

УДК: 577.322.5:543.25

## Компьютерное конструирование новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1 на основе гликофинголипидов

Андрианов А.М.<sup>\*1</sup>, Корноушенко Ю.В.<sup>\*\*1</sup>,

Кашин И.А.<sup>\*\*\*2</sup>, Тузиков А.В.<sup>\*\*\*\*2</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси, Минск, 220141, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Объединенный институт проблем информатики, Национальная академия наук Беларуси, Минск, 220012, Республика Беларусь

**Аннотация.** Методами компьютерного моделирования сконструированы двенадцать водорастворимых аналогов гликофинголипида  $\beta$ -галактозилцерамида – потенциальных анти-ВИЧ агентов, способных к специфическим и эффективным взаимодействиям с консервативными структурными мотивами петли V3 ВИЧ-1, содержащими критические для клеточного тропизма аминокислоты белка gp120 оболочки вируса. Показано, что полученные соединения представляют собой перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных противовирусных препаратов с широким спектром нейтрализующей активности.

**Ключевые слова:** ВИЧ-1, белок gp120, петля V3, гликофинголипиды, молекулярное моделирование, анти-ВИЧ агенты.

### ВВЕДЕНИЕ

Внедрению ВИЧ-1 в макрофаги и Т-лимфоциты предшествует связывание белка gp120 оболочки вируса с первичным рецептором CD4, 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, обзорные статьи [1–3]). Известно, что третий переменный домен белка gp120 (петля V3), образующий 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 [2,3]. 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 переменность аминокислотной последовательности этого функционально важного участка ВИЧ-1 является серьезным препятствием на пути решения данной проблемы [4,5]. Тем не менее, в работах [3,6–8] было показано, что, несмотря на интенсивные мутации, отдельные сегменты петли V3, содержащие аминокислоты,

\*[andrianov@iboch.bas-net.by](mailto:andrianov@iboch.bas-net.by)

\*\*[kornoushenko@iboch.bas-net.by](mailto:kornoushenko@iboch.bas-net.by)

\*\*\*[lighkia@gmail.com](mailto:lighkia@gmail.com)

\*\*\*\*[tuzikov@newman.bas-net.by](mailto:tuzikov@newman.bas-net.by)

ответственные за связывание с корцептором, сохраняют трехмерную структуру в различных модификациях 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 по идентификации химических соединений, которые могут выступать в качестве потенциальных терапевтических агентов, способных эффективно блокировать структурно-жесткие участки петли V3 ВИЧ-1. Согласно данным литературы (см., например, [9,10]), к числу таких соединений относится гликофинголипид  $\beta$ -галактозилцерамид ( $\beta$ -GalCer), образующий на поверхности ряда чувствительных клеток первичный рецептор для ВИЧ-1, альтернативный молекуле CD4, используемой вирусом для проникновения в макрофаги и Т-лимфоциты. Известно также, что  $\beta$ -GalCer может служить кофактором белка gp120 при присоединении вируса к клеткам CD4+ [11]. Результаты ряда исследований (см., например, [12,13]) показывают, что непосредственное участие в связывании  $\beta$ -GalCer с ВИЧ-1 принимает петля V3 белка gp120. В работах [11,14–16] установлено, что водорастворимые аналоги  $\beta$ -GalCer могут ингибировать проникновение ВИЧ-1 в клетки-мишени путем специфического связывания с петлей V3. В свете этих эмпирических данных представляется актуальным исследование структурных комплексов  $\beta$ -GalCer и его аналогов с петлей V3 ВИЧ-1, направленное на установление факторов, обеспечивающих высокое сродство гликолипидов к V3-домену белка gp120 вируса. При отсутствии рентгеновских данных о структуре таких комплексов [17] единственным способом получения детальной информации об 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.

Настоящая статья продолжает исследования, начатые нами в работе [18], в которой на основе анализа структурных комплексов  $\beta$ -GalCer с пептидами петли V3 ВИЧ-1 осуществлен компьютерный дизайн его водорастворимого аналога и с помощью расчета энергии связывания гликолипида с пептидами-мишенями предсказана высокая вероятность проявления им противовирусной активности, подтвержденной медицинскими испытаниями синтезированного соединения. Полученные в работе [18] расчетные данные обеспечили структурную основу для создания водорастворимых производных  $\beta$ -GalCer путем модификаций остатка жирной кислоты, который, в отличие от углеводной части молекулы, обеспечивающей специфическое связывание с петлей V3, обладает высокой конформационной подвижностью и не участвует во взаимодействиях с этим функционально важным участком белка gp120.

Цель работы – методами молекулярного моделирования сконструировать набор водорастворимых форм  $\beta$ -GalCer и провести оценку их потенциальной ингибиторной активности с последующим отбором гликолипидов, наиболее перспективных для синтеза и медицинских испытаний.

Для достижения поставленной цели в работе решены следующие задачи:

1. С помощью средств компьютерной графики сконструированы двенадцать производных  $\beta$ -GalCer, содержащих различные заместители остатка жирной кислоты по аминокгруппе агликона, и проведены квантово-химические расчеты их трехмерных структур.
2. Методами молекулярного докинга построены структурные комплексы этих гликолипидов с петлей V3 ВИЧ-1 для пяти модификаций вируса, различающихся по генетическим и биологическим свойствам, и выполнен анализ межмолекулярных взаимодействий, ответственных за их энергетическую стабилизацию.

3. Методами молекулярной динамики (МД) сгенерированы МД траектории комплексов и рассчитаны свободные энергии их образования.

4. На основе полученных данных осуществлен сравнительный анализ эффективности связывания гликолипидов с петлей V3 ВИЧ-1. При этом в качестве контрольного соединения использовали анти-ВИЧ-1 агент, разработанный ранее [18] методами молекулярного моделирования и химического синтеза на основе  $\beta$ -GalCer.

В результате проведенных исследований показано, что сконструированные водорастворимые аналоги  $\beta$ -GalCer представляют собой перспективные базовые структуры для разработки новых противовирусных препаратов с широким спектром нейтрализующей активности.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для конструирования гликолипидов использовали трехмерную структуру  $\alpha$ -GalCer в кристалле (код 1ZT4 в Международном банке белков [17]), которую подвергали следующим модификациям с помощью средств компьютерной графики:

- 1)  $\alpha$ -D-галактопиранозу заменяли на  $\beta$ -D-галактопиранозу;
- 2) остаток 4-гидроксидигидросфингозина преобразовывали 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;
- 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 привлекали в качестве стартовой модели для построения аналогов гликолипида, в которых осуществляли замещение остатка жирной кислоты на водорастворимые кислоты, разделенные на две группы в зависимости от наличия и отсутствия в их составе ароматических колец (табл. 1). Выбор заместителей остатка жирной кислоты  $\beta$ -GalCer проводили с целью усиления специфичности и эффективности связывания за счет возможного  $\pi$ -стэкинга ароматических фрагментов гликолипидов (соединения I; табл. 1) с консервативными остатками Pro-4, Pro-16, Phe-20, Tyr-21 и His-34 петли V3 ВИЧ-1 и/или формирования дополнительных межмолекулярных водородных связей с участием их полярных групп (соединения I и II; табл. 1).

