanediones; molecular docking

对羟基苯丙酮酸双氧化酶(*p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, HPPD)是一类以羟苯基丙酮酸(*p*-hydroxyphenylpyruvate, HPP)为底物的非血红素铁加氧酶^[1~6]。它广泛存在于各种有机体中, 催化 HPP 转化为尿黑酸(4-hydroxyphenylpyruvate, HGA)^[7], 然后通过脱羧和烷基化等方式, 生成光合作用中电子传递所需要的质体醌(plastoquinone)与生育酚(tocopherol)^[8,9]。当 HPP 转化为 HGA 的过程受到抑制, 将会导致质体醌与

生育酚的合成受阻, 并间接地抑制类胡萝卜素的生物合成, 使植物分生组织产生白化症状, 导致植物死亡^[10]。因此, HPPD 可以作为除草剂研究与开发的一个重要靶标酶。

分子对接是研究配基与受体之间相互作用的一种有效工具^[11,12], 由于该方法能给出两者结合模式以及评价两者在结合过程中的能量变化, 因而在基于受体的先导化合物发现和优化中得到了广泛的应用。尽管 HPPD

* E-mail: lzg@zjut.edu.cn

Received January 17, 2011; revised January 5, 2012; accepted March 21, 2012.

Project supported by the Ministry of Science and Technology of Zhejiang Province (No. 2010R10044), the Top-Key Discipline of Applied Chemistry and the Sprout Talented Project Program (No. 2011443).

浙江省科技厅钱江人才(No. 2010R10044)、浙江省应用化学重中之重学科开放基金资助项目和留学人员科技活动择优资助项目(No. 2011443).

的催化机理从不同的角度均已经得到了大量的研究,而且以 HPPD 为靶标的除草剂也已上市多年,但有关其对接方面的研究报道甚少.究其原因,有可能与该酶的高分辨晶体结构获得较晚^[13,14],以及晶体结构中含有价态未定的金属铁离子有关.基于上述情况考虑,本文致力于 HPPD 靶标酶的分子对接研究.首先利用底物小分子(DAS869)为配基,进行对接研究,以寻找合适的对接参数.然后,利用优化参数得到的结果,开展环己二酮类抑制剂与 HPPD 分子的对接研究,以期能为设计具有更高除草活性的环己二酮类化合物提供理论依据.

1 分子对接

从蛋白质数据库(PDB)中下载 HPPD 蛋白质与底物复合物的晶体结构数据(PDB ID: 1TFZ),应用 SYBYL6.8 软件对晶体结构中缺失的 173-179, 231-269, 382-390 氨基酸残基进行修正,选择同源性最高的氨基酸片段作为模板^[15-17],再对修正完整的蛋白质晶体结构进行能量优化,得到了 HPPD 三维结构模型.去除复合物晶体中的配基及水分子,用作对接过程中的受体大分子.底物和环己二酮类化合物分子采用 SYBYL6.8/Base Builder 模块构建,在 Tripos 力场下进行分子力学优化,并加载 Gasteiger-Huckel 电荷,能量收敛梯度值为 0.042 kJ/(mol·Å).

分子对接研究在 AutoDock 4.0 程序上完成,活性位点用 AutoGrid 程序来确定,并设置网格大小为 60×60×60,格点间隔 0.375 Å,对接口袋为底物在复合物中的质心. DAS869 的柔性部分用 AutoDockTools(ADT)软件定义,以使用不同构象进行分子对接.优化采用拉马克遗传算法(Lamarckian genetic algorithm, LGA)^[18]进行. LGA 将遗传算法与局部搜索方法系统的结合,以遗传算法迅速搜索势能面,用局部搜索方法对势能面进行精细的能量优化,其他的计算参数采用程序默认值.每个化合物产生 10 个对接构象,根据每个构象的结合方式和结合能,选择合适的构象用以对接结果的分析.

配基和受体间的能量匹配,采用半经验的对接结合自由能(Free Energy of Binding, E_{bind})的计算方法来评价.计算结合自由能(E_{bind})按式(1)

$$E_{\text{bind}} = E_{\text{Hb}} + E_{\text{VDW}} + E_{\text{ELC}} \quad (1)$$

式中 E_{Hb} 为配基小分子与受体活性口袋结合的氢键能量, E_{VDW} 为配基小分子的范德华作用能, E_{ELC} 为受体活性口袋片段结构的静电作用能.

