

Ю. І. Шах, Н. Я. Монька, Г. М. Хоміцька, Д. Б. Баранович, Л. Давид, С. В. Василюк
 Національний університет “Львівська політехніка”,
 кафедра технології біологічно активних сполук,
 фармації та біотехнології
vlubenets@gmail.com

СКРИНІНГ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ХІНАЗОЛІНОВИХ ТІОСУЛЬФОЕСТЕРІВ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТОДІВ ХЕМОІНФОРМАТИКИ

© Шах Ю. І., Монька Н. Я., Хоміцька Г. М., Баранович Д. Б., Давид Л., Василюк С. В., 2017

Здійснено прогнозований скринінг біологічної активності хіназолінових тіосульфоестерів з використанням програми PASS та молекулярного докінгу. На основі даних віртуального скринінгу виявлено перспективні напрямки експериментальних біологічних досліджень тіосульфоестерів з хіназоліновим фрагментом. За допомогою молекулярного докінгу показано доцільність пошуку серед досліджуваних тіосульфоестерів нових антидіабетичних препаратів та вибрано сполуку-хіт для цих досліджень, а саме – S-хіназолін-4-іл-4-((1,3-діоксоізоіндолін-2-іл) метил) бензенсульфоно-тіоат.

Ключові слова: хіназолінові естери тіосульфоєкислот, віртуальний скринінг, *insilico* методи, біологічна активність, PASS, молекулярний докінг.

Yu. Shakh, N. Monka, G. Khomitska, D. Baranovych, L. Davyd, S. Vasylyuk

SEARCHING OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF QUINAZOLINE THIOSULFOESTERS USING METHODS CHEMOINFORMATICS

© Shakh Yu., Monka N., Khomitska G., Baranovych D., Davyd L., Vasylyuk S., 2017

The predicted searching of biological activity of quinazoline thiosulfoesters has been performed with using of program PASS and molecular docking. The perspective directions of experimental biological researches of thiosulfoesters with quinazoline fragment have been identified on the basis of information of virtual screening. Using molecular docking the expediency of search of new antidiabetic drugs among studied thiosulfoesters has been showed and compound-hit for these studies has been selected, namely – S-quinazolin-4-yl-4 – ((1,3-dioxoisindolin-2-yl) methyl) benzenesulfonothioate.

Key words: quinazoline esters of thiosulfoacids, virtual screening, *insilico* methods, biological activity, PASS, molecular docking.

Постановка проблеми. Відомо, що сульфуровмісні органічні сполуки, зокрема тіосульфоєкислоти та їх похідні, є потенційними біологічно активними сполуками широкого спектра дії, яка ґрунтується на їх здатності брати участь в азотистому обміні, у синтезі необхідних для нормальної життєдіяльності організму білків, ферментів, гормонів тощо. Біологічна активність тіосульфоєкислот є результатом блокування нормального метаболізму мікроорганізмів (ферментативної активності, порушення дихання та клітинного ділення мікроорганізмів, гальмування біосинтезу нуклеїнових кислот та білка), зокрема, блокування нуклеофільних фрагментів клітин мікроорганізмів [1], яке можливе внаслідок сульфенілюючої здатності тіосульфоєкислот.

Реакційна здатність у біохімічних процесах, і як наслідок, індекс їх біологічної активності тіосульфоестерів, залежать як від природи замісників сульфонільного та тіольного фрагментів, так і від електронних ефектів та положення введених у ці фрагменти функціональних груп [1]. Введення замісників у *para*-положення бензентіосульфоокислоти внаслідок перерозподілу електронної густини у тіосульфогрупі змінює реакційну здатність та антимікробну активність тіосульфоестерів, зокрема, під час введення у *para*-положення арилсульфонільного фрагмента метоксигрупи індекс біологічної дії зростає та є сталим під час введення у *para*-положення атома хлору [1], тоді як введення у це положення вільної аміногрупи значно збільшує індекс біологічної дії порівняно із дією аналогічного естеру 4-ацетиламінобензентіосульфоокислоти, але частково підвищує його ЛД₅₀.

