

# Компьютерный дизайн потенциальных лекарственных препаратов для терапии СПИДа: $\beta$ -галактозилцерамид и петля V3 белка gp120 ВИЧ-1

Анищенко И.В.<sup>\*1</sup>, Тузиков А.В.<sup>1</sup>, Андрианов А.М.<sup>\*\*2</sup>

<sup>1</sup>Объединенный институт проблем информатики, Национальная академия наук Беларуси, Минск, 220012, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси, Минск, 220141, Республика Беларусь

**Аннотация.** На основе анализа межмолекулярных взаимодействий гликофинголипида  $\beta$ -галактозилцерамида с центральной областью петли V3 ВИЧ-1 осуществлен компьютерный дизайн его двух водорастворимых аналогов – потенциальных ингибиторов репликации вируса. В результате показано, что ключевую роль в формировании структурных комплексов гликолипидов с петлей V3 ВИЧ-1 играют взаимодействия перекрывающихся  $\pi$ -орбиталей боковой цепи консервативного фенилаланина ее иммунногенной “верхушки” Gly-Pro-Gly-Gln/Arg-Ala-Phe с XH (X=C или O) группами остатка сахара. При этом существенный вклад в стабилизацию комплексов вносят водородные связи гидроксильных групп пиранозного кольца галактозы с полярными атомами основной цепи петли V3. Путем расчета величин энергии связывания сконструированных аналогов  $\beta$ -галактозилцерамида с пептидами петли V3 предсказана высокая вероятность проявления ими противовирусной активности.

**Ключевые слова:** ВИЧ-1, белок gp120, петля V3,  $\beta$ -галактозилцерамид, трехмерная структура, компьютерное моделирование, лекарственные препараты.

## ВВЕДЕНИЕ

Внедрению 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 процесс слияния мембран, ведущий к проникновению вирусного генома в клетки-мишени (см., например, обзорную статью [1]). Известно, что петля V3 белка gp120, образующая основную антигенную детерминанту вируса, отвечает за выбор корецептора и участвует в структурных изменениях, происходящих при контакте ВИЧ-1 с молекулой CD4 [1, 2]. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что петля V3 в значительной мере определяет клеточный тропизм, и поэтому может рассматриваться как перспективная мишень для создания противовирусных препаратов [1, 2]. Физико-химические свойства петли V3 объясняют тот факт, что в последние годы она находится в центре внимания исследователей, занимающихся разработкой лекарственных препаратов для терапии СПИДа. Однако высокая вариабельность аминокислотной последовательности этого функционально значимого участка ВИЧ-1

\*anishchenko.ivan@gmail.com

\*\*andrianov@iboch.bas-net.by

является серьезным препятствием на пути решения данной проблемы [3]. Тем не менее, в работах [1, 4–6] было показано, что, несмотря на интенсивные мутации, отдельные сегменты петли V3, содержащие аминокислоты, критические для клеточного тропизма, сохраняют трехмерную структуру в различающихся вирионах ВИЧ-1, образуя слабые звенья в системе защиты вируса. В связи с этим особую важность для успешного выполнения работ по созданию новых противовирусных препаратов приобретает задача, связанная с идентификацией химических соединений, которые могут выступать в качестве потенциальных терапевтических агентов, способных эффективно блокировать структурно-жесткие участки петли V3 ВИЧ-1. Согласно литературным данным [7, 8], к числу таких соединений следует отнести гликофинголипид  $\beta$ -галактозилцерамид ( $\beta$ -GALCER), образующий на поверхности ряда чувствительных клеток первичный рецептор для ВИЧ-1, альтернативный молекуле CD4, используемой вирусом для внедрения в макрофаги и Т-лимфоциты [1]. Кроме того, известно [9–12], что водорастворимые аналоги  $\beta$ -GALCER могут ингибировать проникновение ВИЧ-1 в клетки-мишени путем специфического связывания с петлей V3, а именно с ее центральной иммуногенной областью 15-20 (гексапептид Gly-Pro-Gly-Gln/Arg-Ala-Phe), которая формирует один из инвариантных элементов структуры основной антигенной детерминанты вируса [1, 4, 5]. В свете этих эмпирических данных весьма актуальным представляется исследование структурных комплексов  $\beta$ -GALCER и его аналогов с петлей V3 ВИЧ-1, направленное на установление факторов, обеспечивающих высокое сродство гликолипида к V3-домену белка gp120 вируса. При отсутствии рентгеновских данных о структуре таких комплексов (см. базу данных Банка белковых структур [13]) единственным способом получения детальной информации о принципах их пространственной организации является использование методов молекулярного моделирования. Очевидно, что применение этих методов должно существенно упростить процедуру извлечения структурных данных, необходимых для направленного синтеза модифицированных форм  $\beta$ -GALCER, которые могут рассматриваться как базовые химические соединения для разработки новых антивирусных препаратов с широким спектром нейтрализующего действия.

Цель настоящего исследования: методами молекулярного моделирования построить структурные комплексы  $\beta$ -GALCER с пептидами петли V3 ВИЧ-1 и, исходя из их энергетических и конформационных характеристик, осуществить компьютерный дизайн водорастворимых аналогов гликолипида, способных к блокаде V3-домена белка gp120 вируса.

Для достижения поставленной цели в работе решены следующие задачи:

1. Определена трехмерная структура и изучены динамические свойства  $\beta$ -GALCER.
2. Рассчитаны структурные комплексы  $\beta$ -GALCER с пептидами Gly-Pro-Gly-Gln/Arg-Ala-Phe петли V3 ВИЧ-1, и выполнен их анализ, на основе которого сконструированы два водорастворимых аналога гликолипида.
3. Установлены пространственные структуры этих производных  $\beta$ -GALCER, и исследованы их динамические характеристики.
4. Построены динамические модели комплексов гликолипидов с пептидами петли V3 ВИЧ-1 подтипов А и В, имитирующими ее центральную область 15-20, и выполнена оценка их стабильности путем расчета величин свободной энергии образования этих надмолекулярных структур.

