

Компьютерный поиск новых анти-ВИЧ-1 агентов – пептидомиметиков нейтрализующих антител – и оценка их потенциальной ингибиторной активности методами молекулярного моделирования

Андрианов А.М.¹, 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. На основе анализа структурных комплексов пептидов петли V3 ВИЧ-1 из различных модификаций вируса с Fab-фрагментом моноклонального антитела (МКА) 3074, обладающего широкой нейтрализующей активностью, осуществлен компьютерный поиск химических соединений, способных имитировать фармакофорные свойства антиген-связывающего центра этого антитела. Методами молекулярного докинга оценена эффективность связывания найденных соединений с пептидами петли V3 и проведен отбор наиболее вероятных пептидомиметиков МКА 3074. С помощью методов молекулярной динамики и расчета свободной энергии образования комплексов показано, что, как и МКА 3074, отобранные соединения проявляют высокое сродство к иммуногенной “верхушке” петли V3 ВИЧ-1, образующей консервативный структурный мотив, в состав которого входят критические для клеточного тропизма аминокислоты белка gp120 оболочки вируса. В связи с этим, данные соединения рассматриваются как перспективные базовые структуры для создания новых эффективных лекарственных препаратов против СПИДа.

Ключевые слова: ВИЧ-1, белок gp120, петля V3, нейтрализующие антитела, пептидомиметики, компьютерное моделирование, анти-ВИЧ агенты.

ВВЕДЕНИЕ

Специфические взаимодействия ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4 и с хемокиновыми корецепторами CCR5 и/или CXCR4 осуществляются через петли V1-V5 гликопротеина gp120, обнаруживающие высокую изменчивость аминокислотного состава у разных подтипов вируса (см., например, обзоры [1–4]). Среди указанных петель особое внимание заслуживает третий переменный домен (петля V3) белка gp120, так как именно этот участок ВИЧ-1 образует основную мишень для нейтрализующих антител, а также отвечает за выбор корецептора, определяющего предпочтительность вируса в отношении Т-клеток лимфоидного ряда или первичных макрофагов [1–4]. Данные многочисленных исследований, свидетельствующие об исключительной роли петли V3 в патогенезе ВИЧ-1, позволяют рассматривать ее в

** andrianov@iboch.bas-net.by

*lighkia@gmail.com

качестве перспективной мишени для создания эффективных противовирусных препаратов профилактического и терапевтического действия [2–4].

До присоединения тримера белка gp120 к молекуле CD4 его функционально важные консервативные эпитопы располагаются в углублениях и дополнительно прикрыты гликановыми “щитами”, а также петлями с вариабельными участками [5]. В связи с этим, индуцированные к петле V3 антитела не способны воспрепятствовать взаимодействию белка gp120 с молекулой CD4. Однако связывание ВИЧ-1 с рецептором CD4 вызывает конформационные изменения gp120 [6–10], сопровождающиеся его пространственной переориентацией, в результате которой в петле V3 обнажаются консервативные участки специфического и высокоаффинного связывания с хемокиновыми корецепторами. В свою очередь, взаимодействие с корецептором инициирует структурные изменения трансмембранного белка gp41, необходимые для слияния наружной оболочки вируса с мембраной клетки-мишени [11,12]. Антитела к петле V3 ВИЧ-1 способны заблокировать участки, активированные в результате связывания gp120 с молекулой CD4, однако у большинства пациентов образуются типоспецифические антитела, распознающие штамм, циркулирующий в их организме, но слабо нейтрализующие модификации ВИЧ-1, выделенные от других пациентов [13,14]. Тем не менее в последние годы зарегистрированы случаи выработки широкого спектра перекрестно реагирующих нейтрализующих антител, включающего антитела к консервативным участкам связывания gp120 с рецептором CD4 и корецепторами, а также к важному для слияния вируса с мембраной клетки-мишени домену белка gp41 [15–17]. Безусловно, обнаружение антител с широким спектром нейтрализующей активности является важным шагом к разработке вакцины против ВИЧ-1. Однако уникальные свойства вируса, такие как экстраординарная изменчивость, способность избегать реакций системы приобретенного иммунитета, неспособность вызывать выработку разных антител, раннее наступление латентной фазы в его жизненном цикле и отсутствие здоровой иммунной системы, создают беспрецедентные препятствия на этом пути [15–17].

Наряду с работами по созданию эффективной вакцины против ВИЧ-1 в настоящее время большое внимание уделяется разработке лекарственных препаратов, терапевтическое действие которых основано на ингибировании обратной транскриптазы, протеазы и интегразы вируса [18–22]. Также для клинического использования одобрены ингибитор слияния вируса с мембраной клетки-мишени Энфувиртид и ингибитор взаимодействия белка gp120 с корецептором Маравирок [23]. Совместное использование этих агентов формирует основу для высокоэффективной антиретровирусной терапии, которая значительно повысила выживаемость многих пациентов, инфицированных ВИЧ. Однако эти препараты обладают такими недостатками, как индивидуальная непереносимость, возникновение к ним устойчивости и перекрестной резистентности [24]. Многие применяемые противовирусные препараты отрицательно воздействуют на уровень холестерина и триглицеридов, приводят к снижению толерантности к глюкозе и сахарному диабету, нарушают метаболизм липидов и вызывают синдром Сейпа–Лоуренса, а также служат причиной развития тяжелых сердечно-сосудистых осложнений [25].

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует о необходимости поиска новых анти-ВИЧ агентов с новыми механизмами действия, которые могли бы обеспечить широкую вирусную нейтрализацию и минимальные побочные эффекты. К числу таких агентов следует отнести химические соединения, способные вмешиваться в ранние стадии жизненного цикла ВИЧ-1. К преимуществам этих соединений можно отнести создание ими препятствия проникновению вируса в новые целевые клетки и уменьшение числа латентных резервуаров ВИЧ, а также возможность использования для профилактики инфекций [26].

Как было отмечено выше, в последние годы обнаружен ряд антител, обладающих нейтрализующей активностью против широкого спектра вариантов ВИЧ-1 [15–17, 27–30]. В частности, моноклональное антитело (МКА) 3074, выделенное в Камеруне от пациента, инфицированного вирусным штаммом CRF02_AG, проявляет широкую нейтрализующую активность к набору псевдовирюсов, полученных из различных подтипов ВИЧ-1 [30], специфически связываясь с петлей V3 путем π -стэкинга ароматического остатка Phe^{H96} с консервативным пролином иммуногенной “короны” белка gp120 [31].

В связи с обнаружением антител к ВИЧ-1 с широкой нейтрализацией представляется актуальным поиск низкомолекулярных соединений, способных имитировать фармакофорные свойства антиген-связывающих центров этих иммуноглобулинов.

