

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 51-76:577.322:539.19

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-576-584>

Поступило в редакцию 12.06.2018

Received 12.06.2018

**И. А. Кашин<sup>1</sup>, Г. И. Николаев<sup>1</sup>, член-корреспондент А. В. Тузиков<sup>1</sup>, А. М. Андрианов<sup>2</sup>**<sup>1</sup>*Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,  
Минск, Республика Беларусь*<sup>2</sup>*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь***МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ВИЧ-1 С БЕЛКОМ GP120 ОБОЛОЧКИ ВИРУСА**

**Аннотация.** Проведены молекулярно-динамические расчеты структурных комплексов потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 с белком gp120 оболочки вируса. Рассчитаны свободные энергии образования этих надмолекулярных структур и вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 ВИЧ-1 в энтальпию связывания. Идентифицированы остатки gp120, критические для взаимодействия с лигандами. На основе полученных данных отобраны пять соединений, перспективных для синтеза и тестирования на противовирусную активность. Предсказано, что эти соединения могут быть использованы для разработки новых эффективных анти-ВИЧ препаратов с широким спектром действия.

**Ключевые слова:** ВИЧ-1, белок gp120, ингибиторы проникновения ВИЧ-1, молекулярная динамика, лекарственные препараты против ВИЧ

**Для цитирования.** Молекулярная динамика структурных комплексов потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 с белком gp120 оболочки вируса / И. А. Кашин [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 576–584. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-576-584>

**Ivan A. Kashyn<sup>1</sup>, Grigory I. Nikolaev<sup>1</sup>, Corresponding Member Alexander V. Tuzikov<sup>1</sup>,  
Alexander M. Andrianov<sup>2</sup>**<sup>1</sup>*United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*<sup>2</sup>*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***MOLECULAR DYNAMICS FOR STRUCTURAL COMPLEXES  
OF POTENTIAL HIV-1 INHIBITORS WITH THE VIRAL ENVELOPE GP120 PROTEIN**

**Abstract.** Molecular dynamics simulations for the structural complexes of potential HIV-1 inhibitors with the viral envelope gp120 protein were carried out. Free energies of the formation of these supramolecular structures and contributions of individual amino-acid residues of gp120 to the enthalpy binding were calculated. The residues of gp120 critical for interactions with the ligands were identified. Based on the data obtained, five compounds promising for synthesis and testing for antiviral activity were selected. It is suggested that these compounds may be successfully used in the design of novel, potent and broad anti-HIV drugs.

**Keywords:** HIV-1, gp120 protein, HIV-1 entry inhibitors, molecular dynamics, anti-HIV drugs

**For citation:** Kashyn I. A., Nikolaev G. I., Tuzikov A. V., Andrianov A. M. Molecular dynamics for structural complexes of potential HIV-1 inhibitors with the viral envelope gp120 protein. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 576–584 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-576-584>

**Введение.** С начала эпидемии СПИДа более 70 миллионов человек заразились ВИЧ-1, и около половины из них уже нет в живых [1]. В последние годы темпы роста глобальной эпидемии СПИДа стабилизировались: с 1997 года, на протяжении которого было зафиксировано наибольшее количество заразившихся людей, ежегодное число новых случаев инфицирования ВИЧ постоянно уменьшалось [1]. Однако ситуация в ряде регионов не согласуется с общей тенденцией уменьшения числа ВИЧ-позитивных пациентов. Так, в странах Восточной Европы и Центральной Азии наблюдается рост показателей заражения ВИЧ [1]. По состоянию на 1 марта 2018 г. в Республике Беларусь зарегистрированы 25074 случая ВИЧ-инфекции, а количество людей, живущих с ВИЧ, составило 19519 при показателе распространенности, равном 205,6 на 100 тысяч населения.

На сегодняшний день стандартным методом лечения является высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ), которая предполагает совместное использование нескольких препара-

тов, блокирующих разные стадии жизненного цикла вируса [2]. Применение методов ВААРТ привело к существенному снижению уровня заболеваемости и смертности от ВИЧ-инфекции, и в настоящее время они являются главным средством борьбы против вируса [2]. Тем не менее, методы ВААРТ по-прежнему остаются паллиативным средством и неспособны остановить пандемию ВИЧ-1. Кроме того, токсичность и высокая стоимость используемых в ВААРТ препаратов являются существенными факторами, ограничивающими их повсеместное использование [2].

Обнаружение моноклональных антител широкого спектра действия создало предпосылки для разработки универсальной вакцины против ВИЧ-1 [3], но, несмотря на интенсивные исследования, многочисленные попытки разработать иммуноген, индуцирующий антитела к ВИЧ-1 с широкой вирусной нейтрализацией, к настоящему времени не увенчались успехом [4]. К сожалению, разработанные вакцины-кандидаты не могут стимулировать индукцию нейтрализующих антител против большинства циркулирующих в мире вирусных штаммов. Поэтому задача создания вакцин, способных индуцировать их выработку, является главным приоритетом в развитии стратегий по разработке эффективных препаратов для профилактики и лечения ВИЧ-инфекции [4].

