

УДК 54-3:547:577:616-006

***In silico* идентификация высокоаффинных лигандов белка gp120 ВИЧ-1 – потенциальных пептидомиметиков нейтрализующего антитела N6**

**Андрианов А.М.^{*1}, Николаев Г.И.², Корноушенко Ю.В.¹, Хуанг Дж.³,
Дзян Ш.³, Тузиков А.В.²**

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

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

³*Key Laboratory of Medical Molecular Virology (MOE/NHC/CAMS), School of Basic
Medical Sciences, Fudan University, Shanghai, China*

Аннотация. Методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования идентифицированы шесть потенциальных пептидомиметиков кросс-реактивного нейтрализующего анти-ВИЧ-1 антитела N6, способных имитировать фармакофорные свойства этого иммуноглобулина путем специфических и эффективных взаимодействий с CD4-связывающим сайтом белка gp120 оболочки вируса. Показано, что ключевую роль в связывании этих соединений с белком gp120 играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия с консервативными остатками Phe⁴³-полости гликопротеина, критическими для присоединения ВИЧ-1 к клеточному рецептору CD4, а также водородная связь с остатком Asp-368_{gp120}, образование которой увеличивает химическое сродство без активации нежелательного аллостерического эффекта. Согласно данным молекулярной динамики, комплексы обнаруженных лигандов с белком gp120 энергетически стабильны и характеризуются более низкими значениями свободной энергии связывания по сравнению с ингибиторами ВИЧ-1 NBD-11021 и (+)-DMJ-II-121, использованными в расчетах в качестве контрольных соединений. На основе полученных результатов сделан вывод о том, что идентифицированные соединения могут рассматриваться в качестве перспективных кандидатов для проведения детальных экспериментальных исследований с целью их дальнейшего использования в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих ранние стадии развития ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: ВИЧ-1, белок gp120, ингибиторы проникновения ВИЧ-1, виртуальный скрининг, молекулярный докинг, квантово-химические расчеты, молекулярная динамика, лекарственные препараты против ВИЧ.

ВВЕДЕНИЕ

Этиологический агент синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИДа) – вирус иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) – является одним из наиболее хорошо изученных вирусов, однако эффективные лекарства для профилактики и лечения этого заболевания до сих пор не созданы [1–3]. С начала эпидемии СПИДа более 70 миллионов человек были инфицированы ВИЧ-1 и около половины из них уже

* alexande.andriano@yandex.ru

умерли [3]. Значительный прогресс был достигнут только в разработке метода высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ), заключающегося в использовании комбинации как минимум трех антиретровирусных препаратов, которые блокируют различные этапы репликационного цикла вируса [1, 2]. ВААРТ значительно увеличивает продолжительность жизни пациентов и уменьшает количество новых инфекций [1, 2]. Однако длительное использование антиретровирусных препаратов может вызывать серьезные побочные эффекты и появление устойчивых к лекарственным средствам вирусных штаммов, что приводит к необходимости разработки новых, более эффективных и безопасных анти-ВИЧ-1 препаратов [1, 2].

На сегодняшний день разработка профилактической вакцины против ВИЧ-1 рассматривается в качестве единственного способа для предотвращения распространения пандемии СПИДа. Однако многочисленные механизмы, используемые ВИЧ-1, обеспечивают защиту вируса от иммунной атаки, создавая значительные препятствия на пути решения проблемы [4–7]. Обнаружение анти-ВИЧ антител с широкой нейтрализующей активностью, выделенных у отдельных ВИЧ-позитивных пациентов, которые на протяжении 15–20 лет не проявляют признаков болезни, предполагает возможность преодоления «защитного щита» ВИЧ-1 путем создания иммуногена, способного индуцировать выработку антител широкого спектра действия, имеющих естественное происхождение [5, 7, 8].

В настоящее время более 40 моноклональных антител (МКА) с широкой вирусной нейтрализацией являются потенциальными кандидатами для разработки безопасной и эффективной вакцины против ВИЧ-1 [9–12]. Эти антитела блокируют четыре функционально консервативных эпитопа оболочки вируса, которые включают 1) CD4-связывающий сайт белка gp120, 2) сегменты V1/V2 и V3 этого гликопротеина, 3) проксимальную внешнюю область MPER белка gp41 и 4) четвертичный интерфейс gp120–gp41 [13–20]. Среди кросс-реактивных анти-ВИЧ антител следует особо выделить МКА N6, которое нейтрализует до 98 % протестированных штаммов ВИЧ-1, включая 16 из 20 штаммов, резистентных к другим антителам, блокирующим CD4-связывающий участок белка gp120 [12]. Антитело N6 взаимодействует с относительно консервативными областями CD4-связывающего участка белка gp120 и, в отличие от его предшественников класса VRC01, практически независимо от варибельной области V5 гликопротеина [12]. Этот уникальный способ связывания обеспечивает устойчивость N6 к изменениям оболочки вируса, включая N-гликозилирование петли V5, являющееся главной причиной резистентности ВИЧ-1 к другим антителам, подобным VRC01 [12].

Несмотря на значительный прогресс в идентификации анти-ВИЧ антител с широкой нейтрализующей активностью и в определении механизмов их специфического связывания с белками оболочки вируса, многочисленные попытки разработать иммуноген, индуцирующий кросс-реактивные антитела к ВИЧ-1 к настоящему времени не увенчались успехом [11, 20]. К сожалению, разработанные вакцины-кандидаты не могут стимулировать индукцию нейтрализующих антител против большинства циркулирующих в мире вирусных штаммов. Поэтому, приоритетной задачей в исследованиях по разработке эффективных препаратов для профилактики и лечения ВИЧ-инфекции является создание универсальной вакцины против ВИЧ [20]. Одной из существенных проблем в решении этой задачи является сложная пространственная организация антигенных детерминант, узнаваемых большинством нейтрализующих ВИЧ-1 антител.

В последние годы было разработано и протестировано большое число ингибиторов проникновения ВИЧ-1 с различными механизмами действия [21, 22], но только два из них – антагонист корцептора CCR5 маравирик [23] и ингибитор слияния ВИЧ-1 энфувиртид [24] – были одобрены для клинического использования [21, 22]. Однако

недостатки этих антиретровирусных препаратов значительно ограничивают их применение в ВААРТ. Поскольку маравирик взаимодействует с корцептором CCR5 клетки-мишени, а не с молекулярной мишенью, этот препарат не используется в стандартных режимах ВААРТ и применяется только для терапии пациентов, инфицированных CCR5-тропными штаммами ВИЧ-1 [1, 2]. Основными недостатками лечения энфувиртидом, который связывается с белком gp41 и предотвращает слияние мембран вируса и клетки хозяина, является необходимость двукратного ежедневного внутримышечного введения и его высокая стоимость [1, 2]. Кроме того, клиническое применение энфувертида ограничено его относительно низкой активностью, низким генетическим барьером лекарственной устойчивости и коротким периодом полувыведения [1, 2].

Таким образом, существует очевидная необходимость в разработке более эффективных ингибиторов проникновения ВИЧ-1 с множественной лекарственной устойчивостью и улучшенными фармакологическими свойствами. В связи с этим представляется актуальным поиск низкомолекулярных соединений, способных имитировать структурно-функциональные свойства антител широкого спектра действия против ВИЧ-1.

Ранее [25, 26] нами были представлены исследования по компьютерному конструированию потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 – пептидомиметиков клеточного рецептора CD4 [25] и нейтрализующего антитела 10e8 [26] блокирующих два разных функционально консервативных эпитопа оболочки вируса, а именно CD4-связывающий сайт белка gp120 и участок MPER белка gp41, ответственный за слияние мембран вируса и клетки-мишени. В настоящей работе нами проведен виртуальный скрининг низкомолекулярных химических соединений, имитирующих фармакофорные свойства анти-ВИЧ антитела N6 [12], выполнена оценка их потенциальной нейтрализующей активности и идентифицированы молекулы, перспективные для создания новых эффективных противовирусных препаратов широкого спектра действия.

Для решения поставленной задачи были выполнены исследования, включающие следующие этапы:

1) Построение модели фармакофора, описывающей совокупность структурно-функциональных свойств анти-ВИЧ антитела N6, обеспечивающих специфичность и эффективность его взаимодействия с CD4-связывающим участком белка gp120 оболочки вируса.

2) Виртуальный скрининг молекулярных библиотек веб-ресурса Pharmit [27], позволяющего проводить интерактивное исследование химического пространства с целью поиска потенциальных лекарств на основе их структурно-функционального сходства с высокоаффинными лигандами белка-мишени.