Отже, взаємозв'язок будови та біологічної дії тіосульфоестерів можна використовувати для цілеспрямованого синтезу нових біологічно активних субстанцій з комплексом заданих властивостей, а результати біологічного скринінгу можуть бути основою пропозицій щодо практичного застосування синтезованих тіосульфоестерів, зокрема тіосульфоестерів з хіназоліновим фрагментом.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Згідно з даними, опублікованими протягом останнього десятиріччя у фармацевтичних та фармакологічних літературних джерелах, міжнародні фармацевтичні корпорації для розроблення, дослідження, проведення доклінічних та клінічних випробувань, реєстрації та як остаточної цілі – виведення на ринок нового оригінального препарату витрачають 1 млрд доларів США та близько 10 років. Проте сьогодні, керівники деяких фармацевтичних корпорацій стверджують, що ці цифри є явно занижені і для виведення на ринок нового конкурентоспроможного фармацевтичного препарату необхідно щонайменше 15 років та близько 10 млрд доларів США. Тому для інтенсифікації роботи доцільно використовувати нові сучасні підходи щодо організації досліджень, зокрема, методи хемоінформатики (PASS, MolecularDocking, QSAR).

Робота зі створення нових лікарських засобів є трудомістким процесом і для досягнення максимально ефективних результатів у короткий час вимагає об'єднаної та скоординованої роботи багатьох різнопрофільних лабораторій. *In silico* методи дають можливість вдосконалити пошук та розроблення нових лікарських препаратів. За приблизними оцінками використання технології *in silico* (хемоінформатики) скорочує розроблення нових фармпрепаратів на кілька років та фінансові витрати та інші ресурси, у розмірі близько 0,5 млрд доларів США. Такі методи є корисними і їх інтегрування у сучасний процес виготовлення ліків надзвичайно необхідне.

У дослідженнях біологічної активності речовин особливо перспективним напрямом є підвищення фізіологічної дії лікарських засобів. Тому дані повного спектра біологічної дії відомих і вперше синтезованих потенційних біологічно активних сполук, виявлення певних видів біологічної активності речовин та встановлення взаємозв'язку між структурою та біологічною дією може стати основою для практичного їх використання. Сьогодні біологічно активні речовини можуть бути використаними у створенні ветеринарних препаратів, засобів захисту рослин, харчових добавок, консервантів та біоцидних препаратів, парфумерних і косметичних засобів. Крім того, у деяких випадках біологічна активність речовини є причиною небажаних токсичних ефектів, зокрема канцерогенна та мутагенна дії, які перешкоджають виробництву і використанню цих речовин. Розширений скринінг біологічної активності може визначити напрями подальших експериментальних досліджень синтезованих сполук без вагомих часових та фінансових затрат.

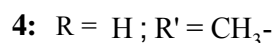
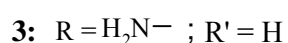
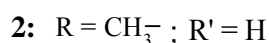
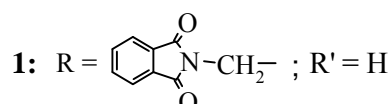
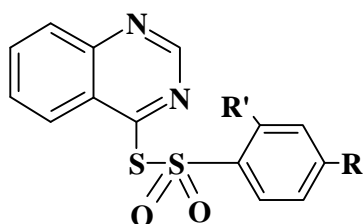
Для планування напрямів експериментальних досліджень біологічної активності хіназолінових тіосульфоестерів ми використали комп'ютерну програму PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), принцип роботи якої ґрунтується на аналізі залежності “структура-активність” для речовин з навчальної вибірки, яка містить більше 35000 різноманітних біологічно активних речовин (субстанції відомих лікарських препаратів і фізіологічно активні сполуки), дані про які постійно поповнюються новими результатами біологічної активності сполук, опублікованими у науково-технічній літературі та численних базах даних, а також інформацією з неопублікованих документів [2].