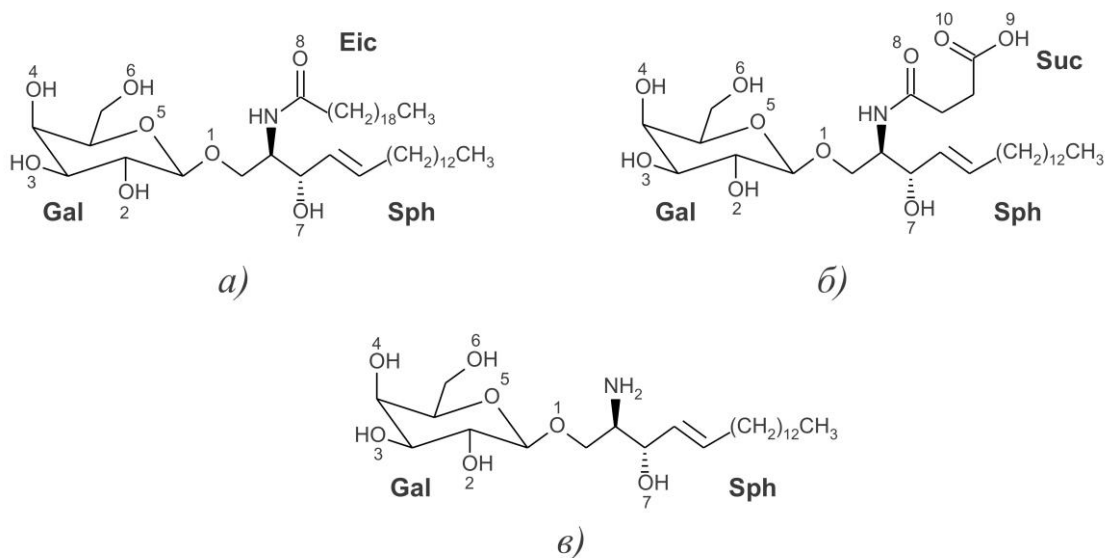
На основе расчетных данных показано, что связывание  $\beta$ -GALCER с центральной областью 15-20 петли V3 должно приводить к образованию стабильного структурного комплекса, а водорастворимые аналоги гликолипида могут сохранять способность к специфическим и эффективным взаимодействиям с этим функционально значимым участком белка gp120 ВИЧ-1, характерную для нативной молекулы.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование трехмерных структур  $\beta$ -GALCER и его аналогов

Для определения структуры  $\beta$ -GALCER и его аналогов в качестве стартовой модели использовали рентгеновскую конформацию  $\alpha$ -GALCER, представленную в Банке белковых структур (код 1ZT4) в составе комплекса гликопротеина CD1d с  $\beta$ -2-микроглобулином [13]. С целью построения начальной конформации  $\beta$ -GALCER структуру  $\alpha$ -GALCER подвергли следующим модификациям с помощью средств компьютерной графики: 1)  $\alpha$ -D-галактопиранозу заменили на  $\beta$ -D-галактопиранозу, 2) остаток 4-гидроксидигидросфингозина преобразовали в остаток сфингозина путем удаления гидроксильной группы при четвертом атоме углерода и замены одинарной связи C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub> на двойную связь в транс-конформации, и 3) остаток церотиновой жирной кислоты CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>24</sub>COOH трансформировали в эйкозановую кислоту CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>COOH. Полученную таким образом структуру  $\beta$ -GALCER использовали для генерации стартовых конформаций двух модифицированных форм гликолипида, в одной из которых произвели замену одноосновной эйкозановой жирной кислоты на двухосновную янтарную кислоту с короткой углеводородной цепью (аналог 1), а во второй осуществили полное удаление жирной кислоты (аналог 2). Структурные формулы  $\beta$ -GALCER и его двух аналогов приведены на рис. 1.

Моделирование трехмерных структур гликолипидов проводили методами квантовой механики в пакете GAMESS [14, 15]. Для расчета электронной конфигурации гликолипидов применяли метод самосогласованного поля Хартри-Фока с валентно расщепленным базисом 6-31G\* [16]. Геометрические параметры молекул оптимизировали с помощью модифицированного метода Ньютона–Рафсона, в котором в качестве целевой функции задействовали потенциальную энергию систем, оцененную на предыдущем этапе моделирования. Для вычисления характерных зарядов атомов использовали модель RESP (Restricted Electrostatic Potential) [17, 18].



**Рис. 1.** Структурные формулы  $\beta$ -GALCER (а) и его аналогов 1 (б) и 2 (в). Используются следующие условные обозначения: Gal — галактоза, Sph — сфингозиновое основание, Eic — эйкозановая кислота, Suc — янтарная кислота.

## Исследование динамических свойств $\beta$ -GALCER и его аналогов

Для изучения динамических характеристик гликолипидов использовали метод молекулярной динамики (МД), представленный в программном комплексе Amber 10 [19]. При этом применяли схему с явным заданием свойств растворителя. Перед проведением расчетов исходные структуры подвергали процедуре минимизации энергии методом сопряженных градиентов, помещали их в ячейки с формой усеченного октаэдра, заполняли свободное пространство молекулами воды, а затем в интервале 100 пс осуществляли нагрев от 0 до 300 К при постоянном объеме. На следующем шаге в течение 100 пс уравнивали давление в системе посредством динамического изменения размеров ячейки согласно схеме Берендсена с соавт. [20]. На этапах нагрева и уравнивания давления накладывали дополнительные ограничения на положения атомов гликолипидов с помощью потенциала параболической формы с силовой постоянной, равной 2,0 ккал/моль. Далее эти ограничения снимали и осуществляли МД расчеты в изобарно-изотермических условиях во временном интервале 20,5 нс, причем первые 0,5 нс отводили на процессы релаксации структур. На заключительном этапе проводили кластеризацию структур, реализующихся на МД траекториях гликолипидов [19].