3) Построение комплексов белка gp120 ВИЧ-1 с соединениями, согласующимися с заданной фармакофорной моделью МКА N6, методами молекулярного докинга.

4) Молекулярную динамику (МД) этих комплексов, расчет свободной энергии их образования и отбор перспективных молекул для тестирования на анти-ВИЧ активность против широкого набора модификаций вируса.

5) Оптимизацию комплексов идентифицированных соединений с белком gp120, построенных методом молекулярного докинга, с помощью полуэмпирических квантово-химических расчетов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для построения модели фармакофора анти-ВИЧ антитела N6 использовалось программное обеспечение веб-ресурса Pharmit [27] с привлечением в качестве входных данных структуры комплекса N6/gp120 в кристалле (doi: [10.2210/pdb5te7/pdb](https://doi.org/10.2210/pdb5te7/pdb)). Согласно данным рентгеноструктурного анализа [12], определяющую роль в связывании МКА N6 с белком gp120 ВИЧ-1 играют остатки Tyr-54 и Arg-71 тяжелой цепи иммуноглобулина, которые специфически взаимодействуют с гидрофобным «карманом» CD4-связывающего сайта белка gp120, именуемым Phe⁴³-полостью, критической для связывания вируса с первичным рецептором CD4. В таблице 1 приведена модель фармакофора, построенная на основе этих остатков антитела в результате совместного анализа результатов, предсказанных сервером Pharmit [27], с данными рентгеновской кристаллографии [12]. Эта модель была использована для проведения виртуального скрининга баз данных химических соединений с целью идентификации низкомолекулярных соединений, способных имитировать взаимодействия МКА N6 с Phe⁴³-полостью белка gp120 ВИЧ-1.

Виртуальный скрининг осуществляли в шести молекулярных библиотеках веб-ресурса Pharmit, содержащих структуры более 1 миллиарда 200 миллионов конформеров для 96 миллионов химических соединений. В результате был идентифицирован набор соединений, удовлетворяющих заданной модели фармакофора и характеризующихся отрицательными значениями энергии связывания с белком gp120. Оценку эффективности взаимодействия этих соединений с белком gp120 ВИЧ-1 проводили методами молекулярного докинга, молекулярной динамики и квантовой химии.

Таблица 1. Фармакофорная модель анти-ВИЧ антитела N6, использованная для виртуального скрининга молекулярных библиотек веб-ресурса Pharmit

Тип фармакофора	Координаты фармакофора (Å)			Радиус фармакофора (Å)
	X	Y	Z	
Донор водородной связи	52.34	50.01	48.89	R = 0.5
Донор водородной связи	52.90	47.94	49.56	R = 0.5
Донор водородной связи	48.78	40.76	51.17	R = 0.5
Акцептор водородной связи	50.30	48.65	52.32	R = 0.5
Гидрофобная группа	49.70	43.18	52.07	R = 0.5
Положительно заряженный ион	53.18	49.20	49.47	R = 0.75

Структуру белка gp120 ВИЧ-1 в кристалле использовали в приближении жесткого рецептора для проведения молекулярного докинга с соединениями, идентифицированными в базах данных веб-ресурса Pharmit. Докинг осуществляли с учетом конформационной подвижности лигандов с помощью программы QuickVina 2 [28]. В качестве положительного контроля использовали ингибиторы проникновения ВИЧ-1 NBD-11021 [29] и (+)-DMJ-II-121 [30, 31], представляющие новый класс полных функциональных антагонистов клеточного рецептора CD4 (рис. 1). Трехмерные структуры ингибиторов NBD-11021 и (+)-DMJ-II-121 заимствовали из их структурных комплексов с белком gp120, установленных методом рентгеноструктурного анализа (doi: [10.2210/pdb4rz8/pdb](https://doi.org/10.2210/pdb4rz8/pdb), doi: [10.2210/pdb4i53/pdb](https://doi.org/10.2210/pdb4i53/pdb)) [29, 30]. Перед проведением докинга к структурам лигандов и рецептора добавляли атомы водорода с привлечением программного пакета OpenBabel [32] и выполняли их оптимизацию в силовом поле UFF [33]. Ячейка для докинга включала Phe⁴³-полость белка gp120 и представляла собой область гликопротеина со следующими пограничными значениями координат:

$X \in \{38 \text{ \AA}, 63 \text{ \AA}\}$, $Y \in \{34 \text{ \AA}, 59 \text{ \AA}\}$, $Z \in \{55 \text{ \AA}, 75 \text{ \AA}\}$. 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.

Квантово-химическую оптимизацию комплексов лиганд/grp120 выполняли с помощью полуэмпирического метода PM7 [34] в программном пакете MOPAC2016 [35] с неявной моделью растворителя в рамках приближения COSMO (COnductor-like Screening MOdel) [36–38] при значении диэлектрической проницаемости, равном 78,4. Для ускорения вычислений использовали метод локализованных орбиталей [39, 40]. Градиент энергии, при котором завершается процесс оптимизации, задавали равным 50 ккал/моль/Å [35].

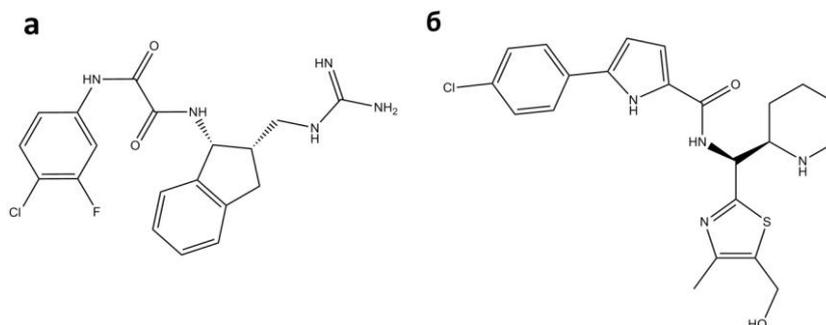


Рис. 1. Химические структуры ингибиторов ВИЧ-1 (+)-DMJ-II-121 [30, 31] (а) и NBD-11021 [29] (б) – полных функциональных антагонистов клеточного рецептора CD4.

Межмолекулярные взаимодействия в структурных комплексах потенциальных лигандов с белком grp120 ВИЧ-1 определяли с помощью программы BINANA [41]. Комплексы лиганд/grp120 и ван-дер-ваальсовы взаимодействия визуализировали средствами программных пакетов UCSF Chimera [42] и Ligplot [43], соответственно.

МД расчеты структурных комплексов потенциальных N6-миметиков с белком grp120 проводили с помощью программного пакета Amber 16 (<http://ambermd.org/>) [44] в силовом поле Amber (набор параметров ff10) с явным заданием растворителя (трехточечная модель воды TP3P [45]). Для параметризации лигандов использовали обобщенное силовое поле AMBER (<http://ambermd.org/>) [46]. Начальные координаты атомов водорода белка grp120 определяли с привлечением модуля xleap пакета AMBERTools 1.5 (<http://ambermd.org/>) [44]. Структурные комплексы лигандов с белком grp120 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 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 [44] с характерной частотой 2.0 ps^{-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. МД моделирование проводили в два последовательных этапа. На первом этапе генерировали МД траектории комплексов длительностью 1 нс и методом MM-GB/SA [47–49] рассчитывали энтальпийные составляющие свободной энергии их образования,

а затем отбирали структуры с энтальпией связывания, меньшей чем у ингибиторов ВИЧ NBD-11021 [29] и (+)-DMJ-II-121 [30, 31]. На втором этапе для отобранных комплексов выполняли расчет МД траекторий длительностью 30 нс в изобарно-изотермических условиях при температуре $T = 310$ К и давлении $P = 1.0$ атм. Для контроля температуры использовали термостат Ланжевена [44] с частотой столкновений 2.0 ps^{-1} . Контроль давления в ячейке осуществляли с помощью баростата Берендсена [44] с характерным временем 2.0 нс. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма leap-frog [44] с шагом интегрирования 2.0 фс. Для фиксации длин всех связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE [50]. Максимальное расстояние, на котором учитывали электростатические взаимодействия, задавали равным 8.0 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда [51].

Средние значения свободной энергии образования комплексов вычисляли с помощью метода MM-GB/SA [47–49] в программном пакете AMBER 16 [44]. 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 МД структур комплексов лиганд/gp120, разделенных 50 пс. Энтропийную компоненту рассчитывали для 50 МД структур 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 [52]. Энтропийный член свободной энергии связывания определяли с помощью модуля Nmode в программном пакете Amber 16 [44].

