

УДК 54-3:547:577:616-006

Разработка потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 методами *in silico* клик-химии и молекулярного моделирования

Андрианов А.М.^{*1}, Николаев Г.И.², Кашин И.А.², Тузиков А.В.²

¹*Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси, Минск, 220141, Республика Беларусь*

²*Объединенный институт проблем информатики, Национальная академия наук Беларуси, Минск, 220012, Республика Беларусь*

Аннотация. Методами *in silico* клик-химии – методологии, позволяющей генерировать большое число структур-кандидатов фармацевтических препаратов путем соединения между собой отдельных структурных блоков и изучать их свойства – осуществлен компьютерный дизайн новых потенциальных ингибиторов ВИЧ-1, способных блокировать CD4-связывающий сайт белка gp120 оболочки вируса. С помощью методов молекулярного моделирования проведена оценка нейтрализующей активности сконструированных молекул, в результате которой идентифицировано пять соединений-лидеров, перспективных для синтеза и биологических испытаний. Их химические формулы $C_{24}H_{23}N_7O_2$, $C_{23}H_{20}N_6O_2$, $C_{21}H_{17}F_3N_6$, $C_{22}H_{20}ClN_9O$ и $C_{19}H_{15}N_9O$. Показано, что эти соединения могут быть использованы в качестве базовых структур для разработки новых эффективных анти-ВИЧ препаратов с широкой вирусной нейтрализацией.

Ключевые слова: ВИЧ-1, белок gp120, ингибиторы ВИЧ-1, компьютерное конструирование лекарств, *in silico* клик-химия, молекулярный докинг, молекулярная динамика.

ВВЕДЕНИЕ

С начала эпидемии СПИДа более 70 миллионов человек заразились ВИЧ-1, и около половины из них уже нет в живых [1–3]. 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, 2]. Однако ситуация в ряде регионов не согласуется с общей тенденцией уменьшения числа ВИЧ-положительных пациентов. Так, в странах Восточной Европы и Центральной Азии наблюдается рост показателей заражения ВИЧ [3]. В частности, по состоянию на 1 марта 2018 г. в Республике Беларусь зарегистрированы 25 074 случая ВИЧ-инфекции, а количество людей, живущих с ВИЧ, составило 19 519 при показателе распространенности, равном 205.6 на 100 тысяч населения (<https://www.belaid.net/epidsituaciya-po-vich-infekcii-v-respublike-belarus-na-1-marta-2018-goda/>).

В настоящее время для терапии ВИЧ-инфекции в клинической практике используются более 25 лекарственных препаратов [1, 2, 4–9]. Однако высокая генетическая изменчивость ВИЧ-1 приводит к выработке устойчивости к определенному препарату через некоторое время после начала его применения. С 1996

*alexande.andriano@yandex.ru

года 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 [2, 4]. 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 [2, 4]. 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 [1, 10], 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 [5–9]. 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 [5–9]. На сегодняшний день в ВААРТ применяются только два ингибитора проникновения: энфувертид [11], блокирующий слияние мембран вируса и клетки-мишени, и маравирок [12], конкурирующий с ВИЧ-1 за связывание с корецептором CCR5. Однако эти препараты имеют ряд недостатков, ограничивающих их использование в антиретровирусной терапии [1, 2], что обуславливает необходимость поиска новых, более эффективных и безопасных анти-ВИЧ агентов.

Проникновению ВИЧ-1 в макрофаги и Т-лимфоциты предшествует связывание белка gp120 оболочки вируса с первичным рецептором CD4 клеточной мембраны, а также с хемокиновыми корецепторами CCR5 и/или CXCR4, взаимодействие с которыми активирует слияние мембран, ведущее к внедрению вируса в клетки-мишени [13]. 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 [13], одно из стратегических направлений в работах по созданию новых противовирусных препаратов предполагает поиск низкомолекулярных химических соединений, способных имитировать взаимодействие вируса с молекулой CD4 [14–18]. Согласно данным рентгеноструктурного анализа [19], 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} [19]. Именно эти взаимодействия обеспечивают прочное связывание белка gp120 ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4 [19].

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 [20, 21]. 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 [20, 21]. 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, однако, как правило, оказывается низкой [20]. Тем не менее, найденные соединения могут быть использованы для дальнейшей оптимизации их структуры или как структурные блоки для дизайна молекул *de novo* с большей биологической активностью и улучшенными фармакокинетическими свойствами. Для реализации дизайна *de novo* весьма перспективным представляется применение методологии клик-химии, позволяющей генерировать большое число структур кандидатов фармацевтических препаратов путем соединения между собой отдельных структурных блоков [22–24]. Поскольку клик-реакции являются модульными, протекают с высоким выходом в физиологических условиях, стереоспецифичны и дают безопасные побочные продукты [22–24], преимущества такого подхода заключаются в том, что его использование позволяет значительно упростить массовый параллельный синтез кандидатов и ускорить процесс создания новых, эффективных и безопасных лекарственных препаратов.

Настоящая статья продолжает начатые нами ранее [25–32] исследования по компьютерному конструированию высокоаффинных лигандов ВИЧ-1 и посвящена разработке в рамках концепции клик-химии новых структур-кандидатов фармацевтических препаратов, способных блокировать CD4-связывающий сайт белка gp120 – функционально консервативный участок оболочки вируса, критический для его взаимодействия с клеткой-мишенью.

Цель исследования: осуществить компьютерный 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.

Задачи исследования:

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 [22–24].

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 [33].

4. Методами молекулярного докинга построены структурные комплексы полученных гибридных молекул с белком gp120 ВИЧ-1.

5. Построены молекулярно-динамические траектории комплексов сконструированных соединений с белком gp120 ВИЧ-1 и рассчитаны свободные энергии образования этих надмолекулярных структур.