Анализ МД траекторий  $\beta$ -GALCER и его аналогов показал, что исследуемые гликолипиды формируют ограниченное число структур, которые в каждом из рассматриваемых случаев могут быть разделены на три структурных кластера, адекватно отражающих конформационную подвижность молекул (рис. 2).

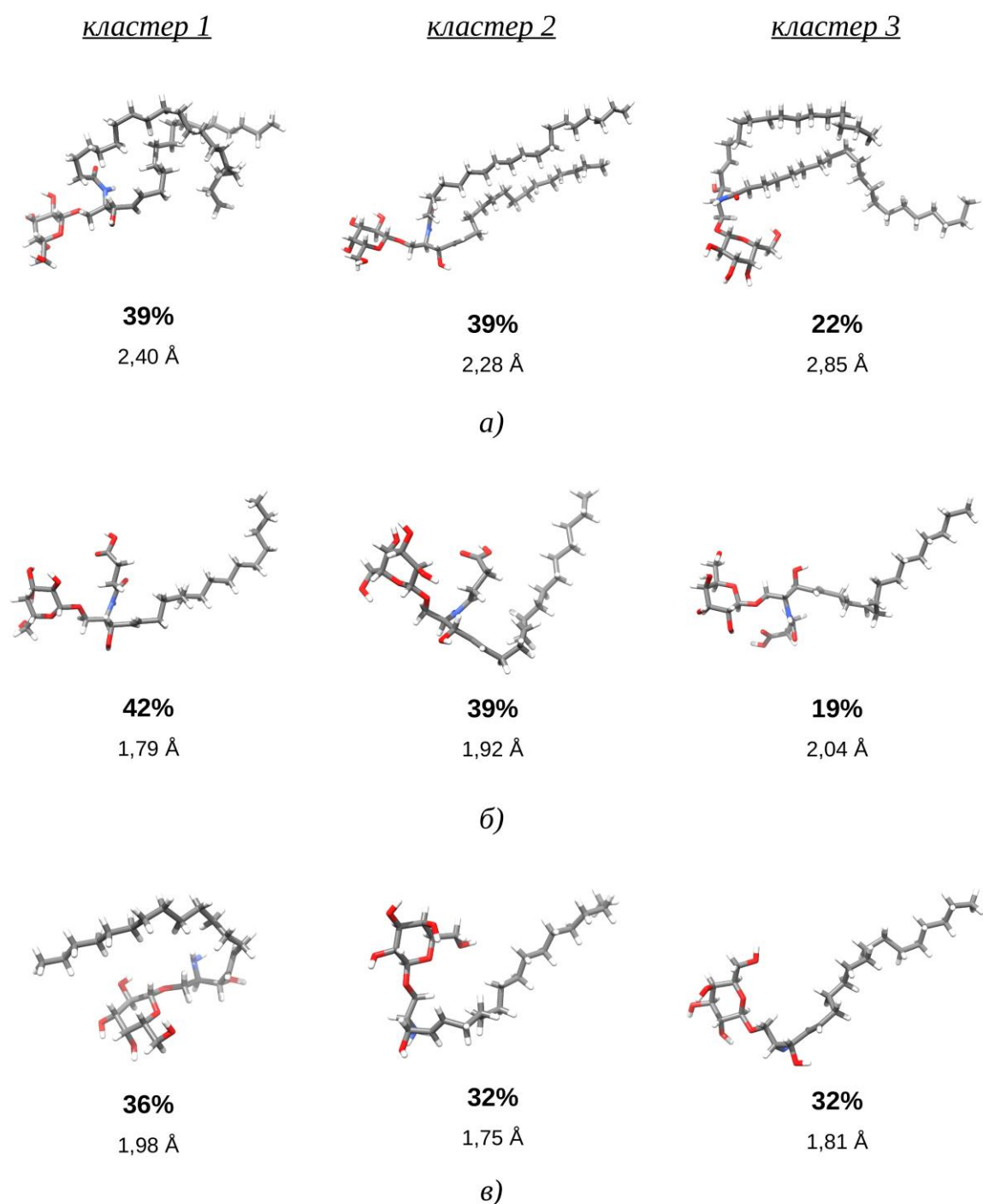
## Моделирование трехмерных структур пептидов петли V3 ВИЧ-1

Петля V3 ВИЧ-1 была представлена в расчетах центральным фрагментом Gly-Pro-Gly-Arg/Gln-Ala-Phe, который вносит определяющий вклад во взаимодействия белка gp120 с гликолипидами [9–12]. В качестве стартовых моделей использовали конформации пептидов, реализующиеся в трехмерных структурах петель V3 ВИЧ-1 подтипов А (гексапептид Gly-Pro-Gly-Gln-Ala-Phe) [4, 21] и В (Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe) [5]. МД расчеты проводили с помощью программного комплекса Amber [19], а затем осуществляли кластеризацию структур. Проведенные расчеты показали, что структурная гибкость полипептидной цепи обоих пептидов может быть описана с помощью четырех структурных кластеров (рис. 3).