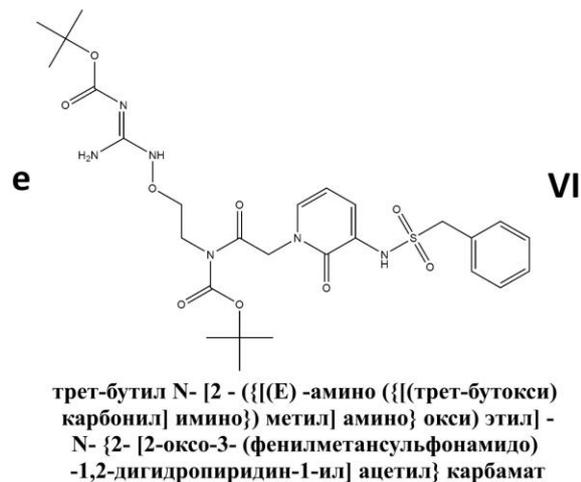
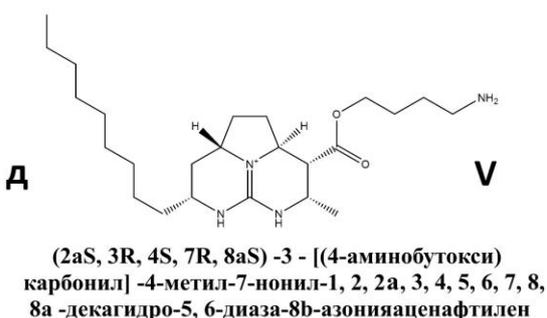
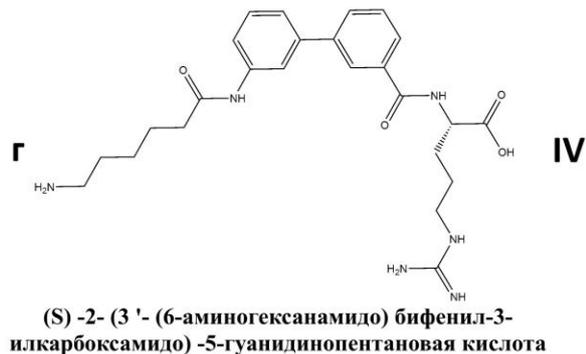
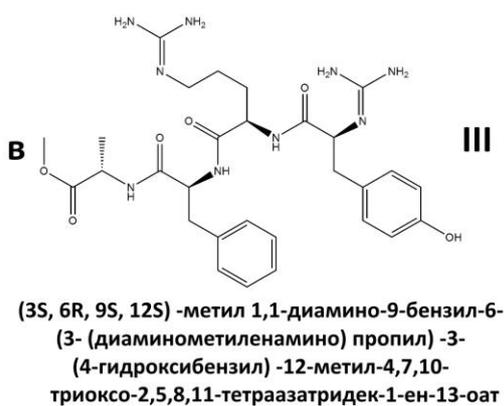
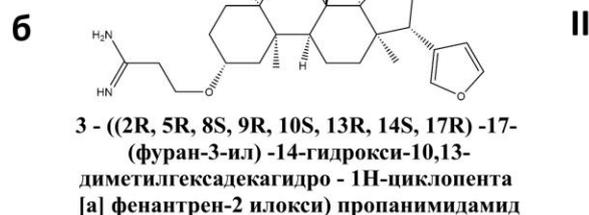
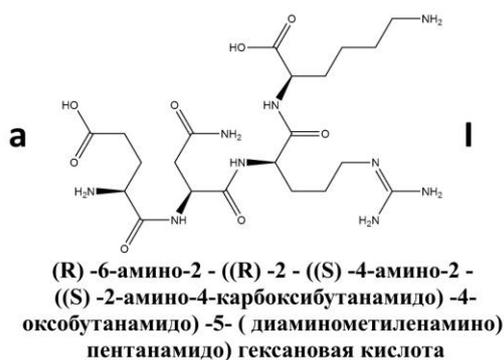
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Виртуальный скрининг молекулярных библиотек веб-ресурса Pharmit [27] позволил идентифицировать 58 соединений, согласующихся с построенной моделью фармакофора МКА N6 (табл. 1) и характеризующихся отрицательными значениями энергии связывания. В результате уточнения комплексов этих соединений с белком gp120, выполненного методом молекулярной динамики во временной интервале 1 нс, были отобраны 15 структур лиганд/gp120 с более низкими значениями энтальпии связывания по сравнению с контрольными ингибиторами ВИЧ-1 NBD-11021 [29] и (+)-DMJ-II-121 [30, 31]. Последующие МД расчеты длительностью 30 нс, проведенные для отобранных 15 комплексов, выявили шесть соединений, проявляющих в терминах свободной энергии Гиббса более высокую аффинность связывания с белком gp120, чем NBD-11021 и (+)-DMJ-II-121. Поэтому, эти соединения были идентифицированы как наиболее вероятные пептидомиметики МКА N6. Информация о найденных соединениях приведена в таблице 2, а на рисунке 2 показаны их химические структуры.

Анализ структурных комплексов потенциальных пептидомиметиков МКА N6 с белком gp120 (рис. 3) свидетельствует о наличии большого числа межмолекулярных взаимодействий, в которые вовлечены аминокислотные остатки гликопротеина, критические для связывания белка gp120 ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4 (табл. 3). Как и МКА N6 [12], соединения I–IV и VI образуют водородную связь с остатком Asp-368_{gp120} (табл. 3), имитируя его взаимодействие с Arg-59_{CD4}, играющее важную роль в процессе адсорбции ВИЧ-1 на поверхности клеточной мембраны [53].

Таблица 2. Химические соединения – потенциальные пептидомиметики анти-ВИЧ антитела N6

Лиганд	Химическая формула	Молекулярная масса (Да)	LogP	Число доноров водородной связи	Число акцепторов водородной связи
I	C ₂₁ H ₃₉ N ₉ O ₈	545.598	-6.752	10	17
II	C ₂₆ H ₄₀ N ₂ O ₃	428.617	4.47	3	5
III	C ₂₉ H ₄₁ N ₉ O ₆	611.704	-1.158	8	15
IV	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₄	482.59	-1.098	0	10
V	C ₂₄ H ₄₅ N ₄ O ₂	421.65	6.047	3	5
VI	C ₂₇ H ₃₈ N ₆ O ₉ S	622.694	3.015	3	13

**Рис. 2.** Химические структуры потенциальных пептидомиметиков нейтрализующего анти-ВИЧ-1 антитела N6. Приведены систематические названия соединений. С помощью надстрочных символов *, **, *** и \blacksquare отмечены функциональные группы лигандов, участвующие в образовании водородных связей с белком gp120 ВИЧ-1 (см. текст и табл. 3).