2 结果与讨论

2.1 DAS869 与 HPPD 的对接

DAS869 是蛋白质晶体(1TFZ)结构中的底物小分子,它是一类能提供双齿配基结构的化合物,为了验证 AutoDock 软件应用于整个对接过程中的可靠性,我们首先对 HPPD 与底物小分子 DAS869 的对接进行研究.

从文献^[3]报道的 HPPD 催化机理来看,在反应的初始阶段,铁离子采取五配位形式,即活性口袋周围的三个氨基酸残基 His187, His270, Glu349 (PDB ID: 1T47)分别提供一个配基,底物 HPP 提供一个双齿配基与其发生配位作用,从而使柔性较大的 HPP 分子形成稳定构象,能较好地结合在受体分子中.在对接计算中,选择不同的电荷参数对接结果有较大的影响.对于金属铁离子而言, Tonmunphean 等曾经进行过血红蛋白与黄花蒿(artemisinin)的对接研究,他们发现,对接的构象严重依赖于化合物的结构与分子所带的电荷^[18],选择不同铁离子的价态,对于抑制剂的定位与取向有着很大的影响.在本研究中,我们尝试设定不同的铁离子价态来考察其对非血红素铁依赖蛋白对接的影响.表 1 给出当铁离子设定不同价态时, HPPD 与底物 DAS869 对接得到 10 种较低 E_{bind} 值构象的 RMSD 值.

表 1 分子对接得到的不同构型的 RMSD 值(Å)

Table 1 RMSD values (Å) of different configurations obtained in the docking

Configuration	+0.5	+1.0	+1.5	+2.0	+2.5	+3.0
1	0.808	0.455	0.401	0.309	1.030	1.138
2	3.511	1.002	0.354	0.325	0.416	1.068
3	1.014	1.381	0.388	0.507	0.935	3.693
4	3.354	0.721	0.941	0.523	1.092	1.062
5	7.063	1.520	0.807	0.593	0.780	1.502
6	7.426	1.752	0.529	0.628	3.665	3.563
7	7.410	1.066	0.871	0.694	1.046	0.933
8	7.568	7.416	1.256	0.898	0.775	1.440
9	4.829	3.504	1.548	0.822	0.605	1.476
10	5.431	0.528	6.077	0.509	1.033	1.410

从结果分析,当铁离子的价态取+2.0 时,对接结果中配基小分子 DAS869 的所有构象的 RMSD 值均小于 1.0 Å,每个构象的 RMSD 值相差不大,说明在该价态下,铁离子能与配基小分子形成稳定的配位结构,预示着 HPPD 与配基结合时很可能是采取二价铁离子的形式.图 1 显示当铁离子的价态取+2.0 时, DAS869 与 HPPD 对接的构象和 DAS869 在对接之前在受体中所呈现的构象的叠合.从该图可以看到,配基 DAS869 与受体蛋白质 HPPD 对接前后在活性口袋中所呈现的构象几

乎是完全重叠在一起,除了柔性基团甲氧基跟甲磺酸基的构象有所改变,均方根偏差(RMSD)值为 0.3090 Å,这说明所设定的对接参数能够适用于环己二酮类化合物的对接研究。

图1 底物 DSA869 在对接前后的构象叠合图

Figure 1 Superposition view of DSA869 before and after docking

图2为 DAS869 与 HPPD 蛋白受体对接结合的立体表面图(取对接的最优构象,下同)。由图可见底物小分子伸入活性口袋深处,与活性口袋周围的氨基酸残基发生相互作用。图3a是 DAS869 与其周围 0.5 nm 氨基酸残基的对接作用模式;图3b为金属铁离子与周围氨基酸残基 His205, His287, Glu373 及底物 DAS869 所形成的配位示意图。由图3b可以看出,金属铁离子与周围提供配位的原子的距离均在 0.2 nm 之内,该离子与氨基酸残基 His205, His287, Glu373 以及底物小分子提供一个双齿配基形成了一个稳定的六配位结构。另外, Phe398, Ser246, Asn261, Ala234, His287, Val207 和 Pro259 氨基酸残基形成一个疏水性的结合口袋,底物分子中侧链上的氧原子与氨基酸 Phe360 形成 N—H···O 型的氢键。因此,疏水作用和氢键作用是配基和 HPPD 蛋白质结合的主要驱动力。