## Построение структурных комплексов

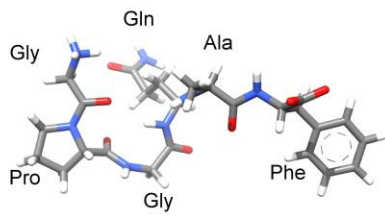
Для генерации комплексов пептидов Gly-Pro-Gly-Arg/Gln-Ala-Phe петли V3 с  $\beta$ -GALCER и его аналогами применяли программный пакет UCSF DOCK 6.3 [22] в варианте “жесткого” молекулярного докинга. Конформационную подвижность молекул косвенно учитывали путем привлечения в расчеты структур, полученных в результате кластеризации их МД траекторий. Моделирование выполняли для всех возможных конформаций пептида и гликолипида, представленных усредненными структурами соответствующих кластеров (рис. 2 и 3). Для заключительного анализа отбирали восемь структурных комплексов, лучших по значению оценочной функции. Расчет величин свободной энергии образования комплексов осуществляли на основе анализа их МД траекторий методом MM-PB/SA [23]. Динамические характеристики комплексов исследовали при неявном задании свойств растворителя во временном интервале 2,5 нс. При этом первые 1,5 нс рассматривали как время, необходимое системе для достижения равновесного состояния. Результирующие МД траектории комплексов составляли путем объединения отрезков длительностью 1 нс для пяти представителей исследуемой надмолекулярной структуры, характеризующихся наименьшими значениями энергии связывания, оцененной из MM-PB/SA расчетов. Во всех случаях

итоговая МД траектория длительностью 5 нс включала 250 структур. На завершающем этапе для каждой пары “гликолипид/V3-пептид” проводили процедуру разбиения МД траектории на четыре структурные кластера. МД расчеты реализовали в пакете Amber 10 [19].

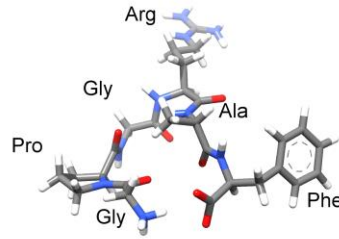


**Рис. 2.** Трехмерные структуры  $\beta$ -GALCER (а) и его аналогов 1 (б) и 2 (в), полученные в результате разбиения МД траекторий гликолипидов на три структурные кластера. Для каждого кластера показаны структуры с геометрическими параметрами, усредненными по всем его конформациям. Снизу приведены величины заселенностей кластеров и средних расстояний до их центров.

кластер 1

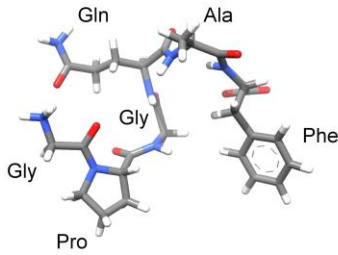


**39%**  
2,04 Å

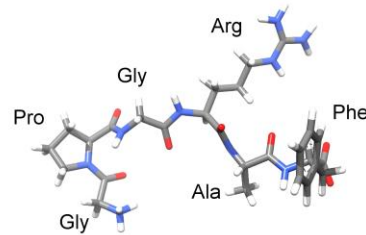


**34%**  
2,17 Å

кластер 2

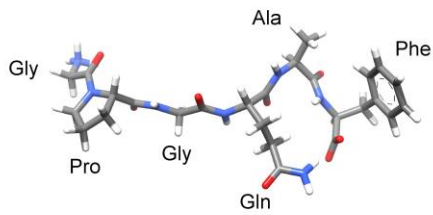


**22%**  
1,87 Å

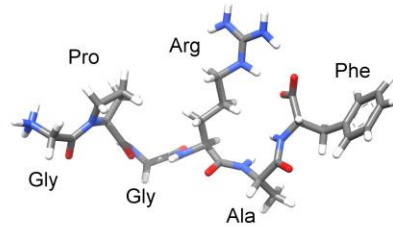


**28%**  
2,19 Å

кластер 3

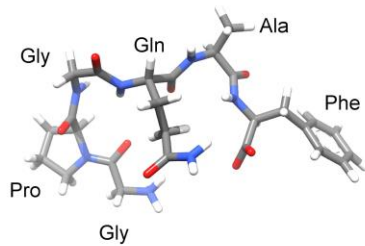


**21%**  
1,75 Å

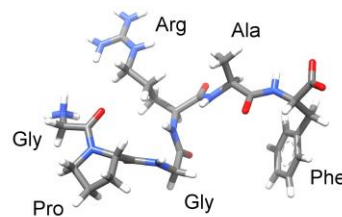


**19%**  
2,11 Å

кластер 4



**18%**  
2,08 Å



**19%**  
2,21 Å

*а)*

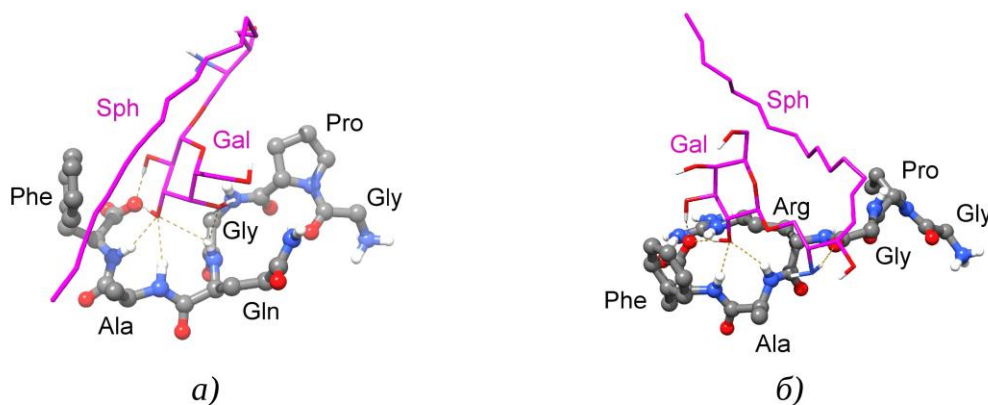
*б)*

**Рис. 3.** Трехмерные структуры пептидов Gly-Pro-Gly-Gln-Ala-Phe (а) и Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe (б) петли V3 ВИЧ-1, полученные в результате разбиения их МД траекторий на четыре структурных кластера. Для каждого кластера показаны структуры с геометрическими параметрами, усредненными по всем его конформациям. Снизу приведены величины заселенностей кластеров и средних расстояний до их центров.