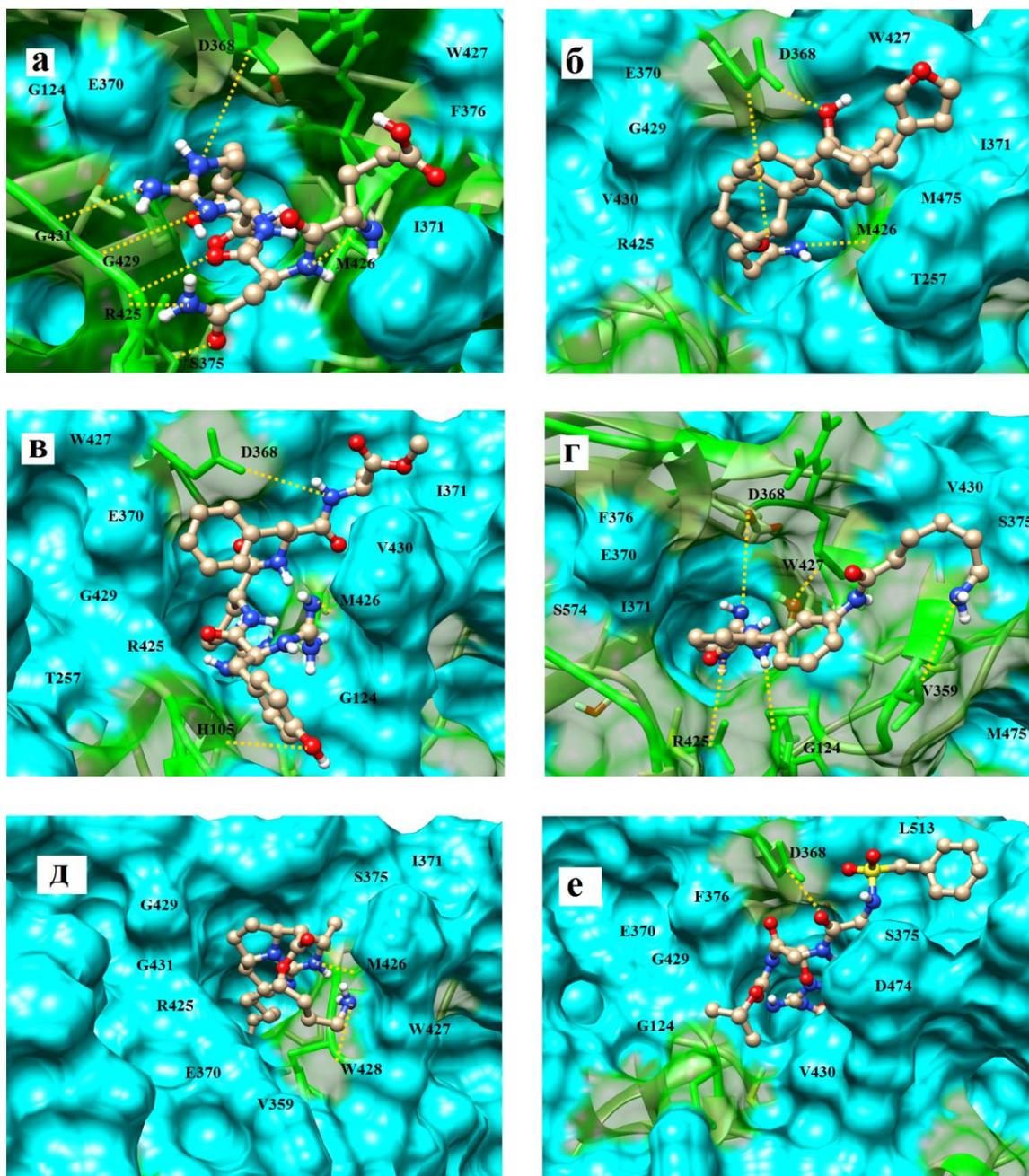


Рис. 3. Структурные комплексы соединений I (а), II (б), III (в), IV (г), V (д) и VI (е) с белком gp120 ВИЧ-1, построенные методом молекулярного докинга и уточненные полуэмпирическим квантово-химическим методом PM7. Соединения изображены с помощью молекулярной модели «шарик–палочка». Отмечены остатки белка gp120, образующие межатомные контакты с лигандами (табл. 3). Водородные связи показаны пунктирными линиями.

Соединения I–III и V участвуют в водородном связывании с остатком Met-426_{gp120} (табл. 3), идентифицированным в работе [54] в качестве еще одного важного компонента «горячих точек» CD4-связывающего сайта ВИЧ-1. Известно [31], что прямое водородное связывание ингибитора ВИЧ-1 (+)-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, опосредованной водным окружением. Кроме того, водородные связи с отдельными соединениями формируют такие функционально важные остатки Phe⁴³-полости белка gp120 как Gly-429, Gly-431, Ser-375

(соединение I), Arg-425 (соединения I и IV), His-105 (соединение III), Gly-124 (соединение IV), Trp-427, Val-359 (соединение IV) и Trp-428 (соединение V) (табл. 3). Два соединения – лиганды I и III – образуют солевые мостики с остатками Arg-425_{gp120} и Glu-370_{gp120}, соответственно (табл. 3).

Таблица 3. Межмолекулярные взаимодействия, реализующиеся в структурных комплексах потенциальных N6-миметиков с белком gp120

Лиганд	Водородная связь ¹	Ван-дер-ваальсовы контакты ²	Солевые мостики ³
I	NH*...O[M426], NH**...O[G429], NH***...N[G431], OH*...N[R425], NH [■] ...O[R425], OH**...O[S375], N*...HO[D368]	E370(7), W427(12), R425(3), G124(3), F376(2), I371(2), D368(4)	COO...R425
II	NH*...O[D368], NH**...O[M426], O*...HO[D368]	R425(7), V430(4), I371(5), G429(3), E370(6), T257(1), W427(4), M475(2)	–
III	NH*...O[M426], OH*...N[H105], N*...HO[D368]	G429(3), R425(2), G124(2), V430(2), I371(2), D368(4), E370(5), W427(3), T257(2)	CNN...E370
IV	NH*...O[G124], NH**...O[R425], OH*...N[W427], NH***...O[V359], N [■] ...HO[D368]	E370(8), I371(1), R425(1), V430(2), G124(2), W427(6), M475(3), V359(1), S574(1), S375(2), F376(2)	–
V	NH*...O[M426], NH**...N[W428]	R425(3), I371(3), G431(1), G429(1), E370(9), W427(16), V359(5), S375(1)	–
VI	O*...HO[D368]	G429(1), D474(2), V430(4), L513(3), G124(2), E370(4), S375(3), F376(5)	–

¹Первыми указаны атомы молекулы лиганда, а вторыми – атомы аминокислотных остатков gp120 (приведены в квадратных скобках в однобуквенном коде).

²Аминокислотные остатки gp120, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с лигандами. В скобках указано число контактов.

³Для солевых мостиков первыми приведены функциональные группы лигандов, а вторыми – аминокислотные остатки белка gp120.

Наряду с водородными связями, интерфейс структурных комплексов N6-миметиков с белком gp120 содержит большое число ван-дер-ваальсовых контактов, в формировании которых участвуют аминокислоты гидрофобной Phe⁴³–полости гликопротеина, ответственные за взаимодействие вируса с остатком Phe-43_{CD4} (табл. 3, рис. 4). Анализ расчетных данных показывает (табл. 3, рис. 4), что соединения I–V образуют прямые межатомные контакты с остатками Glu-370, Ile-371, Arg-425 и Trp-427 белка gp120, доминирующими в связывании вируса с остатком Phe-43_{CD4} [53]. Отдельные лиганды формируют ван-дер-ваальсовы контакты с такими функционально важными аминокислотами белка gp120 как: Gly-124 (соединения I, III, IV, VI), Phe-376 (соединения I, IV, VI), Val-430 (соединения II, III, IV, VI), Gly-429 (соединения II, III, V, VI), Thr-257 (соединения II, III), Met-475 (соединения II, IV), Val-359 (соединения IV, V), Ser-375 (соединения IV, V, VI), Ser-574 (соединение IV), Phe-376 (соединения IV, VI), Gly-431 (соединение V), Val-359 (соединение V), Asp-474 (соединение VI) и Leu-513 (соединение VI) (табл. 3, рис. 4).

Необходимо отметить, что большинство аминокислот белка gp120, образующих межмолекулярные контакты с идентифицированными соединениями, входит в состав интерфейса комплекса gp120/CD4, имитируя взаимодействия, ключевые для связывания МКА N6 с гликопротеином оболочки вируса. Известно [53], что 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. Исключительную важность остатков Phe-43_{CD4} и Arg-59_{CD4} подтверждают эксперименты с использованием направленного точечного мутагенеза [55, 56], согласно которым одиночные замены Phe-43_{CD4} и Arg-59_{CD4} на аланин уменьшают аффинность связывания белка gp120 с рецептором CD4 в 550 и 9 раз соответственно. При связывании бензольное кольцо Phe-43_{CD4} погружается в Phe⁴³-полость CD4-связывающего сайта белка gp120 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} [53]. Именно эти взаимодействия обеспечивают прочное связывание белка gp120 ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4 [53]. Аналогичный механизм связывания с белком gp120 реализуется для МКА N6 [12] и идентифицированных на его основе пептидомиметиков, имитирующих ключевые взаимодействия этого иммуноглобулина с Phe⁴³-полостью CD4-связывающего сайта оболочки вируса (рис. 3 и 4, табл. 3).

