

ISSN 1561-8323 (print)
УДК 51-76:577.322:539.19

Поступило в редакцию 21.01.2017
Received 21.01.2017

А. М. Андрианов¹, И. А. Кашин², Г. И. Николаев², член-корреспондент А. В. Тузиков²

¹*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

IN SILICO ДИЗАЙН И ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ВИЧ-1 – МИМЕТИКОВ ПЕРВИЧНОГО РЕЦЕПТОРА CD4 БЕЛКА GP120 ОБОЛОЧКИ ВИРУСА

На основе методологии клик-химии осуществлен *in silico* дизайн новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1, способных имитировать первичный рецептор CD4 белка gp120 оболочки вируса. С помощью методов молекулярного докинга проведена оценка нейтрализующей активности сконструированных молекул, в результате которой идентифицированы 6 соединений-лидеров, перспективных для синтеза и биологических испытаний. Показано, что обнаруженные соединения формируют базовые структуры для разработки новых эффективных анти-ВИЧ препаратов с широкой вирусной нейтрализацией.

Ключевые слова: ВИЧ-1, белок gp120, ингибиторы проникновения ВИЧ-1, компьютерное конструирование лекарств, методология клик-химии, молекулярный докинг

Alexander M. Andrianov¹, Ivan A. Kashyn², Grigorii I. Nikolaev², Corresponding Member Aleksander V. Tuzikov²

¹*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

IN SILICO DESIGN AND EVALUATION OF THE POTENTIAL ACTIVITY OF NOVEL HIV-1 INHIBITORS – MIMETICS OF THE PRIMARY RECEPTOR CD4 OF THE VIRAL ENVELOPE GP120 PROTEIN

In silico design of novel HIV-1 entry inhibitors able to mimic the primary receptor CD4 of the viral envelope gp120 protein was carried out using the click-chemistry methodology. The neutralizing activity of the designed molecules was evaluated by molecular docking, resulting in the discovery of 6 top compounds promising for synthesis and biological trials. The designed compounds may be used as basic structures for the development of novel, potent, and safe antiviral drugs with broad HIV-1 neutralization.

Keywords: HIV-1, gp120 protein, HIV-1 entry inhibitors, computer-aided drug design, click chemistry methodology, molecular docking

Введение. В последнее десятилетие постоянно возрастающую роль в процессе создания новых лекарственных препаратов играют методы компьютерного молекулярного моделирования, которые позволяют значительно сократить сроки разработки лекарств и существенно уменьшить финансовые расходы [1]. Выбор стратегии для успешного использования компьютерных технологий при создании нового лекарственного препарата зависит от типа начальных доступных данных, которые должны содержать информацию о структуре молекулярной мишени и/или наборе известных лигандов к ней [1]. Наиболее популярной стратегией нахождения новых структур биологически активных молекул является поиск соединений в базах данных (виртуальный скрининг), позволяющий найти соединения с требуемой биологической активностью, величина которой, как правило, оказывается низкой [1]. Тем не менее, найденные соединения могут быть использованы для дальнейшей оптимизации их структуры или как структурные блоки для *de novo* дизайна молекул с большей биологической активностью и улучшенными фармакокинетическими свойствами. Для реализации *de novo* дизайна весьма перспективным представляется применение методологии клик-химии, позволяющей генерировать большое число структур-кандидатов фармацевтических препаратов путем соединения между собой отдельных структурных блоков [2]. Поскольку клик-реакции являются модульными, протекают с высоким выходом в физиологических условиях, стереоспецифичны и дают безопасные побочные продукты [2], преимущества такого подхода заключаются в том, что его использование позволит значительно

упростить массовый параллельный синтез кандидатов и ускорить процесс создания новых, эффективных и безопасных лекарственных препаратов. В настоящей работе методология клики химии [2] применена для компьютерного *de novo* дизайна потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих функционально важный участок оболочки вируса.

В настоящее время для терапии ВИЧ-инфекции в клинической практике используются более 25 лекарственных препаратов [3]. Однако высокая генетическая изменчивость ВИЧ-1 приводит к выработке устойчивости к определенному препарату через некоторое время после начала его применения. С 1996 г. для лечения ВИЧ-инфекции широко используется метод высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ), основной целью которого является преодоление устойчивости вируса к отдельным антиретровирусным препаратам на основе комбинации высокоактивных лекарственных средств, обладающих различными механизмами действия [3]. Тем не менее, стандартные схемы ВААРТ имеют ряд серьезных недостатков, к числу которых в первую очередь следует отнести токсичность используемых препаратов, часто вызывающую тяжелые побочные эффекты (вплоть до индивидуальной непереносимости), появление и передачу резистентных штаммов, взаимодействие лекарств между собой и их высокую стоимость [3]. Необходимость пожизненного непрерывного применения нескольких терапевтических препаратов и связанные с этим токсичность и возникновение резистентности требуют разработки анти-ВИЧ агентов с новыми механизмами действия. Большинство из применяемых в ВААРТ препаратов нацелены на вирусные ферменты: обратную транскриптазу и протеазу, однако они не способны предотвращать проникновение вируса в клетку-мишень, что повышает внимание к ингибиторам проникновения ВИЧ-1, которые могут вмешиваться в ранние стадии жизненного цикла вируса путем блокирования процессов адсорбции и слияния мембран [4]. К преимуществам этих соединений можно отнести создание ими препятствия проникновению вируса в новые целевые клетки, уменьшение числа латентных резервуаров ВИЧ, возможность совместного использования с другими агентами, замедление общей скорости внедрения ВИЧ, что делает вирус более чувствительным к другим ингибиторам [4]. На сегодняшний день в ВААРТ применяются только два ингибитора проникновения: энфувертид, блокирующий слияние мембран вируса и клетки-мишени, и маравирик, конкурирующий с ВИЧ-1 за связывание с корцептором CCR5 [3]. Однако эти препараты имеют ряд недостатков, ограничивающих их использование в антиретровирусной терапии, что обуславливает необходимость поиска новых, более эффективных и безопасных анти-ВИЧ агентов [3].