Во всех расчетах использовали компьютерный кластер «СКИФ-ОИПИ» Объединенного института проблем информатики НАН Беларуси и Национальную ГРИД-сеть [24].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 4 показаны наиболее вероятные структурные комплексы  $\beta$ -GALCER с пептидами петли V3 ВИЧ-1 подтипов А и В, сгенерированные методом молекулярного докинга с последующим исследованием их МД траекторий и расчетом свободной энергии образования надмолекулярных структур. Из анализа структур этих комплексов следует, что они характеризуются близким механизмом взаимодействия  $\beta$ -GALCER с центральной областью петли V3, согласно которому ключевую роль в их формировании играет фенилаланин ее иммуногенной “верхушки”, контактирующий с остатком галактозы гликолипида. При этом важный вклад в стабилизацию комплексов вносят водородные связи гидроксильных групп сахара с полярными атомами основной цепи петли V3. Как следует из анализа динамических структур рассматриваемых комплексов, наиболее вероятными среди них являются водородные связи, образованные гидроксильными группами в положениях C2, C3 и C4 пиранозного кольца гликолипида с карбоксильной группой остатка фенилаланина пептидов петли V3. Существенную роль в формировании надмолекулярных структур играют также водородные связи аминогруппы сфингозинового основания  $\beta$ -GALCER с карбоксильной группой глицина в третьей позиции пептидов. Кроме того, высока вероятность образования водородной связи между атомом кислорода остатка жирной кислоты и амидной группой аланина. В случае пептида петли V3, содержащего в четвертой позиции остаток аргинина, в ряде динамических структур наблюдаются водородные связи с участием боковой цепи этой аминокислоты, приводящие к дополнительной энергетической стабилизации комплекса, что подтверждает сравнительный анализ величин свободной энергии образования надмолекулярных структур (таблица 1).



**Рис. 4.** Структурные комплексы  $\beta$ -GALCER с пептидами Gly-Pro-Gly-Gln-Ala-Phe (а) и Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe (б) петли V3 ВИЧ-1. Пунктирными линиями обозначены водородные связи. Приведены усредненные структуры для наиболее вероятных кластеров, реализующихся на МД траекториях комплексов. Заселенности кластеров для пептидов Gly-Pro-Gly-Gln-Ala-Phe и Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe составляют соответственно 47.6 % и 36.8 %. Используются следующие условные обозначения: Gal — галактоза, Sph — сфингозиновое основание, Eic — эйкозановая кислота.

Пространственная близость остатка галактозы с фенилаланином, наблюдаемая в структурных комплексах  $\beta$ -GALCER с пептидами петли V3 (рис. 4), создает благоприятные условия для образования нестандартных  $\text{CH}\cdots\pi$  и  $\text{OH}\cdots\pi$  водородных связей, существующих за счет сил притяжения дисперсионной природы между ХН

(X=C или O) группами сахара и перекрывающимися  $\pi$ -орбиталями боковой цепи этой аминокислоты [25]. Эти результаты согласуются с рядом экспериментальных данных (см., например, обзор [26]), свидетельствующих о том, что важным фактором, обеспечивающим энергетическую стабилизацию комплексов гликофинголипидов с белками, являются  $\text{CH}\cdots\pi$  взаимодействия остатка сахара с ароматическими аминокислотами. Вероятно, именно этот тип взаимодействий, реализующихся между  $\beta$ -GALCER и консервативным фенилаланином иммуногенной “верхушки” петли V3 [3, 27], определяет специфичность связывания гликолипида с белком gp120 ВИЧ-1. Правомерность этого предположения подтверждает тот факт, что остаток жирной кислоты молекулы  $\beta$ -GALCER, выступающей в ряде чувствительных клеток в качестве первичного рецептора для ВИЧ-1 [7, 8], погружен вглубь мембраны, а наиболее доступным элементом структуры гликолипида является пиранозное кольцо галактозы [26]. Эти закономерности, обнаруживаемые  $\beta$ -GALCER при связывании с белками, наблюдаются и в структурных комплексах гликолипида в свободном состоянии с пептидами петли V3, в которых остаток жирной кислоты экспонирован наружу, а подавляющее число результативных контактов, включающих, наряду с  $\text{XH}\cdots\pi$  взаимодействиями, межмолекулярные водородные связи, приходится на углеводную часть молекулы (рис. 4). Полученные результаты создают структурные предпосылки для получения водорастворимых форм  $\beta$ -GALCER, способных к эффективной блокаде петли V3, путем модификаций остатка жирной кислоты гликолипида, который, как следует из проведенных расчетов, обладает высокой конформационной подвижностью и не вступает в непосредственный контакт с ее центральным сегментом Gly-Pro-Gly-Gln/Arg-Ala-Phe (рис. 4). Два таких аналога  $\beta$ -GALCER, в одном из которых осуществлено замещение остатка одноосновной жирной кислоты на двухосновную янтарную кислоту, а в другом — ее полное удаление, сконструированы и апробированы в настоящей работе методами компьютерного моделирования.