Оптимизацию трехмерных структур гликолипидов проводили методами квантовой химии в пакете Gaussian (<http://www.gaussian.com/>) [19,20]. Для расчета электронной конфигурации применяли метод самосогласованного поля Хартри–Фока с валентно-расщепленным базисом 6-31G\* [21]. Геометрические параметры молекул оптимизировали с помощью модифицированного метода Ньютона–Рафсона [22]. Для вычисления характерных зарядов атомов использовали модель RESP (Restricted Electrostatic Potential) [23,24].

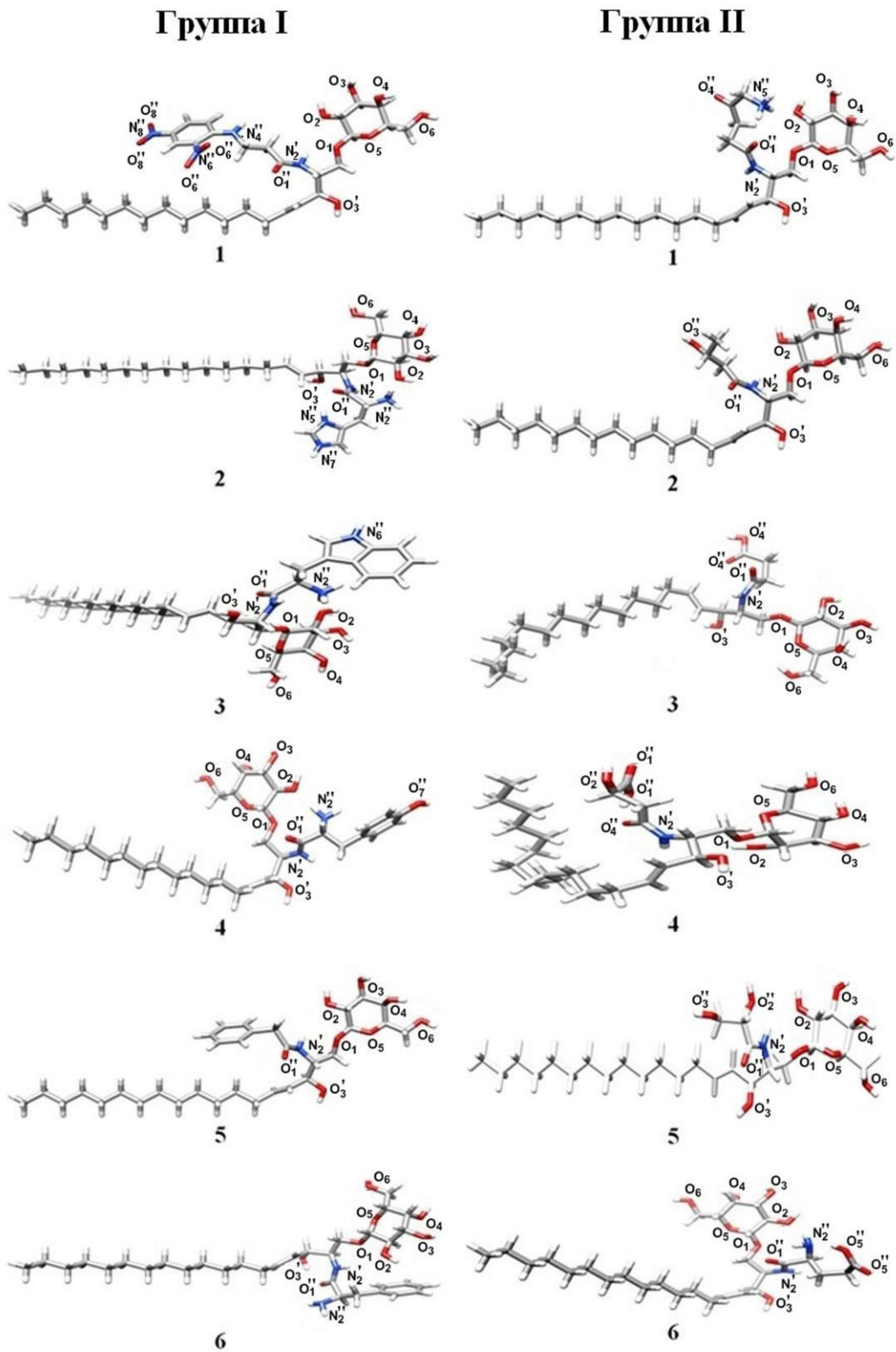
Трехмерные структуры гликолипидов, полученные в результате квантово-химических расчетов, показаны на рис. 1.

В качестве биологической мишени для гликолипидов использовали трехмерные структуры петли V3 из пяти модификаций ВИЧ-1 (рис. 2), включающих штаммы подтипов А и В вируса и его две рекомбинантные формы (табл. 2) [25,26]. Структуры петли V3, приведенные на рис. 2, существенно различаются между собой, однако образуют три консервативных участка, расположенных в ее центральной области, а также на N- и C-концевых сегментах [25]. Именно из-за различий в пространственной организации и принадлежности к разным штаммам вируса эти структуры петли V3 были выбраны для исследования ее комплексов с гликолипидами, направленного на идентификацию аналогов  $\beta$ -GalCer, способных к проявлению нейтрализующей активности против широкого набора вариантов ВИЧ-1.

**Таблица 1.** Амидообразующие кислоты – заместители остатка жирной кислоты по аминогруппе агликона в сконструированных аналогах  $\beta$ -GalCer

Группа I			Группа II		
№	Амидообразующая кислота	Структурная формула	№	Амидообразующая кислота	Структурная формула
1	Динитрофениламинопропановая кислота		1	5-аминолевулиновая кислота	
2	Гистидин		2	3-оксибутановая кислота	
3	Триптофан		3	Янтарная кислота	
4	Тирозин		4	Яблочная кислота	
5	Фенилуксусная кислота		5	Глицериновая кислота	
6	Фенилаланин		6	Глутаминовая кислота	