Проникновению ВИЧ-1 в макрофаги и Т-лимфоциты предшествует связывание белка gp120 оболочки вируса с первичным рецептором CD4 клеточной мембраны, а также с хемокиновыми корцепторами CCR5 и/или CXCR4, взаимодействие с которыми активирует слияние мембран, ведущее к внедрению вируса в клетки-мишени [5]. В связи с этим процесс проникновения ВИЧ-1 в клетку-хозяина представляет собой перспективную мишень для разработки новых противовирусных препаратов, механизм действия которых основан на нейтрализации инфекции на начальных этапах ее развития. Так как этот процесс активируется в результате связывания белка gp120 ВИЧ-1 с клеточным рецептором CD4, одно из стратегических направлений в работах по созданию новых противовирусных препаратов предполагает поиск низкомолекулярных химических соединений, способных имитировать взаимодействие вируса с молекулой CD4. Согласно данным рентгеноструктурного анализа [6], взаимодействия аминокислотных остатков Phe-43 и Arg-59 молекулы CD4 с консервативными остатками Asp-368, Glu-370 и Trp-427 белка gp120 являются критическими для связывания ВИЧ-1 с рецептором CD4. При этом остаток Phe-43_{CD4} погружается в гидрофобный «карман» CD4-связывающего участка белка gp120, именуемый Phe⁴³-полостью, и взаимодействует с остатками Asp-368, Glu-370, Ile-371, Asn-425, Met-426, Trp-427 и Gly-473, на долю которых приходится 23 % от общего числа контактов ВИЧ-1 с рецептором CD4, а остаток Arg-59_{CD4} формирует две водородные связи с Asp-368_{gp120} [6]. Именно эти взаимодействия обеспечивают прочное связывание белка gp120 ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4 [6].

Цель исследования – осуществить в рамках концепции клики химии *in silico* дизайн и оценку потенциальной нейтрализующей активности новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1, способных блокировать Phe⁴³-полость CD4-связывающего участка белка gp120, и идентифицировать

соединения, перспективные для разработки новых противовирусных препаратов с широким спектром нейтрализующего действия.

Для достижения поставленной цели в работе решены следующие задачи:

1. С помощью компьютерного скрининга базы данных ZINC (<http://zinc.docking.org>) идентифицированы низкомолекулярные химические соединения, которые содержат функциональные группы, участвующие в реакции азид-алкинового циклоприсоединения – основной реакции клик-химии [2].

2. Осуществлен компьютерный дизайн структур-кандидатов потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1 с привлечением идентифицированных в базе данных Zinc соединений в качестве исходных структурных блоков.

3. Проведен отбор молекул, удовлетворяющих правилу «пяти» Липинского, накладывающего на лиганд, взаимодействующий с заданной молекулярной мишенью, условия подобия лекарству [7].

4. Методами молекулярного докинга построены структурные комплексы полученных гибридных молекул с белком gp120 ВИЧ-1, в результате анализа которых идентифицированы химические соединения, перспективные для синтеза и тестирования на противовирусную активность.

Материалы и методы исследования. Решение поставленных задач выполнено в рамках подхода, использующего методологию клик-химии [2] для генерации наиболее вероятных структур-кандидатов биологически активных соединений. Для конструирования потенциальных лигандов с помощью программы DataWarrior (<http://www.openmolecules.org/help/basics.html>) были созданы две молекулярные библиотеки. Первая библиотека (библиотека 1) включала отобранные из кластера Drug-Like базы данных Zinc (<http://zinc.docking.org>) **небольшие молекулы** (молекулярная масса <250 Да) с азидной или алкиновой группами, содержащие ароматические фрагменты – элементы структуры, которые, согласно данным об известных ингибиторах проникновения ВИЧ-1 [8; 9], играют ключевую роль для специфического взаимодействия с Phe⁴³-полостью белка gp120. **Во вторую библиотеку (библиотека 2) были отобраны все низкомолекулярные соединения с молекулярной массой <250 Да, имеющие азидную или алкиновую группы.** В результате работы программы DataWarrior библиотека 1 включала 1388 соединений, а библиотека 2 – 3769. На следующем этапе эти соединения были использованы в качестве исходных реагентов для имитации реакции азид-алкинового циклоприсоединения с помощью программы AutoClickChem (<http://sourceforge.net/projects/autoclickchem/>), которая рассматривала все возможные комбинации молекул из библиотек 1 и 2. Это позволило получить набор из 1 655 301 гибридной молекулы, в котором 294 378 соединений удовлетворяли (по данным программы DruLiTo; http://www.niper.gov.in/pi_dev_tools/DruLiToWeb/DruLiTo_index.html) **правилу «пяти» Липинского [7].** **Оценку ингибирующей активности этих соединений проводили методом высокопроизводительного молекулярного докинга – процедуры виртуального скрининга, позволяющей предсказать наиболее вероятные ориентации лиганда в активном центре белка и рассчитать энтальпийную составляющую свободной энергии образования структурных комплексов [1].**

Молекулярный докинг выполняли с помощью программы QuickVina 2 (<http://omictools.com/quickvina-tool/>) с учетом конформационной подвижности лиганда. Трехмерную структуру белка gp120 выделяли из кристаллического комплекса с рецептором CD4 и антителом 17b (код 1GC1 в Банке данных белков; <http://www.rcsb.org/pdb/>) [6]. **Атомы водорода добавляли к структуре белка gp120 с использованием программного пакета AutoDockTools (<http://autodock.scripps.edu/resources/adt>).** Ячейка для докинга представляла фрагмент белка gp120 с координатами $x \in (24 \text{ \AA}; 34 \text{ \AA})$, $y \in (-15 \text{ \AA}; -5 \text{ \AA})$, $z \in (78 \text{ \AA}; 88 \text{ \AA})$, включающий Phe⁴³-полость гликопротеина, т. е. ее объем составлял $10 \times 10 \times 10 = 1000 \text{ \AA}^3$. Для каждого лиганда генерировали 9 моделей комплекса, лучших по значению оценочной функции; при этом параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), был задан равным 50.

В качестве контрольного соединения в расчетах использовали ингибитор проникновения ВИЧ-1 NBD-11021 [9], представляющий новый класс полных функциональных антагонистов клеточного рецептора CD4.