6. Определены вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 в энтальпию связывания и выполнен анализ межмолекулярных водородных связей, реализующихся в динамических структурах 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.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

In silico дизайн потенциальных лигандов белка gp120 ВИЧ-1

Решение поставленных задач выполнено в рамках подхода, использующего методологию клик-химии [22–24] для генерации наиболее вероятных структур-кандидатов биологически активных соединений. Для конструирования потенциальных лигандов с помощью программы DataWarrior [34, 35] были созданы две молекулярные библиотеки. Первая библиотека (библиотека 1) включала отобранные из кластера “Drug-Like” базы данных Zinc (<http://zinc.docking.org>) [34, 35] 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 [36, 37], 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/>) [38], которая рассматривала все возможные комбинации молекул из библиотек 1 и 2. Это позволило получить набор из 1 миллиона 655 тысяч 301 гибридной молекулы, в котором 294 тысячи 378 соединений удовлетворяли (по данным программы DruLiTo; http://www.niper.gov.in/pi_dev_tools/DruLiToWeb/DruLiTo_index.html) “правилу пяти” Липинского [33]. Оценку потенциальной ингибирующей активности этих соединений проводили методами 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 (см., например, монографию [20]) – и молекулярной динамики.

Молекулярный докинг потенциальных лигандов ВИЧ-1 с белком gp120

Молекулярный докинг выполняли с помощью программы QuickVina 2 (<http://omictools.com/quickvina-tool>) [39] с учетом конформационной подвижности лиганда. Трехмерную структуру белка gp120 выделяли из кристаллического комплекса с рецептором CD4 и антителом 17b (код 1GC1 в Международном банке белков; <http://www.rcsb.org/pdb/>) [19]. Атомы водорода добавляли к структуре белка gp120 с использованием программного пакета AutoDockTools (<http://autodock.scripps.edu/resources/adt>) [40]. 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.

Межмолекулярные водородные связи, солевые мостики и π - π взаимодействия в статических моделях структурных комплексов лигандов с белком gp120 ВИЧ-1 определяли с помощью программы BINANA (<http://nbc.ucsd.edu/data/sw/hosted/binana/>)

[41]. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия идентифицировали и визуализировали средствами программы Ligplot (<http://ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LIGPLOT/>) [42].

В качестве контрольного соединения в расчетах использовали ингибитор проникновения ВИЧ-1 NBD-11021, представляющий новый класс полных функциональных антагонистов клеточного рецептора CD4 [37].

Молекулярно-динамические расчеты

Молекулярно-динамические (МД) расчеты проводили с помощью программного пакета Amber 11 (<http://ambermd.org/>) [43] в силовом поле Amber (набор параметров ff10) с явным заданием растворителя (трехточечная модель воды TIP3P) [44]. Для параметризации лигандов использовали обобщенное силовое поле AMBER (<http://ambermd.org/>) [45]. Начальные координаты атомов водорода белка gp120 определяли с привлечением модуля xleap пакета AMBERTools 1.5 (<http://ambermd.org/>) [43]. Структурные комплексы потенциальных ингибиторов ВИЧ с белком gp120 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/>) [46] с характерной частотой 2 пс⁻¹. 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 $P = 1$ атм. Для контроля температуры использовали термостат Ланжевена (<http://ambermd.org/doc10/>) [43] с частотой столкновений 2 пс⁻¹. Контроль давления в ячейке осуществляли с помощью баростата Берендсена [43] с характерным временем 2 пс. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма “leap-frog” (<http://ambermd.org/doc10/>) [43] с шагом интегрирования 2 фс. Для фиксации длин всех связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE (<http://ambermd.org/>) [47]. Максимальное расстояние, на котором учитывали невалентные взаимодействия, задавали равным 8 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда [48].

Средние значения свободной энергии образования комплексов и вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 в энтальпию связывания вычисляли с помощью метода MM-PB/SA [49, 50], реализованного в программном пакете AMBER 11 [43]. 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. Неполарные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю [51]. Энтропийный член свободной энергии связывания определяли с помощью модуля Nmode в

программном пакете Amber 11 [43]. Анализ МД траекторий комплексов выполняли с помощью модуля AmberTools 1.5 программного пакета AMBER 11 [43].

Для идентификации межмолекулярных водородных связей в динамических структурах комплексов использовали программный модуль ptray пакета AMBERTools (<http://ambermd.org/>) [43].

Расчеты проводили на компьютерном кластере “СКИФ-ОИПИ” Объединенного института проблем информатики НАН Беларуси.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ статических моделей комплексов лиганд/белок gp120

Анализ результатов молекулярного докинга позволил выделить 6 соединений, 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 таблице 1 и на рисунке 2 соответственно.

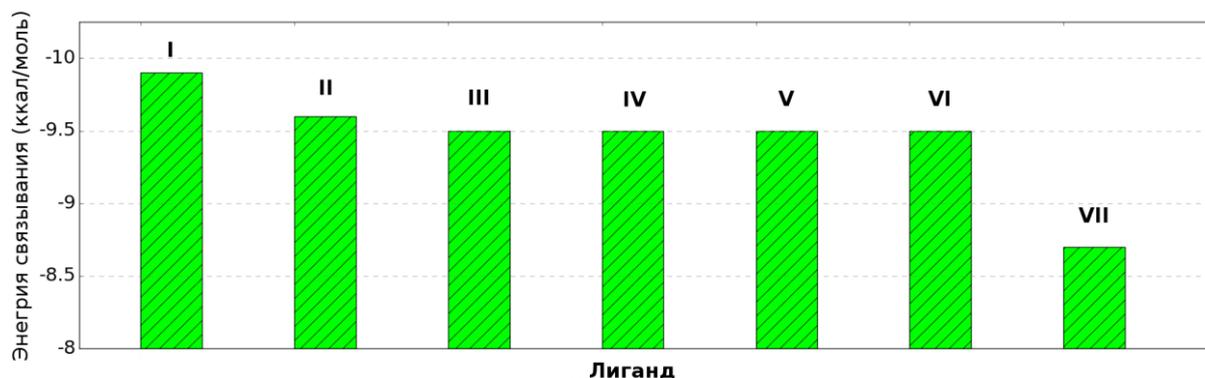


Рис. 1. Величины энергии связывания лигандов I–VI (табл. 1) с белком gp120 ВИЧ-1. Приведено также соответствующее значение для контрольного ингибитора ВИЧ-1 NBD-11021 (лиганд VII).