Біологічна активність у системі PASS описується за принципом наявність/відсутність, що пояснюється зокрема необхідністю використання інформації з різних джерел під час формування навчальної вибірки [2]. Середня точність прогнозу програми PASS становить близько 85 %, що є достатнім для використання отриманих даних для прогнозу спектра біологічної активності нових речовин (очікувана середня точність прогнозу за випадкового вгадування однієї з 500 видів активності становить лише близько 0,2 %) [3]. Результати прогнозу надають інформацію щодо переліку ймовірних видів активності та розрахунковими оцінками ймовірності наявності (Pa) і відсутності (Pi) кожної із активностей. Числові значення ймовірностей Pa і Pi є у межах від 0 до 1, а їхня сума, як правило, не дорівнює одиниці, оскільки ймовірності наявності та відсутності певного виду фізіологічної активності розраховуються незалежно.

Також одним з найінформативніших методів обчислювальної хімії є молекулярний докінг [4], оскільки база даних білкових структур нещодавно досягла 100 тисяч структур з 500 тисяч можливих у людському організмі, то використання докінгу для визначення рівня зв'язування ліганда з рецептором стає все достовірнішим. Докінг є останнім етапом на шляху лікарської сполуки в організмі, не враховує її адсорбції, метаболізму, виведення та токсичності. Проте цей останній етап є визначальним, оскільки фізіологічну реакцію викликає саме зв'язування ліганда з рецептором.

Мета роботи – віртуальний скринінг біологічної активності хіназолінових S-естерів тіосульфокислот з використанням комп'ютерної програми PASS та молекулярного докінгу.

Обговорення результатів. Як об'єкти досліджень ми обрали такі тіосульфоестери з хіназоліновим фрагментом:

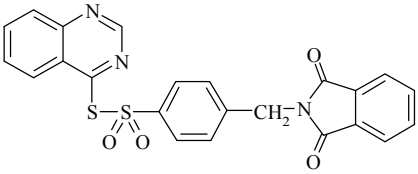
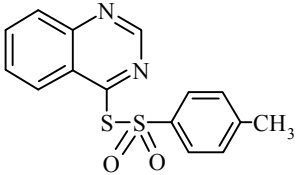
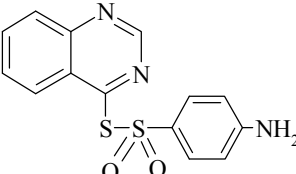
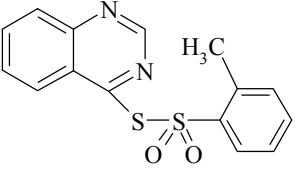
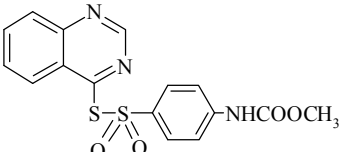


Для визначення напрямків експериментальних біологічних досліджень вибраних об'єктів дослідження та пришвидшення їх можливого практичного використання як біологічно активних субстанцій проведено прогноз біологічної активності за структурною формулою за допомогою комп'ютерної програми PASS. Результати фармакологічного скринінгу хіназолінових тіосульфоестерів наведені у табл. 1.

Аналізуючи результати скринінгу біологічної активності тіосульфоестерів з хіназоліновим фрагментом, отримані за програмою PASS, виявлено перспективні напрямки їх експериментальних біологічних досліджень, серед яких: виявлення антивірусної, антиангінальної, транквілізуючої та гіпотензивної активностей, а також встановлення можливості їх застосування як інгібіторів багатьох ферментів.

Для проведення докінгових досліджень використано програмний пакет Small Molecule Drug Discovery компанії Schrödinger. Докінг проведений у програмі Glide [5]. Білкові мішені отримані з RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>).