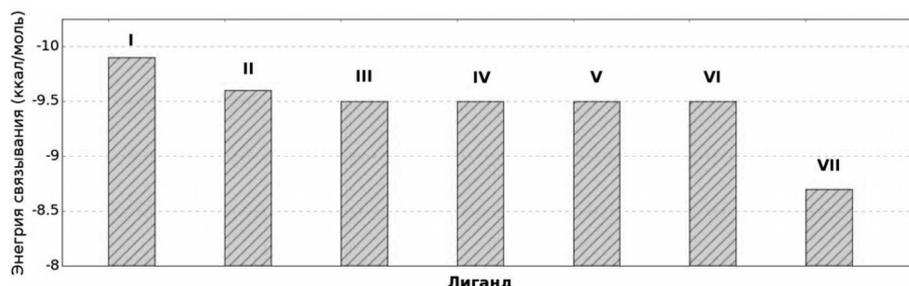


Рис. 1. Величины энергии связывания лигандов I–VI (табл. 1) с белком gp120 ВИЧ-1. Приведено также соответствующее значение для контрольного ингибитора ВИЧ-1 NBD-11021 (лиганд VII)

Fig. 1. The binding energy values calculated for ligands I–VI (table 1) and the HIV-1 gp120 protein. Corresponding value for the HIV-1 inhibitor NBD-11021 used as a control is also given (ligand VII)

Межмолекулярные водородные связи, солевые мостики и π - π -взаимодействия в структурных комплексах потенциальных лигандов с белком gp120 ВИЧ-1 определяли с помощью программы BINANA (<http://nbcf.ucsd.edu/data/sw/hosted/binana/>). Ван-дер-ваальсовы взаимодействия идентифицировали и визуализировали средствами программы Ligplot (<http://ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LIGPLOT/>).

Расчеты проводили на суперкомпьютере «СКИФ-ОИПИ» Объединенного института проблем информатики НАН Беларуси.

Результаты и их обсуждение. Анализ результатов молекулярного докинга позволил выделить 6 соединений-лидеров, характеризующихся более низкими значениями энергии связывания с белком gp120 ВИЧ-1 по сравнению с ингибитором ВИЧ-1 NBD-11021 (рис. 1). Поэтому эти соединения были отобраны для дальнейших исследований как наиболее вероятные миметики клеточного рецептора CD4. Информация об идентифицированных соединениях и их химические структуры приведены в табл. 1 и на рис. 2 соответственно.

Т а б л и ц а 1. Химические соединения – потенциальные ингибиторы проникновения ВИЧ-1

Table 1. Chemical compounds presenting potential HIV-1 entry inhibitors

Лиганд Ligand	Систематическое название Systematic name	Химическая формула Chemical formula	Молекулярная масса (Да) Molecular mass (Da)	LogP ¹	Число доноров водородной связи Number of H-bond donors	Число акцепторов водородной связи Number of H-bond acceptors
I	3-[(1-{2-[4-(1H-имидазол-2-ил) фенил] этил}-5-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил) метил]-5-(2-метилфенил)-1,3,4-оксадиазол-2 (3H)-он	C ₂₄ H ₂₃ N ₇ O ₂	419,02	2,634	1	9
II	2-{2-[4-(аминометил)-5-(8-метил-хинолин-3-ил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил] этил}-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион	C ₂₃ H ₂₀ N ₆ O ₂	394,02	-0,492	2	8
III	4-(аминометил)-5-(8-метилхинолин-3-ил)-N-[3-(трифторметил) фенил]-1H-1,2,3-триазол-1-карбоксамид	C ₂₁ H ₁₇ F ₃ N ₆	412,03	0,905	2	7
IV	1-[(1-{2-[4-(1H-имидазол-2-ил) фенил] этил}-5-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил) метил]-4-(2-метилфенил)-1,4-дигидро-5H-тетразол-5-он	C ₂₂ H ₂₀ ClN ₉ O	419,03	-0,125	1	8
V	(1H-индол-2-ил)(5-фенил-4-[(1H-тетразол-1-ил) амино] метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)метанон	C ₁₉ H ₁₅ N ₉ O	372,04	1,131	1	10
VI	N-({5-фенил-1-[(хинолин-6-ил)метил]-1H-1,2,3-триазол-4-ил}метил) циклопропан карбоксамид	C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O	363,02	1,12	1	6

П р и м е ч а н и е. ¹LogP – липофильность соединения (коэффициент распределения вещества в двухфазной системе н-октанол/вода).

Note. ¹LogP – the compound lipophilicity (the coefficient of substance partition in a biphasic system n-octanol/water).