Цель исследования: на основе анализа структурных комплексов Fab-фрагмента МКА 3074 с пептидами петли V3 ВИЧ-1, принадлежащими вирусным штаммам MN, UR29 и VI191, осуществить компьютерный поиск химических соединений – пептидомиметиков этого антитела, способных к специфическим и эффективным взаимодействиям с функционально важным участком оболочки вируса.

Для достижения поставленной цели в работе решены следующие задачи:

1. Выполнен анализ структурных комплексов FАВ-фрагмента МКА 3074 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1, расшифрованных методом рентгеноструктурного анализа [31], и идентифицированы аминокислотные остатки антитела, вносящие определяющий вклад в связывание с V3-доменом белка gp120.

2. На основе этих данных с помощью web-сервера perMMsMIMIC (<http://mms.dsfarm.unipd.it/pepMMsMIMIC/>) [32] сформирован набор химических соединений, представляющих потенциальные пептидомиметики МКА 3074.

3. Методами молекулярного докинга построены структурные комплексы полученных соединений с указанными выше пептидами петли V3 ВИЧ-1 и, исходя из величин оценочной функции, осуществлен отбор молекул, наиболее перспективных для дальнейших исследований.

4. Методами молекулярной динамики рассчитаны динамические траектории комплексов и проведена оценка свободной энергии их образования для лучших по данным докинга соединений.

В результате проведенных исследований отобраны четыре химических соединения, представляющих наиболее вероятные пептидомиметики МКА 3074.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Структурные комплексы Fab-фрагмента МКА 3074 с пептидами петли V3 ВИЧ-1 заимствовали из Международного банка белков [33,34]. Анализ комплексов проводили в программном пакете BINANA [35], с помощью которого определяли типы межмолекулярных взаимодействий, ответственных за связывание, и сближенные в пространстве аминокислотные остатки, относящиеся к образующим комплексы структурам. В качестве базовой структуры для поиска потенциальных пептидомиметиков МКА 3074 использовали его линейный участок Arg94-Asp95-Phe96-Gly97-Glu98-Tyr99-His100-Tyr101, на долю которого приходится большая часть контактов с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1 (рис. 1). Для расширения набора входных данных, анализируемых web-сервером perMMsMIMIC [32], проводили разбиение этого участка на отдельные фрагменты, а также привлекали остаток Tyr49 легкой цепи иммуноглобулина, который способствует π -стэкингу остатка Phe^{H96} с консервативным пролином в позиции 16 петли V3 (рис. 1) [31]. Полученный таким образом набор входных данных включал одиннадцать различных элементов структуры антиген-связывающего центра МКА 3074 (табл. 1).

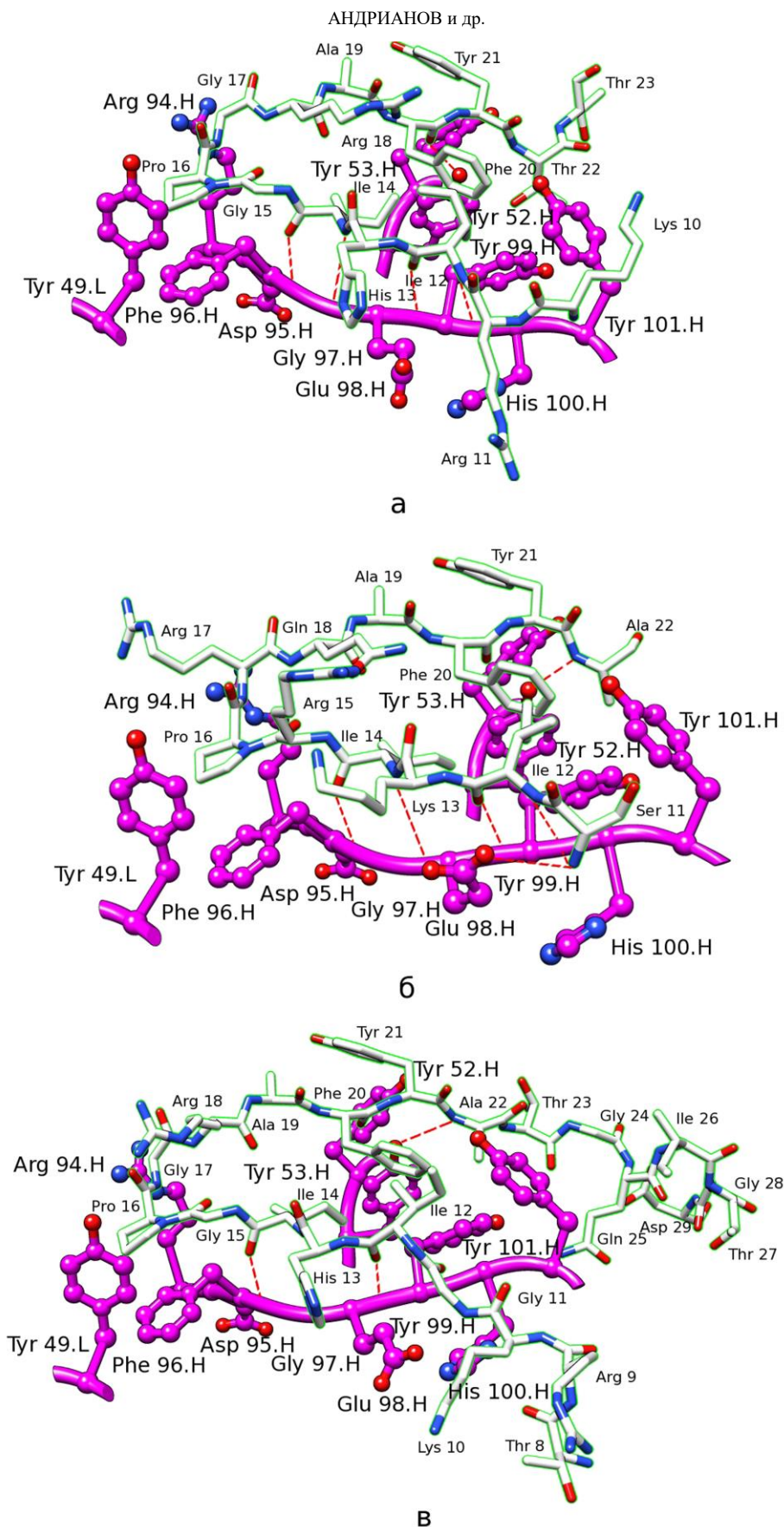


Рис. 1. Структурные комплексы Fab-фрагмента МКА 3074 с пептидами MN (а), UR29 (б) и VII91 (в) петли V3 ВИЧ-1 (коды 3MLX, 3MLY и 3MLZ в Международном банке белков) [31]. Показаны остатки антитела, вносящие определяющий вклад в связывание с пептидами-мишенями. Номера остатков пептидов соответствуют их позициям в аминокислотной последовательности петли V3. Пунктирными линиями отмечены водородные связи.