Исследование построенных структурных комплексов показывает (рис. 3, табл. 2), что все анализируемые молекулы блокируют две “горячих точки” связывания белка gp120 с рецептором CD4 – Phe⁴³-полость гликопротеина и остаток Asp-368_{gp120}, расположенный у входа в этот гидрофобный “карман” [19]. 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 клеткой-мишенью [19]. 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 [19], 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 [15]. Эти данные представляют значительный интерес в связи с результатами работы [14], 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 связывается с Met-426_{gp120} путем образования водородной связи, опосредованного водным окружением.

Из рисунка 3 видно, что, как и бензольное кольцо боковой цепи остатка Phe-43_{CD4} [19], 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} [19]. 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 существенный вклад в энергетическую стабилизацию комплекса белка gp120 с молекулой CD4 [19].

Таблица 1. Химические соединения – потенциальные ингибиторы ВИЧ-1

| Лиганд | Систематическое название | Химическая формула | Молекулярная масса (Да) | logP ¹ | Число доноров водородной связи | Число акцепторов водородной связи |
|--------|---|---|-------------------------|-------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| 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-хлорфенил)-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 |

¹logP – липофильность соединения (коэффициент распределения вещества в двухфазной системе н-октанол/вода).

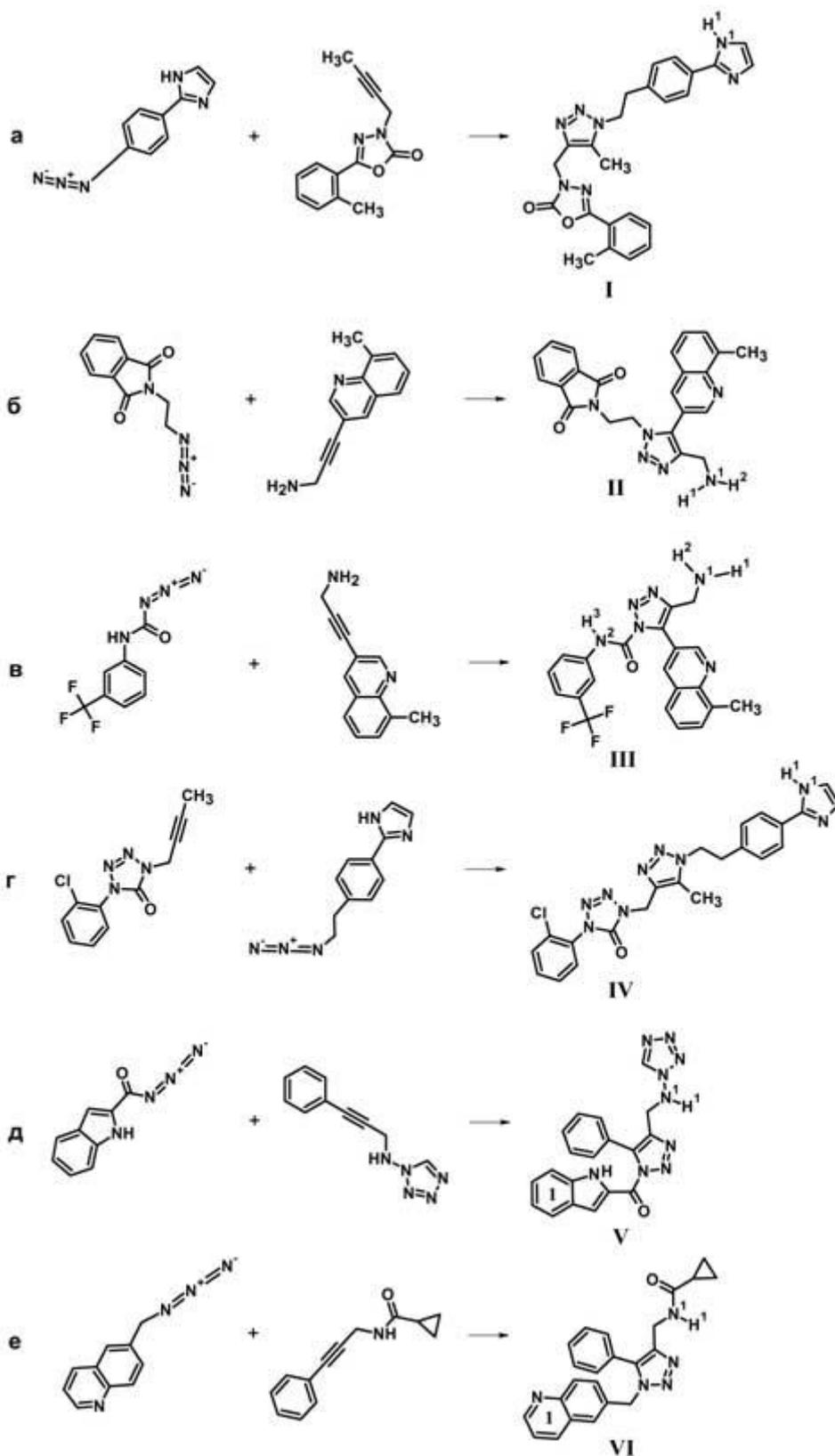


Рис. 2. Схема компьютерного “синтеза” гибридных молекул I (а), II (б), III (в), IV (г), V (д), VI (е) – потенциальных ингибиторов ВИЧ-1, идентифицированных на основе данных молекулярного докинга. Показаны исходные реагенты и конечные продукты реакции азид-алкинового циклоприсоединения. Надстрочными цифрами 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).