Наряду с работами по созданию эффективной и безопасной вакцины против ВИЧ-1 большое внимание уделяется разработке новых лекарственных препаратов, терапевтическое действие которых основано на ингибировании ранних стадий развития ВИЧ-инфекции, ответственных за проникновение вируса в клетку-мишень [5]. ВИЧ-1 адсорбируется на поверхности мембраны клетки-мишени в результате связывания белка gp120 оболочки вируса с первичным рецептором CD4 [6]. Связывание с молекулой CD4 приводит к структурным изменениям белка gp120, что облегчает его взаимодействие с корецепторами CXCR4 (X вирусы) или CCR5 (R вирусы) [6]. Взаимодействие с корецептором инициирует конформационные перестройки трансмембранного белка gp41, сопровождающиеся внедрением его концевой домена в клеточную мембрану [6]. При этом в белке gp41 формируется похожая на шпильку вытянутая спиральная структура из шести звеньев, обеспечивающая слияние внешней оболочки вируса с клеточной мембраной и последующее высвобождение вирусного капсида в цитоплазму [6].

В последние годы разработано большое число низкомолекулярных соединений, ингибирующих взаимодействие ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4, корецепторами CCR5 и CXCR4 и участком белка gp41, критическим для слияния мембран вируса и клетки-хозяина [5], но, в силу разных причин, большинство из них не прошло клинические испытания. В настоящее время в ВААРТ применяются только два ингибитора проникновения – энфувертид, блокирующий слияние мембран вируса и клетки-мишени, и маравирик, конкурирующий с ВИЧ-1 за связывание с корецептором CCR5 [5]. Однако эти препараты имеют ряд недостатков, ограничивающих их использование в антиретровирусной терапии [5]. В связи с этим представляется актуальным поиск новых, более эффективных, менее токсичных и дешевых анти-ВИЧ агентов, блокирующих первый этап репликационного цикла вируса.

В последнее десятилетие важную роль в процессе создания новых лекарственных препаратов играют методы компьютерного молекулярного моделирования, которые позволяют значительно сократить сроки разработки лекарств и существенно уменьшить финансовые расходы [7]. Значительные успехи достигнуты с помощью этих методов при разработке новых ингибиторов обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1, белка M2 и нейраминидазы вируса гриппа, протеиназы коронавируса SARS-CoV, тимидинкиназы вируса герпеса, вируса гепатита С и протеиназы риновируса человека [7].

В [8] на основе методологии клик-химии нами был осуществлен компьютерный дизайн потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1, способных, согласно расчетным данным, блокировать CD4-связывающий участок белка gp120. В результате проведенных исследований методами молекулярного докинга были идентифицированы шесть соединений, перспективных для дальнейших исследований. Настоящая работа продолжает исследования, начатые ранее [8], и посвящена изучению методами молекулярной динамики (МД) энергетических характеристик и конформационной устойчивости структурных комплексов этих соединений с молекулярной мишенью – белком gp120 оболочки вируса.

Для решения этой задачи проведены следующие исследования:

1. Построены молекулярно-динамические траектории комплексов шести сконструированных в [8] соединений с белком gp120 ВИЧ-1;
2. Рассчитаны свободные энергии образования этих надмолекулярных структур;
3. Определены вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 в энтальпию связывания;
4. Выполнен анализ межмолекулярных водородных связей, реализующихся в динамических структурах комплексов, и рассчитаны частоты их появления на МД траекториях комплексов.

На основе полученных данных отобраны пять соединений-лидеров, характеризующихся низкими значениями свободной энергии связывания и большим числом энергетически благоприятных межатомных контактов с участком белка gp120, критическим для взаимодействия ВИЧ-1 с клеточным рецептором CD4.

**Материалы и методы исследования.** МД расчеты проводили с помощью программного пакета Amber 11 (<http://ambermd.org/>) в силовом поле Amber (набор параметров ff10) с явным заданием растворителя (трехточечная модель воды TIP3P) [9]. Для параметризации лигандов использовали обобщенное силовое поле AMBER (<http://ambermd.org/>). Начальные координаты атомов водорода белка gp120 определяли с привлечением модуля xleap пакета AMBERTools 1.5 (<http://ambermd.org/>) [9]. Структурные комплексы потенциальных ингибиторов ВИЧ с белком gp120, построенные в [8], помещали в ячейку в форме усеченного октаэдра таким образом, чтобы наименьшее расстояние между ее гранями и атомами исследуемой системы превосходило 10 Å, после чего свободное пространство заполняли молекулами воды. Перед проведением МД расчетов энергию структурного комплекса минимизировали методами наискорейшего спуска (500 шагов) и сопряженных градиентов (1000 шагов). Затем осуществляли нагрев системы от 0 до 310 К в течение 1 нс при постоянном объеме ячейки. На следующем шаге в течение 1 нс уравнивали давление в системе, установленное на значении 1 атм., посредством динамического изменения размеров ячейки (<http://ambermd.org/>) [9] с характерной частотой 2,0 пс<sup>-1</sup>. На этапах нагрева и уравнивания давления накладывали дополнительные ограничения на положения атомов системы с помощью потенциала параболической формы с силовыми постоянными, равными соответственно 1,0 и 0,5 ккал/моль. Далее эти ограничения снимали и вновь подвергали систему релаксации в течение 2 нс в изобарно-изотермических условиях. На заключительном шаге моделирования проводили расчет МД траектории длительностью 30 нс при температуре  $T = 310$  К и давлении  $P = 1,0$  атм. Для контроля температуры использовали термостат Ланжевена (<http://ambermd.org/doc10/>) [9] с частотой столкновений 2,0 пс<sup>-1</sup>. Контроль давления в ячейке осуществляли с помощью баростата Берендсена [9] с характерным временем 2,0 пс. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма “leap-frog” (<http://ambermd.org/doc10/>) [9] с шагом интегрирования 2,0 фс. Для фиксации длин всех связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE (<http://ambermd.org/>) [9]. Максимальное расстояние, на котором учитывали невалентные взаимодействия, задавали равным 8,0 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда [9].