Поиск пептидомиметиков осуществляли в базе данных MMsINC (<http://mms.dsfarm.unipd.it/MMsINC.html>) [36], содержащей 17 миллионов конформеров, рассчитанных для 3,9 миллиона коммерчески доступных химических соединений, с привлечением пяти методов, используемых программным обеспечением web-сервера *perMMsMIMIC* [32]. Эти методы включают различные комбинации алгоритма “сверхбыстрого распознавания формы” [37], суть которого состоит в обнаружении молекул, геометрически соответствующих заданному пептиду, с алгоритмами поиска по фармакофорам [38,39] – молекулярным остовам, несущим существенные признаки, ответственные за биологическую активность. В результате получали набор химических соединений – потенциальных пептидомиметиков МКА 3074, эффективность связывания которых с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1 оценивали методом молекулярного докинга.

Таблица 1. Набор входных данных, использованный для поиска потенциальных пептидомиметиков МКА 3074 в базе данных MMsINC

№	Входные данные
1	Arg ^{H94} (S) Asp ^{H95} (S) Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (CSN) His ^{H100} (S) Tyr ^{H101} (S)
2	Asp ^{H95} (S) Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (CSN) His ^{H100} (S)
3	Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (S) His ^{H100} (S)
4	Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (S) His ^{H100} (S) Tyr ^{L49} (S)
5	Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (CSN)
6	Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (CSN) His ^{H100} (S)
7	Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (CSN) Tyr ^{L49} (S)
8	Asp ^{H95} (S) Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (S) His ^{H100} (S)
9	Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (S) Tyr ^{L49} (S)
10	Asp ^{H95} (S) Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (CSN) Tyr ^{L49} (S)
11	Phe ^{H96} (S) Gly ^{H97} (CN) Glu ^{H98} (S) Tyr ^{H99} (CSN) Tyr ^{L49} (CSN)

Примечание: В скобках указаны фрагменты аминокислотных остатков, использованные в наборе входных данных: S – боковая цепь остатка, C – C-конец остатка, N – N-конец остатка.

Молекулярный докинг выполняли с помощью программы AutoDock Vina [40] с учетом конформационной подвижности лиганда, перебирая все его возможные ориентации относительно молекулы-рецептора. Трехмерные структуры пептидов выделяли из их комплексов с Fab-фрагментом МКА 3074, расшифрованных методом рентгеноструктурного анализа (коды 3MLX, 3MLY и 3MLZ в Международном банке белков; <http://www.rcsb.org/pdb/>) [33,34]. Для каждого потенциального пептидомиметика рассматривали девять комплексов, лучших по величине оценочной функции программы AutoDock Vina, включающей ван-дер-ваальсовы силы, электростатические взаимодействия и водородные связи [40]. Для дальнейших исследований отбирали соединения, которые, согласно расчетным данным, должны специфически и эффективно взаимодействовать со всеми тремя рассмотренными пептидами-мишенями. Так как для всех отобранных соединений наиболее предпочтительные комплексы имели близкие значения оценочной функции, для их более точной локализации на шкале энергий использовали метод имитации теплового отжига [41], представляющий один из алгоритмов глобальной оптимизации

молекулярных структур. Тепловой отжиг проводили в интервале температур от 500 до 0 К без ограничений на подвижность лиганда и рецептора в присутствии явного растворителя в программном пакете AMBER 11 (<http://ambermd.org/>) [42]. Затем выбирали лучшие по значению энергии комплексы, которые подвергали молекулярно-динамическому (МД) моделированию с целью оценки стабильности надмолекулярных структур путем расчета свободной энергии их образования. МД моделирование выполняли с помощью программы AMBER 11 (набор параметров ff10) [42] в изобарно-изотермических условиях с явным заданием свойств растворителя (трехточечная модель воды TIP3P [43]) во временном интервале, равном 30 нс. Первые 5 нс отводили на релаксацию системы и не учитывали при расчете свободной энергии образования комплексов с помощью процедуры MM-PB/SA [44], входящей в состав пакета AMBER 11 [42]. В качестве критерия стабильности комплексов использовали средние значения свободной энергии и соответствующие им стандартные отклонения, которые вычисляли для 500 “точек” МД траектории, разделенных временным интервалом длительностью 50 пс.

Расчеты проводили на компьютерном кластере “СКИФ-ОИПИ” Объединенного института проблем информатики НАН Беларуси [45].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ структурных комплексов МКА 3074 с пептидами KRINIGPGRFYTT (MN), SIKIRPRQAFYA (UR29) и TRKGINIGPGRFYATGQITGD (VI191) петли V3 ВИЧ-1 показал, что определяющий вклад в связывание вносит N-цепь антитела, а именно ее октапептид Arg94-Asp95-Phe96-Gly97-Glu98-Tyr99-His100-Tyr101, включающий остаток Phe^{H96}, который участвует в π - π взаимодействиях с консервативным пролином пептидов петли V3 ВИЧ-1 (рис. 1) [31]. Идентифицированный октапептид оказался наиболее крупным линейным участком сайта связывания МКА 3074 с пептидами MN, UR29, VI191 петли V3, использование которого в качестве исходной структуры при формировании набора входных данных для web-сервера perMMsMIMIC (табл. 1) позволило идентифицировать 2309 химических соединений – потенциальных пептидомиметиков МКА 3074. В результате оценки эффективности их связывания с пептидами петли V3 для каждого пептида-мишени были отобраны 10 лучших по значению оценочной функции программы AutoDock Vina лигандов. Совместный анализ полученных наборов соединений показал, что только четыре из них присутствуют во всех трех рассматриваемых случаях. Поэтому эти соединения, которые, как следует из экспериментов *in silico*, должны специфически и эффективно взаимодействовать с пептидами петли V3 из различающихся вирионов ВИЧ-1, были отобраны как наиболее вероятные пептидомиметики МКА 3074. Краткая информация об этих соединениях приведена в табл. 2, а на рис. 2 показаны их трехмерные структуры. Как видно из рис. 2, остов структур рассматриваемых соединений составлен из последовательности ароматических колец, имитирующих фармакофорные свойства аминокислотных остатков с π -сопряженными боковыми цепями, которые имеют значительное представительство в антиген-связывающем центре МКА 3074 (рис. 1).