Эффективность межмолекулярных взаимодействий потенциальных N6-миметиков с белком gp120 подтверждают значения констант диссоциации (K_d) (табл. 4), вычисленные для статических комплексов лиганд/gp120 с помощью оценочной функции NNScore 2.0, разработанной на основе метода машинного обучения с использованием 20 нейронных сетей и предназначенной для предсказания высокоаффинных низкомолекулярных лигандов [57]. Значения K_d , варьирующие в интервале от 0.185 мкмоль до 1.930 мкмоль, и соответствующие им величины энергии связывания (табл. 4) свидетельствуют о высоком сродстве идентифицированных соединений к CD4-связывающему сайту белка gp120. При анализе данных таблицы 4 следует, однако, иметь в виду, что компьютерные методы предсказания аффинности связывания используют различные приближения, варьирующие от упрощенного описания до приближений, ограничивающих размер системы и фундаментальных приближений в уравнениях, необходимых для решения задачи. Тем не менее, точность квантово-химического метода PM7 [34] – единственного полуэмпирического метода, учитывающего поправки на межмолекулярные дисперсионные взаимодействия и водородные связи [59], позволяет предполагать, что приведенная в таблице 4 информация дает корректную оценку химического сродства идентифицированных соединений к белку gp120. Правомерность этого предположения подтверждают результаты недавнего исследования [60], согласно которому использование метода PM7 для оптимизации комплексов лиганд/белок, построенных на основе классического силового поля, значительно повышает точность предсказания пространственной ориентации лигандов в активном центре белка. Об эффективности совместного применения классического докинга с методом PM7 также свидетельствует хорошее соответствие между расчетным и экспериментальным значениями константы диссоциации комплекса белка gp120 с ингибитором (+)-DMJ-II-121. Согласно данным компьютерного моделирования, предсказанное значение константы диссоциации для этого комплекса равно 0.225 мкмоль (табл. 4), а ее экспериментальная величина, полученная в работе [61], составляет 0.11 мкмоль.

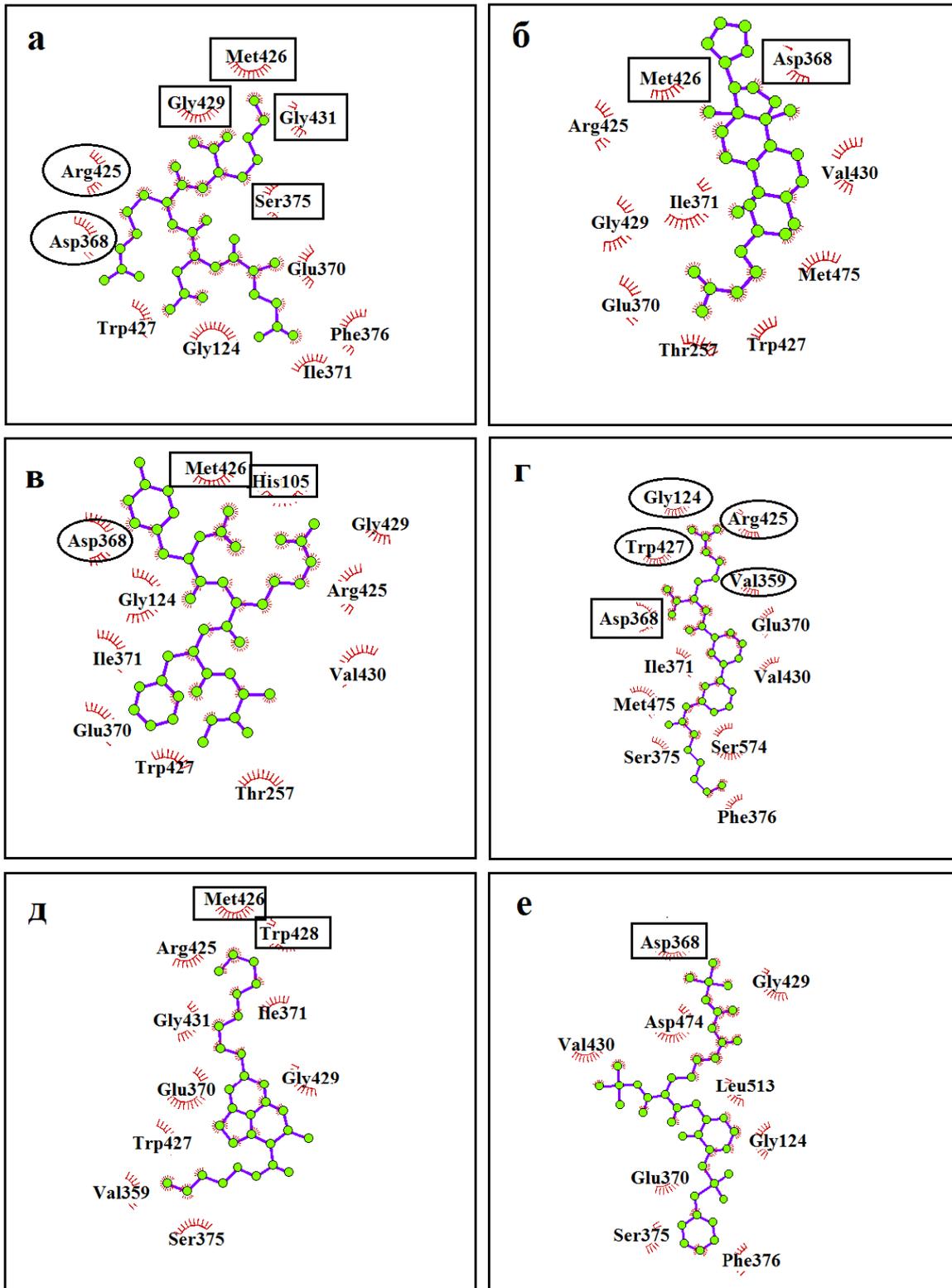


Рис. 4. Аминокислотные остатки белка gp120, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты и водородные связи с соединениями I (а), II (б), III (в), IV (г), V (д) и VI (е). Эллипсом выделены остатки, вовлеченные как в водородное связывание, так и в ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Прямоугольником отмечены аминокислоты, участвующие в образовании только водородных связей.

Таблица 4. Значения констант диссоциации, вычисленные для комплексов потенциальных миметиков антитела N6 с белком gp120 ВИЧ-1 с помощью оценочной функции NNScore 2.0 [57], и соответствующие им величины свободной энергии связывания

Лиганд	I	II	III	IV	V	VI	DMJ-II-121	NBD-11021
K_d , мкмоль	0.185	0.213	1.125	1.589	1.621	1.930	0.225	1.888
ΔG , ккал/моль	-9.2	-9.1	-8.1	-7.9	-7.9	-7.8	-9.1	-7.8

Примечание. Значения ΔG рассчитаны по величинам K_d с помощью формулы $\Delta G = R \times T \times \ln(K_d)$, где ΔG – свободная энергия связывания, R – универсальная газовая постоянная, T – абсолютная температура, равная 310 К [58].

Таблица 5. Средние значения свободной энергии $\langle \Delta G \rangle$ образования комплексов потенциальных миметиков антитела N6 с белком gp120 ВИЧ-1 и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD}

Лиганд	$\langle \Delta H \rangle$ ккал/моль	$(\Delta H)_{STD}$ ккал/моль	$\langle T\Delta S \rangle$ ккал/моль	$(T\Delta S)_{STD}$ ккал/моль	$\langle \Delta G \rangle$ ккал/моль	ΔG_{STD} ккал/моль
I	-54.87	7.12	-27.66	9.08	-27.20	11.54
II	-41.62	5.92	-17.57	5.54	-24.05	8.11
III	-48.09	5.25	-26.87	8.09	-21.23	9.64
IV	-43.01	10.54	-24.78	7.72	-18.24	13.07
V	-39.22	4.53	-24.64	8.95	-14.59	10.03
VI	-39.59	5.75	-25.20	8.82	-14.38	10.53
(+)-DMJ-II-121	-38.81	3.83	-26.42	8.94	-12.39	9.72
NBD-11021	-32.17	6.02	-19.87	6.09	-12.30	8.56

Примечание. $\langle \Delta H \rangle$ и $\langle T\Delta S \rangle$ – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии; $(\Delta H)_{STD}$ и $(T\Delta S)_{STD}$ – соответствующие этим значениям.

Вывод о высоком сродстве найденных соединений к белку gp120, вытекающий из величин констант диссоциации комплексов лиганд/gp120 (табл. 4), согласуется с данными о средних значениях свободной энергии Гиббса (табл. 5), рассчитанных методом MM-GB/SA на основе анализа их МД траекторий. Анализ данных таблицы 5, выполненный с учетом возможных погрешностей расчетов [47–49], показывает, что соединения I–IV характеризуются более низкими величинами свободной энергии связывания с белком gp120 по сравнению с ингибиторами NBD-11021 и (+)-DMJ-II-121. При этом величины свободной энергии Гиббса для лигандов V и VI сопоставимы со значениями, предсказанными для этих контрольных соединений (табл. 5), а также с величиной -9.5 ± 0.1 ккал/моль, измеренной для комплекса CD4/gp120 методом изотермической титрационной калориметрии [62].