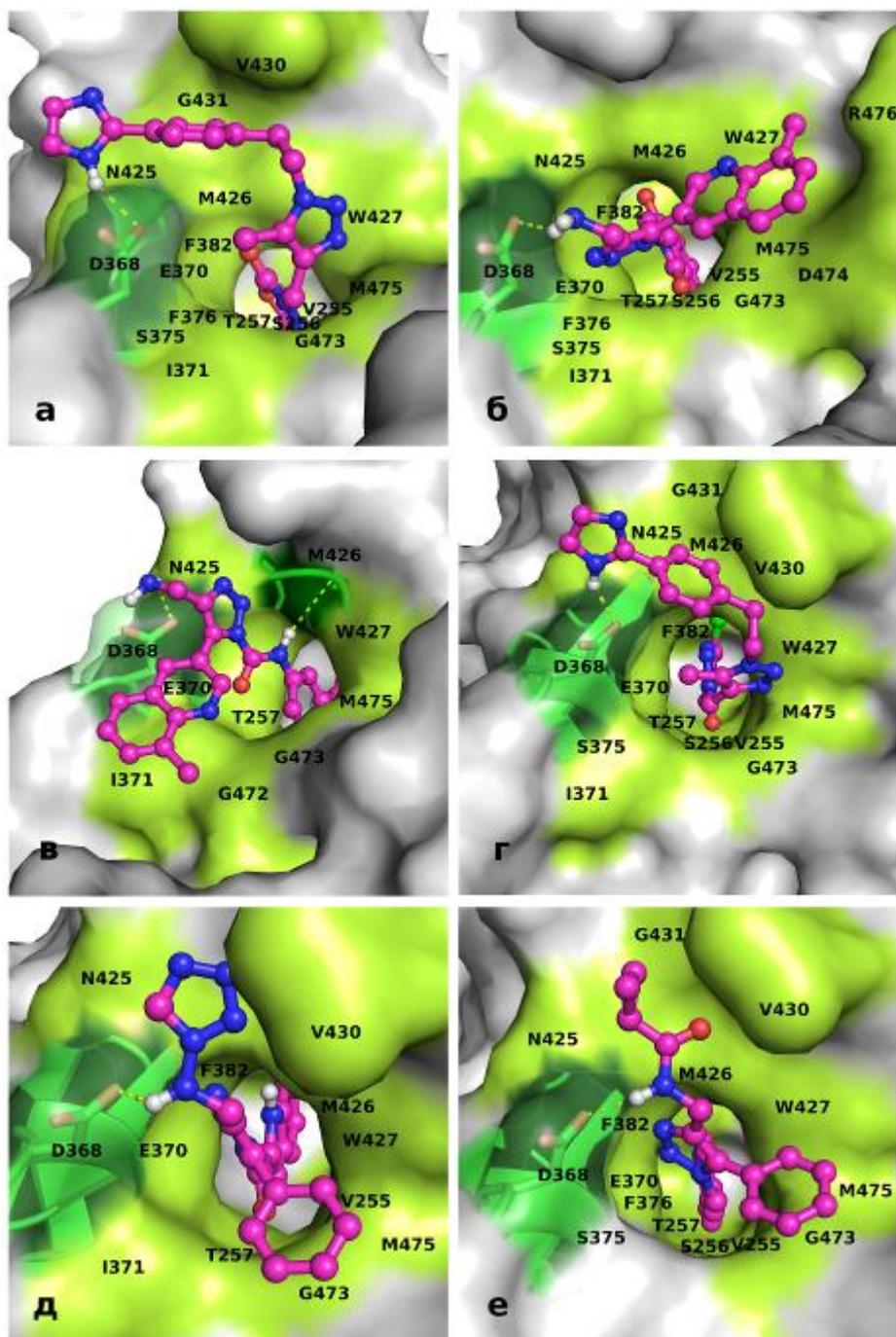


Рис. 3. Структурные комплексы соединений I (а), II (б), III (в), IV (г), V (д) и VI (е) с белком gp120 ВИЧ-1. Соединения изображены с помощью молекулярной модели “шарик–палочка”. Отмечены остатки белка gp120, образующие межатомные контакты с лигандами (табл. 2). Водородные связи показаны пунктирными линиями.

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} [19]. Кроме того, отдельные лиганды вступают в прямые межмолекулярные контакты с такими важными для связывания gp120 с CD4 остатками, как Phe-371 (соединения I–V), Val-430, (соединения I, IV, V, VI), Gly-431 (соединения I, IV, VI) (рис. 4, табл. 2). Завершая анализ данных таблицы 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 [19].

Таблица 2. Межмолекулярные взаимодействия, реализующиеся в структурных комплексах сконструированных соединений с белком gp120 ВИЧ-1

| Лиганд | Водородная связь ¹ | Ван-дер-ваальсовы контакты ² | Солевые мостики и π-π-взаимодействия 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) |

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).

Таким образом, анализ данных молекулярного докинга свидетельствует о том, что обнаруженные с помощью виртуального скрининга 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 [52, 53], 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 [14] 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 [54] – агонистами молекулы CD4,

взаимодействующими только с Phe⁴³–полостью белка gp120. Причем, увеличение сродства не сопровождается при этом возникновением биологического отклика, что является характерным признаком полных функциональных антагонистов входа ВИЧ-1 в клетку-мишень, блокирующих CD4-связывающий участок белка gp120 [14].