**Результати віртуального скринінгу фізіологічної активності
сполук 1-5 з використанням комп'ютерної програми PASS**

№	Структурна формула	Pa	Pi	Активність
1		0,601	0,038	CC chemokine 2 receptor antagonist
		0,601	0,038	Phospholipid translocating ATPase inhibitor
		0,515	0,020	Prolyl aminopeptidase inhibitor
2		0,717	0,013	Nitratoreductase (cytochrome) inhibitor
		0,712	0,028	Ribonuclease T1 inhibitor
		0,674	0,032	Aldehydeoxidaseinhibitor
		0,671	0,064	Ankylosingspondylitistreatment
		0,650	0,065	Steroid 21- monooxygenaseinhibitor
		0,649	0,056	CYP2C9-Cys144 substrate
3		0,685	0,039	NADPH peroxidase inhibitor
		0,680	0,045	CYP2C9-Cys144 substrate
		0,658	0,036	Aldehyde oxidaseinhibitor
		0,651	0,057	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
		0,647	0,048	Antiviral (Arbovirus)
		0,638	0,029	Phospholipid-translocating ATPase inhibitor
		0,605	0,090	Steroid 21- monooxygenaseinhibitor
4		0,713	0,023	Aldehydeoxidaseinhibitor
		0,686	0,017	Nitratoreductase (cytochrome) inhibitor
		0,685	0,033	Ribonuclease T1 inhibitor
		0,677	0,053	Steroid 21- monooxygenaseinhibitor
		0,670	0,022	Phospholipid-translocating ATPaseinhibitor
		0,646	0,074	Ankylosingspondylitistreatment
		0,638	0,064	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
5		0,740	0,032	Antianginal
		0,740	0,032	Anxiolytic
		0,740	0,032	Neuropeptide agonist
		0,591	0,008	Cyclic GMP phosphodiesteras inhibitor
		0,591	0,008	Antihypertensive
		0,591	0,008	Cyclic GMP phosphodiesteras inhibitor

Процес підготовки білкової мішені здійснено за допомогою Protein Preparation Wizard [6]. Структура білка була оптимізована програмою Prime встановленням порядку зв'язків; додаванням воднів до атомів, де вони відсутні; оптимізацією бокових ланцюгів, використовуючи процес уточнення структури; заповненням відсутніх петель з SEQRES записів PDB файла; видаленням молекул води на відстані, більший за 5 Å, які не утворюють водневих зв'язків. Останнім етапом підготовки рецептора є удосконалення його структури. Встановлення водневих зв'язків проводилось стандартним просторовим розміщенням молекул води; оптимізацію проводили, використовуючи PROPKA при рН=7,0. Мінімізація структури білка проводилась, використовуючи як силове поле OPLS2005.

Перевірка кінцевої структури білка аналізом звіту інформації щодо рецептора, а також діаграми Рамахандрана, яка візуалізує двогранні кути амінокислот поліпептидного ланцюга у білках. Розподіляли кути між амінокислотними залишками основного пептидного скелета так, що основна їх кількість знаходиться у червоній зоні діаграми є аналогічними до знайдених у правильно згорнутих білках.

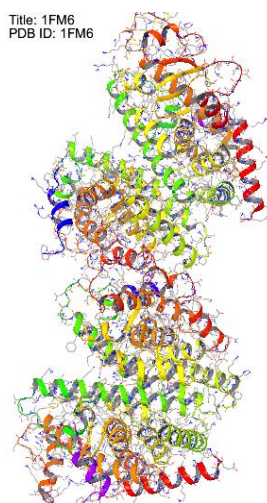


Рис. 1. Структура білка 1fm6 отримана з RCSB Protein Data Ban (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>)