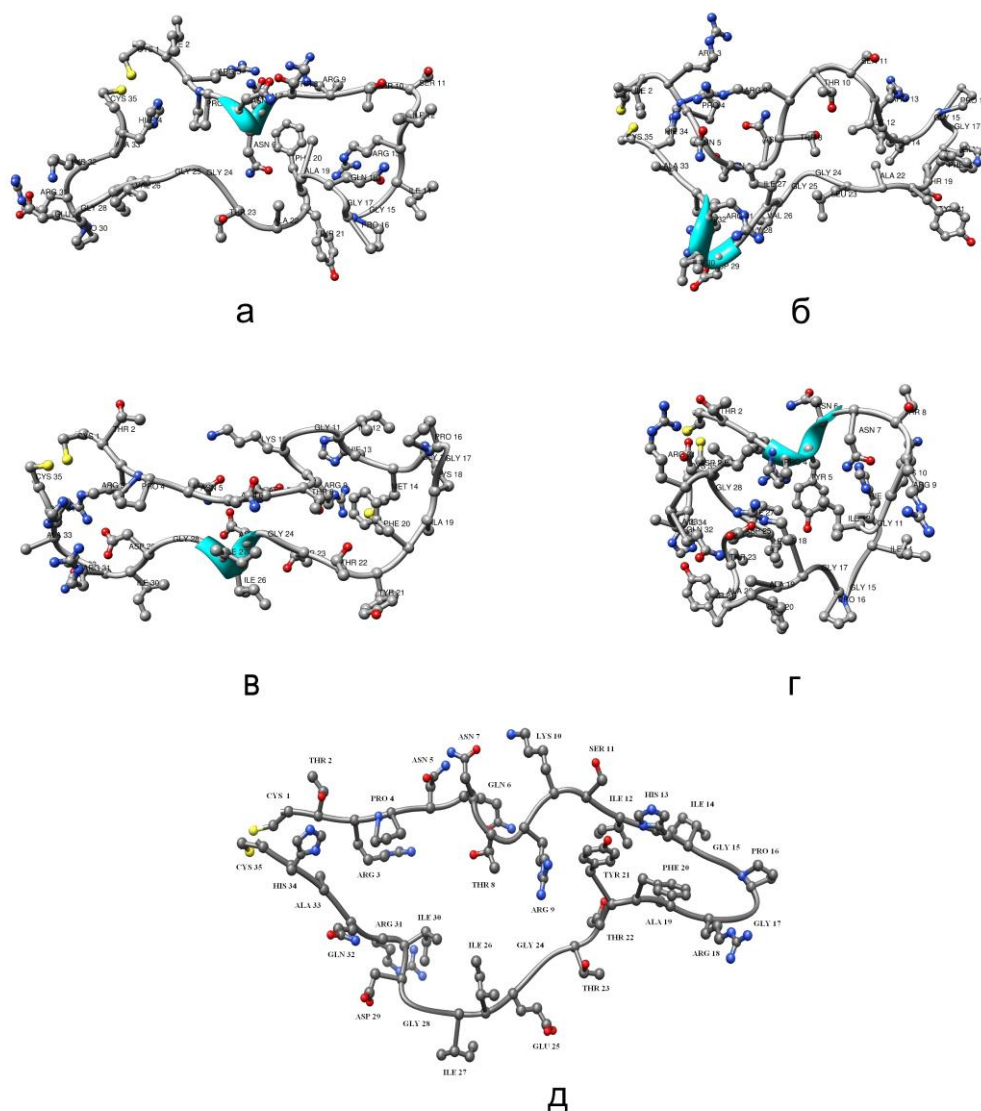
Молекулярный докинг выполняли с помощью программы AutoDock Vina [27] с учетом конформационной подвижности гликолипида, перебирая все его возможные ориентации относительно молекулы-рецептора. Для каждого лиганда рассматривали девять комплексов, лучших по величине оценочной функции программы AutoDock Vina, включающей ван-дер-ваальсовы силы, электростатические взаимодействия и водородные связи [27]. Так как для всех рассматриваемых комплексов наиболее предпочтительные структуры имели близкие значения оценочной функции, для их более точной локализации на шкале энергий использовали метод имитации теплового



**Рис. 1.** Трехмерные структуры аналогов  $\beta$ -GalCer, построенные методами молекулярного моделирования. Обозначены потенциальные доноры и акцепторы водородной связи.

отжига [28], 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/>) [29]. 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) [29] в изобарно-изотермических условиях с явным заданием свойств растворителя (трехточечная модель воды TIP3P [30]) 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 ММ-РВ/SA [31], входящей в состав пакета AMBER 11 [29]. 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.



**Рис. 2.** Трехмерные структуры петли V3 для вариантов N304-env (а), Moc-Det-Mn-10 (б), N249-env-10 (в), Scab-env-10 (г) [25] и JR-FL (д) [26] ВИЧ-1 (см. табл. 2).



**Таблица 2.** Структуры петли V3 ВИЧ-1, использованные как биологические мишени для молекулярного докинга с гликолипидами

№	Подтип ВИЧ-1	Штамм	Метод	Ссылка
1	А (группа А1)	N304-env	Гомологичное моделирование	[25]
2	Рекомбинантная форма (подтип А по гену env)	Moc-Det-Mn-10	Гомологичное моделирование	[25]
3	В	N249-env-10	Гомологичное моделирование	[25]
4	Рекомбинантная форма CRF03_AB	Scab-env-10	Гомологичное моделирование	[25]
5	В	JR-FL	Рентгеноструктурный анализ	[26]

Расчеты проводили на суперкомпьютере “СКИФ-ОИПИ” Объединенного института проблем информатики НАН Беларуси [32].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 3 приведены типы межмолекулярных взаимодействий, ответственных за специфическое связывание сконструированных гликолипидов (рис. 1) с петлей V3 ВИЧ-1 штаммов N304-env, Moc-Det-Mn-10, N249-env-10, Scab-env-10 и JR-FL (рис. 2). Анализ этих данных позволяет установить ряд закономерностей в механизме формирования структурных комплексов разработанных аналогов  $\beta$ -GalCer с третьим переменным доменом белка gp120 оболочки вируса. В первую очередь необходимо отметить, что, независимо от модификации ВИЧ-1, практически во всех рассматриваемых случаях остаток сахара гликолипидов образует нестандартные  $\text{XH}\cdots\text{л}$  ( $\text{X}$  обозначает атомы С или О) водородные связи с перекрывающимися р-орбиталями боковых цепей остатков Phe-20/Тур-21 или His-34, представляющих консервативные аминокислоты петли V3 (рис. 3) [4,5]. Исключение составляет штамм Scab-env-10 ВИЧ-1, где в пятой позиции петли V3 имеет место редкая аминокислотная замена остатка аспарагина на ароматическую аминокислоту – тирозин (рис. 3), который, согласно расчетным данным, может участвовать в  $\text{XH}\cdots\text{л}$  взаимодействиях с пиранозным кольцом галактозы в данной модификации ВИЧ-1 (табл. 3).