Средние значения свободной энергии образования комплексов и вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 в энтальпию связывания вычисляли с помощью метода MM-PB/SA [10], реализованного в программном пакете AMBER 11 [9]. При оценке свободной энергии первые 5 нс МД моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Энтальпийную составляющую свободной энергии связывания вычисляли для 500 комплексов МД траектории, разделенных 50 пс. Энтропийную компоненту рассчитывали для 50 комплексов с шагом 5 пс. Для расчета полярной составляющей энергии сольватации использовали континуальную модель растворителя Пуассона–Больцмана с ионной силой 0,1. Неполярные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю [10]. Энтропийный член свободной энергии связывания определяли с помощью модуля Nmode в программном пакете Amber 11 [9]. Из шести потенциальных лигандов ВИЧ-1, идентифицированных методами молекулярного докинга в [8], для заключительного анализа были отобраны пять химических соединений с отрицательными значениями свободной энергии образования структурных комплексов с белком gp120 ВИЧ-1.

Для идентификации межмолекулярных водородных связей в динамических структурах комплексов использовали программный модуль ptray пакета AMBERTools (<http://ambermd.org/>) [9]. Анализ МД траекторий комплексов выполняли с помощью модуля AmberTools 1.5 программного пакета AMBER 11 [9].

В качестве контрольного соединения в расчетах использовали ингибитор проникновения ВИЧ-1 NBD-11021, представляющий новый класс полных функциональных антагонистов клеточного рецептора CD4 [11].

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

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 1 показаны химические структуры отобранных для анализа лигандов ВИЧ-1, а в табл. 1 приведены средние значения свободной энергии  $\langle \Delta G \rangle$  об-