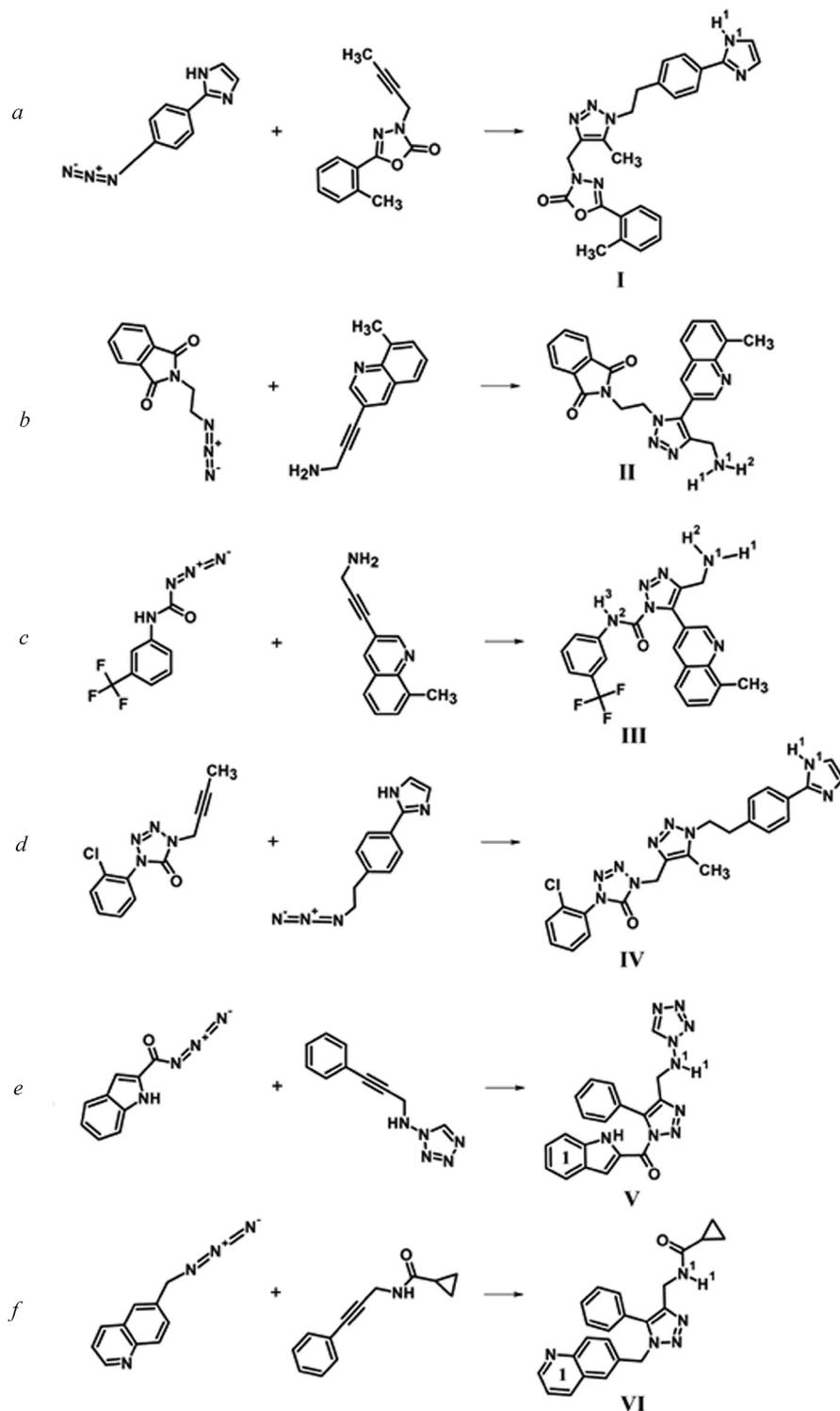


Рис. 2. Схема компьютерного «синтеза» гибридных молекул I (a), II (b), III (c), IV (d), V (e), VI (f) – потенциальных ингибиторов ВИЧ-1, идентифицированных на основе данных молекулярного докинга. Показаны исходные реагенты и конечные продукты реакции азид-алкинового циклоприсоединения. Надстрочными цифрами отмечены функциональные группы молекул, образующие межмолекулярные водородные связи и солевые мостики (табл. 2). Цифрой 1 обозначены ароматические фрагменты, участвующие в π - π -взаимодействии с остатком Trp-427 белка gp120 (табл. 2)

Fig. 2. Computer “synthesis” scheme of hybrid molecules I (a), II (b), III (c), IV (d), V (e), VI (f) presenting potential HIV-1 inhibitors identified based on the data of molecular docking. The starting reagents and final products of the reaction of azide-alkyne cycloaddition are shown. The functional groups of molecules forming intermolecular hydrogen bonds and salt bridges are indicated by superscript numbers (Table 2). Aromatic moieties participating in π - π -interactions with Trp-427 of gp120 are marked (Table 2)

Исследование построенных структурных комплексов показывает (рис. 3, табл. 2), что все анализируемые молекулы блокируют две «горячие точки» связывания белка gp120 с рецептором CD4 – Phe⁴³-полость гликопротеина и остаток Asp-368_{gp120}, расположенный у входа в этот гидрофобный «карман» [6]. При этом во всех рассматриваемых случаях идентифицированные соединения образуют водородную связь с остатком Asp-368_{gp120} (табл. 2), имитируя его взаимодействие с Arg-59_{CD4}, которое является критическим для связывания белка gp120 ВИЧ-1 с клеткой-мишенью [6]. Кроме того, соединения II и III формируют солевой мостик с Asp-368_{gp120}, реализующийся между этим остатком белка gp120 и Arg-59_{CD4} в кристаллическом комплексе gp120/CD4 [6],