Эти результаты согласуются с экспериментальными данными (см., например, обзор [35]), свидетельствующими о том, что важным фактором, обеспечивающим энергетическую стабилизацию комплексов  $\beta$ -GalCer с белками, являются  $\text{XH}\cdots\text{л}$  водородные связи остатка сахара с ароматическими аминокислотами. В частности, исследования  $\beta$ -амилоидного и PrP пептидов, использующих  $\beta$ -GalCer для проникновения в клетку-мишень, показали [36,37], что ключевую роль в связывании играют  $\text{XH}\cdots\text{л}$  взаимодействия углеводной части гликолипида с остатками их ароматических аминокислот. Вероятно, именно этот тип взаимодействий, наблюдаемых в структурных комплексах модифицированных форм  $\beta$ -GalCer с петлей V3 (табл. 3), определяет специфичность их связывания с белком gp120 ВИЧ-1. Правомочность этого предположения подтверждает тот факт, что остаток жирной кислоты молекулы  $\beta$ -GalCer, с помощью которой вирус внедряется в некоторые чувствительные клетки, отличные от макрофагов и Т-лимфоцитов [9,10], погружен вглубь мембраны, а наиболее доступным элементом структуры гликолипида является пиранозное кольцо галактозы [35]. О важном вкладе остатка галактозы  $\beta$ -GalCer в

**Таблица 3.** Межмолекулярные взаимодействия, реализующиеся в лучших по значению энергии структурных комплексах гликолипидов с петлей V3 ВИЧ-1 штаммов N304-env, Moc-Det-Mn-10, N249-env-10, Scab-env-10 и JR-FL

Глико- липид	ВАРИАНТ ВИЧ-1														
	N304-env			Moc-Det-Mn-10			N249-env-10			Scab-env-10			JR-FL		
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
I-1	P4	H34	O4...OH(T23) O3H...O(G24) O6"...HN*(N5) N4"...HN*(N5)	P4		O6H"...HN*(N6) O6H...O(R9)	F20		O3H...N*(K10) O3...HN*(K10)	H13	Y5	N8"...HN*(N6) O8"...HN*(N6) N6"...HN*(R3) O2H...O*(Y5)	P4	Y21	O1"...HN*(R9)
I-2	F20	H34	N2"H...O(A22) O3'H...O(N6) O2H...N(G25) O3H...N*(H34) O3...HN(H34)	P4	H34	O6H...N*(N7) O4...HN*(N7)	P16	F20		H13	Y5	O1...HN*(R3) O1...HN*(R3) O5...HN*(R3) O6H...N*(N6) O3'H...N*(R3)			H34
I-3	F20	H34	O3...HN*(H34) N2"H...O(A22) N2"H...O(F20)		H34	O5...HN*(N6) N6"H...O*(T8)	Y21	F20	N6"H...O(G17)	H13	Y5	O1...HN*(R3) O2H...N*(R3)		H34	O2H...O(I30)
I-4	F20	H34	O7"H...N(N7)		H34	N2"H...O*(T8) O4...HN*(R3)	P16	F20		Y5	H13	O1...HN*(R3) O1...HN*(R3) O2...HN*(R3) N2'H...N*(R3)	F20	Y21	O3'...HN*(R9) N2'H...N*(R9)
I-5	P4	F20	O3'H...O(F20)	P4	H34	O4...HN*(N6) O3'H...O*(T8)	P16	F20	O2H...O(N7) O3H...N(G11)	H13	Y5	O1...HN*(R3) O5...HN*(R3)		H34	O2H...O(I30) O4H...N*(Q32)
I-6	F20	H34	N2'...HN*(N6) N2"H...O(F20) O3...HN*(H34) O3...HN(H34)		F20	N2'H...O(S11) N2'H...N(S11) O3'...HN(R13)	F20		O3H...O*(N5) O2H...N(N7) N2'H...O(T8)	H13	Y5	O1...HN*(R3) O5...HN*(R3) N2'...HN*(R3) N2'H...O(H13)	P4		O1'...OH*(T8) O5H...O(I30) O3'H...O(I30) O3'...NH(I30)

Продолжение таблицы см. на следующей странице



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
II – 1	–	H34	O <sub>4</sub> ...HN (H34) O <sub>4</sub> H...N (H34) O <sub>4</sub> ...HN* (H34) O <sub>3</sub> H...N* (H34)	–	H34		–	F20	O <sub>6</sub> H...O(N7)	–	Y5	O <sub>3</sub> ...HN* (R3) O <sub>2</sub> ...HN* (R3) O <sub>2</sub> ...HN* (R3)	–	H34	O <sub>3</sub> H...O(P4) O <sub>4</sub> H...N* (R3) N <sub>5</sub> "H...O(I30) N <sub>2</sub> 'H...O* (T8) N <sub>2</sub> '...HO* (T8)
II – 2	–	F20	O <sub>2</sub> ...HN(N7) O <sub>1</sub> "...HN(H34)	–	H34		–	F20	O <sub>2</sub> H...O(T8) O <sub>4</sub> H...O* (N6)	–	Y5	O <sub>3</sub> ...HN* (R3) O <sub>3</sub> "H...O(H13)	–	Y21	O <sub>6</sub> ...HN* (R9) O <sub>5</sub> ...HN* (R9) O <sub>2</sub> H...N(T23) O <sub>1</sub> "...HN(R9)
II – 3	–	F 20	O <sub>4</sub> "...HN(I27) O <sub>6</sub> H...O(F20)	–	F20		–	F20	O <sub>2</sub> H...O(G17)	–	Y5	O <sub>1</sub> ...HN* (R3) O <sub>1</sub> ...HN* (R3) O <sub>4</sub> H...O* (N6) O <sub>4</sub> ...NH(N6) O <sub>2</sub> ...HN* (R3) O <sub>3</sub> 'H...N* (R3)	–		O <sub>6</sub> H...O(E25) O <sub>1</sub> ...HO* (T8) N <sub>2</sub> 'H...O(I30) O <sub>3</sub> '...HN* (R3)
II – 4	–	H34	N <sub>2</sub> 'H...O(G24) O <sub>5</sub> ...HN(N5)	–	F20	O <sub>3</sub> 'H...O(Y21)	–	F20	N <sub>2</sub> 'H...O(N6)	–	F20	O <sub>2</sub> ...HN(G17) N <sub>2</sub> 'H...O(G15) O <sub>1</sub> 'H...O(H13)	–	Y21	
II – 5	–	F20	O <sub>3</sub> "H...O(A22)	–	F20	O <sub>6</sub> ...HN(R13) O <sub>2</sub> H...O* (S11)	–	H34	O <sub>3</sub> ...NH* (R31) O <sub>3</sub> H...N* (R31) O <sub>4</sub> H...O(G28)	–	F20	O <sub>2</sub> "H...N(I12) O <sub>3</sub> '...HN(F20)	–		O <sub>1</sub> ...HO* (T8) O <sub>3</sub> '...HN* (R3) O <sub>2</sub> "H...N* (R3)
II – 6	–	H34	O <sub>6</sub> ...HN(N5)	–		O <sub>2</sub> ...HN* (N7) O <sub>3</sub> H...N* (R3) O <sub>3</sub> ...HN* (R3) O <sub>3</sub> 'H...O(I12)	–	H34	O <sub>4</sub> "H...O* (D25) O <sub>4</sub> "...HN* (N5) N <sub>2</sub> 'H...O(D29)	–	Y5	N <sub>2</sub> 'H...O(H13) O <sub>6</sub> H...N* (R3) O <sub>3</sub> 'H...O(I12)	–	Y21	O <sub>6</sub> ...HN(T22) O <sub>6</sub> ...HN(Y21) O <sub>4</sub> "...HN(R9) O <sub>4</sub> "H...O(Y21)

Примечания: <sup>a</sup> Аминокислотные остатки петли V3, образующие  $\pi$ -стэкинг с ароматическими фрагментами боковых цепей гликолипидов группы I; <sup>b</sup> Аминокислотные остатки петли V3, участвующие в XH... $\pi$  взаимодействиях с пиранозным кольцом галактозы гликолипидов; <sup>c</sup> Межмолекулярные водородные связи. Первыми указаны доноры или акцепторы водородной связи, принадлежащие молекуле гликолипида, а вторыми – соответствующие функциональные группы аминокислотных остатков петли V3, приведенных в скобках в однобуквенном коде. Нижние и верхние индексы атомов кислорода и азота гликолипидов согласуются с их нумерацией, приведенной на рис. 1. Звездочками отмечены атомы или группы боковых цепей V3-домена.