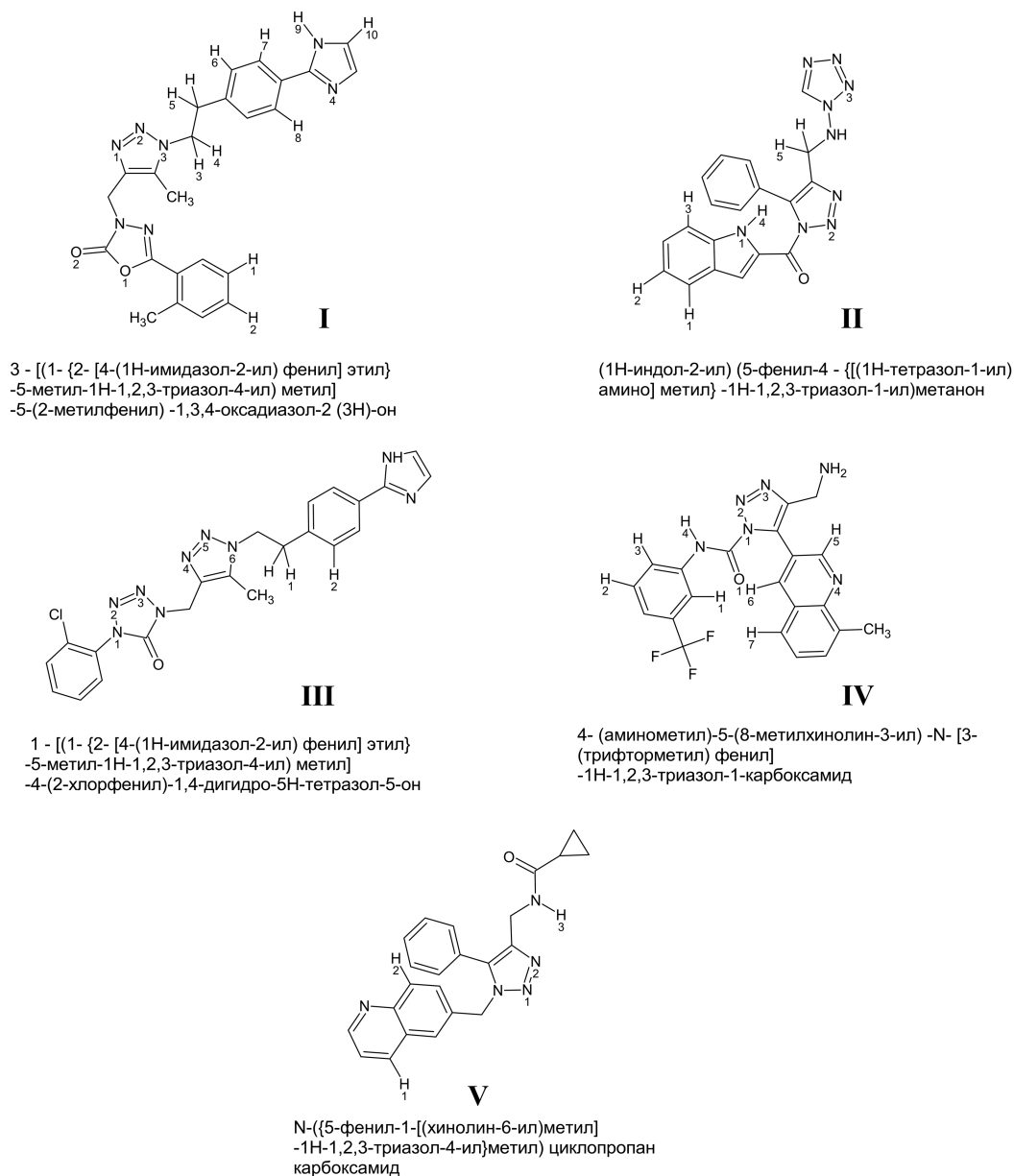


Рис. 1. Химические структуры потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1. Приведены систематические названия соединений. Пронумерованы атомы водорода, азота и кислорода, образующие водородные связи в динамических структурах комплексов лигандов с белком gp120 ВИЧ-1 (см. текст)

Fig. 1. Chemical structures of the potential HIV-1 entry inhibitors. Systematic names of these compounds are given. The atoms of hydrogen, oxygen and nitrogen forming hydrogen bonds in the dynamic structures of the complexes between the ligands and HIV-1 gp120 protein are numbered (see the text)



Т а б л и ц а 1. Средние значения свободной энергии  $\langle \Delta G \rangle$  образования комплексов потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 и ингибитора NBD-11021 с белком gp120 оболочки вируса и соответствующие им стандартные отклонения  $\Delta G_{\text{STD}}$

Table 1. Mean values of binding free energy  $\langle \Delta G \rangle$  for the complexes of the potential HIV-1 inhibitors with the HIV-1 gp120 protein and their standard deviations  $\Delta G_{\text{STD}}$

Лиганд Ligand	$\langle \Delta H \rangle$ , ккал/моль	$(\Delta H)_{\text{STD}}$ , ккал/моль	$\langle T\Delta S \rangle$ , ккал/моль	$(T\Delta S)_{\text{STD}}$ , ккал/моль	$\langle \Delta G \rangle$ , ккал/моль	$\Delta G_{\text{STD}}$ , ккал/моль
I	-49,40	5,06	-20,89	7,01	-28,51	8,65
II	-32,64	3,95	-18,61	6,28	-14,03	7,42
III	-34,30	3,03	-23,69	9,72	-10,61	10,18
IV	-29,00	4,51	-19,50	8,12	-9,50	9,29
V	-27,93	4,02	-20,35	9,06	-7,58	9,91
NBD-11021	-30,41	3,60	-22,42	9,89	-7,99	10,52

П р и м е ч а н и е:  $\langle \Delta H \rangle$  и  $\langle T\Delta S \rangle$  – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии;  $(\Delta H)_{\text{STD}}$  и  $(T\Delta S)_{\text{STD}}$  – соответствующие этим значениям стандартные отклонения.

Note:  $\langle \Delta H \rangle$  and  $\langle T\Delta S \rangle$  are the mean values of enthalpic and entropic components of free energy, respectively.  $(\Delta H)_{\text{STD}}$  and  $(T\Delta S)_{\text{STD}}$  are their standard deviations.

разования комплексов этих соединений и ингибитора NBD-11021 с белком gp120 оболочки вируса, рассчитанные на основе их молекулярно-динамических траекторий. Из данных табл. 1 видно, что соединения I–IV характеризуются более низкими значениями свободной энергии связывания с белком gp120 по сравнению с ингибитором ВИЧ-1 NBD-11021, а величина  $\langle \Delta G \rangle$  для лиганда V близка к соответствующему значению для этого контрольного соединения. При анализе данных табл. 1 необходимо иметь в виду, что все вычислительные подходы к оценке свободной энергии связаны с различными приближениями, которые варьируют от упрощенных форм уравнений до приближений, ограничивающих размер системы и фундаментальных приближений в уравнениях, необходимых для решения задачи. Тем не менее, оценка точности метода ММ-РВ/SA [10] позволяет предположить, что средние значения свободной энергии связывания, предсказанные для соединений I–V в комплексе с белком gp120 (табл. 1), по крайней мере, сопоставимы с величиной  $-9,5 \pm 0,1$  ккал/моль, измеренной для комплекса CD4/gp120 методом изотермической титрационной калориметрии [12]. При этом величина свободной энергии для соединения IV совпадает с этим экспериментальным значением (табл. 1).