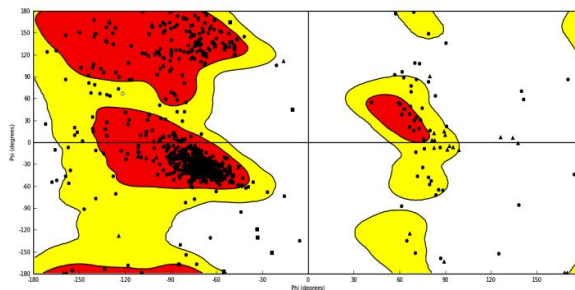


Рис. 2. Діаграма Рамахандрана білка 1fm6

Встановлення активних зон білкового рецептора проводили за допомогою програми SiteMap [7]. За допомогою аналізу білка відбувалось визначення у мішені сайту зв'язування. Результати аналізу подано у вигляді поверхневих зон, які показують гідрофобні та гідрофільні частини, зони донорів та акцепторів водневих зв'язків.

Серія лігандів підготовлена, використовуючи програму LigPrep [8]. В обрахунках використано силове поле OPLS2005. Можливі іонізовані стани генерувались при рН мішені $7,0 \pm 2,0$, використовуючи програму Epik. Генерацію стереоізомерів проводили з обмеженням до 32 на 1 ліганд.

Створення області зв'язування ліганда з рецептором проводили з використанням підпрограми Receptor Grid Generation.

Докінгові дослідження проводили на білку сімейства PPAR- γ – 1fm6. (Peroxisomeproliferator-activatedreceptorgamma), який відомий як глітазон рецептор, або NR1C3 (ядерний рецептор підродина 1, група C, елемент 3), що є ядерним рецептором типу II, який в організмі людини кодується геном PPARG.

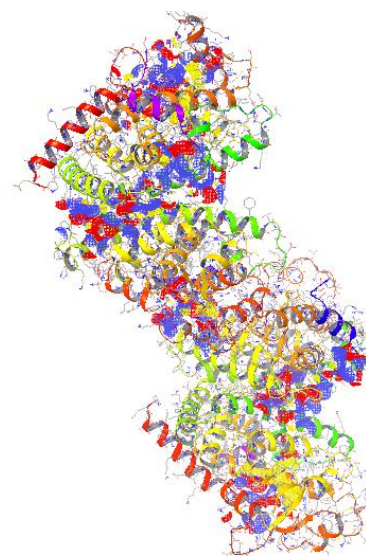


Рис. 3. Области зв'язування білка 1fm6

Дві ізоформи PPAR γ виявлені у людському організмі і у мишей: PPAR- γ 1 (знайдено фактично в усіх тканинах, крім м'язів) і PPAR- γ 2 (найчастіше у жировій тканині і кишківнику).

PPAR γ регулює накопичення жирних кислот і метаболізм глюкози. Гени, активовані PPAR γ , стимулюють поглинання ліпідів і адипогенез жировими клітинами. PPAR γ “нокаутні миші” не можуть утворювати жирову тканину під час годування високим вмістом жирів.

Цей ген кодує активатори проліферації пероксидом рецептора (PPAR) підроддини ядерних рецепторів. PPARs утворюють гетеродимери з ретиноїдів X (RXR, рецептори), а гетеродимери, своєю чергою, регулюють транскрипцію різних генів. Відомі три підтипи рецепторів PPARs: PPAR-альфа, PPAR-дельта і PPAR-гамма. Білок, який кодується цим геном, є PPAR-гамма і регулятором диференціації адипоцитів.

PPAR-гамма бере участь у патології численних захворювань, зокрема, ожиріння, діабету, атеросклерозу та раку. PPAR-гамма агоністи використані у лікуванні гіперліпідемії і гіперглікемії. PPAR-гамма зменшує запальну реакцію багатьох серцево-судинних клітин, зокрема ендотеліальних клітин. PPAR-гамма активує ген PON1, збільшуючи синтез і вивільнення параоксонази 1 з печінки, зменшуючи атеросклероз.

Багато інсулін-чутливих препаратів (тіазолідиніони) використовуються під час лікування діабету цільової PPAR γ як засоби для зниження рівня глюкози у сироватці крові без збільшення секреції інсуліну підшлунковою залозою. Сьогодні різні класи сполук, які активують PPAR-гамма слабше, ніж тіазолідиніони (т. зв. “часткові агоністи PPAR-гамма”), оскільки є ймовірність, що такі речовини будуть ефективними гіпоглікемічними засобами з меншою кількістю побічних ефектів.