Водородные связи и  $\pi$ -стэкинг идентифицировали с помощью программного пакета BINANA [33], а XH... $\pi$  взаимодействия постулировали в тех случаях, когда расстояние между центрами пиранозного и ароматического колец не превышало 7,5 Å [34].

Вариант ВИЧ-1	1	5	10	15	20	25	30	35																											
N304-env	C	I	R	P	N	N	T	R	T	S	I	R	I	G	P	G	Q	A	F	Y	A	T	G	G	V	I	G	E	P	R	K	A	H	C	
Мос-Det-Mn-10	C	I	R	P	N	N	T	R	T	S	I	R	I	G	P	G	Q	T	F	Y	A	L	G	G	V	I	G	D	I	R	R	A	H	C	
N249-env-10	C	T	R	P	N	N	T	R	K	G	I	H	M	G	P	G	K	A	F	Y	T	T	G	D	I	I	G	D	I	R	Q	A	H	C	
Scab-env-10	C	T	R	P	Y	N	N	T	R	K	G	I	H	I	G	P	G	R	A	F	Y	A	T	G	D	I	I	G	D	I	R	Q	A	H	C
JR-FL	C	T	R	P	N	Q	N	T	R	K	S	I	H	I	G	P	G	R	A	F	Y	T	T	G	E	I	I	G	D	I	R	Q	A	H	C

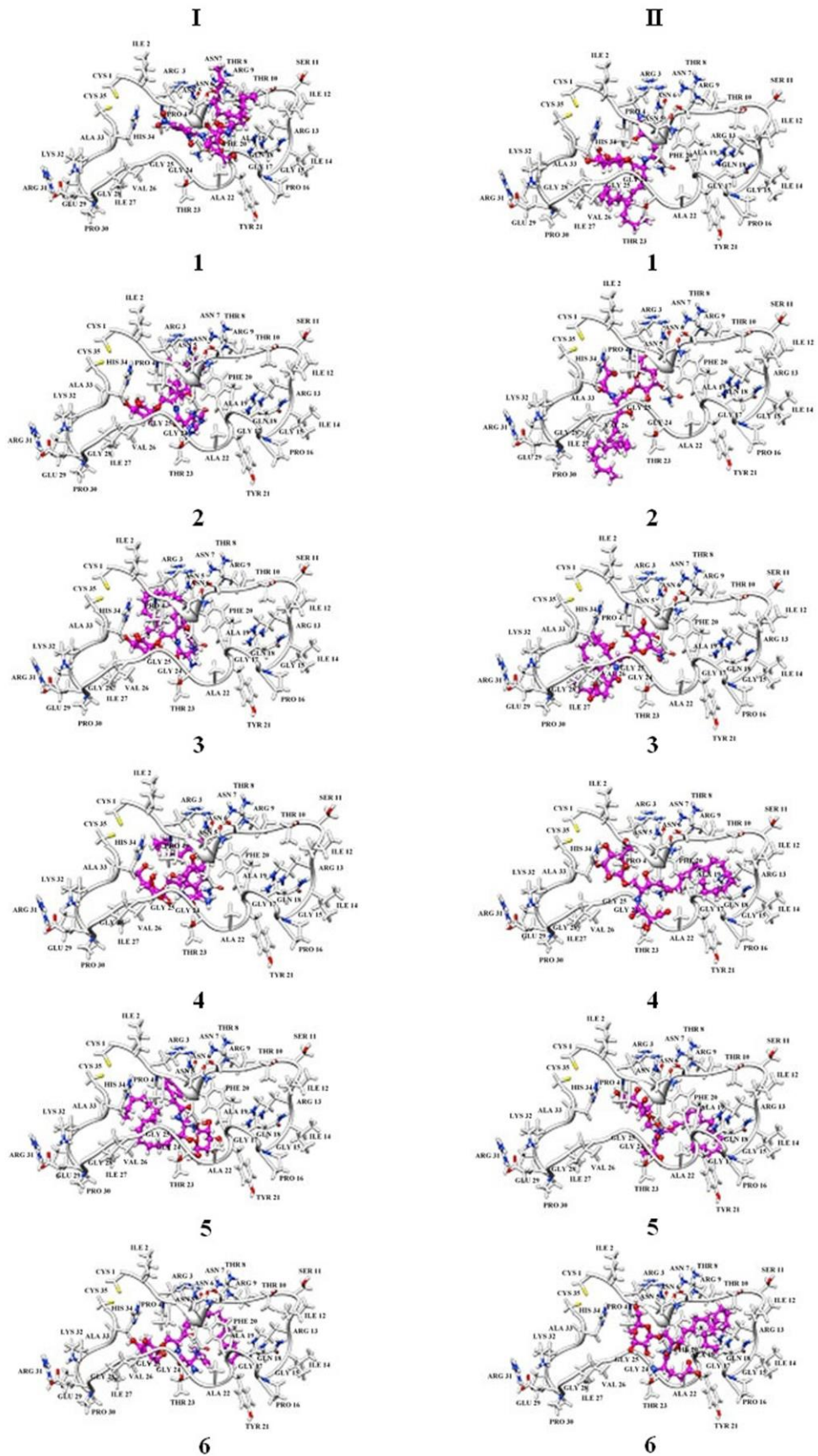
**Рис. 3.** Аминокислотные последовательности петли V3 для вариантов N304-env, Мос-Det-Mn-10, N249-env-10, Scab-env-10 [25] и JR-FL [26] ВИЧ-1. Желтым цветом выделены консервативные остатки петли V3.

специфическое связывание с петлей V3 ВИЧ-1 свидетельствуют также данные работы [9], в которой показано, что в результате его замены на глюкозу полученная молекула ( $\beta$ -глюкозилцерамид) не способна к эффективным взаимодействиям с белком gp120.