Разложение энтальпийной компоненты свободной энергии на вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 показывает (табл. 2), что остатки Asn-425<sub>gp120</sub>, Met-426<sub>gp120</sub> и Trp-427<sub>gp120</sub>, критические для взаимодействия с рецептором CD4 [13], играют важную роль в связывании с лигандами. Кроме того, остатки Gly-473 gp120, Asp-474 gp120 и Met-475 gp120 – одни из ключевых для связывания с молекулой CD4 [13] – вносят существенный вклад в энергетическую стабилизацию комплексов лиганд/gp120 (табл. 2). За исключением соединения V, остаток Glu-370 белка gp120, принимающий активное участие в процессе адсорбции ВИЧ-1 на поверхности клетки-мишени [13], также необходим для взаимодействия с лигандами (табл. 2).

Данные молекулярной динамики показывают, что сконструированные методами компьютерного моделирования соединения [8] могут эффективно блокировать функционально консервативный элемент структуры CD4-связывающего участка ВИЧ-1 – Phe<sup>43</sup>-полость белка gp120, что указывает на высокую вероятность проявления ими ВИЧ-ингибирующих свойств. При этом анализируемые соединения имитируют взаимодействия с белком gp120, критические для связывания вируса с клеточным рецептором CD4 клетки-хозяина, т. е. представляют собой миметики первичного рецептора ВИЧ-1. Этот вывод подтверждает анализ межмолекулярных водородных связей, свидетельствующий о том, что на МД траекториях комплексов этих соединений с белком gp120 реализуются межмолекулярные водородные связи с участием остатков gp120, функционально важных для связывания ВИЧ с молекулой CD4 (табл. 3).

Среди идентифицированных CD4-миметиков следует особо отметить лиганд I (рис. 1), характеризующийся существенно более низким значением свободной энергии образования комплекса

Таблица 2. Средние значения энтальпии связывания для аминокислотных остатков белка gp120 в комплексе с потенциальными миметиками молекулы CD4

Table 2. Averages of the binding enthalpy for the amino-acid residues of gp120 bound to the potential CD4-mimetic candidates

Остаток белка gp120 Residue of the gp120 protein	Лиганд Ligand				
	I	II	III	IV	V
	Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль) Residue contribution to the binding enthalpy (kcal/mol)				
Gly 128	-0,99	–	–	–	–
Ala 129	-0,78	–	–	–	–
Gly 194	-0,59	–	–	–	–
Val 255	-1,23	-1,32	-1,35	-1,08	-1,04
Ser 256	-0,68	-1,03	–	–	-0,80
Thr 257	-1,14	-1,65	–	-1,39	-1,29
Asp368	-0,92	-1,10	-0,15	-0,85	-1,42
<b>Glu 370</b>	<b>-2,00</b>	<b>-2,63</b>	<b>-1,70</b>	<b>-3,10</b>	–
Ile-371	–	-0,82	–	–	-0,91
Ser 375	-1,76	-2,36	–	-0,82	-0,98
Phe 376	-0,66	-0,59	–	–	–
Phe 382	-0,78	-0,69	-0,68	-0,65	–
Tyr 384	-0,75	-0,64	–	–	-0,68
Ile 424	-0,76	-0,74	-1,09	-0,88	-0,59
<b>Asn 425</b>	<b>-6,49</b>	<b>-3,48</b>	<b>-2,68</b>	<b>-2,96</b>	<b>-2,76</b>
<b>Met 426</b>	<b>-1,70</b>	<b>-1,63</b>	<b>-2,17</b>	<b>-3,00</b>	<b>-1,57</b>
<b>Trp 427</b>	<b>-3,89</b>	<b>-2,73</b>	<b>-4,49</b>	<b>-5,1</b>	<b>-3,18</b>
Gln 428	-0,68	–	-0,99	-0,88	–
Lys 429	-1,85	–	-1,96	-1,78	–
Val 430	-3,63	–	-1,50	-2,10	-0,72
Gly 431	-1,10	–	–	–	–
Gly-472	–	-1,01	–	–	-0,54
<b>Gly 473</b>	<b>-1,54</b>	<b>-1,54</b>	<b>-1,29</b>	<b>-1,24</b>	<b>-2,83</b>
<b>Asp 474</b>	<b>-3,07</b>	<b>-1,21</b>	<b>-2,14</b>	<b>-1,56</b>	<b>-2,71</b>
<b>Met 475</b>	<b>-3,60</b>	<b>-1,93</b>	<b>-3,39</b>	<b>-1,65</b>	<b>-2,55</b>
Arg 476	–	–	-0,54	–	–

Примечание. Приведены данные для остатков gp120 с энтальпией  $\leq -0,5$  ккал/моль. Жирным шрифтом выделены остатки gp120, вносящие значительный вклад в энтальпию связывания.

Note. The data on the gp120 residues with the enthalpy values less than  $-0.5$  kcal/mole are given. The residues of gp120 that greatly contribute to the binding enthalpy are marked in bold.