**Таблица 1.** Величины свободной энергии ( $\langle\Delta G\rangle$ ) образования комплексов пептидов петли V3 с  $\beta$ -GALCER и его аналогами

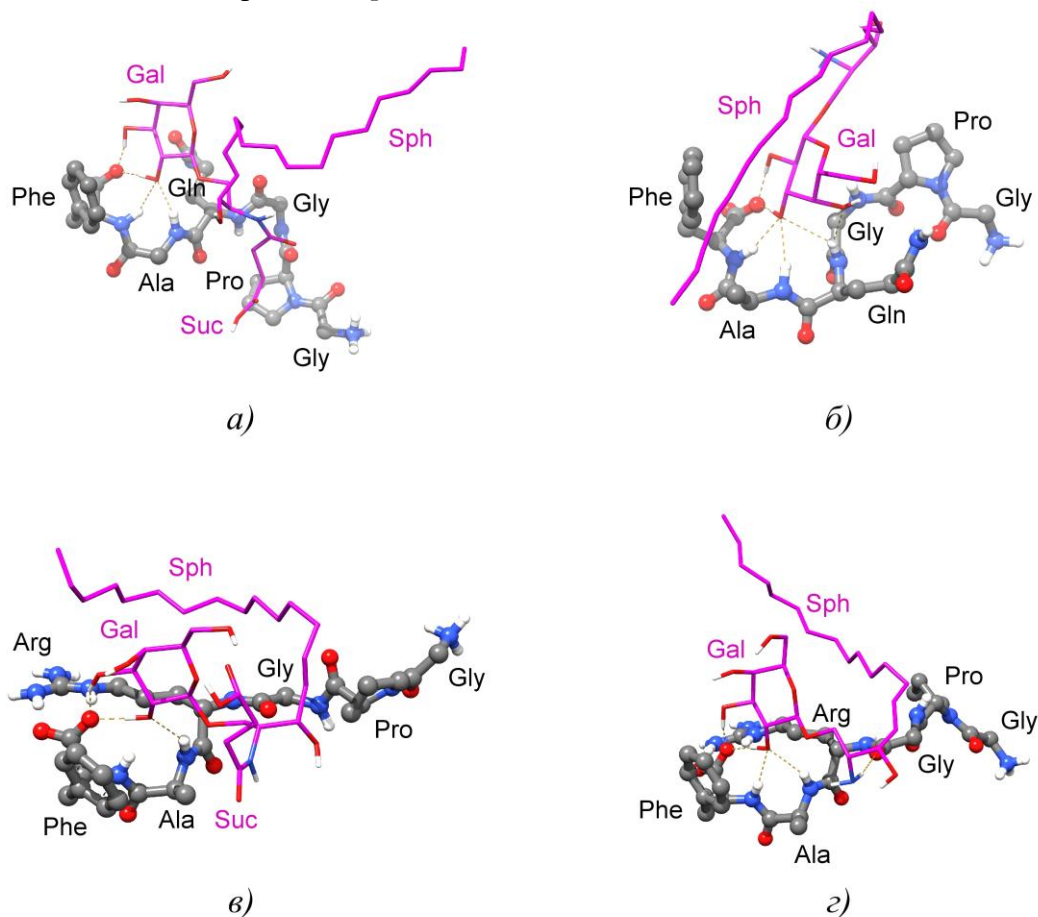
V3-пептид	Гликолипид	$\langle\Delta H\rangle$ , ккал/моль	$(\Delta H)_{\text{STD}}$ , ккал/моль	$\langle T\Delta S\rangle$ , ккал/моль	$(T\Delta S)_{\text{STD}}$ , ккал/моль	$\langle\Delta G\rangle$ , ккал/моль
GPGQAF	$\beta$ -GALCER	-27,6	1,1	-18,9	1,2	-8,7
	Аналог 1	-28,2	1,5	-18,6	0,9	-9,6
	Аналог 2	-27,5	3,3	-17,8	0,8	-9,7
GPGRAF	$\beta$ -GALCER	-33,0	2,0	-21,5	0,7	-11,5
	Аналог 1	-31,7	2,4	-19,8	1,3	-11,9
	Аналог 2	-29,2	1,9	-19,4	0,7	-9,9

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

На рис. 5 изображены наиболее характерные структурные комплексы аналогов  $\beta$ -GALCER с пептидами петли V3 ВИЧ-1, в которых, как и в случае интактного гликолипида, пиранозное кольцо галактозы сближено в пространстве с консервативным фенилаланином петли V3, а гидроксильные группы остатка сахара образуют водородные связи с полярными атомами ее основной цепи. Наряду с этими закономерностями, структурный анализ позволяет выделить ряд специфических особенностей, присущих рассматриваемым надмолекулярным структурам (рис. 5). Так, в случае аналога 1 в формировании энергетически благоприятных контактов с



пептидами петли V3 может принимать участие остаток янтарной кислоты, проявляющий склонность к образованию водородных связей с боковыми цепями остатков глутамина или аргинина. При анализе взаимодействий аналога 2 с пептидом GPGQAF петли V3 следует обратить внимание на тот факт, что в этом комплексе остаток сахара повернут к боковой цепи фенилаланина гидрофобной стороной, причем такая пространственная ориентация пиранозного и бензольного колец наблюдается для подавляющего большинства структур его МД траектории. Вероятность образования стабильных комплексов моносахаридов с ароматическими соединениями с участием гидрофобной части молекулы сахара подтверждают данные спектроскопии ЯМР и квантово-химических расчетов [25, 28, 29].



**Рис. 5.** Структурные комплексы пептидов Gly-Pro-Gly-Gln-Ala-Phe (а, б) и Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe (в, г) петли V3 ВИЧ-1 с аналогами  $\beta$ -GALCER 1 (а, в) и 2 (б, г). Пунктирными линиями обозначены водородные связи. Используются следующие условные обозначения: Gal — галактоза, Sph — сфингозиновое основание, Suc — янтарная кислота.