Стандартним лігандом у дослідженнях використано препарат Троглітазон, оскільки молекула стандартного ліганду – препарат Троглітазон – утримується в активному сайті білка PPAR γ (код PDB – 1fm6) внаслідок утворення водневого зв'язку між атомом Оксигену карбонільної групи тіазолідинового фрагмента з атомом Гідрогену амінокислотного залишку TYR 327 бокового ланцюга білка. Частина молекули, у яку входить метоксибензолний та тіазолідиніонний фрагменти, утримується між гідрофобними амінокислотними залишками ILE 326, PHE 363, PHE 282, TYR 473, CYS 285, LEU 333 та LEU 469, а також полярними залишками GLN 286, HIE 323, SER 289 та позитивно зарядженими залишками LYS 367 і ARG 288. Протилежний бік молекули Троглітазону з гідрокситетраметил-хромановим фрагментом утримується гідрофобними амінокислотними залишками LEU 330, ILE 341, MET 348, LEU 353, ILE 281, VAL 339, LEU 333, полярним залишком SER 342 та залишком GLY 284. Згідно з підсумковою скоринговою функцією GlideScore зв'язування препарату Троглітазону з активним сайтом білка 1fm6 становить – 9,7 ккал/моль, що відповідає високому рівню зв'язування.

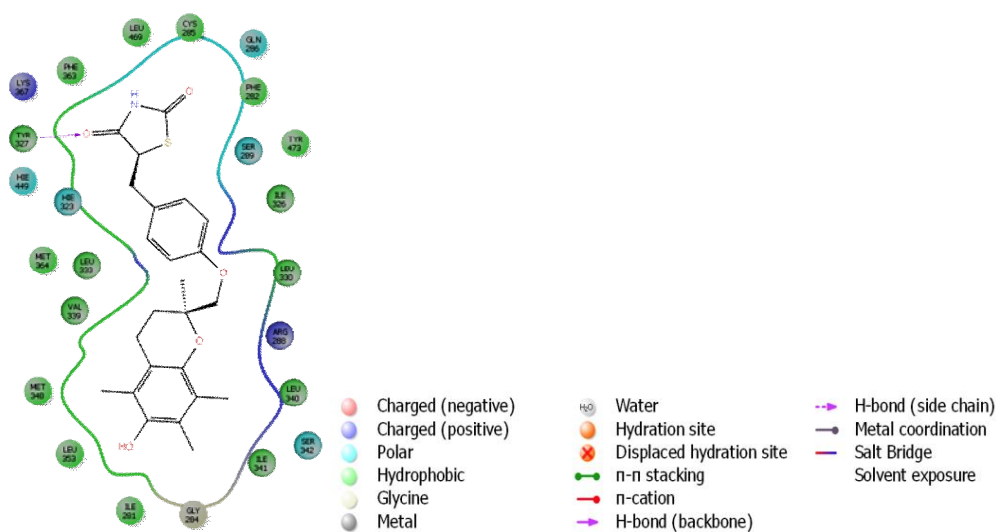


Рис. 4. Стандартний ліганд Троглітазон в області зв'язування білка 1fm6

З серії досліджуваних сполук найкращий рівень зв'язування з активним сайтом білка PPAR γ проявила сполука S-хіназолін-4-іл 4-((1,3-діксоїзоіндолін-2-іл) метил) бензенсульфонотіоат, що становить згідно з GScore -9,7 ккал/моль і відповідає високому рівню зв'язування, тобто на одному рівні зі стандартним лігандом. Такий рівень зв'язування можна пояснити утримуванням діксоїзоіндольної частини молекули у гідрофобній зоні залишків ILE 326, LEU 469, LEU 465, LEU 453, TYR 473, PHE 282, MET 364, LEU 330, LEU 340 та позитивно зарядженим амінокислотним залишком ARG 288. Фрагмент хіназоліну втримується у активному сайті за рахунок гідрофобних залишків MET 348, ILE 281, LEU 255, ILE 341, полярного амінокислотного залишку SER 342 та позитивно зарядженого залишку ARG 288.

