

## **Применение стратегии перепрофилирования лекарств для виртуального скрининга потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих домен NHR белка gp41 оболочки вируса**

**Андрианов А.М.<sup>\*1</sup>, Лайков Я.В.<sup>2</sup>, Тузиков А.В.<sup>2</sup>**

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

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

**Аннотация.** С помощью стратегии перепрофилирования лекарств проведен компьютерный скрининг потенциальных ингибиторов домена NHR белка gp41 ВИЧ-1 – консервативного участка, критически важного для слияния мембран вируса и клетки-мишени и его инфективности. Использованный вычислительный подход включал (1) молекулярный докинг этого функционально значимого участка оболочки ВИЧ-1 с соединениями из библиотеки биологически активных молекул, содержащей одобренные для применения в клинике лекарства, экспериментальные препараты и исследуемые кандидаты в лекарственные средства; (2) оценку сродства соединений к терапевтической мишени; (3) моделирование молекулярной динамики комплексов лиганд/NHR-gp41; (4) расчеты свободной энергии образования комплексов с последующим анализом молекулярно-динамических траекторий и отбором соединений, перспективных для тестирования на анти-ВИЧ-1 активность. В результате проведенных расчетов идентифицированы шесть соединений, проявляющих высокое сродство к домену NHR белка gp41 ВИЧ-1 и обладающих приемлемыми фармакологическими свойствами. Предполагается, что найденные соединения формируют многообещающую основу для разработки новых, эффективных и безопасных противовирусных агентов широкого спектра действия, способных ингибировать проникновение ВИЧ-1 в клетку хозяина.

**Ключевые слова:** *ВИЧ-1, белок gp41, домен NHR, виртуальный скрининг, молекулярный докинг, молекулярная динамика, анти-ВИЧ препараты.*

### **ВВЕДЕНИЕ**

По состоянию на конец 2022 года число инфицированных ВИЧ-1 пациентов в мире составило около 39 миллионов человек, а от причин, связанных с ВИЧ-инфекцией, умерло более 630 000 человек и зарегистрировано 1.3 миллиона новых случаев заражения ВИЧ (<http://aidsinfo.unaids.org/>). При этом большая часть ВИЧ-инфекций приходилась на Азию, Африку и Южную Америку. Эти данные свидетельствуют о том, что проблема ВИЧ/СПИДа остается одним из главных вызовов глобальному общественному здравоохранению. Высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ), используемая в настоящее время для лечения ВИЧ-инфекции, значительно увеличила продолжительность жизни пациентов, улучшила качество их жизни, снизила заболеваемость и смертность от СПИДа и ассоциированных с ВИЧ-инфекцией состояний. Однако в настоящее время пациенты, как правило, проходят пожизненный

<sup>\*</sup>[alexande.andriano@yandex.ru](mailto:alexande.andriano@yandex.ru)

курс лечения несколькими терапевтическими препаратами, каждый из которых может вызывать серьезные побочные эффекты и развитие резистентности ВИЧ к этим противовирусным средствам. Очевидно, что это требует разработки новых, мощных и безопасных анти-ВИЧ агентов широкого спектра действия, способных остановить распространение эпидемии ВИЧ/СПИДа.

Гликопротеин оболочки ВИЧ-1 образует на поверхности мембраны тримерный “шип”, состоящий из трех копий нековалентно связанных гетеродимеров белков gp120 и gp41 [1, 2]. Проникновение ВИЧ-1 в клетки-мишени опосредуется тримерным комплексом гетеродимеров gp120/gp41 и включает два последовательных этапа [3–5]. На первом этапе поверхностная субъединица gp120 последовательно связывается с клеточным рецептором CD4 и корецептором CCR5 и/или CXCR4 [3–5]. Эти взаимодействия инициируют резкие структурные преобразования в трансмембранной субъединице gp41, приводящие к обнажению пептида слияния, его внедрению в клеточную мембрану и объединению гептадных повторов NHR и CHR в шести спиральный пучок 6-НВ, который соединяет мембраны в непосредственной близости для слияния и последующего проникновения вирусного генома в клетку хозяина [6–8]. Процесс проникновения ВИЧ-1 в клетку хозяина является одной из критически важных стадий жизненного цикла вируса и многообещающей мишенью для различных терапевтических стратегий, включая создание низкомолекулярных функциональных антагонистов проникновения вируса с широким спектром нейтрализующего действия [6, 9]. В отличие от других классов анти-ВИЧ препаратов, таких как ингибиторы обратной транскриптазы и протеазы, которые действуют после заражения, ингибиторы проникновения ВИЧ-1 блокируют вирус до того, как он проникнет в клетки-мишени [10, 11]. Преимущества таких соединений заключаются в том, что они способны препятствовать проникновению вируса в новые клетки-мишени, сокращать количество латентных резервуаров ВИЧ-1 и уменьшать скорость проникновения ВИЧ-1, обеспечивая большую чувствительность вируса к другим ингибиторам [10, 11].