图2 DAS869 与 HPPD 活性位点结合立体模式图

Figure 2 Stereo view of DSA869 bound in the active site of HPPD

2.2 环己二酮类化合物与 HPPD 的对接

采用二价铁离子的结构参数和与 2.1 节部分同样的方法,对文献^[19~21]报道的 42 个环己二酮类化合物进行

了对接研究。首先对 42 个化合物进行分类,其中 36 个化合物为训练集,6 个化合物为预测集(表 2),活性为田间实验除草活性(单位: mol/m²)。对接过程中,每个化合物产生 10 个对接构象,选择能量最低的构象进行后续结果的分析。表 2 给出了这些化合物的活性数据以及通过对接计算得到的结合自由能(kJ/mol)。

图3 (a)底物小分子 DSA869 与 HPPD 活性位点的结合结构; (b)铁离子的配位图

Figure 3 (a) Structure of DSA869 bound in the active site of HPPD; (b) Structure of Fe²⁺ coordinated with HPPD and the substrate

从表 2 给出的数据看,这些化合物跨越了一个较大的活性范围,从活性最低的化合物 2 到活性最高的化合物 15,差了 2.6 个 log 单位(约 400 倍)。对接得到的结合自由能则从 -21.57 到 -35.66 kJ/mol 不等。通常而言,活性高的化合物具有较大的结合自由能(绝对值)。图 4 直观地显示了两者的关系。通过线性拟合,我们得到结合自由能和活性之间具有如下关系:

$$\text{pED}_{50} = -0.1566 E_{\text{bind}} - 0.3397 \quad (1)$$

$$N=39, R=0.916, Sd=0.3118$$

从该方程可以看出,两者呈现出良好的线性关系,其相关性系数达到 0.916。运用上述方程,对所有 42 个环己二酮类 HPPD 抑制剂的除草活性进行了预测(见表 2)。这一结果表明本文的对接结果能很好地反映出这些 HPPD 抑制剂的活性。

为了进一步从分子水平阐述环己二酮类化合物的

表 2 化合物结构、对接自由能及其实测与预测活性值

Table 2 Molecular structures, free energies of binding and experimental and predicted herbicidal activities of the compounds studied

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	X ³	X ⁴	X ⁵	pED ₅₀ /(mol·m ⁻²) (Exp.)	pED ₅₀ /(mol·m ⁻²) (Pred.)	E _{bind} / (kJ·mol ⁻¹)
1	H	H	H	H	H	H	Cl	H	OCH ₃	H	H	3.050	3.404	3.168
2	H	H	H	H	H	H	Cl	H	CH ₃	H	H	3.038	3.719	3.104
3	H	H	H	H	H	H	Cl	H	H	H	H	3.882	3.431	4.765
4	H	H	H	H	H	H	Cl	H	F	H	H	4.737	4.687	5.080
5	H	H	H	H	H	H	Cl	H	Cl	H	H	5.244	5.080	4.919
6	H	H	H	H	H	H	Cl	H	NO ₂	H	H	5.016	3.353	3.450
7	H	H	H	H	H	H	Cl	H	SO ₂ CH ₃	H	H	4.215	4.203	4.026
8	H	H	H	H	H	H	NO ₂	H	H	H	H	4.111	4.668	2.972
9	H	H	H	H	H	H	NO ₂	H	Cl	H	H	3.065	3.894	4.734
10	H	H	H	H	H	H	NO ₂	H	CF ₃	H	H	4.360	4.940	3.371
11	H	H	H	H	H	H	NO ₂	H	SO ₂ CH ₃	H	H	3.764	3.050	4.344
12	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	Cl	H	SO ₂ CH ₃	H	H	4.407	4.602	4.248
13	CH ₃	CH ₃	H	H	CH ₃	CH ₃	Cl	H	SO ₂ CH ₃	H	H	3.608	3.464	4.857
14	CH ₃	CH ₃	H	H	CH ₃	H	Cl	H	SO ₂ CH ₃	H	H	3.588	3.168	2.966
15	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	H	SO ₂ CH ₃	H	H	5.300	3.050	3.404
16	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	NO ₂	H	SO ₂ CH ₃	H	H	3.038	3.719	3.104
17	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	—	3.882	3.431
18	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	OCH ₃	H	H	H	H	3.339	4.737	4.687
19	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	3.616	5.244	5.080
20	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	OCF ₃	H	H	H	H	3.657	5.016	3.353
21	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	OCHF ₂	H	H	H	H	4.125	4.215	4.203
22	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	CF ₃	H	H	H	H	4.048	4.111	4.668
23	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	H	H	H	H	4.675	3.065	3.894
24	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	OCH ₃	H	H	H	3.032	4.360	4.940
25	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	OC ₂ H ₅	H	H	H	3.446	3.764	3.050
26	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	Cl	H	H	H	3.817	4.407	4.602
27*	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	H	Cl	H	H	4.785	3.608	3.464
28*	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	H	CN	H	H	4.451	3.588	3.168
29	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	H	CF ₃	H	H	5.045	3.050	3.404
30	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	H	CH ₃	H	H	3.417	3.038	3.719
31	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	NO ₂	H	OCH ₃	H	H	4.257	3.882	3.431
32	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	CN	H	OCH ₃	H	H	3.072	4.737	4.687
33	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	CF ₃	H	CF ₃	H	H	4.125	5.244	5.080
34*	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	H	Cl	H	H	4.239	5.016	3.353
35*	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	H	I	H	H	4.621	4.215	4.203
36*	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	H	CN	H	H	4.557	4.111	4.668
37	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	H	OCH ₃	H	H	3.434	3.065	3.894
38	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	OCH ₃	H	H	2.988	4.360	4.940
39	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	CN	H	H	4.968	3.764	3.050
40	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	OCH ₃	H	NO ₂	H	H	4.026	4.407	4.602
41*	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	H	H	Cl	H	3.064	3.608	3.464
42	CH ₃	CH ₃	CO		CH ₃	CH ₃	Cl	H	H	H	Cl	—	3.588	3.168