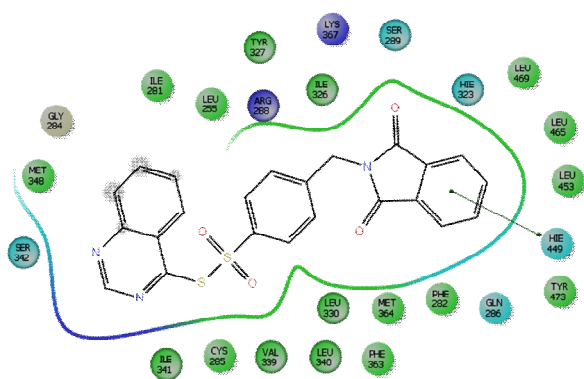


Рис. 5. Сполука-хіт S-хіназолін-4-іл 4-((1,3-діксоїзоіндолін-2-іл) метил) бензенсульфонотіоат в області зв'язування білка 1fm6

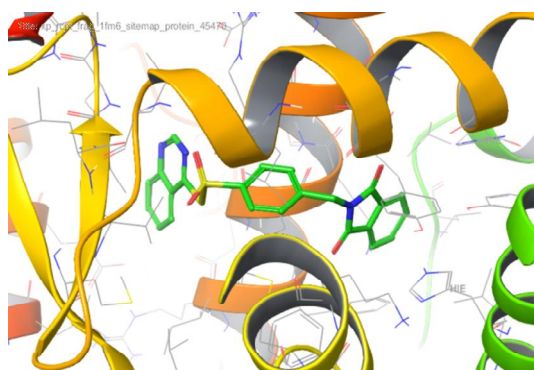


Рис. 6. Візуалізація утримування сполуки-хіта S-хіназолін-4-іл 4-((1,3-діксоїзоіндолін-2-іл) метил) бензенсульфонотіоат в активній зоні білка 1fm6

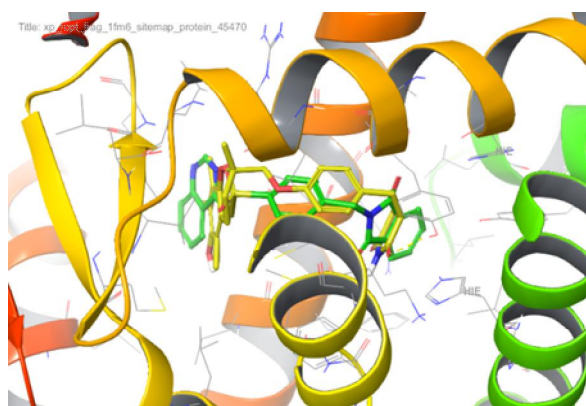


Рис. 7. Візуалізація утримування сполуки-хіта S-хіназолін-4-іл 4-((1,3-діксоїзоіндолін-2-іл) метил) бензенсульфонотіоат у накладанні зі стандартним лігандом в активній зоні білка 1fm6

Порівняльним аналізом зв'язування досліджуваної сполуки зі стандартним лігандом встановлено, що фрагмент хіназоліну імітує гідрофобне утримування 6-гідрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ілового фрагменту молекули Троглітазону у активній зоні білка PPAR γ (1fm6).

Отже, результати проведеного скринінгу біологічної активності хіназолінових тіосульфоестерів **1-5** з використанням молекулярного докінгу свідчать про високу доцільність пошуку серед досліджуваних тіосульфоестерів нових антидіабетичних препаратів. Найперспективнішою у цьому плані досліджень може бути сполука-хіт – S-хіназолін-4-іл-4-((1,3-діксоїзоіндолін-2-іл) метил) бензенсульфонотіоат **1**.