Исследование статических моделей структурных комплексов соединений MMs02389422, MMs01094745, MMs02387687 и MMs02384293 с пептидами петли V3 показывает (табл. 3), что для них характерно наличие специфических π - π взаимодействий между π -сопряженными системами лигандов и пептидов-мишеней. При этом практически во всех рассматриваемых надмолекулярных структурах ароматические кольца лигандов образуют T-стэкинг с боковой цепью консервативного остатка Phe20 пептидов петли V3. Исключение составляет комплекс соединения MMs01094745 с пептидом V3-MN, в котором для реализации этого типа взаимодействий петля использует соседний с фенилаланином Tyr21, встречающийся,

наряду с Phe20, в аминокислотных последовательностях большинства известных модификаций вируса [46,47]. В двух случаях (пептиды MN и UR29) остаток этой ароматической аминокислоты формирует π -стэкинг с ароматическими кольцами пептидомиметиков MMs02389422 и MMs02387687 (табл. 3). Кроме π - π взаимодействий, вклад в энергетическую стабилизацию структурных комплексов вносят межмолекулярные водородные связи (табл. 3).

Таблица 2. Химические соединения, идентифицированные в базе данных MMsINC как наиболее вероятные пептидомиметики МКА 3074^a

Код соединения	Систематическое название	Брутто-формула	Масса (Да)	LogP ^б	Число доноров водородной связи	Число акцепторов водородной связи
MMs02389422	N-(5-{[5-(бензоиламино)-9,10-диоксо-9,10-дигидро-2-антраценил]амино}-9,10-диоксо-9,10-дигидро-1-антраценил) бензамид	C ₄₂ H ₂₅ N ₃ O ₆	667,67 7	7,49	3	6
MMs01094745	3,5-бис[1,3-диоксо-5-(4-оксо-4Н-3,1-бензоксазин-2-ил)-1,3-дигидро-2Н-изоиндол-2-ил] бензойная кислота	C ₃₉ H ₁₈ N ₄ O ₁₀	702,58 1	5,48	2	10
MMs02387687	N-(4-{[5-(бензоиламино)-9,10-диоксо-9,10-дигидро-1-антраценил]амино}-9,10-диоксо-9,10-дигидро-1-антраценил) бензамид	C ₄₂ H ₂₅ N ₃ O ₆	667,67 7	7,49	3	6
MMs02384293	N, N'-[имино-бис(9,10-диоксо-9,10-дигидроантрацена-5,1-диил)]дибензамид	C ₄₂ H ₂₅ N ₃ O ₆	667,67 7	7,49	3	6

Примечания: ^aПриведенные данные заимствованы из базы данных MMsINC [36]; ^бLogP – липофильность соединения (коэффициент распределения в системе н-октанол-вода).

В качестве примера на рис. 3 приведены структурные комплексы соединения MMs01094745 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1 для лучших по значению энергии надмолекулярных структур. Анализ комплексов свидетельствует о том, что связывание лиганда с пептидами-мишенями сопровождается блокадой

“верхушки” иммуногенной “короны” петли V3, играющей важную роль в узнавании корцептора CCR5 белком gp120 [48–54]. В частности, взаимодействие пептидов петли V3 с лигандом должно приводить к экранированию консервативного структурного мотива Gly15-Pro16-Gly17 (рис. 3) [46,47]. Известно, что замена Pro16 на аланин вызывает изменения инфективности и иммуногенности ВИЧ-1 [55,56], а одиночные замены остатков Gly15, Gly17 или соседнего с ними Arg18 могут быть летальными для инфективности вируса и его способности к образованию синцитиев [57,58]. Эти данные, свидетельствующие об активном участии триплета Gly-Pro-Gly в жизненном цикле ВИЧ-1, подтверждают эксперименты с мутантными формами вируса, лишенными рассматриваемого участка белка gp120 [58]. В комплексе “MMs01094745/UR29” Pro16 удален от пептидомиметика (рис. 3, б), что, вероятно, обусловлено локальными структурными перестройками пептида UR29, инициированными редкими аминокислотными заменами консервативных остатков Gly15 и Gly17 иммуногенной “верхушки” Gly-Pro-Gly-Arg/Gln петли V3 на аргинин. Тем не менее остатки Arg 15 и Gln18 этого тетрапептида образуют три водородных связи с лигандом (рис. 3, б и табл. 3).

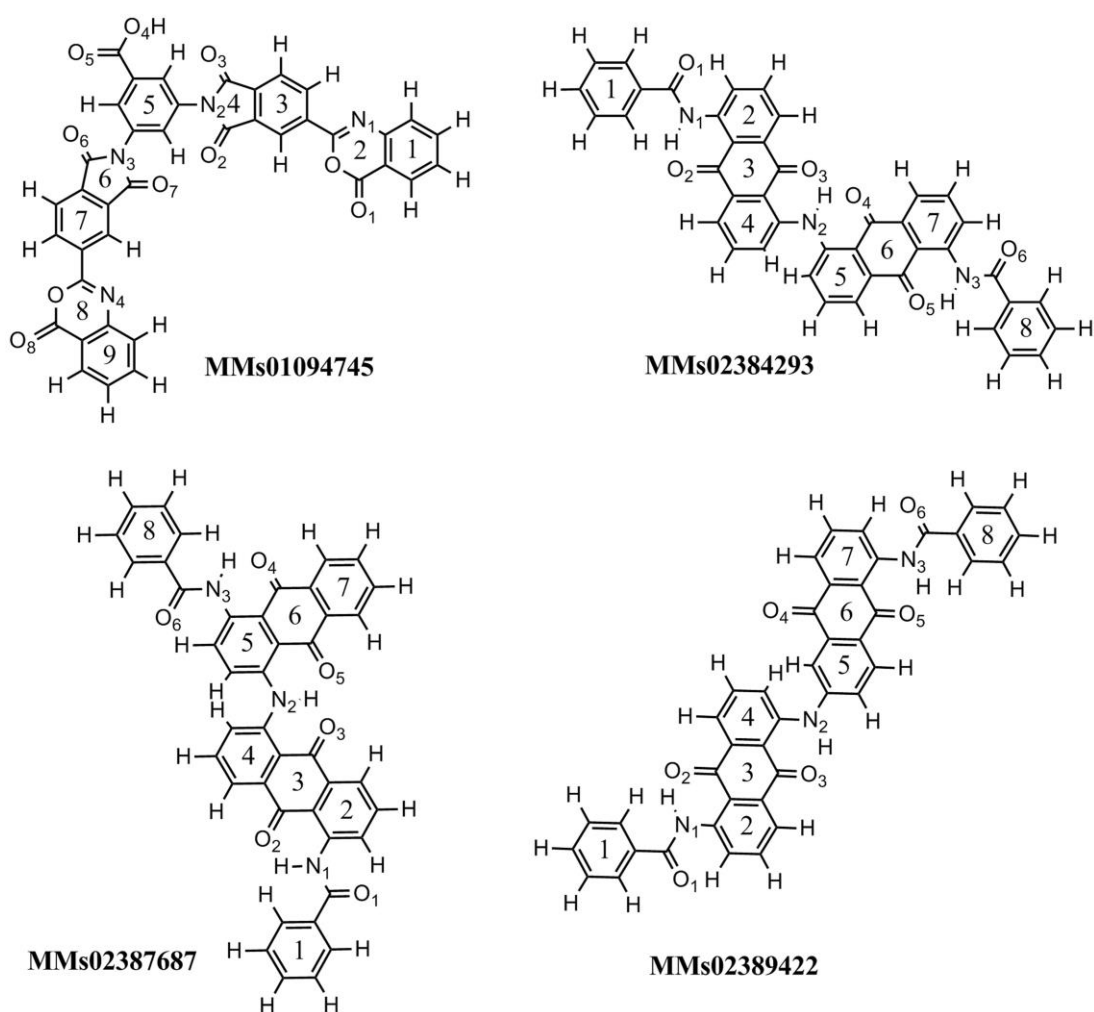


Рис. 2. Трехмерные структуры химических соединений – потенциальных пептидомиметиков МКА 3074. Указаны коды молекул в базе данных MMsINC [36].