Таблица 6. Средние значения энтальпии связывания для аминокислотных остатков белка gp120 в комплексе с потенциальными пептидомиметиками нейтрализующего антитела №6

Остаток белка gp120	Лиганд					
	I	II	III	IV	V	VI
	Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль)					
His 105	-0.73	–	-1.16	–	–	–
Trp 112	–	–	–	-1.19	–	–
Leu 122	–	–	–	-0.56	–	-0.57
Ser 256	–	–	–	–	-0.66	-0.64
Thr 257	-1.11	-0.75	–	-1.06	-0.81	-1.49
Val 359	-0.68	–	–	-2.53	-1.13	-0.97
Asp 368	-2.59	-0.71	-1.14	–	0.12	–
Glu 370	-24.42	-2.38	-2.45	-2.22	-1.55	-2.11
Phe 371	-1.08	-1.23	-1.05	-1.38	-1.30	-1.14
Hid 374	–	–	–	0.12	–	–
Ser 375	-0.61	-0.63	–	-4.48	-1.16	-1.92
Phe 376	–	–	–	-2.30	-0.69	-0.59
Phe 382	–	–	–	-1.58	-0.79	-0.78
Tyr 384	–	-2.63	–	-1.39	-0.71	-1.39
Arg 425	-3.83	-5.81	-11.49	-10.84	-11.57	-11.04
Met 426	-5.80	-1.10	-6.24	-2.23	–	-1.24
Trp 427	-3.78	-2.54	-3.79	-2.97	-1.32	-1.55
Gln 428	-1.14	-0.69	–	–	–	-0.66
Gly 429	-5.59	-1.19	-2.03	–	-1.01	-2.78
Val 430	-2.59	-0.90	-3.05	-0.90	–	-1.39
Gly 431	-2.29	–	-3.10	-0.85	–	-2.98
Gln 432	–	–	–	–	–	–
Gly 472	-0.64	–	–	–	–	-0.58
Gly 473	-2.54	-1.78	-2.17	-0.60	-1.51	-1.98
Asp 474	-2.55	-1.18	-8.22	–	-0.91	-1.03
Met 475	-2.77	-1.01	-2.04	-0.89	-1.27	-1.12
Arg 476	–	-0.57	0.21	–	–	–

Примечание. Приведены данные для остатков gp120 с энтальпией ≤ -0.5 ккал/моль. Жирным шрифтом выделены остатки gp120, вносящие значительный вклад в энтальпию связывания.

Анализ данных о вкладах индивидуальных аминокислот белка gp120 в энтальпийную компоненту свободной энергии связывания позволил идентифицировать остатки гликопротеина, доминирующие во взаимодействии потенциальных пептидомиметиков нейтрализующего антитела №6 с Phe⁴³-полостью CD4-связывающего сайта ВИЧ-1. Из данных, приведенных в табл. 6, видно, что ключевую роль в образовании стабильных комплексов лиганд/gp120 играют остатки Asp-368, Glu-370, Phe-371, Arg-425, Met-426, Trp-427, Gly-429, Val-430, Gly-431, Gly-473, Asp-474 и Met-475. Полученные результаты согласуются с данными о межмолекулярных водородных связях в динамических структурах этих комплексов, демонстрирующих высокий процент заселенности Н-связей с участием остатков gp120, вовлеченных в прямые взаимодействия ВИЧ-1 с молекулой CD4 (табл. 7).

Таблица 7. Межмолекулярные водородные связи, реализующиеся в динамических структурах комплексов потенциальных CD4-миметиков с белком gp120 ВИЧ-1

Лиганд	Водородная связь
I	N8... HH11 [ARG425, 22.3 %], N9... HH11 [ARG425, 7.7 %], N3... H [MET426, 12.9 %], O5... H [GLY429, 17.5 %], N3... H [GLY431, 35.4 %], O3... H [GLY431, 31.8 %], O4... H [GLY431, 17.9 %], O7... H [GLY473, 15.5 %], O8... H [GLY473, 54.9 %], O6... H [MET475, 42.0 %], H2... O [MET426, 78.2 %], H4... O [MET426, 23.0 %], H4... O [GLN428, 5.1 %], H4... O [GLY429, 88.4 %], N...H6[MET426, 8.6 %], H6... O [MET426, 40.2 %], H6... O [GLY429, 35.5 %], H6... O [GLY431, 16.0 %], H7...N[MET426, 5.3 %], H7... O [MET426, 29.0 %], H7... O [GLY429, 30.2 %], H7... O [GLY431, 21.2 %], H17... OE1 [GLU370, 19.6 %], H17... OE2 [GLU370, 98.7 %], H19... OE2 [GLU370, 99.9 %], H28... OE1 [GLU370, 9.8 %], H28...OG [SER375, 11.4 %], H29...OG [SER375, 11.6 %], H36... OE1 [GLU370, 54.0 %], H36... OE2 [GLU370, 54.8 %], H38... OD2 [ASP368, 20.6 %], H38... OE1 [GLU37, 19.3 %], H38... OE2 [GLU370, 20.1 %], H39... OD2 [ASP368, 19.2 %], H39... OE1 [GLU370, 20.1 %], H39... OE2 [GLU370, 26.7 %]
II	N1...HH[TYR384, 63.2 %], N2...HH[TYR384, 34.4 %], N1...H[ARG425, 25.6 %], H38... O [ARG425, 48.6 %], H39... OH [TYR384, 14.9 %], H39... O [ARG425, 10.7 %], H40... OE1 [GLU370, 21.4 %], H40... OE2 [GLU370, 26.7 %], H40... OH [TYR384, 14.2 %], H40... O [ARG425, 9.4 %]
III	N9... HH [TYR384, 5.0 %], N2... HE [ARG425, 5.8 %], N3... HE [ARG425, 22.3 %], N4... HE [ARG425, 37.8 %], N3... HH11 [ARG425, 5.8 %], N4... HH11 [ARG425, 10.2 %], O3... HH11 [ARG425, 6.4 %], O1... HH21 [ARG425, 5.5 %], N2... HH21 [ARG425, 8.2 %], N3... HH21 [ARG425, 17.0 %], N4... HH21 [ARG425, 18.2 %], N3... H [MET426, 6.8 %], N3... H [GLY431, 42.1 %], N4... H [GLY431, 92.5 %], O2... H [MET475, 37.3 %], O2... H [ARG476, 33.7 %], H2... O [MET426, 95.3 %], H5... O [MET426, 24.3 %], H5... O [GLY429, 24.6 %], H5...N[GLY431, 6.9 %], H5... O [GLY431, 27.2 %], H6... O [MET426, 14.3 %], H6... O [GLY429, 21.2 %], H6...N[GLY431, 12.4 %], H6... O [GLY431, 38.4 %], H7... O [MET426, 29.3 %], H14... OD1 [ASP474, 20.6 %], H14... OD2 [ASP474, 80.4 %], H15... O [GLY473, 6.0 %], H39... OE2 [GLU370, 5.2 %], H39... OH [TYR384, 10.3 %], H40... OE2 [GLU370, 7.2 %], H40... OH [TYR384, 11.9 %], H40... O [ARG425, 6.3 %], H41... O [ARG425, 48.6 %]
IV	N2... H [GLY124, 5.4 %], N2... H [GLY198, 13.9 %], O1... HH11 [ARG425, 55.4 %], O3... H [TRP427, 8.7 %], H20... O [LEU122, 8.5 %], H21... O [VAL430, 12.0 %], H22... O [ARG425, 88.3 %], H24... O [ARG425, 59.6 %], H31... OG [SER375, 88.0 %], H33... O [VAL359, 56.7 %], H33... OG [SER375, 14.7 %], H33... O [SER375, 23.8 %], H33...N[PHE376, 8.1 %], H34... O [VAL359, 34.2 %], H34... OG [SER375, 24.17 %], H34... O [SER375, 43.54 %], H34...N[PHE376, 14.0 %]
V	N1... HH11 [ARG425, 83.5 %], N2... HH11 [ARG425, 40.8 %], N3... HH11 [ARG425, 31.9 %], H2... O [GLY429, 7.9 %], H24... O [TRP427, 8.8 %], H25... O [GLY429, 6.4 %]
VI	N6... HH [TYR384, 5.7 %], O8... HH [TYR384, 5.9 %], O2... HH11 [ARG425, 98.2 %], O4... HH11 [ARG425, 5.2 %], S1... HE22 [GLN432, 8.3 %], O6... HE22 [GLN432, 35.9 %], H27... O [GLU370, 14.1 %], H28... OG [SER375, 35.0 %], H29... O [GLU370, 42.1 %]

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, депонированной в Банке данных белков. В квадратных скобках указаны остатки белка gp120 и процент реализации водородных связей на МД траекториях комплексов лиганд/gp120.