В настоящее время в ВААРТ используются только четыре ингибитора проникновения ВИЧ-1 – ингибитор слияния энфувиртид (Т-20) [12], ингибитор прикрепления фостемсавир [13, 14], антагонист корецептора CCR5 маравирик [15] и ингибитор пост-прикрепления ибализумаб [16–18]. Основными недостатками энфувиртида – пептида из 36-ти остатков, который связывается с белком gp41 и препятствует слиянию мембран вируса и клетки-мишени, являются необходимость внутримышечных инъекций два раза в день и их высокая стоимость [10–12, 19]. В связи с этим, данный препарат используется только в терапевтических схемах “спасительной ВААРТ”. Ингибитор прикрепления фостемсавир взаимодействует с белком gp120 и используется для терапии ВИЧ-инфицированных пациентов с множественной лекарственной устойчивостью, имеющих ограниченные возможности лечения [13, 14, 19]. В отличие от энфувертида и фостемсавира, которые взаимодействуют с вирусной мишенью, маравирик воздействует на белок хозяина – хемокиновым корецептор CCR5, блокируя проникновение вируса в CD4+ Т-клетки, и поэтому рекомендуется только для лечения лиц, инфицированных CCR5-тропными штаммами ВИЧ-1 [10, 11, 15]. Как и маравирик, моноклональное антитело ибализумаб связывается с белком хозяина – доменом 2 первичного рецептора CD4, и позволяет ВИЧ-1 взаимодействовать с доменом 1 CD4, но предотвращает последующие шаги, необходимые для проникновения вируса в целевые клетки [16–19]. Следует, однако, отметить, что ингибиторы, нацеленные на белки хозяина, такие как маравирик и ибализумаб, могут влиять на нормальные физиологические функции клеток [20]. Кроме того, высокая стоимость производства препаратов на основе белковых молекул (ибализумаб и энфувертид), их хранения и введения только путем инъекций и вытекающие из этого препятствия на пути разработки лекарств также значительно ограничивают их использования в клинике [20]. Поэтому очень важными являются исследования по

разработке новых терапевтических стратегий, направленных на поиск эффективных анти-ВИЧ агентов широкого спектра действия, которые могут блокировать адсорбцию вируса на мембране клетки хозяина и/или клеточно-опосредованное слияние и проявлять приемлемые фармакокинетические и токсикологические параметры.

Одним из вариантов решения этой проблемы является перепрофилирование лекарственных средств, под которым понимается процесс определения новых терапевтических показаний для зарегистрированных ранее и доступных препаратов [21–23]. В настоящее время перепрофилирование лекарств рассматривается как эффективная стратегия в открытии или разработке лекарственных средств с новыми фармакологическими и терапевтическими показаниями [21–23]. Важную роль в этом процессе играют методы виртуального скрининга и молекулярного моделирования [21]. Так как профили безопасности одобренных для применения в клинике препаратов хорошо документированы, такой подход, сочетающий в себе структурный дизайн лекарств с методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования, может существенно облегчить и ускорить процесс обнаружения соединений с клиническим потенциалом с целью их перепрофилирования для лечения пациентов с другими тяжелыми заболеваниями [21–23].