Как следует из анализа данных табл. 3, наряду с  $\text{HN}\cdots\pi$  водородными связями для гликолипидов группы I, содержащих в боковой цепи ароматические фрагменты (табл. 1), в большинстве структурных комплексов наблюдается  $\pi$ -стэкинг с консервативными остатками Pro-4, Pro-16, Phe-20, Tyr-21 и His-34 петли V3 (рис. 3). В случае штамма Scab-env-10, представляющего рекомбинантную форму CRF03\_AB (табл. 2), третий вариабельный домен белка gp120 использует для этой цели  $\pi$ -сопряженные системы боковых цепей остатков Tyr-5 и His-13 (табл. 3). Очевидно, что наличие  $\pi$ -стэкинга между ароматическими фрагментами гликолипидов группы I и перекрывающимися p-орбиталями боковых цепей этих аминокислотных остатков петли V3 может служить дополнительным фактором, обеспечивающим энергетическую стабилизацию их надмолекулярных структур.

Кроме  $\text{HN}\cdots\pi$  взаимодействий и  $\pi$ -стэкинга, существенный вклад в формирование комплексов гликолипидов с петлей V3 ВИЧ-1 вносят стандартные водородные связи с участием ее функционально важных аминокислотных остатков, расположенных преимущественно в центральной области V3-домена, а также на его N- и C-концевых сегментах (табл. 3). Среди этих остатков отметим аргинин в позиции 3 петли V3, оказывающий существенное влияние на связывание вируса с корцептором CCR5 [38,39], а также остатки аспарагина на участке 5–7 V3-домена, которые образуют один из потенциальных сайтов N-гликозилирования белка gp120 [40], используемого вирусом для защиты от нейтрализующих антител [41,42] и усиления его инфективности [43–46].

Анализ данных, приведенных в табл. 3, показывает, что образование комплексов аналогов  $\beta$ -GalCer с белком gp120 должно приводить к блокаде иммуногенной «верхушки» Gly-Pro-Gly-Arg/Gln-Ala-Phe петли V3 и/или ее основания, в состав которого входят остатки, примыкающие с N- и C-концов к дисульфидному мостику Cys-1-Cys-35 (в качестве примера см. рис. 4). Полученные данные представляют значительный интерес в связи с тем, что оба указанных участка петли V3 формируют консервативные структурные мотивы, содержащие критические для клеточного тропизма аминокислоты белка gp120 [6,7]. Известно [47–53], что основание V3-домена ВИЧ-1 взаимодействует с N'-концевым сегментом корцептора CCR5, а его верхушка – со второй внеклеточной петлей ECL2 этой молекулы. В первом случае ключевую роль в связывании белка gp120 с корцептором CCR5 играет остаток Arg-3 петли V3 [38,39],



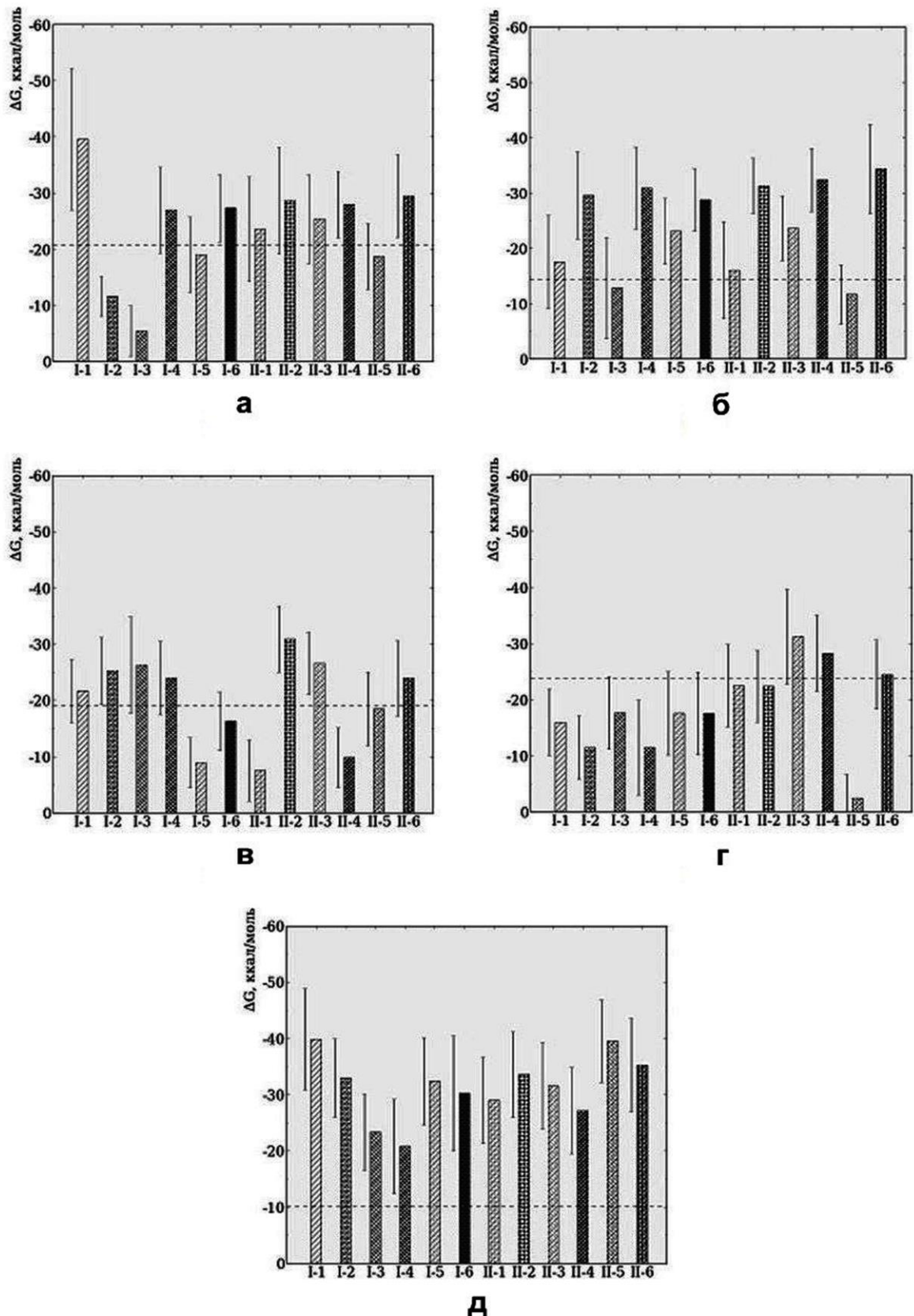
**Рис. 4.** Структурные комплексы гликолипидов групп I и II (рис. 1) с петлей V3 штамма N304-env ВИЧ-1, который представляет вариант A1 подтипа A вируса, доминирующий в странах Восточной Европы.

а во втором – аминокислоты, расположенные на ее консервативном сегменте Gly15-Pro16-Gly17 [54–57]. Замена Pro16 на аланин вызывает изменения инфективности и иммуногенности ВИЧ-1 [54,55], а одиночные замены остатков Gly15, Gly17 или соседнего с ними Arg18 могут быть летальными для инфективности вируса и его способности к образованию синцитиев [56,57]. Эти результаты подтверждают эксперименты с мутантными формами вируса, лишенными триплета Gly-Pro-Gly петли V3 белка gp120 [57].