с белком gp120 по сравнению с контрольным соединением – ингибитором проникновения ВИЧ-1 NBD-11021 (табл. 1). Предсказанное значение свободной энергии связывания для этого соединения составляет  $-28,51$  ккал/моль (табл. 1), в то время как соответствующая величина для комплекса NBD-11021/gp120 равна  $-7,99$  ккал/моль (табл. 1). Согласно данным молекулярного докинга [8], соединение I образует водородную связь с остатком Asp-368<sub>gp120</sub> (рис. 2), имитируя его взаимодействие с Arg-59<sub>CD4</sub>, которое является критическим для связывания белка gp120 ВИЧ-1 клеткой-мишенью [13]. Как и бензольное кольцо боковой цепи остатка Phe-43<sub>CD4</sub> [13], ароматический фрагмент этого лиганда погружен в Phe<sup>43</sup>-полость белка gp120 (рис. 2) и образует широкую сеть ван-дер-ваальсовых контактов, суммарное число которых равно 63 (подробности см. в работе [8]). При этом лиганд I участвует 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 (рис. 2), формирующими прямые межмолекулярные контакты с остатком Phe-43<sub>CD4</sub> [13]. О потенциальной эффективности взаимодействия соединения I с CD4-связывающим сайтом ВИЧ-1 свидетельствует наличие на МД траекториях комплекса этого лиганда с белком gp120 многочисленных водородных связей с участием аминокислотных остатков гликопротеина, доминирующих

Т а б л и ц а 3. Межмолекулярные водородные связи, реализующиеся в динамических структурах комплексов потенциальных CD4-миметиков с белком gp120 ВИЧ-1

T a b l e 3. Intermolecular hydrogen bonds appearing in the dynamic structures of the potential CD4-mimetics bound to the HIV-1 gp120 protein

Лиганд Ligand	Водородная связь Hydrogen bond
I	O1...HG2[Glu370; 71,3 %], O2...HG2[Glu370; 20,9 %], O1...HB3[Asn425; 15,6 %], N4...HD21[Asn425; 99,8 %], O2...HD22[Asn425; 39,7 %], N1...HB2[Trp427; 51,9 %], O1...HB3[Trp427; 36,6 %], N4...HA[Val430; 83,5 %], N4...H[Gly431; 85,0 %], N1...HA[Asp474; 35,0 %], N2...HA[Asp474; 77,3 %], N3...HA[Trp427; 71,1 %], N1...H[Met475; 78,3 %], N2...H[Met475; 94,7 %], N1...HB2[Met475; 52,0 %], N2...HB2[Met475; 16,6 %], N1...HG2[Met475; 32,9 %], H1...O[Val255; 49,4 %], H1...O[Ser375; 37,4 %], H1...O <sub>D2</sub> [Asp368; 15,3 %], H2...N[Phe376; 19,1 %], H3...OD2[Asp474; 20,0 %], H4...O[Gly473; 26,3 %], H5...O[Trp427; 71,5 %], H6...O[Trp427; 71,3 %], H7...ND2[Asn425; 49,3 %], H7...O[Met426; 71,5 %], H8...O[Gly128; 39,0 %], H9...O[Gly128; 42,4 %], H10...O[Gly194; 22,3 %]
II	N2...HG2[Glu370; 26,0 %], N1...HG2[Glu370; 34,7 %], N3...HA[Asp474; 26,2 %], H1...O[Val255; 27,5 %], H1...O <sub>D1</sub> [Asp368; 17,1 %], H2...O[Phe376; 42,7 %], H3...OH[Tyr384; 26,3 %], H4...O[Asn425; 47,2 %], H5...OD1[Asp368; 1,3 %]
III	N2...HB3[Asn425; 44,2 %], N3...HB3[Asn425; 25,5 %], N5...HA[Trp427; 42,7 %], N6...HA[Trp427; 50,2 %], N4...HB2[Trp427; 39,5 %], N1...HB3[Trp427; 31,4], N2...HB3[Trp427; 39,4 %], N4...HA[Asp474; 82,8 %], N5...HA[Asp474; 27,2 %], N4...H[Met475; 84,6 %], N5...H[Met475; 32,6 %], N4...HB2[Met475; 30,7 %], H1...O <sub>D2</sub> [Asp368; 18,7 %], H1...O[Trp427; 68,3 %], H2...O[Trp427; 45,3 %]
IV	N1...HB3[Asn425; 26,8 %], N2...HB3[Asn425; 53,5 %], N3...HA[Val430; 44,2 %], N3...H[Gly431; 40,9 %], O1...HA2[Gly473; 45,4 %], N4...HA3[Gly473; 36,2 %], H4...O[Met426; 95,8 %], H5...O[Gly473; 52,7 %], H1...O[Asn425; 62,4 %], H1...O <sub>D2</sub> [Asp368; 12,5 %], H2...SD[Met475; 26,1 %], H3...O[Gly473; 50,1 %], H7...OD2[Asp368; 16,3 %], H7...OD1[Asp368; 12,1 %], H6...OD2[Asp368; 7,8 %], H6...OD1[Asp368; 5,4 %]
V	N2...HB2[Trp427; 29,5 %], N1...HB2[Trp427; 27,5 %], N2...HA[Asp474; 47,2 %], N2...H[Met475; 48,8 %], N1...HB2[Met475; 26,9 %], H1...O[Ser256; 30,5 %], H1...O <sub>D2</sub> [Asp368; 15,3 %], H2...O[Asn425; 73,6 %], H3...O[Gly473; 44,8 %]

П р и м е ч а н и е. Первыми приведены атомы лигандов, обозначенные в соответствии с их нумерацией на рис. 1, а вторыми – атомы аминокислотных остатков белка gp120 в кристаллической структуре этого гликопротеина [13], депонированной в Банке данных белков. В квадратных скобках указаны остатки белка gp120 и процент реализации водородных связей на МД траекториях комплексов лиганд/gp120.