Анализ динамических моделей комплексов лиганд/белок gp120

В результате расчета свободной энергии образования комплексов лиганд/белок gp120, проведенного на основе анализа данных их МД траекторий, из шести соединений, рассмотренных выше, для заключительного анализа были отобраны 5 молекул, характеризующихся отрицательными значениями энергии связывания. При этом соединение I (табл. 1, рис. 2), лучшее по величине оценочной функции QuickVina 2, сохранило лидирующие позиции, а соединение II проявило положительное значение свободной энергии связывания и, поэтому, было исключено из дальнейшего рассмотрения. На рисунке 5 показаны химические структуры этих лигандов ВИЧ-1, а в таблице 3 приведены средние значения свободной энергии $\langle \Delta G \rangle$ образования комплексов этих соединений и ингибитора NBD-11021 с белком gp120. Из данных таблицы 3 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 таблицы 3 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-ПВ/СА [50], позволяет предположить, что средние значения свободной энергии связывания, предсказанные для соединений I–V в комплексе с белком gp120 (таблица 3), по крайней мере, сопоставимы с величиной -9.5 ± 0.1 ккал/моль, измеренной для комплекса CD4/gp120 методом изотермической титрационной калориметрии [55]. При этом величина свободной энергии для соединения IV совпадает с этим экспериментальным значением (табл. 3).

Таблица 3. 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 ΔG_{STD}

| Лиганд | $\langle \Delta H \rangle$ 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 | ΔG_{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 |

Примечание: $\langle \Delta H \rangle$ 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.

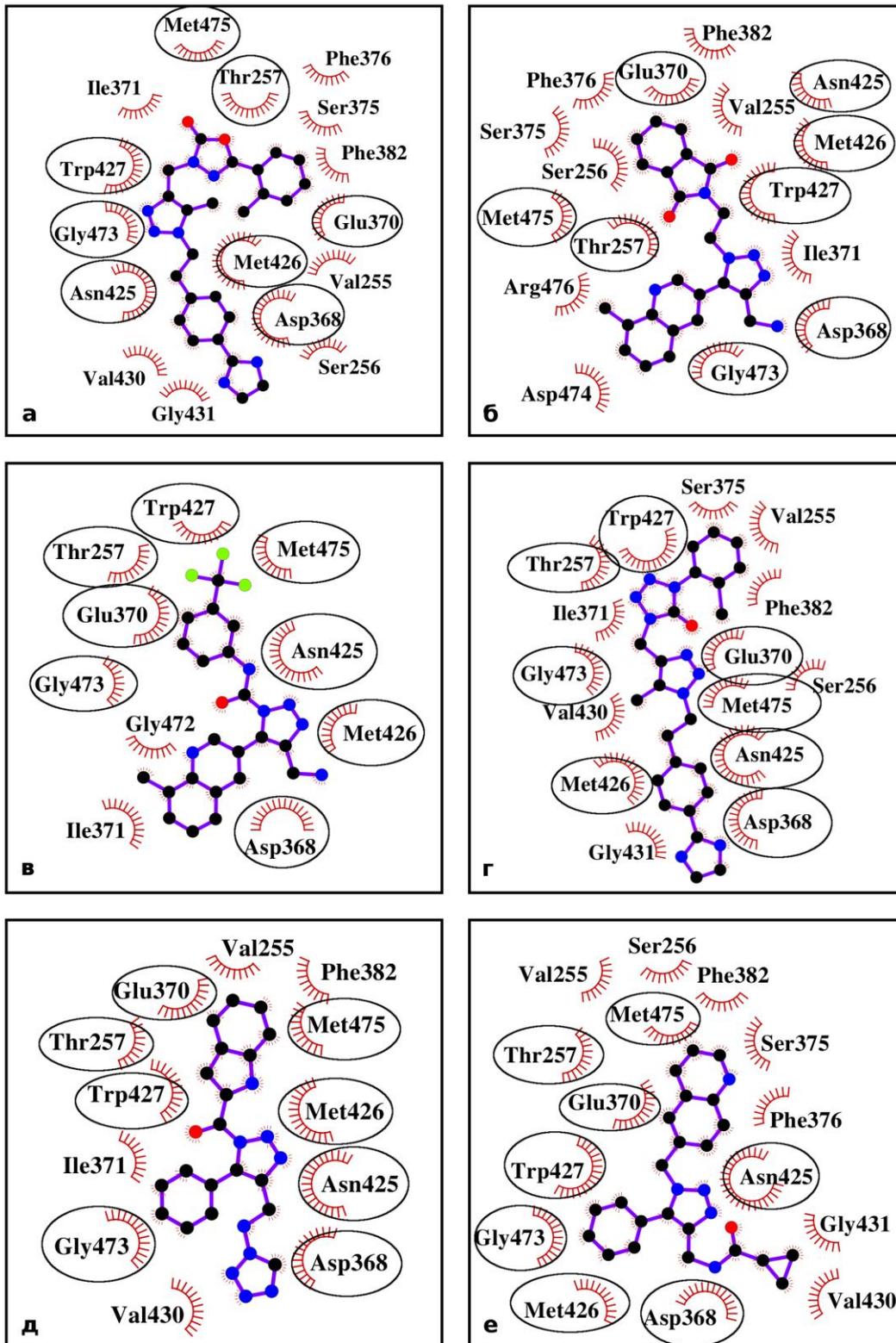
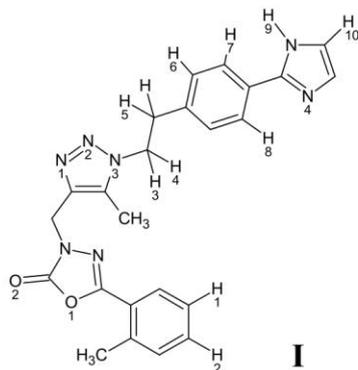
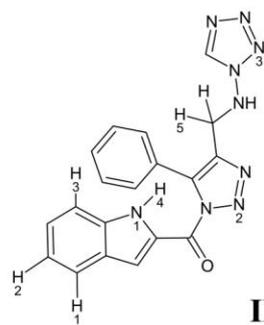