Среди терапевтических мишеней тримерного комплекса гетеродимеров gp120/gp41, опосредующего проникновение ВИЧ-1 в клетку хозяина, особое внимание следует обратить на домен NHR белка gp41 ВИЧ-1, состоящий из трех повторяющихся спиралей и участвующий в образовании шести спирального пучка 6-НВ, критически важного для слияния мембран и инфективности вируса [6–8]. Этот функционально значимый домен ВИЧ-1 является высоко консервативным участком тримерного “шипа” вируса и поэтому формирует очень перспективную мишень для разработки новых эффективных противовирусных препаратов широкого спектра действия [6–8]. Актуальность таких разработок обусловлена тем, что на сегодняшний день в ВААРТ отсутствуют противовирусные средства, механизм действия которых основан на ингибировании домена NHR гликопротеина gp41 оболочки вируса.

В настоящей работе с помощью комплексного вычислительного подхода, основанного на стратегии перепрофилирования лекарств, проведен компьютерный скрининг виртуальной библиотеки биологически активных соединений, направленный на идентификацию потенциальных ингибиторов домена NHR белка gp41 ВИЧ-1. С этой целью были проведены исследования, которые включали следующие этапы:

1) Молекулярный докинг домена NHR белка gp41 ВИЧ-1 с соединениями из библиотеки биоактивных молекул, включающей одобренные Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) лекарства, экспериментальные препараты и исследуемые кандидаты в лекарственные средства [24, 25].

2) Оценку сродства соединений к терапевтической мишени с использованием трех оценочных функций и расчет для каждого соединения экспоненциального консенсусного ранга (ECR) [26] с последующим ранжированием молекул по значениям ECR.

3) Молекулярную динамику (МД) и расчеты свободной энергии связывания комплексов лиганд/NHR-gp41.

4) Анализ МД траекторий комплексов и отбор соединений, перспективных для тестирования на анти-ВИЧ активность.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Молекулярный докинг

Молекулярный докинг осуществляли с помощью вычислительного протокола, описанного ранее в работе [24]. Соединения из молекулярной библиотеки, включавшей

28 806 биоактивных молекул из химических баз данных DrugBank [27], ZINC15 [28] и Selleck Chemicals, были подготовлены к расчетам с использованием программных пакетов RDKit [29] и MGLTools (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>). Молекулярный докинг соединений с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1 проводили с помощью программы AutoDock Vina в приближении жесткого рецептора и гибких лигандов [30]. Структуру синтетического пептида N36, имитирующего домен NHR белка gp41, заимствовали из Банка данных белков (PDB ID 5YB3) [31]. Для протонирования остатков гистидина в гидрофобном кармане домена NHR использовали программный пакет H++, позволяющий рассчитывать величины рК для ионизируемых групп в макромолекулах и добавлять недостающие атомы водорода в соответствии с заданными значениями рН среды [32]. Ячейка для докинга включала гидрофобный карман домена NHR, блокирование которого способно предотвратить образование структурного мотива 6-НВ, и имела следующие размеры:  $\Delta X = 26 \text{ \AA}$ ,  $\Delta Y = 18 \text{ \AA}$ ,  $\Delta Z = 16 \text{ \AA}$  с центром при  $X = 42 \text{ \AA}$ ,  $Y = -9 \text{ \AA}$ ,  $Z = -20 \text{ \AA}$ . Параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), задавали равным 100.

После проведения молекулярного докинга с помощью оценочных функций (ОФ) AutoDock Vina [30], RFScore 4 [33] и NNScore 2.0 [34] рассчитывали значения свободной энергии образования комплексов лиганд/NHR-gp41, а затем определяли ранги молекул в соответствии с величинами каждой ОФ. На заключительном этапе полученные данные использовали для ранжирования лигандов по значениям ECR, которые вычисляли с помощью формулы, предложенной в работе [26]. В результате были отобраны 20 лучших соединений, комплексы которых с доменом NHR белка gp41 исследовали методами МД для выявления наиболее перспективных молекул-кандидатов в лекарственные средства, способных блокировать этот функционально важный участок оболочки вируса.