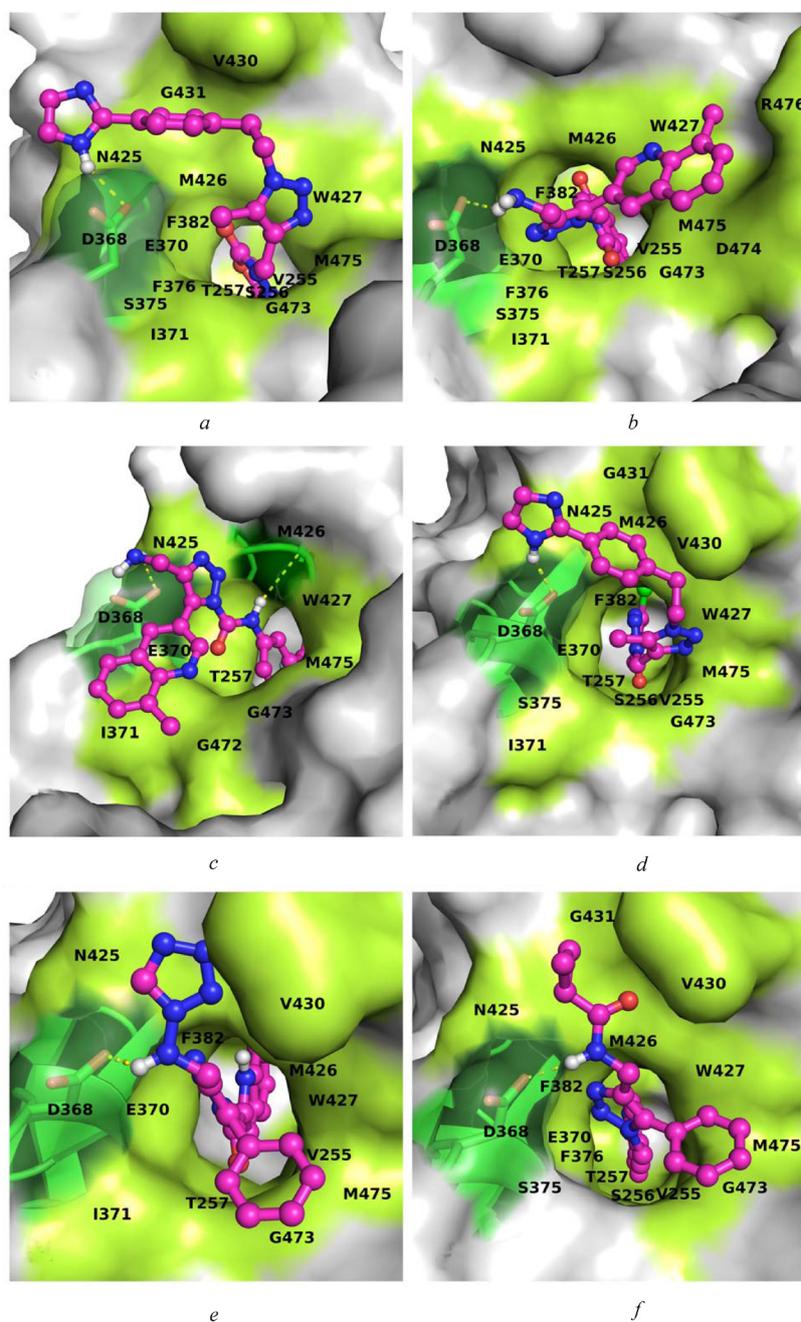


Рис. 3. Структурные комплексы соединений I (a), II (b), III (c), IV (d), V (e) и VI (f) с белком gp120 ВИЧ-1. Соединения изображены с помощью молекулярной модели «шарик–палочка». Отмечены остатки белка gp120, образующие межмолекулярные контакты с лигандами (табл. 2). Водородные связи показаны пунктирными линиями

Fig. 3. The docked structures of compounds I (a), II (b), III (c), IV (d), V (e), and VI (f) with the HIV-1 gp120 protein. The compounds are represented by a ball-stick model. The residues of gp120 forming interatomic contacts with the ligands are indicated (Table 2). Hydrogen bonds are shown by dotted lines

а соединения V и VI участвуют в специфическом π – π -взаимодействии (Т-стэкинге) с консервативным триптофаном в позиции 427 Phe⁴³-полости CD4-связывающего участка ВИЧ-1 (табл. 2). Среди анализируемых соединений необходимо выделить лиганд III, который образует водородную связь с карбонильной группой основной цепи остатка Met-426_{gp120} (табл. 2), недавно идентифицированного в качестве еще одной «горячей точки» связывания белка gp120 с клеточным рецептором CD4 [10]. Эти данные представляют значительный интерес в связи с результатами работы [8], согласно которым прямое водородное связывание функционального антагониста входа вируса в клетку-мишень (+)-DMJ-II-121 с карбонильной группой остатка Met-426_{gp120} приводит к увеличению противовирусной активности по сравнению с ингибитором (+)-DMJ-I-228, который взаимодействует с Met-426_{gp120} путем опосредованного водным окружением образования водородной связи.

Т а б л и ц а 2. Межмолекулярные взаимодействия, реализующиеся в структурных комплексах сконструированных соединений с белком gp120 ВИЧ-1

T a b l e 2. Intermolecular interactions appearing in the structural complexes of the designed compounds with the HIV-1 gp120 protein

Лиганд Ligand	Водородная связь ¹ Hydrogen bond ¹	Ван-дер-ваальсовы контакты ² Van der Waals contacts	Солевые мостики и π – π - взаимодействия ³ Salt bridges and π – π interactions ³
I	N ¹ H ¹ ...O _{D2} [D ₃₆₈]	V255(4), S256(2), T257(2), D368(5), E370(8), I371 (1), S375(2), F376 (1), F382(2), N425(11), M426(5), W427(12), V430(5), G431(3), G473(4), M475 (1)	–
II	N ¹ H ¹ ...O _{D2} [D ₃₆₈]	V255(5), S256(4), T257(3), D368(4), E370(8), I371(4), S375(3), F376(2), F382(2), N425(3), M426(5), W427(19), G473(8), D474(5), M475(2), R476(2)	N ¹ H ¹ H ² ...D368 (солевой мостик)
III	N ² H ³ ...O[M ₄₂₆] N ₁ H ₁ ...O _{D2} [D ₃₆₈]	T257(2), D368(6), E370(8), I371(7), N425(2), M426(4), W427(9), G472 (1), G473(2), M475(2)	N ¹ H ¹ H ² ...D368 (солевой мостик)
IV	N ¹ H ¹ ...O _{D2} [D ₃₆₈]	V255(2), S256(2), T257(3), D368(5), E370(8), I371 (1), S375(2), F382(2), N425(7), M426(4), W427(13), V430(5), G431(3), G473(4), M475(2)	–
V	N ¹ H ¹ ...O _{D1} [D ₃₆₈]	V255 (1), T257 (1), D368(4), E370(7), I371 (1), F382(2), N425(8), M426(3), W427(7), V430(5), G473(7), M475	1...W427 (Т-стэкинг)
VI	N ¹ H ¹ ...O _{D2} [D ₃₆₈]	V255, S256(2), T257(3), D368(3), E370(8), S375(3), F376 (1), F382(2), N425(8), M426(4), W427(9), V430(6), G431 (1), G473(12), M475(2)	1...W427 (Т-стэкинг)

П р и м е ч а н и я. ¹Первыми указаны доноры водородной связи молекулы лиганда (рис. 2), а вторыми – атомы-акцепторы аминокислотных остатков белка gp120 (приведены в квадратных скобках в однобуквенном коде). ²Аминокислотные остатки белка gp120, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с лигандами. В круглых скобках указано число контактов. ³Для солевых мостиков первыми указаны функциональные группы лигандов, а для π – π -взаимодействий – номера их ароматических колец (рис. 2).

N o t e s: ¹Donors of the hydrogen bonds relating to the ligands are shown first (Figure 2), followed by the corresponding acceptors of the gp120 amino acids (the residues of gp120 are in brackets in one-letter code). ²Amino acids of gp120 forming van der Waals contacts with the ligands. The number of contacts is given in round brackets. ³The functional groups of ligands and numbers of their aromatic rings (Figure 2) are shown first for salt bridges and π – π interactions, respectively.