N o t e. The atoms of the ligands indicated in agreement with their numbering in Fig. 1 are shown first followed by the atoms of the amino acid residues of the gp120 protein in the crystal structure of this glycoprotein [13] deposited in the Protein Data Bank. The square brackets indicate the residues of the gp120 protein and the percentage of hydrogen bonding on the MD trajectories of the ligand/gp120 complexes.

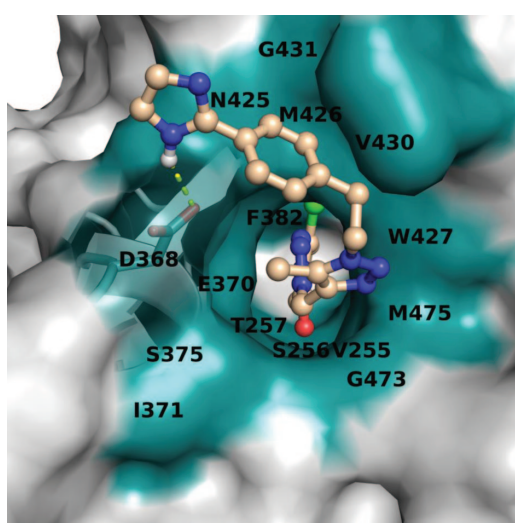


Рис. 2. Структурный комплекс соединения I с белком gp120 ВИЧ-1 [8]. Лиганд изображен с помощью молекулярной модели «шарик–палочка». Отмечены остатки белка gp120, образующие межатомные контакты с лигандами. Водородная связь показана пунктирной линией

Fig. 2. The docked structure of compounds I with the HIV-1 gp120 protein [8]. The ligand is represented by a ball-stick model. The residues of gp120 forming interatomic contacts with the ligands are indicated. Hydrogen bond is shown by dotted line

в связывании с клеточным рецептором CD4 (табл. 3). Близкий с лигандом I механизм взаимодействия с белком gp120 ВИЧ-1, основу которого формируют межмолекулярные ван-дер-ваальсовы контакты и водородные связи, реализуется, согласно данным молекулярного моделирования, и для соединений II–V (см. [8] и табл. 3).

**Заключение.** Данные молекулярного моделирования показывают, что соединения, сконструированные в рамках концепции клик-химии в [8], могут блокировать функционально важный участок оболочки ВИЧ-1 – Phe<sup>43</sup>-полость белка gp120, играющую важную роль при взаимодействии вируса с клеточным рецептором CD4 [13]. Как и молекула CD4, эти соединения образуют многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты и водородные связи с аминокислотами белка gp120, непосредственно участвующими в ключевом для связывания взаимодействии с остатком Phe-43<sub>CD4</sub>. Структурные комплексы идентифицированных соединений с белком gp120 не претерпевают значительных структурных перестроек в течение МД расчетов и проявляют высокий процент заселенности межмолекулярных водородных связей (табл. 3), который вносит существенный вклад в энергетическую стабильность комплексов. Это согласуется с низкими величинами свободной энергии их образования, сопоставимыми со значением  $-9,5 \pm 0,1$  ккал/моль, измеренным для комплекса CD4/gp120 методом изотермической титрационной калориметрии [12]. При этом среднее значение свободной энергии связывания ингибитора ВИЧ-1 NBD-11021 с белком gp120, полученное с помощью идентичного вычислительного протокола, сопоставимо, с учетом погрешностей метода ММ-РВ/СА, с соответствующими значениями для обнаруженных соединений, что указывает на высокую вероятность проявления ими ингибиторной активности.

Сконструированные CD4-миметики (рис. 1) полностью удовлетворяют «правилу пяти» Липинского [8], которое накладывает на лиганд, взаимодействующий с молекулярной мишенью, условия подобия лекарству [14]. Эти соединения могут быть синтезированы с помощью реакции азид-алкинового циклоприсоединения [8], катализируемой медью – реакции клик-химии, которая протекает с высоким выходом, с широким спектром растворителей, в том числе в воде, является региоселективной и дает 1,4-дизамещенные 1,2,3-триазолы в качестве единственных продуктов [15].

Таким образом, анализ полученных результатов показывает, что сконструированные методами *in silico* соединения (рис. 1) представляют собой перспективные структуры для создания на их основе эффективных анти-ВИЧ препаратов нового поколения.