Из анализа структурных комплексов соединений MMs02389422, MMs02387687 и MMs02384293 с пептидами MN, UR29 и VII91 следует (табл. 3), что, как и в случае соединения MMs01094745, большая часть аминокислотных остатков, используемых петлей V3 для образования надмолекулярных структур, приходится на ее центральную

область 15–20. Данный факт представляет интерес в связи с результатами работ [31,59,60], согласно которым этот участок белка gp120 оболочки вируса формирует консервативный структурный мотив и поэтому может служить в качестве перспективной мишени для создания новых противовирусных агентов с широким спектром нейтрализующего действия.

Таблица 3. Межмолекулярные взаимодействия, реализующиеся в структурных комплексах химических соединений MMs02389422, MMs01094745, MMs02387687 и MMs02384293 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 белка gp120 ВИЧ-1^a

Соединение (лиганд)	Пептид петли V3 (рецептор)	Типы взаимодействий			
		Водородная связь ^б	π -стэкинг ^в	T-стэкинг ^в	Катион- π ^в
MMs02389422	MN	O ₁ ... HN(Ile12) O ₃ ... HN(Arg11)		6 ... Phe20 7 ... Phe20	
MMs01094745		O ₇ ... HN(Thr23) O ₂ ... HO*(Thr22)		6 ... Tyr21 7 ... Tyr21	
MMs02387687			1 ... Tyr21	6 ... Phe20	5 ... Arg18
MMs02384293		O ₆ ... HN(Tyr21)		3 ... Phe20 8 ... Phe20	4 ... Lys10
MMs02389422	UR29	O ₅ ... HN(Tyr21) O ₂ ... HN*(Arg15)	8 ... Tyr21	3 ... Phe20	
MMs01094745		O ₃ ... HN*(Arg15) O ₁ ... HN*(Gln18) O ₄ H ... N*(Arg15)		1 ... Phe20	
MMs02387687		N ₁ H ... N*(Gln18) N ₁ ... HN*(Gln18) O ₄ ... HO*(Ser11)		2 ... Phe20 3 ... Phe20	
MMs02384293		N ₁ H ... N*(Gln18) N ₁ ... HN*(Gln18) O ₄ ... HO(Ser11)		2 ... Phe20 3 ... Phe20	
MMs02389422	VI191	N ₃ H ... O(Arg18)		5 ... Phe20	
MMs01094745		N ₄ ... HN(Ala19)		3 ... Phe20	
MMs02387687		N ₁ H ... O(Ala19)		3 ... Phe20 4 ... Phe20	
MMs02384293		N ₁ H ... O(Ala19)		2 ... Phe20 3 ... Phe20	

Примечания: ^aМежмолекулярные взаимодействия в структурных комплексах пептидомиметиков МКА 3074 с пептидами петли V3 ВИЧ-1 анализировали с помощью программного пакета BINANA [35]. Приведены данные для лучших по значению энергии комплексов. ^бПервыми указаны доноры или акцепторы водородной связи, принадлежащие молекуле пептидомиметика, а вторыми – соответствующие функциональные группы аминокислотных остатков пептидов петли V3. Звездочками отмечены атомы или группы, принадлежащие боковым цепям пептидов-мишеней. Номера остатков пептидов совпадают с их позициями в аминокислотной последовательности петли V3. Нижние индексы атомов кислорода и азота согласуются с их нумерацией, приведенной на рис. 2. ^вПервыми указаны номера колец пептидомиметиков (рис. 2), а вторыми – аминокислотные остатки пептидов петли V3.