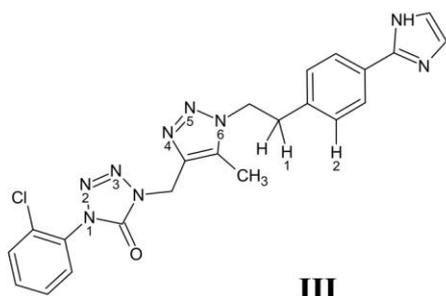
Рис. 4. Аминокислотные остатки белка gp120, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с соединениями I (а), II (б), III (в), IV (г), V (д) и VI (е). Эллипсом выделены остатки, вовлеченные в ван-дер-ваальсовы взаимодействия во всех рассматриваемых случаях. Суммарное число ван-дер-ваальсовых контактов составляет: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



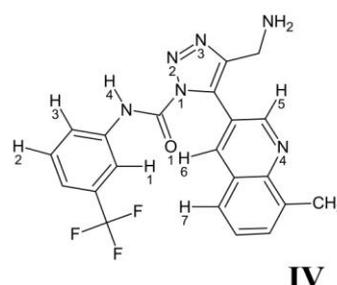
3 - [(1- {2- [4-(1H-имидазол-2-ил) фенил] этил} -5-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил) метил] -5-(2-метилфенил) -1,3,4-оксадиазол-2 (3H)-он



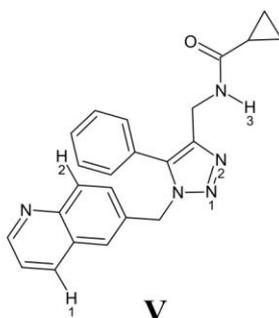
(1H-индол-2-ил) (5-фенил-4 - {(1H-тетразол-1-ил) амино} метил) -1H-1,2,3-триазол-1-ил)метанон



1 - [(1- {2- [4-(1H-имидазол-2-ил) фенил] этил} -5-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил) метил] -4-(2-хлорфенил)-1,4-дигидро-5H-тетразол-5-он



4- (аминометил)-5-(8-метилхинолин-3-ил) -N- [3-(трифторметил) фенил] -1H-1,2,3-триазол-1-карбоксамид



N-({5-фенил-1-[(хинолин-6-ил)метил] -1H-1,2,3-триазол-4-ил}метил) циклопропан карбоксамид

Рис. 5. 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). Соединения пронумерованы в порядке убывания величины свободной энергии связывания $\langle \Delta G \rangle$ (см. табл. 3) и не соответствуют их нумерации, приведенной на рисунке 2 и в таблице 1.

Разложение энтальпийной компоненты свободной энергии на вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 показывает (табл. 4), что остатки Asn-425_{gp120}, Met-426_{gp120} и Trp-427_{gp120}, критические для взаимодействия с рецептором CD4 [19], 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 [19] – вносят существенный вклад в энергетическую стабилизацию комплексов лиганд/gp120 (табл. 4). За исключением соединения V, остаток Glu-370 белка gp120, принимающий активное участие в процессе адсорбции

ВИЧ-1 на поверхности клетки-мишени [19], также необходим для взаимодействия с лигандами (табл. 4).

Данные молекулярной динамики показывают, что сконструированные соединения могут эффективно блокировать функционально консервативные элементы структуры CD4-связывающего белка gp120 участка ВИЧ-1, 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. 5).

Среди идентифицированных CD4-миметиков следует особо отметить лиганд I (рис. 5), характеризующийся существенно более низким значением свободной энергии образования комплекса с белком gp120 по сравнению с контрольным соединением – ингибитором проникновения ВИЧ-1 NBD-11021 (табл. 3).

Таблица 4. Средние значения энтальпии связывания для аминокислотных остатков белка gp120 в комплексе с потенциальными миметиками молекулы CD4

| Остаток белка gp120 | Лиганд | | | | |
|---------------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | I | II | III | IV | V |
| | Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль) ¹ | | | | |
| 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 |
| Asp-368 | -0.92 | -1.10 | -0.15 | -0.85 | -1.42 |
| Glu-370 | -2.00 | -2.63 | -1.70 | -3.10 | – |
| 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 |
| Asn-425 | -6.49 | -3.48 | -2.68 | -2.96 | -2.76 |
| Met-426 | -1.70 | -1.63 | -2.17 | -3.00 | -1.57 |
| Trp-427 | -3.89 | -2.73 | -4.49 | -5.1 | -3.18 |
| 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 |
| Gly-473 | -1.54 | -1.54 | -1.29 | -1.24 | -2.83 |
| Asp-474 | -3.07 | -1.21 | -2.14 | -1.56 | -2.71 |
| Met-475 | -3.60 | -1.93 | -3.39 | -1.65 | -2.55 |
| 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.

Предсказанное значение свободной энергии связывания для этого соединения составляет -28.51 ккал/моль (табл. 3), в то время как соответствующая величина для комплекса NBD-11021/gp120 равна -7.99 ккал/моль (табл. 3). 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 в связывании с клеточным рецептором CD4 (табл. 5). 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 (табл. 5).