* 预测集化合物。

结构-活性关系, 以两个代表性化合物(代表不同活性级别, 其中化合物 **14** 代表高活性, 而化合物 **41** 代表低活性)为例, 对其与 HPPD 的对接结果作详细分析. 图 5 为化合物 **14** 与受体蛋白 HPPD 的对接结果立体图. 图 5a

为化合物 **14** 与受体蛋白 HPPD 的对接作用模式, 该化合物与 HPPD 结合的作用方式与底物类似, 也是由两个羰基提供一个双齿配基, 与金属铁离子发生配位, 对接后与原晶体结构中金属 Fe 到底物 DAS869 上的两个氧原

图 4 HPPD 抑制剂的除草活性与对接结合自由能的相关图

Figure 4 Plots of the experimental herbicidal activity of HPPD inhibitors against the free energy of binding

图 5 (a) 化合物 14 与 HPPD 活性位点结合的结构; (b) 铁离子的配位图

Figure 5 (a) Structure of compound 14 bound in the active site; (b) Structure of Fe^{2+} coordinated with HPPD and compound 14

子基本一致, 同样使铁离子形成一个稳定的螯合结构(图 5b)。化合物 14 环己环上的另外两个羰基上的氧原子与活性口袋附近的氨基酸残基 Asn261 氮原子上的氢形成氢键, 也对结构起一定的稳定作用, Phe398, Ser246, Asn261, Ala234, His287, Val207, Pro259 氨基酸残基则在苯环周围, 形成一个疏水区域。

图 6 为低活性化合物 41 与受体蛋白 HPPD 的对接结果立体图。由图可见, 该化合物的分子结构中, 环外羰基上的氧原子明显地与金属铁离子发生了位置上的偏离。铁离子无法与化合物 41 上的两个氧原子形成螯

合作用(仅仅与其中一个氧距离较近), 从而表现出较弱的 HPPD 抑制活性。

图 6 化合物 41 与 HPPD 活性位点结合的结构

Figure 6 Structure of compound 41 bound in the active site

3 结论

本文采用 AutoDock 程序研究了 HPPD 与底物小分子 DAS869 的对接, 探讨了中心金属铁离子价态对对接结果的影响。结果表明, 中心金属铁离子所带电荷的不同, 对底物小分子 DAS869 与 HPPD 对接的结果有直接的影响, 当金属铁采用 +2 价时, 对接后的构象与原晶体中底物的构象基本重叠, 其 RMSD 均在 1.0 以下。其后, 利用这些对接参数, 开展了一系列环己二酮类化合物与 HPPD 的对接研究。结果显示, 对接结合自由能与化合物的除草活性之间存在着良好的线性关系($R=0.916$), 说明对接结果具有一定的合理性, 同时也预示着该类化合物的除草活性主要取决于其与 HPPD 靶标酶的作用。这一结果将为寻找新的 HPPD 抑制剂提供一定的理论依据。