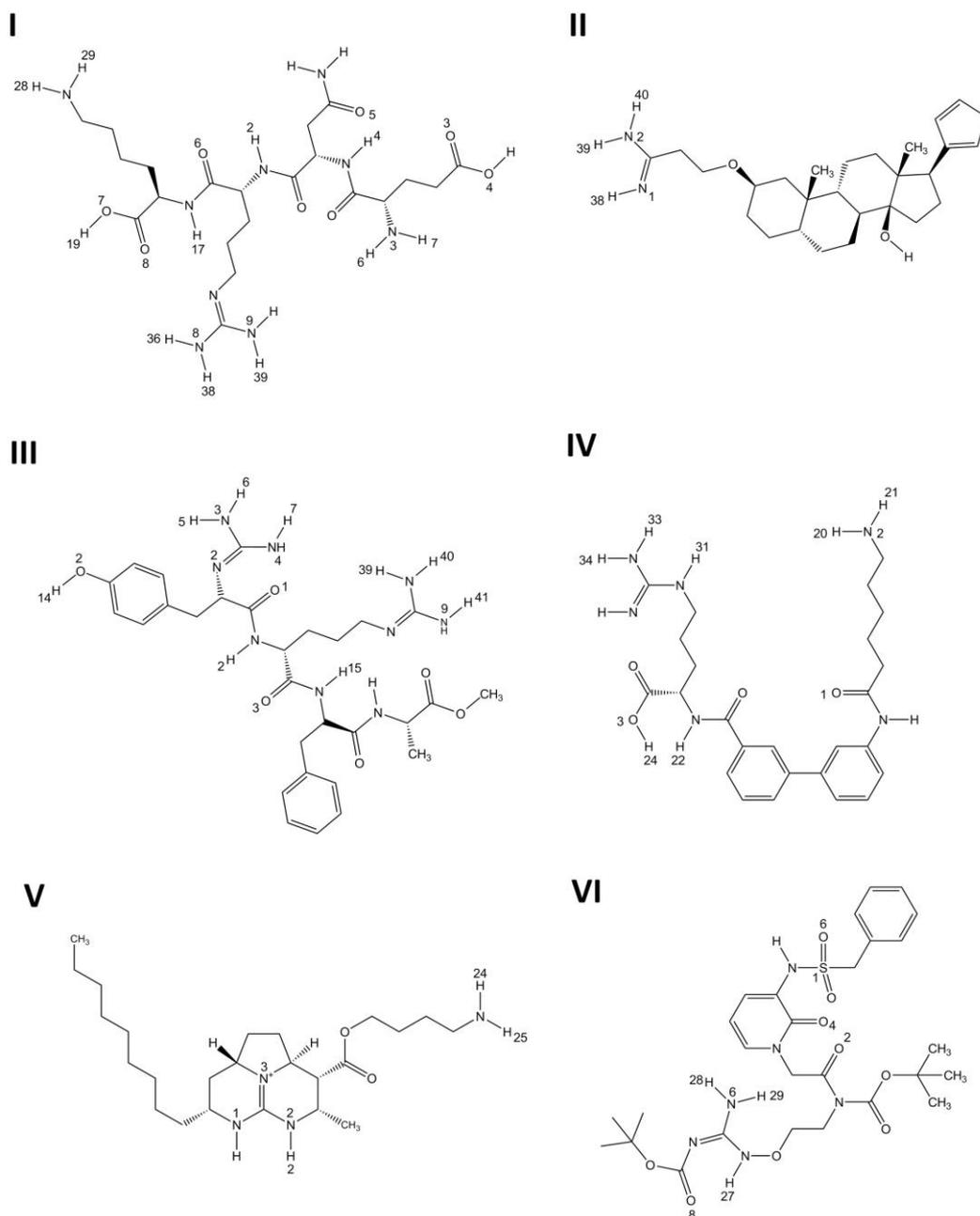


Рис. 5. Нумерация атомов потенциальных пептидомиметиков антитела N6 в их химических структурах, использованная в таблице 7 для обозначения доноров и акцепторов водородных связей, реализующихся в динамических структурах комплексов лиганд/grp120.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных результатов показывает, что 6 химических соединений (рис. 2), обнаруженных в молекулярных библиотеках веб-ресурса Pharnit [27], способны имитировать фармакофорные свойства Fab-фрагмента МКА N6 путем специфических и эффективных взаимодействий с участком белка grp120 ВИЧ-1, критическим для связывания вируса с клеточным рецептором CD4. При этом ключевую роль играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия идентифицированных соединений с остатками Phe⁴³-полости grp120, ответственными за связывание ВИЧ-1 с Phe-43_{CD4}, а также водородная связь с остатком Asp-368_{grp120}, образование которой увеличивает аффинность связывания без активации нежелательного аллостерического эффекта [31]. По данным молекулярной динамики, комплексы найденных потенциальных

№6-миметиков с белком gp120 энергетически стабильны и характеризуются более низкими значениями свободной энергии связывания с белком gp120 по сравнению с известными ингибиторами ВИЧ-1 NBD-11021 и (+)-DMJ-II-121, использованными в расчетах в качестве контрольных соединений.

Безусловно, идентифицированные соединения должны стать предметом дальнейшего экспериментального анализа для подтверждения *in vitro* их *in silico* свойств. Среди найденных №6-миметиков следует особо выделить соединение I (рис. 2, 5), которое демонстрирует наиболее низкое значение свободной энергии связывания с белком gp120 по сравнению с другими лигандами (табл. 5). Это соединение формирует в статической модели комплекса с белком gp120 семь водородных связей, один солевой мостик и большое число ван-дер-ваальсовых контактов с функционально важными остатками гликопротеина (табл. 3), характеризуется наименьшим значением K_d (табл. 4) и самой широкой сетью водородных связей, реализующихся в динамических структурах комплексов лиганд/gp120 (табл. 7). Поэтому, соединение I может рассматриваться в качестве первоочередного кандидата для проведения детальных экспериментальных исследований с целью его дальнейшего использования в качестве базовой структуры для создания новых противовирусных препаратов – ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих ранние стадии развития ВИЧ-инфекции.

Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (совместный проект с Национальным фондом естественных наук Китая; X18КИ-002).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arts E.J., Hazuda D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. P. 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. V. 13. P. 1–5.
4. Barouch D.H. Challenges in the development of an HIV-1 vaccine. *Nature.* 2008. V. 455. P. 613–619.
5. Walker L.M., Burton D.R. Rational antibody-based HIV-1 vaccine design: Current approaches and future directions. *Curr. Opin. Immunol.* 2010. V. 22. P. 358–366.
6. Corti D., Lanzavecchia A. Broadly neutralizing antiviral antibodies. *Annu. Rev. Immunol.* 2013. V. 31. P. 705–742.
7. Mascola J.R., Haynes B.F. HIV-1 neutralizing antibodies: understanding nature's pathways. *Immunol. Rev.* 2013. V. 254. P. 225–244.
8. Haynes B.F., McElrath M.J. Progress in HIV-1 vaccine development. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2013. V. 8. P. 326–332.
9. Kwong P.D., Mascola J.R., Nabel G.J. Rational design of vaccines to elicit broadly neutralizing antibodies to HIV-1. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2011. V. 1. a007278.
10. Van Gils M.J., Sanders RW Broadly neutralizing antibodies against HIV-1: Templates for a vaccine. 2013. *Virol.* V. 435. P. 46–56.
11. Mann J.K., Ndung'u T. HIV-1 vaccine immunogen design strategies. *Virol. J.* 2015. V. 12. P. 3.
12. Huang J., Kang B.H., Ishida E., Zhou T., Griesman T., Sheng Z., Wu F., Doria-Rose N.A., Zhang B., McKee K. et al. Identification of a CD4-binding-site