Таблица 5. Межмолекулярные водородные связи, реализующиеся в динамических структурах комплексов потенциальных CD4-миметиков с белком gp120 ВИЧ-1

| Лиганд | Водородная связь |
|--------|--|
| 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 _{D2} [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 _{D1} [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 _{D2} [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 _{D2} [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 _{D2} [Asp368; 15.3%], H2...O[Asn425; 73.6%], H3...O[Gly473; 44.8%] |

Примечание: Первыми приведены атомы лигандов, обозначенные в соответствии с их нумерацией на рисунке 5, а вторыми – атомы аминокислотных остатков белка gp120 в кристаллической структуре этого гликопротеина [19], депонированной в Банке данных белков. В квадратных скобках указаны остатки белка gp120 и процент реализации водородных связей на МД траекториях комплексов лиганд/gp120.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные молекулярного моделирования показывают, что соединения, сконструированные методами *in silico* клик-химии (рис. 5), могут блокировать функционально важный участок ВИЧ-1 – CD4-связывающий сайт белка gp120 оболочки вируса. 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_{CD4}. 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. 5), который вносят существенный вклад в энергетическую стабильность комплексов.

Полученные CD4-миметики полностью удовлетворяют “правилу пяти” Липинского [33] и могут быть синтезированы с помощью реакции азид-алкинового циклоприсоединения, 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 [56].

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет предположить, что сконструированные соединения формируют перспективные структуры для создания новых эффективных анти-ВИЧ препаратов широкого спектра действия.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arts E.J., Hazuda D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. a007161.
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 Rev.* 2012. V. 11. P. 5–14.
3. Wang H-B., Mo Q-H., Yang Z. HIV vaccine research: The challenge and the way forward. *J. Immunol. Res.* 2015. 503978.
4. De Clercq E. New approaches toward anti-HIV chemotherapy. *J. Med. Chem.* 2005. V. 48. P. 1297–1313.
5. Este J.A., Telenti A. HIV entry inhibitors. *Lancet.* 2007. V. 370. P. 81–88.
6. Rusconi S., Scozzafava A., Mastrolorenzo A., Supuran C.T. An update in the development of HIV entry inhibitors. *Curr. Topics in Med. Chem.* 2007. V. 7. P. 1273–1289.
7. Ryser H.J.P., Fluckiger R. Progress in targeting HIV-1 entry. *Drug Discov. Today.* 2005. V. 10. P. 1085–1094.
8. Adamson C.S., Freed E.O. Novel approaches to inhibiting HIV-1 replication. *Antiviral Res.* 2010. V. 85. P. 119–141.
9. Tilton J.C., Doms R.W. Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection. *Antiviral Res.* 2010. V. 85. P. 91–100.
10. Orsega S. Treatment of adult HIV infection: antiretroviral update and overview. *JNP.* 2007. V. 10. P. 612–624.
11. Matthews T., Salgo M., Greenberg M., Chung J., DeMasi R., Bolognesi D. Enfuvirtide: The first therapy to inhibit the entry of HIV-1 into host CD4 lymphocytes. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2004. V. 3. P. 215–225.
12. MacArthur R.D., Novak R.M. Maraviroc: The first of a new class of antiretroviral agents. *Clin. Infect. Dis.* 2008. V. 47. P. 236–241.

13. Wilen C.B., Tilton J.C., Doms R.W. HIV: Cell binding and entry. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. a006866.
14. 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. III. 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. *Acc. Chem. Res.* 2014. V. 47. P. 1228–1237.
15. Liu Y., Schön A., Freire E. Optimization of CD4/gp120 inhibitors by thermodynamic-guided alanine-scanning mutagenesis. *Chem. Biol. Drug Des.* 2013. V. 81. P. 72–78.
16. Morellato-Castillo L., Acharya P., Combes O., Michiels J., Descours A., Ramos O.H.P., Yang Y., Guido Vanham G., Ariën K.K., Kwong P.D., Martin L., Kessler P. Interfacial cavity filling to optimize CD4-mimetic miniprotein interactions with HIV-1 surface glycoprotein. *J. Med. Chem.* 2013. V. 56. P. 5033–5047.
17. Acharya P., Lusvardi S., Bewley C.A., Kwong P.D. HIV-1 gp120 as a therapeutic target: navigating a moving labyrinth. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2015. V. 19. P. 1–19.
18. Li W., Lu L., Li W., Jiang S. Small-molecule HIV-1 entry inhibitors targeting gp120 and gp41: a patent review (2010-2015). *Expert Opin. Ther. Pat.* 2017. V. 27. № 6. P. 707–719.
19. 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. V. 393. P. 648–659.
20. Андрианов А.М. *Конформационный анализ белков. Теория и приложения.* Издательский дом «Беларуская навука», 2013. 518 с.
21. Sliwoski G., Kothiwale S., Meiler J., Lowe E.W. Jr. Computational methods in drug discovery. *Pharmacol. Rev.* 2014. V. 66. № 1. P. 334–395.
22. Kolb H.C., Finn M.G., Sharpless K.B. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001. V. 40. № 11. P. 2004–2021.
23. Moses J.E., Moorhouse A.D. The growing applications of click chemistry. *Chem. Soc. Rev.* 2007. V. 36. P. 1249–1262.
24. Thirumurugan P., Matosiuk D., Jozwiak K. Click chemistry for drug development and diverse chemical-biology applications. *Chem. Rev.* 2013. V. 113. № 7. P. 4905–4979.
25. Андрианов А.М., Корноушенко Ю.В., Кашин И.А., Тузиков А.В. Компьютерное конструирование новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1 на основе гликофинголипидов. *Математическая биология и биоинформатика.* 2013. Т. 8. № 1. С. 258–275. doi: [10.17537/2013.8.258](https://doi.org/10.17537/2013.8.258).
26. Андрианов А.М., Кашин И.А., Тузиков А.В. Компьютерный поиск новых анти-ВИЧ-1 агентов – пептидомиметиков нейтрализующих антител – и оценка их потенциальной ингибиторной активности методами молекулярного моделирования. *Математическая биология и биоинформатика.* 2013. Т. 8. № 1. С. 119–134. doi: [10.17537/2013.8.119](https://doi.org/10.17537/2013.8.119).
27. Кашин И.А., Тузиков А.В., Андрианов А.М. Виртуальный скрининг новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих CD4-связывающий участок белка gp120 оболочки вируса. *Математическая биология и биоинформатика.* 2014. Т. 9. № 2. С. 359–372. doi: [10.17537/2014.9.359](https://doi.org/10.17537/2014.9.359).
28. Кашин И.А., Тузиков А.В., Андрианов А.М. Идентификация новых потенциальных ингибиторов белка gp41 ВИЧ-1 методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования. *Математическая биология и биоинформатика.* 2015. Т. 10. № 2. С. 325–343. doi: [10.17537/2015.10.325](https://doi.org/10.17537/2015.10.325).
29. Andrianov A.M., Kashyn I.A., Tuzikov A.V. Computational discovery of novel HIV-1 entry inhibitors based on potent and broad neutralizing antibody VRC01. *J. Mol. Graph. Model.* 2015. V. 61. P. 262–271.