Таким образом, результаты молекулярного моделирования показывают, что сконструированные химические соединения могут использовать для формирования комплексов с пептидами петли V3 элементы структуры, которые задействует для этих целей  $\beta$ -GALCER. Эти структурные данные позволяют высказать предположение о том, что рассматриваемые аналоги  $\beta$ -GALCER должны сохранять способность к специфическим и эффективным взаимодействиям с главным иммуногенным участком белка gp120, характерную для нативного гликолипида. Рассмотрение величин свободной энергии образования комплексов  $\beta$ -GALCER и его аналогов с пептидами петли V3 ВИЧ-1 (табл. 1) подтверждает это предположение, сделанное на основе анализа межмолекулярных взаимодействий, реализующихся в соответствующих надмолекулярных структурах. Расчетные величины свободной энергии (табл. 1) близки

к значению  $-10,9$  ккал/моль, вычисленному нами по данным о константе диссоциации комплекса  $\beta$ -GALCER с белком gp120 ВИЧ-1, приведенным в работе [30]. Тем не менее, следует отметить, что в случае комплексов, формируемых гликолипидами с пептидом Gly-Pro-Gly-Gln-Ala-Phe, теоретические расчеты приводят к большим (по сравнению с пептидом Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe) значениям свободной энергии (табл. 1). По-видимому, это может быть объяснено тем, что боковая цепь аргинина, несущая положительный заряд, вступает в более эффективные, по сравнению с незаряженным остатком глутамина, взаимодействия с полярными группами гликолипидов, среди которых можно выделить гидроксильные группы остатка галактозы, аминогруппу сфингозина и, в случае аналога 1, карбоксильную группу остатка янтарной жирной кислоты.

Соответствие теоретических и экспериментальных данных свидетельствует о корректном выборе методов расчета и схемы их проведения, что позволило построить структурные комплексы, адекватно описывающие взаимодействия  $\beta$ -GALCER и его аналогов с петлей V3 ВИЧ-1. Этот вывод подтверждают результаты выполненного нами моделирования комплексов пептидов петли V3 с модифицированной формой аналога 2  $\beta$ -GALCER, содержащей вместо галактозы остаток глюкозы: анализ соответствующих надмолекулярных структур указывает на более высокие значения величин свободной энергии их образования. Данный факт согласуется с литературными данными, согласно которым  $\beta$ -глюкозилцерамид, в отличие от  $\beta$ -GALCER, не обладает способностью к эффективным взаимодействиям с белком gp120 ВИЧ-1 [7].

Итак, из анализа структурных комплексов аналогов  $\beta$ -GALCER с пептидами, имитирующими центральную область петли V3, следует, что “синтетические копии” гликолипидов должны проявлять нейтрализующую активность к вирионам ВИЧ-1 путем специфических и эффективных взаимодействий с этим функционально значимым участком белка gp120 оболочки вируса.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе впервые осуществлен компьютерный дизайн водорастворимых аналогов  $\beta$ -GALCER – потенциальных ингибиторов репликации ВИЧ-1 – на основе анализа межмолекулярных взаимодействий интактного гликолипида с центральной областью петли V3 белка gp120 оболочки вируса. Путем расчета величин свободной энергии образования комплексов этих производных  $\beta$ -GALCER с пептидами петли V3 предсказана высокая вероятность проявления ими противовирусной активности. В связи с этим, сконструированные аналоги  $\beta$ -GALCER могут рассматриваться как базовые структуры для создания их модифицированных форм, ингибирующие свойства которых, как следует из проведенных исследований, могут быть предварительно оценены методами молекулярного моделирования. Такой подход к разработке новых лекарственных препаратов для терапии СПИДа, предполагающий использование на первом этапе исследований современных компьютерных методологий, позволит провести рациональный отбор наиболее перспективных молекул, способных к эффективной блокаде петли V3 ВИЧ-1, с целью их последующего синтеза и тестирования на анти-ВИЧ активность.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Andrianov A.M. Human immunodeficiency virus-1 gp120 V3 loop for anti-acquired immune deficiency syndrome drug discovery: computer-aided approaches to the problem solving. *Expert Opin. Drug. Discov.* 2011. V. 6. № 4. P. 419–435.