### Молекулярная динамика

Перед проведением МД расчетов все небелковые компоненты в структуре домена NHR белка gp41 (PDB ID 5YB3) были удалены, а лиганды протонированы при нейтральном значении рН с помощью программного пакета Marvin Sketch (<https://chemaxon.com/marvin>) [35]. Молекулярную динамику комплексов лиганд/NHR-gp41 выполняли в программном пакете Amber18 [36] с использованием силовых полей Amber ff14SB (белок) и GAFF (лиганды) согласно вычислительному протоколу, приведенному в работе [24]. Модули Antechamber и Reduce программного пакета AmberTools18 [36] применяли соответственно для задания парциальных зарядов атомов (модель AM1-BCC) и восстановления атомов водорода. Комплексы лиганд/NHR-gp41 помещали в октаэдрическую коробку, которую заполняли растворителем (модель воды TIP3PBOX 15.0), и добавляли ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  до значения ионной силы, равного 0.15 М. Систему минимизировали методами наискорейшего спуска (500 шагов) и сопряженных градиентов (500 шагов), нагревали от 0 до 300 К в течение 50 пс в рамках статистического ансамбля NVT и термостата Ланжевена, а затем уравнивали в течение 50 пс при давлении 1.0 атм (ансамбль NPT, баростат Берендсена). На заключительном шаге систему уравнивали в течение 0.5 нс при постоянном объеме и проводили молекулярную динамику длительностью 200 нс в изобарно-изотермических условиях при температуре 300 К и давлении 1 атм. Для фиксации длин связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE [37]. Максимальное расстояние, на котором учитывали электростатические взаимодействия, задавали равным 8.0  $\text{ \AA}$ . Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда [38].

Анализ МД траекторий выполняли с помощью программного модуля CPPTRAJ пакета AmberTools 18. Энтальпийную и энтропийную компоненты свободной энергии связывания рассчитывали в программном пакете Amber18 с использованием метода

MM/GBSA [39] и модуля Nmode соответственно. Расчеты выполняли для последних 150 комплексов, разделенных временным интервалом 1 нс. Для расчета полярной составляющей энергии сольватации использовали модель растворителя Борна с ионной силой 0.15 М. неполярные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю.

В качестве позитивного контроля в расчетах использовали низкомолекулярное соединение FD001 (фуранил/метилен роданин) – ингибитор слияния оболочечных вирусов [40], который блокирует образование структурного мотива 6-НВ путем взаимодействия с доменом NHR гликопротеина gp41 ВИЧ-1 [41].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Совместный анализ данных молекулярного докинга и МД позволил выявить 6 соединений (рис. 1), для которых значения свободной энергии связывания с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1 оказались ниже, чем полученные с использованием идентичных вычислительных протоколов для контрольной молекулы FD001 (табл. 1–2; рис. 2) анти-ВИЧ-1 агента, обладающего широким спектром противовирусной активности.