30. Andrianov A.M., Kashyn I.A., Tuzikov A.V. Identification of novel HIV-1 fusion inhibitor scaffolds by virtual screening, high-throughput docking and molecular dynamics simulations. *JSM Chem.* 2016. V. 4. № 2. P. 1022.
31. Andrianov A.M., Kashyn I.A., Tuzikov A.V. Computational identification of novel entry inhibitor scaffolds mimicking primary receptor CD4 of HIV-1 gp120. *J. Mol. Model.* 2017. V. 23. P. 1–18.
32. Andrianov A.M., Kashyn I.A., Tuzikov A.V. Potential HIV-1 fusion inhibitors mimicking gp41-specific broadly neutralizing antibody 10E8: In silico discovery and prediction of antiviral potency. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2018. V. 4. № 4. P. 1022.
33. 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. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001. V. 46. № 1–3. P. 3–26.
34. Irwin J.J., Shoichet B.K. ZINC – a free database of commercially available compounds for virtual screening. *J. Chem. Inf. Model.* 2005. V. 45. № 1. P. 177–182.
35. Irwin J.J., Sterling T., Mysinger M.M., Bolstad E.S., Coleman R.G. ZINC: a free tool to discover chemistry for biology. *J. Chem. Inf. Model.* 2012. V. 52. № 7. P. 1757–1768.
36. 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., III. 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. *Acc. Chem. Res.* 2014. V. 47. № 4. P. 1228–1237.
37. Curreli F., Kwon Y.D., Zhanga H., Scacalossi D., Belov D.S., Tikhonov A.A., Andreev I.A., Altieric 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. *J. Med. Chem.* 2015. V. 58. № 17. P. 6909–6927.
38. Durrant J.D., McCammon J.A. AutoClickChem: Click chemistry *in silico*. *PLoS Comput. Biol.* 2012. V. 8. № 3. Article No. e1002397.
39. Alhossary A., Handoko S.D., Mu Y., Kwok C.K. Fast, accurate, and reliable molecular docking with QuickVina 2. *Bioinform.* 2015. V. 31. № 13. P. 2214–2216.
40. Trott O., Olson A.J. Software news and update AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* 2010. V. 31. P. 455–461.
41. Durrant J.D., McCammon J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. *J. Mol. Graph. Model.* 2011. V. 29. P. 888–893.
42. McDonald I.K., Thornton J.M. Satisfying hydrogen bonding potential in proteins. *J. Mol. Biol.* 1994. V. 238. P. 777–793.
43. Case D.A., Darden T.A., Cheatham T.E., Simmerling C.L., Wang J., Duke R.E., Luo R., Crowley M., Walker R.C., Zhang W., Merz K.M., Wang B., Hayik S., Roitberg A., Seabra G., Kolossváry I., Wong K.F., Paesani F., Vanicek J., Wu X., Brozell S.R., Steinbrecher T., Gohlke H., Yang L., Tan C., Mongan J., Hornak V., Cui G., Mathews D.H., Seetin M.G., Sagui C., Babin V., Kollman P.A. *AMBER 11*. San Francisco: University of California, 2010.
44. Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein M.L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* 1983. V. 79. P. 926–935.
45. Wang J., Wolf R.M., Caldwell J.W., Kollman P.A., Case D.A. Development and testing of a general Amber force field. *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25. P. 1157–1174.
46. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F., DiNola A., Haak J.R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.* 1984. V. 81. P. 3684–3690.

47. Ryckaert J.P., Ciccotti G., Berendsen H.J.C. Numerical integration of the Cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J. Comput. Phys.* 1977. V. 23. P. 327–341.
48. Essmann U., Perera L., Berkowitz M.L., Darden T., Lee H., Pedersen L.G. A smooth particle mesh Ewald method. *J. Chem. Phys.* 1995. V. 103. P. 8577–8593.
49. Massova I., Kollman P.A. Computational alanine scanning to probe protein-protein interactions: a novel approach to evaluate binding free energies *J. Am. Chem. Soc.* 1999. V. 121. P. 8133–8143.
50. Miller III B.R., McGee Jr. T.D., Swails J.M., Homeyer N., Gohlke H., Roitberg A.E. MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations. *J. Chem. Theory Comput.* 2012. V. 8. P. 3314–3321.
51. Lindorff-Larsen K., Piana S., Palmo K., Maragakis P., Klepeis J.L., Dror R.O., Shaw D.E. Improved side-chain torsion potentials for the Amber ff99SB protein force field. *Proteins.* 2010. V. 78. P. 1950–1958.
52. 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. *J. Exp. Med.* 1992. V. 176. № 2. P. 507–517.
53. 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. *J. Virol.* 1990. V. 64. № 12. P. 5701–5707.
54. 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. V. 339. № 2. P. 213–225.
55. 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. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 16. P. 9026–9031.
56. Brase S., Banert K. *Organic Azides: Syntheses and applications.* Wiley, 2009. 536 p.

Рукопись поступила в редакцию 01.10.2018.

Дата опубликования 12.12.2018.