References

- Shao, N.; Jin, J.-Y.; Wang, H.; Zheng, J.; Yang, R.-H.; Chan, W.-H.; Abliz, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 725.
- Balannik, V.; Wang, J.; Ohigashi, Y.; Jing, X. H.; Magavern, E.; Lamb, R. A.; DeGrado, W. F.; Pinto, L. H. *Biochemistry* **2009**, 48, 11872.
- Moran, G. R. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, 433, 117.
- Davan, F. E.; Duke, S. O.; Sauldubois, A.; Singh, N.; McCurdy, C.; Cantrell, C. *Phytochemistry* **2007**, 68, 2004.
- Zou, J.-W.; Luo, C.-C.; Zhang, H.-X.; Liu, H.-C.; Jiang, Y.-J.; Yu, Q.-S. *J. Mol. Graphics Modell.* **2007**, 26, 494.
- Viviani, E.; Little, J. P.; Pallett, K. E. *Pestic. Biochem. Physiol.* **1998**, 62, 125.
- Conrad, J. A.; Moran, G. R. *Inorg. Chim. Acta* **2008**, 361, 1197.
- Lee, D. L.; Prisbylla, M. P.; Cromartie, T. H.; Dagarin, D. P.; Howard, S. W.; Provan, W. M.; Eliis, M. K.; Fraser, T.;

- Mutter, L. C. *Weed Sci.* **1997**, *45*, 601.
- 9 Pallett, K. E.; Little, J. P.; Sheekey, M.; Veerasekaran, P. *Pestic. Biochem. Physiol.* **1998**, *62*, 113.
- 10 Yang, H.-H.; Wang, L.-Q.; Xie, Z.-J.; Tian, Y.-Q.; Liu, L.; Liu, G.; Tan, H.-R. *Mol. Microbiol.* **2007**, *65*, 1064.
- 11 Ferreira, R. S.; Simeonov, A.; Jadhav, A.; Eidam, O.; Mott, B. T.; Keiser, M. J.; McKerrow, J. H.; Maloney, D. J.; Irwin, J. J.; Shoichet, B. K. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4891.
- 12 Lu, S.-Y.; Jiang, Y.-J.; Zou, J.-W.; Luo, H.-B.; Wu, T.-X. *J. Mol. Graphics Modell.* **2011**, *29*, 818.
- 13 Brownlee, J.; Kayunta, J.-W.; Harrison, D. H. T.; Moran, G. R. *Biochemistry* **2004**, *43*, 6370.
- 14 Fritze, I. M.; Linden, L.; Freigang, J.; Auerbach, G.; Huber, R.; Steinbacher, S. *Plant Physiol.* **2004**, *134*, 1388.
- 15 Lu, S.-Y.; Jiang, Y.-J.; Lü, J.; Zou, J.-W.; Wu, T.-X. *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 1907.
- 16 Lu, S.-Y.; Jiang, Y.-J.; Zou, J.-W.; Wu, T.-X. *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, *51*, 1025.
- 17 Lu, S.-Y.; Jiang, Y.-J.; Zou, J.-W.; Wu, T.-X. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 7014.
- 18 Tonmunphean, S.; Parasuk, V.; Kokpol, S. *J. Mol. Model.* **2001**, *7*, 26.
- 19 Mitchell, G.; Bartlett, D. W.; Fraser, T.; Hawkes, T.; Holt, D. C.; Townson, J. K.; Wichert, R. *Pest Manage. Sci.* **2001**, *57*, 120.
- 20 Lin, Y.-L.; Wu, C.-S.; Lin, S.-W.; Yang, D.-Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 843.
- 21 Beaudegnies, R.; Edmunds, A.; Fraser, T.; Hall, R. G.; Hawkes, T. R.; Mitchell, G.; Schaetaer, J.; Wendeborn, S.; Wibley, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4134.

(A1101173 Sun, H.; Lu, Z.)