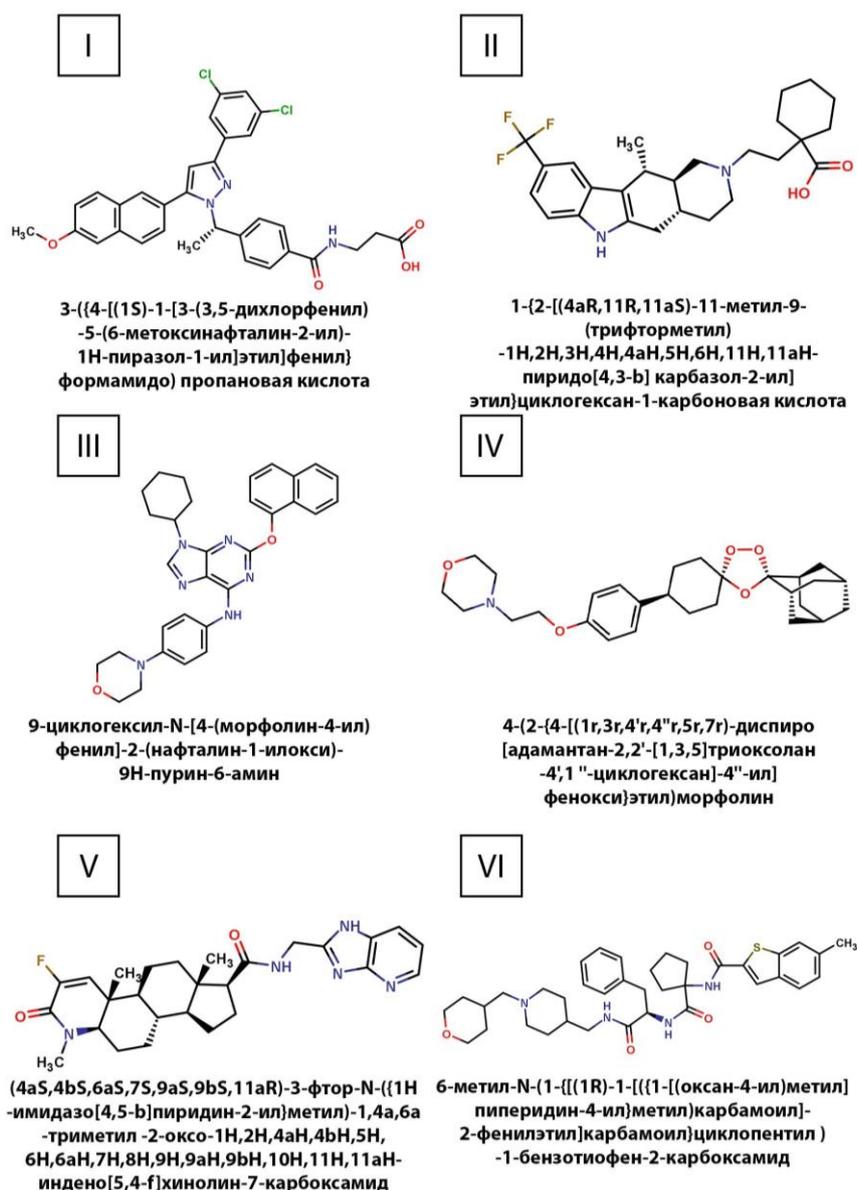


Рис. 1. Химические структуры идентифицированных соединений. Приведены названия соединений согласно систематической номенклатуре IUPAC.

**Таблица 1.** Значения свободной энергии связывания  $\Delta G$  для статических моделей комплексов идентифицированных соединений и контрольного ингибитора FD001 с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1, рассчитанные с помощью ОФ Vina, RFScore 4 и NNScore 2.0

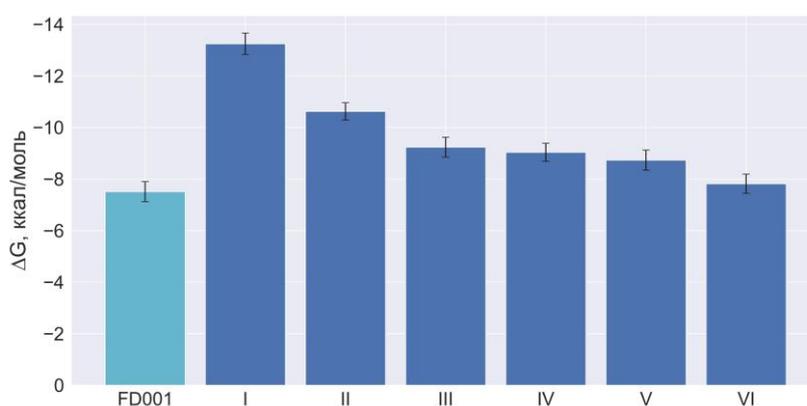
Лиганд	$\Delta G_{\text{VINA}}$ , ккал/моль	$\Delta G_{\text{RFScore 4}}$ , ккал/моль	$\Delta G_{\text{NNScore 2.0}}$ , ккал/моль
I	-8.5	-9.5	-11.8
II	-8.6	-9.2	-11.9
III	-8.6	-9.3	-11.5
IV	-8.4	-9.4	-11.8
V	-8.5	-9.4	-11.6
VI	-8.4	-9.5	-12.5
FD001	-7.7	-8.7	-7.8

Примечание: Значения констант диссоциации комплексов лиганд/NHR-gp41, рассчитанные с помощью ОФ RFScore-4 и NNScore 2.0, были преобразованы в значения  $\Delta G$  по формуле  $\Delta G = R \times T \times \ln(Kd)$  (где  $\Delta G$  – свободная энергия связывания,  $R$  – универсальная газовая постоянная,  $T$  – абсолютная температура, равная 310 К).