- antibody to HIV that evolved near-pan neutralization breadth. *Immunity*. 2016. V. 45. P. 1108–1121.
13. Kwong P.D., Mascola J.R., Nabel G.J. The changing face of HIV vaccine research. *J. Int. AIDS Soc.* 2012. V. 15. P. 17407.
 14. Huang J., Kang B.H., Pancera M., Lee J.H., Tong T., Feng Y., Imamichi H., Georgiev I.S., Chuang G.Y., Druz A. et al. Broad and potent HIV-1 neutralization by a human antibody that binds the gp41-gp120 interface. *Nature*. 2014. V. 515. P. 138–142.
 15. Blattner C., Lee J.H., Sliепен K., Derking R., Falkowska E., de la Peña A.T., Cupo A., Julien J.P., van Gils M., Lee P.S. et al. Structural delineation of a quaternary, cleavage-dependent epitope at the gp41-gp120 interface on intact HIV-1 Env trimers. *Immunity*. 2014. V. 40. P. 669–680.
 16. Falkowska E., Le K.M., Ramos A., Doores K.J., Lee J.H., Blattner C., Ramirez A., Derking R., van Gils M.J., Liang C.H. et al. Broadly neutralizing HIV antibodies define a glycan-dependent epitope on the prefusion conformation of gp41 on cleaved envelope trimers. *Immunity*. 2014. V. 40. P. 657–668.
 17. Scharf L., Scheid J.F., Lee J.H., West A.P. Jr, Chen C., Gao H., Gnanapragasam P.N.P., Mares R., Seaman M.S., Ward A.B. et al. Antibody 8ANC195 reveals a site of broad vulnerability on the HIV-1 envelope spike. *Cell Rep.* 2014. V. 7. P. 785–795.
 18. Lee J.H., Leaman D.P., Kim A.S., Torrents de la Pena A., Sliепен K., Yasmeen A., Derking R., Ramos A., de Taeye S.W., Ozorowski G. et al. Antibodies to a conformational epitope on gp41 neutralize HIV-1 by destabilizing the Env spike. *Nature Commun.* 2015. V. 6. P. 8167.
 19. Kong R., Xu K., Zhou T., Acharya P., Lemmin T., Liu K., Ozorowski G., Soto C., Taft J.D., Bailer R.T. et al. Fusion peptide of HIV-1 as a site of vulnerability to neutralizing antibody. *Science*. 2016. V. 352. P. 828–833.
 20. Wibmer C.K., Gorman J., Ozorowski G., Bhiman J.N., Sheward D.J., Elliott D.H., Rouelle J., Smira A., Joyce M.G., Ndabambi N. et al. Structure and recognition of a novel HIV-1 gp120-gp41 interface antibody that caused MPER exposure through viral escape. *PLoS Pathog.* 2017. V. 13. № 1. P. e1006074.
 21. 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. P. 707–719.
 22. Su S., Wang Q., Xu W., Yu F., Hua C., Zhu Y., Jiang S., Lu L. A novel HIV-1 gp41 tripartite model for rational design of HIV-1 fusion inhibitors with improved antiviral activity. *AIDS (London, England)*. 2017. V. 31. P. 885–894.
 23. 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.
 24. 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.
 25. Кашин И.А., Тузиков А.В. и Андрианов А.М. Виртуальный скрининг новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих CD4-связывающий участок белка gp120 оболочки вируса. *Мат. биология и биоинформатика*. 2014. Т. 9. № 2. С. 359–372.
 26. Кашин И.А., Тузиков А.В. и Андрианов А.М. Идентификация новых потенциальных ингибиторов белка gp41 ВИЧ-1 методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования. *Мат. биология и биоинформатика*. 2015. Т. 10. № 2. С. 325–343.
 27. Sunseri J., Koes D.R. Pharmit: interactive exploration of chemical space. *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. P. W442–W448.

28. Handoko S.D., Ouyang X., Su C.T.T., Kwong C.K., Ong Y.S. QuickVina: Accelerating AutoDock Vina using gradient-based heuristics for global optimization. *IEEE/ACM Trans. Comput. Biol. Bioinform.* 2012. V. 9. P. 1266–1272.
29. Curreli F., Kwon Y.D., Zhanga H., Scacalossia 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. P. 6909–6927.
30. Lalonde J.M., Le-Khac M., Jones D.M., Courter J.R., Park J., Schön A., Princiotto A.M., Wu X., Mascola J.R., Freire E., Sodroski J., Madani N., Hendrickson W.A., Smith A.B. III. Structure-based design and synthesis of an HIV-1 entry inhibitor exploiting X-ray and thermodynamic characterization. *ACS Med. Chem. Lett.* 2013. V. 4. P. 338–343.
31. 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.
32. O'Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G.R. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics.* 2011. V. 3. Article No. 33.
33. Rappe A.K., Casewit C.J., Colwell K.S., Goddard III W.A., Skiff W.M. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. P. 10024–10035.
34. Stewart J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. *J. Mol. Model.* 2013. V. 19. P. 1–32.
35. Stewart J.J.P. *MOPAC2016*. Colorado Springs: Stewart Computational Chemistry, 2016. URL: <http://OpenMOPAC> (дата обращения: 20.09.2019).
36. Klamt A., Schüürmann G. COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1993. V. 2. P. 799–805.
37. Klamt A. *From quantum chemistry to fluid phase thermodynamics and drug design*. Boston, MA, USA: Elsevier, 2005.
38. Klamt A., Moya C., Palomar J. A comprehensive comparison of the IEFPCM and SS(V)PE continuum solvation methods with the COSMO approach. *J. Chem. Theory Comput.* 2015. V. 11. P. 4220–4225.
39. Høyvik I.-M., Jansik B., Jørgensen P. Trust region minimization of orbital localization functions. *J. Chem. Theory Comput.* 2012. V. 8. P. 3137–3146.
40. Lehtola S., Jónsson H. Unitary optimization of localized molecular orbitals. *J. Chem. Theory Comput.* 2013. V. 9. P. 5365–5372.
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. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25. № 13. P. 1605–1612.
43. McDonald I.K., Thornton J.M. Satisfying hydrogen bonding potential in proteins. *J. Mol. Biol.* 1994. V. 238. P. 777–793.
44. Case D.A., Betz R.M., Cerutti D.S., Cheatham T.E., Darden III, T.A., Duke R.E., Giese T.J., Gohlke H., Goetz A.W., Homeyer N. et al. *AMBER 2016*. San Francisco: University of California, 2016.

45. 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.
46. 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.
47. Sun H., Li Y., Tian S., Xu L., Hou T. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 4. Accuracies of MM/PBSA and MM/GBSA methodologies evaluated by various simulation protocols using PDBbind data set. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2014. V. 16. P. 16719–16729.
48. Xu L., Sun H., Li Y., Wang J., Hou T. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 3. The impact of force fields and ligand charge models. *J. Phys. Chem. B.* 2013. V. 117. P. 8408–8421.
49. Sun H., Li Y., Shen M., Tian S., Xu L., Pan P., Guan Y., Hou T. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 5. Improved docking performance using high solute dielectric constant MM/GBSA and MM/PBSA rescoring. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2014. V. 16. P. 22035–22045.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. 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. P. 507–517.
56. 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. P. 5701–5707.
57. Durrant J.D., McCammon J.A. NNScore 2.0: A neural-network receptor–ligand scoring function. *J. Chem. Inf. Model.* 2011. V. 51. P. 2897–2903.
58. Sharma G., First E.A. Thermodynamic Analysis Reveals a Temperature-dependent Change in the Catalytic Mechanism of *Bacillus stearothermophilus* Tyrosyl-tRNA Synthetase. *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. P. 4179–4190.
59. Christensen A.S., Kubař T., Cui Q., Elstner M. Semiempirical quantum mechanical methods for noncovalent interactions for chemical and biochemical applications. *Chem. Rev.* 2016. V. 116. № 9. P. 5301–5337.
60. Sulimov A.V., Kutov D.C., Katkova E.V., Sulimov V.B. Combined docking with classical force field and quantum chemical semiempirical method PM7. *Adv. Bioinformatics.* 2017. V. 5. P. 1–6.
61. Le-Khac M. *Structure-based design of small molecule inhibitors of HIV-1 entry*: Doctoral Thesis. Columbia University, 2013. doi: [10.7916/D8W09D5Q](https://doi.org/10.7916/D8W09D5Q).

62. 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. P. 9026–9031.

Рукопись поступила в редакцию 08.06.2019, переработанный вариант поступил 01.10.2019.
Дата опубликования 03.10.2019.