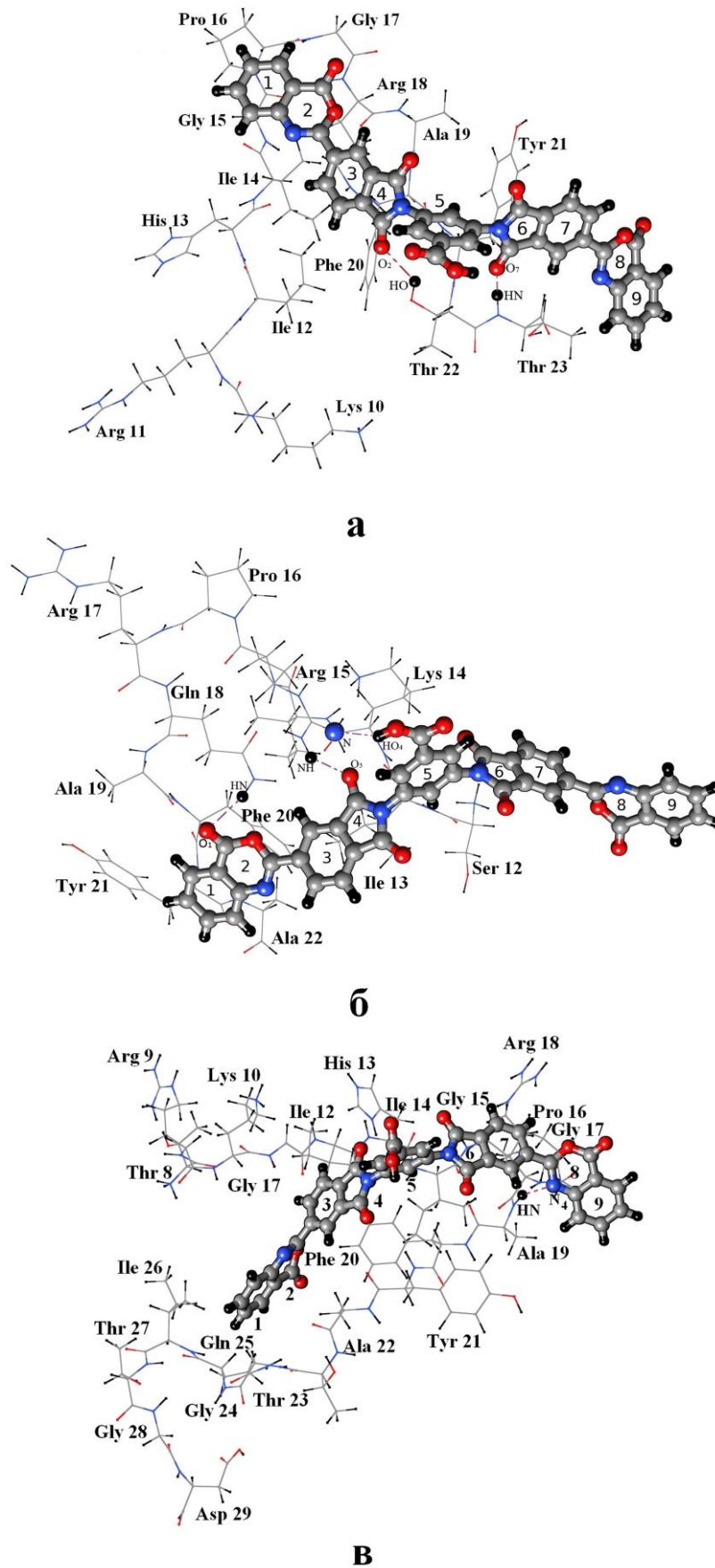


Рис. 3. Структурные комплексы соединения MMs01094745 с пептидами MN (а), UR29 (б) и VI191 (в) петли V3 ВИЧ-1. Номера остатков пептидов соответствуют их позициям в аминокислотной последовательности петли V3. Пунктирными линиями отмечены водородные связи.

Таким образом, данные молекулярного докинга показывают, что химические соединения, найденные в результате виртуального скрининга базы данных MMsINC, характеризуются близким механизмом связывания с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1, основу которого, наряду с водородными связями, формируют специфические взаимодействия ароматических колец пептидомиметиков с π -сопряженными системами боковых цепей ее консервативных остатков Phe20 и/или Tyr21. Аналогичный способ связывания с петлей V3 характерен для МКА 3074, специфичность взаимодействия которого с пептидами-мишенями, как было отмечено выше, обусловлена π -стэкингом ароматического остатка Phe^{H96} иммуноглобулина с консервативным пролином ее иммуногенной “верхушки” (рис. 1) [31].

Данные молекулярно-динамических расчетов структурных комплексов подтверждают выводы, сделанные на основе анализа результатов молекулярного докинга. Согласно этим данным, на МД траекториях преобладают структуры, в которых сохраняются межмолекулярные водородные связи, наблюдаемые в статических моделях (табл. 3), а ароматические кольца лигандов сближены с боковыми цепями фенилаланина и/или тирозина пептидов петли V3 на расстояния, благоприятные для реализации π - π взаимодействий. Структурные комплексы, построенные методами молекулярного докинга, энергетически стабильны, о чем свидетельствуют приведенные в табл. 4 средние значения свободной энергии их образования и соответствующие величины стандартных отклонений.

Таблица 4. Средние значения свободной энергии $\langle \Delta G \rangle$ образования комплексов пептидомиметиков МКА 3074 с пептидами петли V3 ВИЧ-1 и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD}

Пептид петли V3	Соединение	$\langle \Delta G \rangle$, ккал/моль	ΔG_{STD} , ккал/моль
MN	MMs02389422	-22,7	4,5
	MMs01094745	-19,2	6,1
	MMs02387687	-21,5	4,0
	MMs02384293	-22,9	8,6
UR29	MMs02389422	-19,4	3,2
	MMs01094745	-18,2	3,5
	MMs02387687	-24,3	3,2
	MMs02384293	-15,9	3,5
VI191	MMs02389422	-25,1	3,3
	MMs01094745	-14,1	2,9
	MMs02387687	-26,2	4,7
	MMs02384293	-18,4	6,0

Очевидно, что временной интервал, использованный нами для проведения МД расчетов, недостаточен для того, чтобы проанализировать все возможные структурные варианты комплексов химических соединений MMs02389422, MMs01094745, MMs02387687 и MMs02384293 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1. Однако результаты расчетов, выполненных для двенадцати стартовых моделей, представляющих статические структуры комплексов четырех разных соединений с тремя различными пептидами-мишенями, показывают, что во всех рассматриваемых

случаях они обладают сходными динамическими характеристиками. Это позволяет предполагать, что полученные с помощью молекулярной динамики результаты адекватно отражают основные динамические особенности исследованных надмолекулярных структур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совместный анализ статических и динамических моделей структурных комплексов соединений MMs02389422, MMs01094745, MMs02387687 и MMs02384293 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1 свидетельствует о наличии специфических и эффективных взаимодействий между ними. При этом ключевую роль в связывании играют специфические π - π -взаимодействия ароматических колец пептидомиметиков с консервативными остатками фенилаланина и/или тирозина центральной области петли V3. Как и в случае МКА 3074 (рис. 1), формирование комплексов приводит к блокаде иммуногенной “верхушки” белка gp120, образующей инвариантный элемент структуры [4,31,59,60], в состав которого входят аминокислотные остатки, критические для клеточного тропизма. По данным молекулярной динамики, рассматриваемые комплексы не испытывают существенных структурных преобразований в течение МД расчетов и характеризуются низкими значениями свободной энергии образования надмолекулярных структур.

Таким образом, данные молекулярного моделирования указывают на то, что химические соединения, обнаруженные в результате компьютерного поиска в базе данных MMsINC, способны к нейтрализации различных модификаций ВИЧ-1, и поэтому они должны пройти тестирование на анти-ВИЧ активность к широкому набору вирусных частиц.

В заключение отметим, что после опубликования данных рентгеноструктурного анализа комплексов МКА 3074 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1 Международный банк белков [33,34] пополнился рядом файлов, описывающих структуры Fab-фрагментов анти-ВИЧ антител с широкой нейтрализацией, связанных с консервативными эпитопами оболочки вируса, отличными от иммуногенной “верхушки” петли V3 [15–17]. Очевидно, что в результате компьютерного поиска пептидомиметиков этих антител с помощью подхода, использованного в настоящей работе, могут быть найдены потенциальные терапевтические агенты с новыми механизмами действия, что позволит сформировать наборы соединений различных классов – перспективных кандидатов на роль базовых структур для создания эффективных противовирусных препаратов нового поколения.

Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект X12-022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hartley O., Klasse P. J., Sattentau Q.J. and Moore J.P. V3: HIV's Switch-Hitter. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005. V. 21. P. 171–189.
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. Sirois S., Touaibia M., Chou K.C., Roy R. Glycosylation of HIV-1 gp120 V3 loop: towards the rational design of a synthetic carbohydrate vaccine. *Curr. Med. Chem.* 2007. V. 14. P. 3232–3242.
4. Andrianov A.M. HIV-1 gp120 V3 loop for anti-AIDS drug discovery: computer-aided approaches to the problem solving. *Expert Opin. Drug Discov.* 2011. V. 6. P. 419–435.
5. Kwong P.D., Doyle M.L., Casper D.J., Cicala C., Leavitt S.A., Majeed S., Steenbeke T.D., Venturi M., Chaiken I., Fung M., Katinger H., Parren P.W., Robinson J., Van Ryk

- D., Wang L., Burton D.R., Freire E., Wyatt R., Sodroski J., Hendrickson W.A., Arthos J. HIV-1 evades antibody-mediated neutralization through conformational masking of receptor-binding sites. *Nature*. 2002. V. 420. P. 678–682.
6. Chen B., Vogan E.M., Gong H., Skehel J.J., Wiley D.C., Harrison S.C. Structure of an unliganded simian immunodeficiency virus gp120 core. *Nature*. 2005. V. 433. P. 834–841.
 7. 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.
 8. Huang C.C., Tang M., Zhang M.Y., Majeed S., Montabana E., Stanfield R.L., Dimitrov D.S., Korber B., Sodroski J., Wilson I.A., Wyatt R., Kwong P.D. Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core. *Science*. 2005. V. 310. P. 1025–1028.
 9. Trkola A., Dragic T., Arthos J., Binlay J.M., Olson W.C., Allaway G.P., Cheng-Meyer C., Robinson J., Maddon P.J., Moore J.P. CD4-dependent, antibody-sensitive interactions between HIV-1 and its co-receptor CCR-5. *Nature*. 1996. V. 384. P. 184–187.
 10. Wu L., Gerard N.P., Wyatt R., Choe H., Parolin C., Ruffing N., Borsetti A., Cardoso A.A., Desjardin E., Newman W., Gerard C., Sodroski J. CD4-induced interaction of primary HIV-1 gp120 glycoproteins with the chemokine receptor CCR-5. *Nature*. 1996. V. 384. P. 179–183.
 11. Dubay J.W., Roberts S.J., Brody B., Hunter E. Mutations in the leucine zipper of the human immunodeficiency virus type 1 transmembrane glycoprotein affect fusion and infectivity. *J. Virol.* 1992. V. 66. P. 4748–4756.
 12. Wild C., Dubay J.W., Greenwell T., Baird Jr. T., Oas T.G., McDanal C., Hunter E., Matthews T. Propensity for a leucine zipper-like domain of human immunodeficiency virus type 1 gp41 to form oligomers correlates with a role in virus-induced fusion rather than assembly of the glycoprotein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1994. V. 91. P. 12676–12680.
 13. Looney D.J., Fisher A.G., Putney S.D., Rusche J.R., Redfield R.R., Burke D.S., Gallo R.C., Wong-Staal F. Type-restricted neutralization of molecular clones of human immunodeficiency virus. *Science*. 1988. V. 241. P. 357–359.
 14. Melen R.H., Liskamp R.M., Goudsmit J. Specificity and function of the individual amino acids of an important determinant of human immunodeficiency virus type 1 that induces neutralizing activity. *J. Gen. Virol.* 1989. V. 70. P. 1505–1512.
 15. Hoxie J.A. Toward an Antibody-Based HIV-1. *Vaccine Annu. Rev. Med.* 2010. V. 61. P. 135–152.
 16. 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.
 17. 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. doi: 10.1101/cshperspect.a007278.
 18. De Clercq E. New Approaches toward Anti-HIV Chemotherapy. *J. Med. Chem.* 2005. V. 48. P. 1297–1313.
 19. Este J.A., Telenti A. HIV entry inhibitors. *Lancet*. 2007. V. 370. P. 81–88.
 20. 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.
 21. Ryser H.J.-P., Fluckiger R. Progress in targeting HIV-1 entry. *Drug Discov. Today*. 2005. V. 10. P. 1085–1094.
 22. Adamson C.S., Freed E.O. Novel approaches to inhibiting HIV-1 replication. *Antiviral Res.* 2010. V. 85. P. 119–141.

23. Tilton J.C., Doms R.W. Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection. *Antiviral Res.* 2010. V. 85. P. 91–100.
24. Orsega S. Treatment of adult HIV infection: antiretroviral update and overview. *JNP.* 2007. V. 10. P. 612–624.
25. Turpin J.A. The next generation of HIV/AIDS drugs: novel and developmental antiHIV drugs and targets. *Expert Rev. Anti-infect. Ther.* 2003. V. 1. P. 97–128.
26. Vermeire K., Schols D., Bell T.W. Inhibitors of HIV infection via the cellular CD4 receptor. *Curr. Med. Chem.* 2006. V. 13. P. 731–743.
27. Walker L.M., Phogat S.K., Chan-Hui P.Y., Wagner D., Phung P., Goss J.L., Wrin T., Simek M.D., Fling S., Mitcham J.L., Lehrman J.K., Priddy F.H., Olsen O.A., Frey S.M., Hammond P.W., Kaminsky S., Zamb T., Moyle M., Koff W.C., Poignard P., Burton D.R. Broad and potent neutralizing antibodies from an African donor reveal a new HIV-1 vaccine target. *Science.* 2009. V. 326. P. 285–289.
28. Wu X., Zhou T., Zhu J., Zhang B., Georgiev I., Wang C., Chen X., Longo N.S., Louder M., McKee K., O'Dell S., Peretto S., Schmidt S.D., Shi W., Wu L., Yang Y., Yang Z.-Y., Yang Z., Zhang Z., Bonsignori M., Crump J.A., Kapiga S.H., Sam N.E., Haynes B.F., Simek M., Burton D.R., Koff W.C., Doria-Rose N.A., M. Connors, Mullikin J.C., Nabel G.J., Roederer M., Shapiro L., Kwong P.D., Mascola J.R. Focused Evolution of HIV-1 Neutralizing Antibodies Revealed by Structures and Deep Sequencing. *Science.* 2011. V. 333. P. 1593–1602.
29. Klein F., Gaebler C., Mouquet H., Sather D.H., Lehmann C., Scheid J.F., Kraft Z., Liu Y., Pietzsch J., Hurley A., Poignard P., Feizi T., Morris L., Walker B.D., Fätkenheuer G., Seaman M.S., Stamatatos L., Nussenzweig M.C. Broad neutralization by a combination of antibodies recognizing the CD4 binding site and a new conformational epitope on the HIV-1 envelope protein. *J. Exp. Med.* 2012. V. 209. P. 1469–1479.
30. Hioe C.E., Wrin T., Seaman M. S., Yu X., Wood B., Self S., Williams C., Gorny M.K., Zolla-Pazner S. Anti-V3 Monoclonal Antibodies Display Broad Neutralizing Activities against Multiple HIV-1 Subtypes. *PLoS ONE.* 2010. V. 5. № 4. e10254.
31. 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. 955–961.
32. Floris M., Masciocchi J., Fanton M., Moro S. Swimming Into Peptidomimetic Chemical Space Using pepMMsMIMIC. *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. P. 261–269.
33. Bernstein F.C., Koetzle T.F., Williams G.J.B., Meyer E.F., Brice M.D., Rodgers J.R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasumi M. The protein data bank. A computer-based archival file for macromolecular structures. *J. Mol. Biol.* 1977. V. 112. P. 535–542.
34. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank. *Nucl. Acids Res.* 2000. V. 28. P. 235–242.
35. Durranta J.D., McCammon J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. *J. Mol. Graph. Model.* 2011. V. 29. P. 888–893.
36. Masciocchi J., Frau G., Fanton M., Sturlese M., Floris M., Pireddu L., Palla P., Cedrati F., Rodriguez-Tome P., Moro S. MMsINC: a large-scale chemoinformatics database. *Nucl. Acids Res.* 2009. V. 37. P. D284–D290.
37. Ballester P.J., Richards W.G. Ultrafast shape recognition to search compound databases for similar molecular shapes. *J. Comput. Chem.* 2007. V. 28. P. 1711–1723.
38. Mason J.S., Morize I., Menard P.R., Cheney D.L., Hulme C., Labaudiniere R.F. New 4-point pharmacophore method for molecular similarity and diversity applications: overview of the method and applications, including a novel approach to the design of combinatorial libraries containing privileged substructures. *J. Med. Chem.* 1999. V. 42. P. 3251–3264.