Результати підсумовуючої функції Gscore проведених докінгових досліджень

Name	Gscore	DockStore	LipophilicEv	PhobEnHB	Hbond	Electro	Sitemap	LowMW	Penalties	ExposPenal	RotPenal	EpikStatePe	Similarity	Activity
troglitazone	-9,7	-9,7	-7,6	-0,8	-0,7	-0,1	-0,7	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,5	-9,7
1	-9,7	-9,7	-8,1	-0,9	0,0	0,1	-0,9	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,0	-9,7
troglitazone	-9,4	-9,4	-7,6	-0,7	-0,4	-0,1	-0,8	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,7	-9,4
troglitazone	-8,7	-8,7	-6,3	-0,5	-0,9	-0,3	-0,8	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	-8,7
troglitazone	-8,5	-8,5	-6,5	-0,3	-0,7	-0,5	-0,8	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	-8,5
2	-6,7	-6,7	-5,4	-0,6	0,0	-0,4	-0,5	-0,5	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1	-6,7
3	-6,2	-6,2	-4,1	-0,7	-0,6	0,0	-0,2	-0,4	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1	-6,2
4	-5,6	-6,2	-4,1	-0,6	0,0	0,0	-0,7	-0,5	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1	-5,6
5	-5,5	-6,2	-4,3	-0,1	-0,2	-0,1	-0,8	-0,2	0,0	0,0	0,3	0,0	0,1	-5,5

Висновки:

1. На основі даних віртуального скринінгу біологічної активності за допомогою комп'ютерної системи PASS виявлено перспективні напрямки експериментальних біологічних досліджень тіосульфоестерів з хіназоліновим фрагментом, зокрема, виявлення антивірусної, антиангінальної, транквілізуючої та гіпотензивної активностей.

2. За допомогою молекулярного докінгу показана доцільність пошуку серед хіназолінових тіосульфоестерів антидіабетичних препаратів.

3. Встановлено, що фрагмент хіназоліну імітує гідрофобне утримування 6-гідрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ілового фрагмента молекули Троглітазону в активній зоні білка PPAR γ (1fm6), а найкращий рівень зв'язування з активним сайтом білка PPAR γ проявив S-хіназолін-4-іл-4-((1,3-діксоїзоіндолін-2-іл) метил) бензенсульфонотіоат.

1. Баранович Д. Б. Синтез та властивості функціональних алілових і арилових естрів 1,1-діокситіолан-3- та арилтіосульфокислот: дис. ... канд. хім. наук: 02.00.03 – органічна хімія : захищена 23.09.02: утвр. 11.12.02 / Д. Б. Баранович; Нац. ун-т "Львів. політехніка". – Львів, 2002. – 171 с. 2. Глориозова Т. А. Тестирование компьютерной системы для предсказания биологической активности PASS на выборке новых химических соединений / Т. А. Глориозова, Д. А. Филимонов, А. А. Лагунин, В. В. Поройков // Хим.-фарм. журнал. – 1998. – Т. 32, № 12. – С. 32–39. 3. Lagunin A. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances / A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov // Bioinformatics. – 2000. – Vol. 16 (8). – P. 747–748. 4. Friesner R. A. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy/ Friesner R. A.; Banks J. L.; Murphy R. B.; Halgren T. A.; Klicic J. J.; Mainz D. T.; Repasky M. P.; Knoll E. H.; Shaw D. E.; Shelley M.; Perry J. K.; Francis P.; Shenkin P. S. // J. Med. Chem. – 2004. – No. 47. – S. 1739–1749. 5. Glide, version 6.2, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014. 6. Protein Preparation Wizard 2014-1; Epik version 2.4, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014; Impact version 5.9, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014; Prime version 3.2, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014. 7. SiteMap, version 3.0, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014.8. LigPrep, version 2.9, Schrödinger, LLC. – New York, NY, 2014.