**Благодарности.** Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проекты X17-022, X18КИ-002).

**Acknowledgements.** This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (projects no. X17-022, X18КИ-002).

### Список использованных источников

1. Wang, H.-B. HIV vaccine research: The challenge and the way forward / H.-B. Wang, Q.-H. Mo, Z. J. Yang // *J. Immunol. Res.* – 2015. – Vol. 2015. – Article 503978. <https://doi.org/10.1155/2015/503978>
2. Kumari, G. Highly active antiretroviral therapy for treatment of HIV/AIDS patients: current status and future prospects and the Indian scenario / G. Kumari, R. K. Singh // *HIV AIDS Rev.* – 2012. – Vol. 11, N 1. – P. 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.hivar.2012.02.003>
3. Corti, D. Broadly neutralizing antiviral antibodies / D. Corti, A. Lanzavecchia // *Annu. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 31, N 1. – P. 705–742. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095916>
4. Mann, J. K. HIV-1 vaccine immunogen design strategies / J. K. Mann, T. Ndung'u // *Viol. J.* – 2015. – Vol. 12, N 1. – P. 3. <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0221-0>
5. Small-molecule HIV-1 entry inhibitors targeting gp120 and gp41: a patent review (2010–2015) / W. Li [et al.] // *Expert Opin. Ther. Pat.* – 2017. – Vol. 27, N 6. – P. 707–719. <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1281249>
6. Wilen, C. B. HIV: Cell binding and entry / C. B. Wilen, J. S. Tilton, R. W. Doms // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* – 2012. – Vol. 2, N 8. – P. a006866. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006866>
7. Computational methods in drug discovery / G. Sliwoski [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2014. – Vol. 66, N 1. – P. 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
8. *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.
9. AMBER 11 / D. A. Case [et al.]. – San Francisco, Univ. California, 2010. – 296 p.
10. MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations / B. R. Miller [et al.] // *J. Chem. Theory Comput.* – 2012. – Vol. 8, N 9. – P. 3314–3321. <https://doi.org/10.1021/ct300418h>



11. 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. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00709>
12. Energetics of the HIV gp120-CD4 binding reaction / D. G. Myszka [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97, N 16. – P. 9026–9031. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.16.9026>
13. 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, N 6686. – P. 648–659. <https://doi.org/10.1038/31405>
14. 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. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
15. Brase S., Banert K. *Organic Azides: Syntheses and applications.* – Wiley, 2009. – 507 p. <https://doi.org/10.1002/9780470682517>

## References

1. Wang H.-B., Mo Q.-H., Yang Z. J. HIV vaccine research: The challenge and the way forward. *Journal of Immunology Research*, 2015, vol. 2015, article 503978. <https://doi.org/10.1155/2015/503978>
2. Kumari G., Singh R. K. Highly active antiretroviral therapy for treatment of HIV/AIDS patients: current status and future prospects and the Indian scenario. *HIV & AIDS Review*, 2012, vol. 11, no. 1, pp. 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.hivar.2012.02.003>
3. Corti D., Lanzavecchia A. Broadly neutralizing antiviral antibodies. *Annual Review of Immunology*, 2013, vol. 31, no. 1, pp. 705–742. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095916>
4. Mann J. K., Ndung'u T. HIV-1 vaccine immunogen design strategies. *Virology Journal*, 2015, vol. 12, no. 1, pp. 3. <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0221-0>
5. Li W., Lu L., Li W., Jiang S. Small-molecule HIV-1 entry inhibitors targeting gp120 and gp41: a patent review (2010–2015). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2017, vol. 27, no. 6, pp. 707–719. <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1281249>
6. Wilen C. B., Tilton J. S., Doms R. W. HIV: Cell binding and entry. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2012, vol. 2, no. 8, pp. a006866. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006866>
7. Sliwoski G., Kothiwale S., Meiler J., Lowe E.W. Jr. Computational methods in drug discovery. *Pharmacological Reviews*, 2014, vol. 66, no. 1, pp. 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
8. 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).
9. Case D. A. AMBER 11. San Francisco, University California, 2010. 296 p.
10. Miller B. R., McGee T. D. Jr., Swails J. M., Homeyer N., Gohlke H., Roitberg A. E. MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, vol. 8, no. 9, pp. 3314–3321. <https://doi.org/10.1021/ct300418h>
11. Curreli F., Kwon Y. D., Zhang 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. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00709>
12. Myszka D. G., Sweet R. W., Hensley P., Brigham-Burke M., Kwong P. D., Hendrickson W. A., Wyatt R., Sodroski J., Doyle M. L. Energetics of the HIV gp120-CD4 binding reaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, vol. 97, no. 16, pp. 9026–9031. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.16.9026>
13. 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, no. 6686, pp. 648–659. <https://doi.org/10.1038/31405>
14. 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. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
15. Brase S., Banert K. *Organic Azides: Syntheses and applications.* Wiley, 2009. 507 p. <https://doi.org/10.1002/9780470682517>

## Информация об авторах

*Кашин Иван Александрович* – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lighkia@gmail.com.

*Николаев Григорий Игоревич* – аспирант. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: reshaemvsem@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.

*Андрянов 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.

## Information about the authors

*Kashyn Ivan Aleksandrovich* – Ph. D. (Chemistry), Senior researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lighkia@gmail.com.

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

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

*Andrianov Alexander Mikhailovich* – 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.