**Таблица 2.** Средние значения свободной энергии связывания  $\langle \Delta G \rangle$  и соответствующие им стандартные отклонения  $\Delta G_{\text{STD}}$ , рассчитанные для динамических моделей комплексов идентифицированных соединений и контрольного ингибитора FD001 с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1

Лиганд	$\langle \Delta H \rangle$ , ккал/моль	$\Delta H_{\text{STD}}$ , ккал/моль	$\langle T\Delta S \rangle$ , ккал/моль	$(T\Delta S)_{\text{STD}}$ , ккал/моль	$\langle \Delta G \rangle$ , ккал/моль	$\Delta G_{\text{STD}}$ , ккал/моль
I	-37.6	6.3	-24.3	3.9	-13.2	5.1
II	-30.7	3.4	-20.1	3	-10.6	4.1
III	-32	4.5	-22.8	2.8	-9.2	4.7
IV	-30.3	4.1	-21.3	2.5	-9	4.3
V	-30.2	4.1	-21.5	2.6	-8.7	4.8
VI	-29.9	3.9	-22.1	2.9	-7.8	4.6
FD001	-30	4.2	-22.5	3.1	-7.5	4.7

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



**Рис. 2.** Средние значения свободной энергии связывания  $\Delta G$ , рассчитанные для идентифицированных соединений и контрольного ингибитора FD001 в комплексах с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1. Значения  $\Delta G_{\text{SEM}}$  обозначены вертикальными линиями.

В таблице 3 приведены физико-химические параметры идентифицированных соединений, традиционно используемые в скрининге наиболее вероятных кандидатов в лекарственные средства для предсказания с помощью “правила пяти” Липинского лигандов с высоким потенциалом биодоступности при пероральном введении [42]. Из анализа данных таблицы 3 следует, что соединения II, IV и V полностью согласуются с “правилом пяти”, согласно которому потенциальное лекарство должно иметь молекулярную массу меньше 500 Да, липофильность (LogP – коэффициент распределения на границе октанол/вода) меньше пяти и число потенциальных доноров и акцепторов водородной связи меньше пяти и десяти соответственно [42]. В то же время у лигандов I, III и VI обнаруживается лишь одно нарушение этого правила, связанное с превышением их молекулярной массы, что позволяет предположить, что эти соединения также обладают лекарственными свойствами [42]. Кроме того, результаты расчетов логарифма молярной растворимости соединений в воде LogS, числа вращающихся связей N и топологической площади полярной поверхности TPSA (табл. 4), которые являются важными характеристиками, влияющими на оральную биодоступность кандидатов в лекарства [43], предсказывают, что эти молекулы обладают приемлемыми фармакокинетическими характеристиками. Об этом свидетельствуют значения параметров LogS, N и TPSA [43], рассчитанные с помощью программного обеспечения веб-сервера SwissADME [44] (табл. 4).

**Таблица 3.** Физико-химические параметры идентифицированных соединений – потенциальных ингибиторов домена NHR белка gp41 ВИЧ-1

Лиганд	Химическая формула	Молекулярная масса (Да)	LogP	Число доноров водородной связи	Число акцепторов водородной связи
I (МК-0893)	C <sub>32</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	588.48	4.49	2	5
II (Авакопан)	C <sub>26</sub> H <sub>33</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	462.55	4.66	2	6
III (Пурморфамин)	C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	520.62	3.71	1	5
IV (Артефеномель)	C <sub>28</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>5</sub>	469.61	3.92	0	6
V (МК-0773)	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> FN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	479.59	4.01	2	5
VI (Ибодутант)	C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	644.87	3.23	3	5

Примечание: приведенные данные получены с помощью веб-сервера SwissADME (<http://www.swissadme.ch>).