В литературе приведен ряд данных, свидетельствующих о том, что для связывания с гликолипидами петля V3 использует центральную область 15–20 (см., например, [11,12]). В частности, в работах [11,12] показано, что синтетические пептиды, содержащие 8 консенсусных фрагментов этого участка петли V3, соединенных с незаряженной полилизиновой матрицей, взаимодействуют с  $\beta$ -GalCer и его водорастворимым аналогом CA52(n15), препятствуя проникновению ВИЧ-1 в клетки линии HT-29. При этом гликолипид CA52(n15) конкурирует с моноклональными антителами 110-N и 110-A за связывание с рекомбинантным белком gp120. Аналогичный вывод об участии гексапептида Gly-Pro-Gly-Arg/Gln-Ala-Phe петли V3 в специфических взаимодействиях с гликолипидами сделан в работах [14,58], в которых описаны исследования с применением ее более длинных пептидов, включающих рассматриваемый сегмент белка gp120. Результаты настоящего исследования согласуются с приведенными выше экспериментальными данными, полученными для пептидов, имитирующих центральную область петли V3, однако указывают на наличие еще одного потенциального сайта для ее связывания с гликолипидами, которое может быть реализовано за счет специфических  $\text{HN}\cdots\pi$  водородных связей консервативного остатка His-34 с пиранозным кольцом галактозы (табл. 3).

Таким образом, результаты молекулярного докинга показывают, что сконструированные гликолипиды (рис. 1) способны к специфическим и эффективным взаимодействиям с петлей V3, принадлежащей различным модификациям ВИЧ-1 (рис. 2). Этот вывод подтверждают данные молекулярно-динамических расчетов структурных комплексов, согласно которым на их МД траекториях преобладают структуры, в которых сохраняются межмолекулярные водородные связи, наблюдаемые в статических моделях (табл. 3), а углеводная составляющая гликолипидов сближена в пространстве с боковыми цепями остатков петли V3 с  $\pi$ -сопряженными системами на расстоянии, благоприятные для реализации  $\text{HN}\cdots\pi$  взаимодействий. Структурные комплексы, построенные методами молекулярного докинга, энергетически стабильны, о чем свидетельствуют величины свободной энергии их образования и соответствующие стандартные отклонения (рис. 5). Как видно из рис. 5, в подавляющем большинстве случаев этот энергетический параметр, используемый для оценки устойчивости надмолекулярных структур, принимает значения, более низкие по сравнению с величиной  $-10,9$  ккал/моль, вычисленной нами исходя из константы диссоциации комплекса  $\beta$ -GalCer с белком gp120 [59]. Анализ данных, приведенных на рис. 5, позволяет выделить в списке сконструированных гликолипидов соединения П-3 и П-6, формирующие более стабильные относительно контрольного гликолипида [18] комплексы со всеми использованными в расчетах V3-мишенями, которые, как было отмечено выше, принадлежат вариантам ВИЧ-1 с различными генетическими и биологическими свойствами [7]. Среди гликолипидов группы I следует отметить соединения I-1 и I-4, которые, за исключением штамма Scab-env-10 ВИЧ-1, также демонстрируют в компьютерных экспериментах большую эффективность связывания с петлей V3 по сравнению с разработанным ранее [18] анти-ВИЧ агентом. В связи с этим, указанные соединения могут рассматриваться в качестве первоочередных кандидатов на роль ингибиторов проникновения ВИЧ-1 с широким спектром нейтрализующей активности.





**Рис. 5.** Средние значения свободной энергии ( $\Delta G$ ) образования комплексов сконструированных гликолипидов с петлей V3 ВИЧ-1 штаммов N304-env (а), Moc-Det-Mn-10 (б), N249-env-10 (в), Scab-env-10 (г) и JR-FL (д). Вертикальными линиями показаны соответствующие значения стандартных отклонений. Штриховой линией отмечены величины  $\Delta G$  для использованного в расчетах в качестве контрольного соединения анти-ВИЧ-1 агента, разработанного ранее [18] методами компьютерного моделирования и химического синтеза на основе  $\beta$ -GalCer.

Необходимо отметить, что один из анализируемых гликолипидов – соединение П-3, в котором остаток жирной кислоты  $\beta$ -GalCer замещен на янтарную кислоту (табл. 1), был исследован нами ранее [60] методами компьютерного моделирования. Однако оценка его потенциальной анти-ВИЧ активности выполнена в этой работе с привлечением в качестве мишени пептидов Gly-Pro-Gly-Gln/Arg-Ala-Phe петли V3, представляющих наиболее вероятную область связывания гликолипидов с белком gp120 ВИЧ-1 [11,12,14,58]. В отличие от работы [60], в настоящем исследовании для этой цели задействована интактная петля V3, принадлежащая пяти разным модификациям вируса (рис. 2), и проведены гораздо более длительные МД расчеты. Тем не менее, полученные результаты подтверждают выводы авторов работы [60] о перспективности использования соединения П-3 как потенциального анти-ВИЧ агента. Кроме того, они дополняют данные сообщения [60], свидетельствуя о том, что, наряду с центральной областью Gly-Pro-Gly-Gln/Arg-Ala-Phe петли V3, этот гликолипид может использовать для эффективных взаимодействий с белком gp120 остатки ее основания (табл. 3), не рассмотренные в этом более раннем исследовании.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование статических и динамических моделей структурных комплексов водорастворимых аналогов  $\beta$ -GalCer с петлей V3 из различных модификаций ВИЧ-1 свидетельствует о том, что специфичность связывания гликолипидов с этим функционально важным участком белка gp120 детерминируется нестандартными  $\text{HN}\cdots\pi$  водородными связями пиранозного кольца галактозы с  $\pi$ -сопряженными системами его консервативных остатков Phe-20/Tyr-21 или His-34. При этом петля V3 формирует два потенциальных сайта для взаимодействия с гликолипидами, один из которых расположен на иммуногенной верхушке V3-домена, а второй – у его основания, примыкающего к дисульфидному мостику Cys-1-Cys-35. Оба этих участка петли V3 ВИЧ-1 образуют консервативные структурные мотивы, включающие критические для клеточного тропизма аминокислоты белка gp120 [6,7]. Поэтому сконструированные в настоящей работе производные  $\beta$ -GalCer, которые, согласно данным компьютерного моделирования, способны к блокаде этих инвариантных элементов структуры петли V3, могут быть использованы как базовые соединения для создания новых эффективных лекарственных препаратов против широкого набора вариантов ВИЧ-1.

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

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hartley O., Klasse P.J., Sattentau Q.J., Moore J.P. V3: HIV's Switch-Hitter. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2005. V. 21. P. 171–189.
2. Sirois S., Sing T. and Chou K.C. HIV-1 gp120 V3 loop for structure-based drug design. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2005. V. 6. P. 413–422.
3. 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. P. 419–435.
4. 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.