39. Karnachi P., Kulkarni A. Application of pharmacophore Fingerprints to structure-based design and data mining. In: *Pharmacophores and Pharmacophore Searches*. Eds. Langer T., Hoffmann R.D., Germany, Weinheim: Wiley-VCH, 2006. P. 193–206.
40. Trott O., Olson A.J. 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. Kirkpatrick K.S., Gelatt C.D., Vecchi M.P. Optimization by simulated annealing. *Science*. 1983. V. 220. P. 671–680.
42. 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., K. 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.
43. 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.
44. 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.
45. Абламейко С.В., Абрамов С.М., Анищенко В.В., Медведев С.В., Парамонов Н.Н., Чиж О.П. *Суперкомпьютерные конфигурации СКИФ*. Минск: Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси, 2005. 170 с.
46. 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., Putney S.D. Conserved sequence and structural elements in the HIV-1 principal neutralizing determinant. *Science*. 1990. V. 249. P. 932–935.
47. Tian H., Lan C., Chen Y.H. Sequence variation and consensus sequence of V3 loop on HIV-1 gp120. *Immunol. Lett.* 2002. V. 83. P. 231–233.
48. Basmaciogullari S., Babcock G.J., Van Ryk D., Wojtowicz W., Sodroski J. Identification of conserved and variable structures in the human immunodeficiency virus gp120 glycoprotein of importance for CXCR4 binding. *J. Virol.* 2002. V. 76. P. 10791–10800.
49. Cormier E.G., Dragic T. The crown and stem of the V3 loop play distinct roles in human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein interactions with the CCR5 coreceptor. *J. Virol.* 2002. V. 76. P. 8953–8957.
50. Cormier E.G., Tran D.N., Yukhayeva L., Olson W.C., Dragic T. Mapping the determinants of the CCR5 amino-terminal sulfopeptide interaction with soluble human immunodeficiency virus type 1 gp120–CD4 complexes. *J. Virol.* 2001. V. 75. P. 5541–5549.
51. Hoffman T.L., LaBranche C.C., Zhang W., Canziani G., Robinson J., Chaiken I., Hoxie J.A., Doms R.W. Stable exposure of the coreceptor-binding site in a CD4-independent HIV-1 envelope protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999. V. 96. P. 6359–6364.
52. Huang C.C., Lam S.N., Acharya P., Tang M., Xiang S.H., Hussan S.S., Stanfield R.L., Robinson J., Sodroski J., Wilson I.A., Wyatt R., Bewley C.A., Kwong P.D. Structures of the CCR5 N-terminus and of a tyrosine-sulfated antibody with HIV-1 gp120 and CD4. *Science*. 2007. V. 317. P. 1930–1934.
53. Hu Q., Trent J.O., Tomaras G.D., Wang Z., Murray J.L., Conolly S.M., Navenot J.M., Barry A.P., Greenberg M.L., Peiper S.C. Identification of Env determinants in V3 that influence the molecular anatomy of CCR5 utilization. *J. Mol. Biol.* 2000. V. 302. P. 359–375.

54. Shimizu N., Haraguchi Y., Takeuchi Y., Soda Y., Kanbe K., Hoshino H. Changes in and discrepancies between cell tropisms and coreceptor uses of human immunodeficiency virus type 1 induced by single point mutations at the V3 tip of the env protein. *Virology*. 1999. V. 259. P. 324–333.
55. Ivanoff L.A., Looney D.J., McDanal C., Morris J.F., Wong-Staal F., Langlois A.J., Petteway S.R.Jr., Matthews T.J. Alteration of HIV-1 infectivity and neutralization by a single amino acid replacement in the V3 loop domain. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1991. V. 7. P. 595–603.
56. Takeuchi Y., Akutsu M., Murayama K., Shimizu N., Hoshino H. Host range mutant of human immunodeficiency virus type 1: modification of cell tropism by a single point mutation at the neutralization epitope in the env gene. *J. Virol.* 1991. V. 65. P. 1710–1718.
57. Ivanoff L.A., Dubay J.W., Morris J.F., Roberts S.J., Gutshall L., Sternberg E.J., Hunter E., Matthews T.J., Petteway S.R. Jr. V3 loop region of the HIV-1 gp120 envelope protein is essential for virus infectivity. *Virology*. 1992 V. 187. P. 423–432.
58. Grimaila R.J., Fuller B.A., Rennert P.D., Nelson M.B., Hammarskjöld M.L., Potts B., Murray M., Putney S.D., Gray G. Mutations in the principal neutralization determinant of human immunodeficiency virus type 1 affect syncytium formation, virus infectivity, growth kinetics, and neutralization. *J. Virol.* 1992. V. 66. P. 1875–1883.
59. Andrianov A.M., Anishchenko I.V., Tuzikov A.V. Discovery of Novel Promising Targets for Anti-AIDS Drug Developments by Computer Modeling: Application to the HIV-1 gp120 V3 Loop. *J. Chem. Inf. Model.* 2011. V. 51. P. 2760–2767.
60. Andrianov A.M., Kornoushenko Yu.V., Anishchenko I.V., Eremin V.F., Tuzikov A.V. Structural analysis of the envelope gp120 V3 loop for some HIV-1 variants circulating in the countries of Eastern Europe. *J. Biomol. Struct. Dynam.* 2012. P. 1–19. doi:10.1080/07391102.2012.706455.

Материал поступил в редакцию 12.02.2013, опубликован 25.03.2013.