Из рис. 3 видно, что, как и бензольное кольцо боковой цепи остатка Phe-43_{CD4} [6], ароматические фрагменты сконструированных соединений погружены в Phe⁴³-полость белка gp120 и образуют широкую сеть ван-дер-ваальсовых контактов (рис. 4), суммарное число которых варьирует от 43 (соединение III) до 76 (соединение II). Полученные данные показывают (рис. 4, табл. 2), что все эти соединения участвуют в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях с консервативными остатками Thr-257, Asp-368, Glu-370, Asn-425, Met-426, Trp-427, Gly-473 и Met-475 белка gp120, формирующими прямые межмолекулярные контакты с остатком Phe-43_{CD4} [6]. Как было отмечено выше, остатки Asp-368, Glu-370 и Trp-427 gp120 играют ключевую роль при связывании ВИЧ-1 с клеточным рецептором CD4; при этом Asp-368, Glu-370, Asn-425, Met-426, Trp-427 и Gly-473 обеспечивают специфические взаимодействия вируса с мембраной клетки-хозяина и вносят

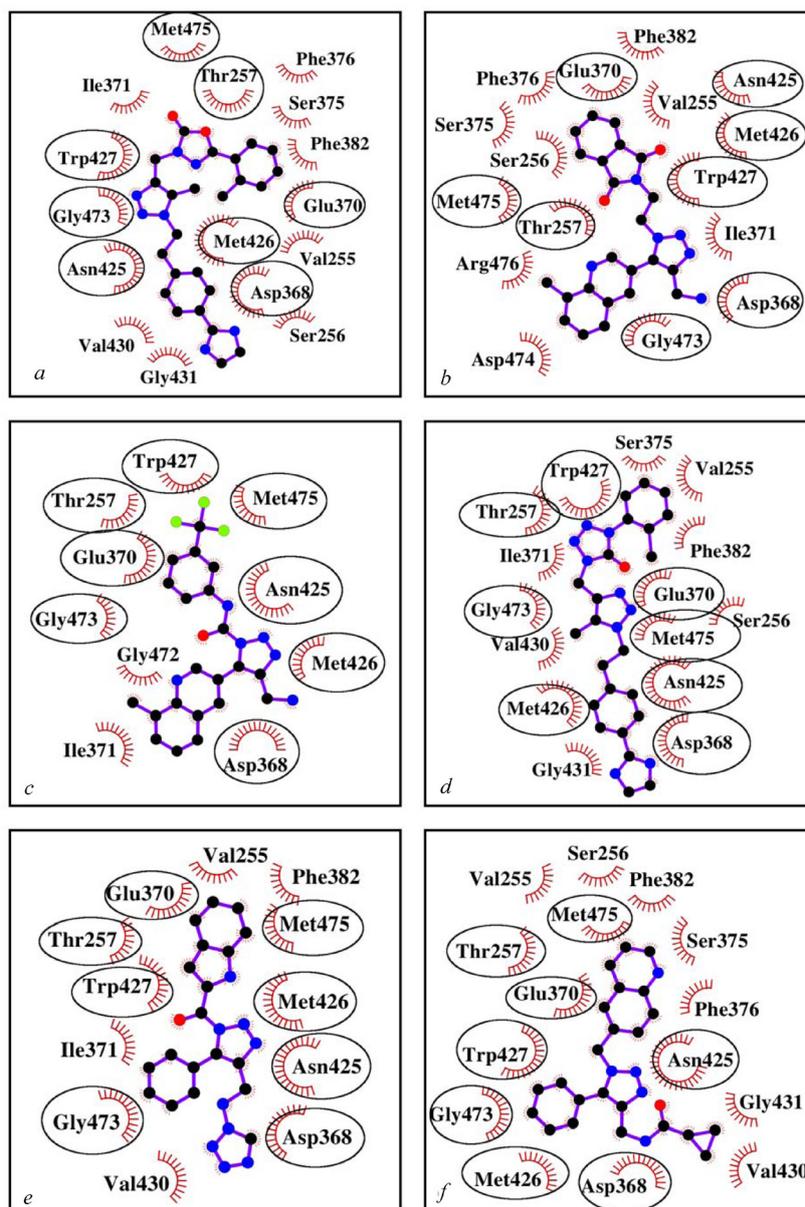


Рис. 4. Аминокислотные остатки белка gp120, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с соединениями I (a), II (b), III (c), IV (d), V (e) и VI (f). Эллипсом выделены остатки, вовлеченные в ван-дер-ваальсовы взаимодействия во всех рассматриваемых случаях. Суммарное число ван-дер-ваальсовых контактов составляет: 68 (a), 76 (b), 43 (c), 63 (d), 47 (e) и 65 (f)

Fig. 4. The gp120 residues making van der Waals contacts with compounds I (a), II (b), III (c), IV (d), V (e), and VI (f). Residues participating in van der Waals interactions in all of the cases of interest are marked by circles. The total number of van der Waals contacts is: 68 (a), 76 (b), 43 (c), 63 (d), 47 (e), and 65 (f)

существенный вклад в энергетическую стабилизацию комплекса белка gp120 с молекулой CD4 [6]. Этот вывод относится и к остатку Thr-257_{gp120}, который располагается в данной надмолекулярной структуре под бензольным кольцом Phe-43_{CD4}, а также к остатку Met-475_{gp120} [6]. Кроме того, отдельные лиганды вступают в прямые межмолекулярные контакты с такими важными для связывания gp120 с CD4 остатками, как Ile-371 (соединения I-V), Val-430 (соединения I, IV, V, VI), Gly-431 (соединения I, IV, VI) (рис. 4, табл. 2). Завершая анализ данных табл. 2, обратим также внимание на то, что значительная доля ван-дер-ваальсовых контактов с лигандами приходится на Trp-427_{gp120}, доминирующий в связывании белка gp120 с остатком Phe-43 рецептора CD4 [6].

Таким образом, анализ данных молекулярного моделирования свидетельствует о том, что обнаруженные с помощью молекулярного докинга потенциальные CD4-миметики способны к эффективной блокаде аминокислотных остатков белка gp120, ответственных за критические взаимодействия ВИЧ-1 с остатками Phe-43 и Arg-59 клеточного рецептора CD4. Известно, что эти остатки молекулы CD4 являются ключевыми при ее взаимодействии с белком gp120: по данным направленного точечного мутагенеза [11; 12], одиночные замены Phe-43_{CD4} и Arg-59_{CD4} на аланин уменьшают аффинность связывания gp120 с рецептором CD4 в 550 и 9 раз соответственно. Согласно расчетным данным, сконструированные гибридные молекулы взаимодействуют с Phe⁴³-полостью белка gp120 и с Asp-368_{gp120}, что указывает на высокую вероятность проявления ими ВИЧ-ингибирующих свойств, присущих полным функциональным антагонистам клеточного рецептора CD4 [8]. Как показано в работе [8] на примере ингибиторов (+)-DMJ-II-121 и (+)-DMJ-I-228, одновременная блокада этих двух «горячих точек» связывания белка gp120 с молекулой CD4 приводит к увеличению химического сродства лиганда к рецептору по сравнению с ингибиторами ВИЧ-1 NBD-556 и NBD-557 [13] – агонистами молекулы CD4, взаимодействующими только с Phe⁴³-полостью белка gp120. Причем увеличение сродства не сопровождается при этом возникновением биологического ответа, что является характерным признаком полных функциональных антагонистов входа ВИЧ-1 в клетку-мишень, блокирующих CD4-связывающий участок белка gp120 [8].