5. Tian H., Lan C., Chen Y.H. Sequence variation and consensus sequence of V3 loop on HIV-1 gp120. *Immuno.l Lett.* 2002. V. 83. P. 231–233.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Bhat S., Spitalnik S.L., Gonzalez-Scarano F., Silberberg D.H. Galactosylceramide 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.
10. Fantini J., Cook D.G., Nathanson N., Spitalnik S.L., Gonzalez-Scarano F. Infection of colonic epithelial cell lines by type 1 human immunodeficiency virus is associated with cell surface expression of galactosylceramide, a potential alternative gp120 receptor. 1993. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 90. P. 2700–2704.
11. 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.
12. 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.
13. Cook D.G., Fantini J., Spitalnik S.L., Gonzalez-Scarano F. Binding of human immunodeficiency virus type I (HIV-1) gp120 to galactosylceramide (GalCer): relationship to the V3 loop. *Virology.* 1994. V. 201. P. 206–214.
14. 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.
15. LaBell R.Y., Jacobsen N.E., Gervay-Hague J., O'Brien D.F. Synthesis of novel glycolipids that bind HIV-1 Gp120. *Bioconjug. Chem.* 2002. V. 13. P. 143–149.
16. Augustin L.A., Fantini J., Mootoo D.R. C-Glycoside analogues of beta-galactosylceramide with a simple ceramide substitute: synthesis and binding to HIV-1 gp120. *Bioorg. Med. Chem.* 2006. V. 14. P. 1182–1188.
17. 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.
18. Andrianov A.M., Anishchenko I.V., Kisel M.A., Kornoushenko Yu.V., Nikolayevich V.A., Eremin V.F., Kucherov I.I., Tuzikov A.V. Computer-Aided Design of Novel HIV-1 Entry Inhibitors Targeting the Envelope gp120 V3 Loop. *Biopolym. Cell.* 2012. V. 28. P. 468–476.
19. Curtiss L.A., Raghavachari K., Redfern P.C., Pople J.A. Assessment of Gaussian-3 and density functional theories for a larger experimental test set. *J. Chem. Phys.* 2000. V. 112. P. 7374–7383.
20. Curtiss L.A., Raghavachari K. Gaussian-3 and related methods for accurate thermochemistry. *Theor. Chem. Acc.* 2002. V. 108. P. 61–70.



21. 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.
22. Ben-Israel A. A modified Newton-Rafson method for the solution of systems of equations. *Israel J. Math.* 1965. V. 3. P. 94–98.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. Kirkpatrick K.S., Gelatt C.D., Vecchi M.P. Optimization by simulated annealing. *Science.* 1983. V. 220. P. 671–680.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. Durranta J.D., McCammon J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. *J. Mol. Graph. Model.* 2011. V. 29. P. 888–893.
34. Анищенко И.В., Кашин И.А., Тузиков А.В., Андрианов А.М. Анализ энергии специфических взаимодействий гликолипидов – потенциальных анти-ВИЧ агентов – с петлей V3 белка gp120 оболочки вируса. *Доклады НАН Беларуси*. 2012. Т. 56. № 4. С.63–69.
35. 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.
36. Mahfoud R., Garmy N., Maresca M., Yahi N., Puigserver A., Fantini J. Identification of a common sphingolipid-binding domain in Alzheimer, prion, and HIV-1 proteins. *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 11292–11296.
37. Yahi N., Aulas A. and Fantini J. How Cholesterol Constrains Glycolipid Conformation for Optimal Recognition of Alzheimer's  $\beta$  Amyloid Peptide (A $\beta$ 1-40). *PLoS One*. 2010. V. 5. № 2. Article No. e9079.

38. de Parseval A., Bobardt M.D., Chatterji A., Chatterji U., Elder J.H., David G., Zolla-Pazner S., Farzan M., Lee T.H., Galloway P.A. A highly conserved arginine in gp120 governs HIV-1 binding to both syndecans and CCR5 via sulfated motifs. *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 39493–39504.
39. Wang W.K., Dudek T., Zhao Y.J., Brumblay H.G., Essex M., Lee T.H. CCR5 coreceptor utilization involves a highly conserved arginine residue of HIV type 1 gp120. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1998. V. 95. P. 5740–5745.
40. Ogert R.A., Lee M.K., Ross W., Buckler-White A., Martin M.A., Cho M.W. N-linked glycosylation sites adjacent to and within the V1/V2 and the V3 loops of dualtropic human immunodeficiency virus type 1 isolate DH12 gp120 affect coreceptor usage and cellular tropism. *J. Virol.* 2001. V. 75. P. 5998–6006.
41. McCaffrey R.A., Saunders C., Hensel M., Stamatatos L. N-linked glycosylation of the V3 loop and the immunologically silent face of gp120 protects human immunodeficiency virus type 1 SF162 from neutralization by anti-gp120 and anti-gp41 antibodies. *J. Virol.* 2004. V. 78. P. 3279–3295.
42. Teeraputon S., Louisirirojchanakul S., Auewarakul P. N-linked glycosylation in C2 region of HIV-1 envelope reduces sensitivity to neutralizing antibodies. *Viral Immunol.* 2005. V. 18. P. 343–353.
43. Li Y., Rey-Cuille M.A., Hu S.L. N-linked glycosylation in the V3 region of HIV type 1 surface antigen modulates coreceptor usage in viral infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2001. V. 17. P. 1473–1479.
44. Malenbaum S.E., Yang D., Cavacini L., Posner M., Robinson J., Cheng-Mayer C. The N-terminal V3 loop glycan modulates the interaction of clade A and B human immunodeficiency virus type 1 envelopes with CD4 and chemokine receptors. *J. Virol.* 2000. V. 74. P. 11008–11016.
45. Pollakis G., Kang S., Kliphuis A., Chalaby M. I., Goudsmit J., Paxton W.A. N-linked glycosylation of the HIV type-1 gp120 envelope glycoprotein as a major determinant of CCR5 and CXCR4 coreceptor utilization. *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 13433–13441.
46. Polzer S., Dittmar M.T., Schmitz H., Meyer B., Muller H., Krausslich H.G., Schreiber M. Loss of N-linked glycans in the V3-loop region of gp120 is correlated to an enhanced infectivity of HIV-1. *Glycobiology.* 2001. V. 11. P. 11–19.
47. 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.
48. 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.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
  54. 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.
  55. 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.
  56. 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.
  57. 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.
  58. Nehete P.N., Vela E.M., Hossain M.M., Sarkar A.K., Yahi N., Fantini J., Sastry K.J. A post-CD4-binding step involving interaction of the V3 region of viral gp120 with host cell surface glycosphingolipids is common to entry and infection by diverse HIV-1 strains. *Antiviral Res.* 2002. V. 56. P. 233–251.
  59. 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.
  60. Анищенко И.В., Тузиков А.В., Андрианов А.М. Компьютерный дизайн потенциальных лекарственных препаратов для терапии СПИДа:  $\beta$ -галактозилцерамид и петля V3 белка gp120 ВИЧ-1. *Математическая биология и биоинформатика.* 2011. Т. 6, № 2. С. 161–172.

Материал поступил в редакцию 11.03.2013, опубликован 17.06.2013.