2. Sirois S., Sing T., Chou K.C. HIV-1 gp120 V3 loop for structure-based drug design. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2005. V. 6. P. 413–422.
3. LaRosa G.J., Davide J.P., Weinhold K., Waterbury J.A., Profy A.T., Lewis J.A., Langlois A.J., Dressman G.R., Boswell R.N., Shadduk P., Holley L.H., Karplus M., Bolognesi D.P., Matthews T.J., Emini E.A. and Putney S.D. Conserved sequence and structural elements in the HIV-1 principal neutralizing determinant. *Science*. 1990. V. 249. P. 932–935.
4. Andrianov A.M., Anishchenko I.V. Computational model of the HIV-1 subtype A V3 loop: study on the conformational mobility for structure-based anti-AIDS drug design. *J. Biomol. Struct. Dynam.* 2009. V. 27. P. 179–194.
5. Анищенко И.В., Андрианов А.М. Конформационный анализ переменных петель V3 ВИЧ-1: моделирование трехмерных структур и установление закономерностей в их пространственной организации. *Доклады НАН Беларуси*. 2010. Т. 54. С. 84–91.
6. Jiang X., Burke V., Totrov M., Williams C., Cardozo T., Gorny M.K., Zolla-Pazner S., Kong X.P. Conserved structural elements in the V3 crown of HIV-1 gp120. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2010. V. 17. P. 955–61.
7. Bhat S., Spitalnik S.L., Gonzalez-Scarano F., Silberberg D.H. Galactosyl ceramide or a derivative is an essential component of the neural receptor for human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein gp120. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991. V. 88. P. 7131–7134.
8. Bhat S., Mettus R.V., Reddy E.P., Ugen K.E., Srikanthan V., Williams W.V., Weiner D.B. The galactosyl ceramide/sulfatide receptor binding region of HIV-1 gp120 maps to amino acids 206-275. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1993. V. 9. P. 175–181.
9. Fantini J., Hammache D., Delézay O., Yahi N., André-Barrès C., Rico-Lattes I., Lattes A. Synthetic soluble analogs of galactosylceramide (GALCER) bind to the V3 domain of HIV-1 gp120 and inhibit HIV-1-induced fusion and entry. *J Biol Chem*. 1997. V. 272. P. 7245–7252.
10. Garg H., Francella N., Tony K.A., Augustine L.A., Barchi J.J. Jr., Fantini J., Puri A., Mootoo D.R., Blumenthal R. Glycoside analogs of beta-galactosylceramide, a novel class of small molecule antiviral agents that inhibit HIV-1 entry. *Antiviral Res.* 2008. V. 80. P. 54–61.
11. Yahi N., Sabatier J.M., Nickel P., Mabrouk K., Gonzalez-Scarano F., Fantini J. Suramin inhibits binding of the V3 region of HIV-1 envelope glycoprotein gp120 to galactosylceramide, the receptor for HIV-1 gp120 on human colon epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 24349–24353.
12. Yahi N., Sabatier J.M., Baghdiguian S., Gonzalez-Scarano F., Fantini J. Synthetic multimeric peptides derived from the principal neutralization domain (V3 loop) of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) gp120 bind to galactosylceramide and block HIV-1 infection in a human CD4-negative mucosal epithelial cell line. *J. Virol.* 1995. V. 69. P. 320–325.
13. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2000. V. 28. P. 235–242.
14. Schmidt M.W., Baldrige K.K., Boatz J.A., Elbert S.T., Gordon M.S., Jensen J.H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K.A., Su S., Windus T.L., Dupuis M., Montgomery J.A. General Atomic and Molecular Electronic Structure System (GAMESS). *J. Comput. Chem.* 1993. V. 14. P. 1347–1363.
15. Gordon M.S., Schmidt M.W. In: *Advances in electronic structure theory: GAMESS a decade later*. Ed. Dykstra C.E., Frenking G., Kim K.S., Scuseria G.E. Amsterdam: Elsevier, 2005. P. 1167–1189.

16. 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.
17. Bayly C.I., Cieplak P., Cornell W., Kollman P.A. Well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for determining atom-centered charges: the RESP model. *J. Phys. Chem.* 1993. V. 97. P. 10269–10280.
18. Cornell W.D., Cieplak P., Bayly C.I., Kollmann P.A. Application of the RESP charges to calculate conformational energies, hydrogen bond energies, and free energies of solvation. *J. Am. Chem. Soc.* 1993. V. 115. P. 9620–9631.
19. Case D.A., Darden T.A., Cheatham T.E., III, 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 10*. San Francisco: University of California, 2008.
20. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., DiNola A., Haak J.R. Molecular-dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.* 1984. V. 81. P. 3684–3690.
21. Anishchenko I.V., Andrianov A.M. Comparative modeling for structure predictions of the HIV-1 V3 variable loops: application to the virus subtype A. *Доклады НАН Беларуси.* 2009. Т. 53. № 3. С. 79–86.
22. Lang P.T., Brozell S.R., Mukherjee S., Pettersen E.F., Meng E.C., Thomas V., Rizzo R., Case D.A., James T.L., Kuntz I.D. DOCK 6: Combining techniques to model RNA-small molecule complexes. *RNA.* 2009. V. 15. P. 1219–1230.
23. 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.
24. Ablameyko S.V., Abramov S.M., Anishchanka U.V., Medvedev S.V., Paramonov N.N., Tchij O.P. *SKIF supercomputer configurations*. Minsk: United Institute of Informatics Problems, 2005.
25. Kumar R.M., Elango M., Subramanian V. Carbohydrate-aromatic interactions: the role of curvature on XH $\cdot\pi$  interactions. *J. Phys. Chem.* 2010. V. 114. P. 4313–4324.
26. Fantini J., Yahi N. Molecular insights into amyloid regulation by membrane cholesterol and sphingolipids: common mechanisms in neurodegenerative diseases. *Expert Rev. Mol. Med.* 2010. V. 12. e27. P. 1–22.
27. Tian H., Lan C., Chen Y.-H. Sequence variation and consensus sequence of V3 loop on HIV-1 gp120. *Immunology Letters.* 2002. V. 83. P. 231–233.
28. Fernández-Alonso M.C., Cañada F.J., Jiménez-Barbero J., Cuevas G. Molecular recognition of saccharides by proteins. Insights on the origin of the carbohydrate–aromatic interactions. *J. Amer. Chem. Soc.* 2005. V. 127. P. 7379–7386.
29. Díaz M.D., Fernández-Alonso M.C., Cuevas G., Cañada F.J., Jiménez-Barbero J. On the role of aromatic-sugar interactions in the molecular recognition of carbohydrates: A 3D view by using NMR. *Pure Appl. Chem.* 2008. V. 80. P. 1827–1835.
30. Harouse J.M., Bhat S., Spitalnik S.I., Laughlin M., Stefano K., Silberberg D.H., Gonzalez-Scarano F. Inhibition of entry of HIV-1 in neural cell lines by antibodies against galactosyl ceramide. *Science.* 1991. V. 253. P. 320–323.

Материал поступил в редакцию 31.05.2011, опубликован 22.07.2011.