При анализе результатов молекулярного докинга следует отметить, что они получены нами для CD4-связанной формы белка gp120, представляющей «основное» конформационное состояние этого гликопротеина [14]. Однако известно, что взаимодействие ВИЧ-1 с рецептором CD4 вызывает структурные изменения белка gp120, которые активируют трансмембранный белок gp41 и приводят к слиянию оболочки вируса с клеточной мембраной с последующим внедрением генома ВИЧ в клетку-мишень [5]. Сравнительный анализ структур белка gp120 в связанной с CD4 и в свободной от лигандов формах показал [14], что, несмотря на значительное структурное подобие, между ними существует ряд конформационных различий, обусловленных влиянием переменных петель гликопротеина и межмолекулярными взаимодействиями в четвертичной структуре тримера оболочки вируса. Поэтому дальнейшее развитие настоящей работы предусматривает использование идентифицированных CD4-миметиков в качестве базовых структур для компьютерного конструирования их аналогов с большим сродством к CD4-связывающему участку белка gp120 и улучшенными фармакокинетическими свойствами [15]. Эта работа также предполагает проведение методами молекулярного докинга и молекулярной динамики оценки потенциальной нейтрализующей активности сконструированных соединений и их аналогов для свободной от лигандов формы белка gp120.

Заключение. Данные молекулярного моделирования показывают, что сконструированные соединения (рис. 2) способны блокировать две консервативные «горячие точки» CD4-связывающего участка путем имитации критических взаимодействий первичного рецептора CD4 с белком gp120 ВИЧ-1. Эти «горячие точки» включают Phe⁴³-полость белка gp120 и остаток Asp-368_{gp120}, взаимодействие с которыми увеличивает аффинность связывания без активации нежелательного аллостерического сигнала [8]. Как и клеточный рецептор CD4 [6], идентифицированные молекулы образуют водородные связи с Asp-368_{gp120} (табл. 2, рис. 3) и многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты с аминокислотными остатками белка gp120, ответственными за специфические взаимодействия с Phe-43_{CD4} (табл. 2, рис. 4).

Кроме того, обнаруженные соединения демонстрируют величины энергии связывания, сопоставимые (с учетом погрешностей расчета) с соответствующим значением, вычисленным для ингибитора ВИЧ-1 NBD-11021 [9] (рис. 1), и полностью удовлетворяют правилу «пяти» Липинского, которое позволяет идентифицировать молекулы с хорошими фармакокинетическими характеристиками [7].

В связи с этим, полученные потенциальные CD4-миметики могут быть использованы в качестве базовых структур для разработки новых, эффективных и безопасных лекарственных препаратов против ВИЧ-1 с широкой вирусной нейтрализацией.

Благодарности. Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект X17MC-004).

Acknowledgements. The work has been financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (project no. X17MC-004).

Список использованных источников

1. Андрианов, А. М. Конформационный анализ белков. Теория и приложения / А. М. Андрианов. – Минск: Белорусская наука, 2013. – 518 с.
2. Kolb, H. C. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions / H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2001. – Vol. 40, N 11. – P. 2004–2021. doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11%3C2004::aid-anie2004%3E3.3.co;2-x
3. Arts, E. J. HIV-1 antiretroviral drug therapy / E. J. Arts, D. J. Hazuda // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* – 2012. – Vol. 2, N 4. – a007161. doi: 10.1101/cshperspect.a007161
4. Tilton, J. C. Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection / J. C. Tilton, R. W. Doms // *Antiviral Res.* – 2010. – Vol. 85, N 1. – P. 91–100. doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.07.022
5. Andrianov, A. M. HIV-1 gp120 V3 loop for anti-AIDS drug discovery: computer-aided approaches to the problem solving / A. M. Andrianov // *Expert Opin. Drug Discov.* – 2011. – Vol. 6, N 4. – P. 419–435. doi: 10.1517/17460441.2011.560603
6. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody / P. D. Kwong [et al.] // *Nature.* – 1998. – Vol. 393. – P. 648–659. doi:10.1038/31405
7. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – Vol. 46, N 1–3. – P. 3–26. dx.doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0
8. Structure-based design, synthesis and validation of CD4-mimetic small molecule inhibitors of HIV-1 entry: Conversion of a viral entry agonist to an antagonist / J. R. Courter [et al.] // *Acc. Chem. Res.* – 2014. – Vol. 47, N 4. – P. 1228–1237. doi.org/10.1021/ar4002735
9. Structure-based design of a small molecule CD4-antagonist with broad spectrum anti-HIV-1 activity / F. Curreli [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 58, N 17. – P. 6909–6927. doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00709
10. Liu, Y. Optimization of CD4/gp120 inhibitors by thermodynamic-guided alanine-scanning mutagenesis / Y. Liu, A. Schön, E. Freire // *Chem. Biol. Drug Des.* – 2013. – Vol. 81, N 1. – P. 72–78. doi.org/10.1111/cbdd.12075
11. The human immunodeficiency virus-gp120 binding-site on CD4 – Delineation by quantitative equilibrium and kinetic binding studies of mutants in conjunction with a high-resolution CD4 atomic-structure / U. Moebius [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1992. – Vol. 176, N 2. – P. 507–517. doi.org/10.1084/jem.176.2.507
12. Identification of individual human-immunodeficiency-virus type-1 gp120 amino-acids important for CD4 receptor-binding / U. Olshevsky [et al.] // *J. Virol.* – 1990. – Vol. 64, N 12. – P. 5701–5707.
13. Identification of N-phenyl-N'-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-yl)-oxalamides as a new class of HIV-1 entry inhibitors that prevent gp120 binding to CD4 / Q. Zhao [et al.] // *Virology.* – 2005. – Vol. 339, N 2. – P. 213–225. doi.org/10.1016/j.virology.2005.06.008
14. Unliganded HIV-1 gp120 core structures assume the CD4-bound conformation with regulation by quaternary interactions and variable loops / Y. D. Kwon [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2012. – Vol. 109, N 15. – P. 5663–5668. doi.org/10.1073/pnas.1112391109
15. Durrant, J. D. AutoGrow: a novel algorithm for protein inhibitor design / J. D. Durrant, R. E. Amaro, J. A. McCammon // *Chem. Biol. Drug Des.* – 2009. – Vol. 73, N 2. – P. 168–178. doi.org/10.1111/j.1747-0285.2008.00761.x

References

1. Andrianov A. M. *Conformational analysis of proteins. Theory and applications*. Minsk, Belorusskaya nauka Publ., 2013. 518 p. (in Russian).
2. Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 2001, vol. 40, no. 11, pp. 2004–2021. doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11%3C2004::aid-anie2004%3E3.3.co;2-x
3. Arts E. J., Hazuda D. J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2012, vol. 2, no. 4, a007161. doi: 10.1101/cshperspect.a007161
4. Tilton J. C., Doms R. W. Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection. *Antiviral Research*, 2010, vol. 85, no. 1, pp. 91–100. doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.07.022
5. Andrianov A. M. HIV-1 gp120 V3 loop for anti-AIDS drug discovery: computer-aided approaches to the problem solving. *Expert Opinion in Drug Discovery*, 2011, vol. 6, no. 4, pp. 419–435. doi: 10.1517/17460441.2011.560603
6. Kwong P. D., Wyatt R., Robinson J., Sweet R. W., Sodroski J., Hendrickson W. A. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature*, 1998, vol. 393, pp. 648–659. doi:10.1038/31405
7. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, vol. 46, no. 1–3, pp. 3–26. dx.doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0
8. Courter J. R., Madani N., Sodroski J., Schön A., Freire E., Kwong P. D., Hendrickson W. A., Chaiken I. M., LaLonde J. M., Smith A. B. Structure-based design, synthesis and validation of CD4-mimetic small molecule inhibitors of HIV-1 entry:

Conversion of a viral entry agonist to an antagonist. *Accounts of Chemical Research*, 2014, vol. 47, no. 4, pp. 1228–1237. doi.org/10.1021/ar4002735

9. Curreli F., Kwon Y. D., Zhanga H., Scacalossi D., Belov D. S., Tikhonov A. A., Andreev I. A., Altieri A., Kurkin A. V., Kwong P. D., Debnath A. K. **Structure-based design of a small molecule CD4-antagonist with broad spectrum anti-HIV-1 activity.** *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 58, no. 17, pp. 6909–6927. doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00709

10. Liu Y., Schön A., Freire E. Optimization of CD4/gp120 inhibitors by thermodynamic-guided alanine-scanning mutagenesis. *Chemical Biology and Drug Design*, 2013, vol. 81, no. 1, pp. 72–78. doi.org/10.1111/cbdd.12075

11. Moebius U., Clayton L. K., Abraham S., Harrison S. C., Reinherz E. L. The human immunodeficiency virus-gp120 binding-site on CD4 – Delineation by quantitative equilibrium and kinetic binding studies of mutants in conjunction with a high-resolution CD4 atomic-structure. *The Journal of Experimental Medicine*, 1992, vol. 176, no. 2, pp. 507–517. doi.org/10.1084/jem.176.2.507

12. Olshevsky U., Helseth E., Furman C., Li J., Haseltine W., Sodroski J. Identification of individual human-immunodeficiency-virus type-1 gp120 amino-acids important for CD4 receptor-binding. *Journal of Virology*, 1990, vol. 64, no. 12, pp. 5701–5707.

13. Zhao Q., Ma L., Jiang S., Lu H., Liu S., He Y., Strick N., Neamati N., Debnath A. K. Identification of N-phenyl-N'-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-yl)-oxalamides as a new class of HIV-1 entry inhibitors that prevent gp120 binding to CD4. *Virology*, 2005, vol. 339, no. 2, pp. 213–225. doi.org/10.1016/j.virol.2005.06.008

14. Kwon Y. D., Finzi A., Wu X., Dogo-Isonagie C., Lee L. K., Moore L. R., Schmidt S. D., Stuckey J., Yang Y., Zhou T., Zhu J., Vivic D. A., Debnath A. K., Shapiro L., Bewley C. A., Mascola J. R., Sodroski J. G., Kwong P. D. Unliganded HIV-1 gp120 core structures assume the CD4-bound conformation with regulation by quaternary interactions and variable loops. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, vol. 109, no. 15, pp. 5663–5668. doi.org/10.1073/pnas.1112391109

15. Durrant J. D., Amaro R. E., McCammon J. A. AutoGrow: A novel algorithm for protein inhibitor design. *Chemical Biology and Drug Design*, 2009, vol. 73, no. 2, pp. 168–178. doi.org/10.1111/j.1747-0285.2008.00761.x

Информация об авторах

Андрианов Александр Михайлович – д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrianov@iboch.bas-net.by.

Кашин Иван Александрович – науч. сотрудник. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lighkia@gmail.com.

Николаев Григорий Игоревич – аспирант. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: reshaemsem@gmail.com.

Тузиков Александр Васильевич – член-корреспондент, д-р физ.-мат. наук, профессор, директор. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

Для цитирования

In silico дизайн и оценка потенциальной активности новых ингибиторов ВИЧ-1 – миметиков первичного рецептора CD4 белка gp120 оболочки вируса / А. М. Андрианов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2017. – Т. 61, № 3. – С. 47–57.

Information about the authors

Andrianov Alexander Mihailovich – D. Sc. (Chemistry), Chief researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andrianov@iboch.bas-net.by.

Kashin Ivan Aleksandrovich – Researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus (6, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lighkia@gmail.com.

Nikolaev Grigorii Igorevich – Postgraduate student. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus (6, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: reshaemsem@gmail.com.

Tuzikov Aleksander Vasil'evich – Corresponding Member, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Director. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus (6, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

For citation

Andrianov A. M., Kashyn I. A., Nikolaev G. I., Tuzikov A. V. *In silico* design and evaluation of the potential activity of novel HIV-1 inhibitors – mimetics of the primary receptor CD4 of the viral envelope gp120 protein. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi* [Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus], 2017, vol. 61, no. 3, pp. 47–57 (in Russian).