**Таблица 4.** Данные о молярной растворимости в воде, доступной для растворителя площади поверхности и топологической площади полярной поверхности, предсказанные для идентифицированных соединений с помощью веб-сервера SwissADME

Лиганд	Молярная растворимость в воде LogS	Число вращающихся связей N	Топологическая площадь полярной поверхности TPSA, Å <sup>2</sup>
I (МК-0893)	-7.60	10	93.45
II (Авакопан)	-4.99	5	56.33
III (Пурморфамин)	-7.24	6	77.33
IV (Артефеномель)	-5.46	6	49.39
V (МК-0773)	-5.32	4	90.98
VI (Ибодутант)	-6.96	14	128.01

В таблице 5 и на рисунке 3 приведена информация о межмолекулярных взаимодействиях, идентифицированных в комплексах отобранных соединений с сайтом связывания домена NHR белка gp41 ВИЧ-1 на основе данных молекулярного докинга с помощью программы BINANA [45]. Анализ этих данных показывает, что основной вклад в энергетическую стабилизацию комплексов лиганд/NHR-gp41 вносят ван-дер-ваальсовы взаимодействия, на долю которых приходится большое число прямых межатомных контактов с аминокислотными остатками домена NHR (табл. 5, рис. 3). Наряду с ван-дер-ваальсовыми силами важную роль в связывании играют также водородные связи (соединения I, IV, V), солевые мостики (соединение II) и Т-стэкинг-взаимодействия (соединения I и VI) (табл. 5, рис. 3).

**Таблица 5.** Межмолекулярные взаимодействия, идентифицированные в структурных комплексах найденных соединений с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1

Лиганд	Водородные связи <sup>1,2</sup>	Ван-дер-ваальсовы контакты <sup>1,3</sup>	Т-стэкинг <sup>1,4</sup>	Солевые мостики <sup>1,5</sup>
I	A: O <sup>1</sup> ...**HN[R68] B: N <sup>3</sup> H...*O[K63]	A: W60(6), Q64(4), L65(3), G61(1), R68(1), B: Q66(10), K63(9), L70(3), A67(2), I62(1), V59(1)	A: W60	–
II	–	A: W60(6), Q64(3), G61(2), L65(2), R68(2), T58(2), L57(1), B: I62(5), V59(5), L70(4), Q66(3), K63(2)	–	B: K63
III	–	A: L57(5), W60(4), T58(2), Q64(1), B: K63(15), V59(5), L70(3), Q66(2), I62(2), A67(1)	–	–
IV	A: O <sup>4</sup> ...**HN[R68]	A: W60(8), T58(3), Q64(3), L65(2), G61(1), L57(1), R68(1), B: I62(5), V59(4), L70(4), K63(3), Q66(2)	–	–
V	A: N <sup>5</sup> ...**HN[R68]	A: W60(3), L57(3), L54(3), Q64(2), G61(1), B: V59(2), Q66(2), K63(1), I62(1), L70(1)	–	–
VI	–	A: T58(5), W60(5), L57(4), Q64(2), L65(2), G61(1), B: K63(6), I62(3), V59(3), Q66(3), L70(3), A67(1)	A: W60(2)	–

Примечания:

<sup>1</sup>A, B – спирали домена NHR согласно их обозначениям в кристаллической структуре пептида N36 (PDB ID 5YB3) [31].

<sup>2</sup>Первыми приведены доноры/акцепторы водородной связи лигандов, а затем соответствующие атомы и функциональные группы домена NHR белка gp41. Аминокислотные остатки NHR представлены в скобках в однобуквенном коде. Нумерация остатков соответствует их положению в аминокислотной последовательности пептида N36. Символ \* обозначает атомы основной цепи, а символ \*\* – атомы боковой цепи.

<sup>3</sup>Аминокислотные остатки, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с лигандами. Количество контактов указано в круглых скобках.

<sup>4</sup>Остатки, образующие Т-стэкинг с лигандами.

<sup>5</sup>Аминокислотные остатки, формирующие солевой мостик.

Предположения о стабильности комплексов лиганд/NHR-gp41, вытекающие из данных о свободной энергии связывания (табл. 1 и 2) и профиля межмолекулярных взаимодействий (табл. 5 и рис. 3), подтверждают результаты анализа их МД траекторий, свидетельствующие о том, что эти комплексы не подвергаются значительным структурным перестройкам с течением времени. Этот вывод согласуется со значениями среднеквадратичных отклонений (RMSD, Root-Mean-Square Deviations) координат атомов между динамическими структурами комплексов и их исходными

статическими моделями, которые близки к величинам, рассчитанным для контрольного ингибитора FD001 и домена NHR в свободном состоянии (рис. 4).

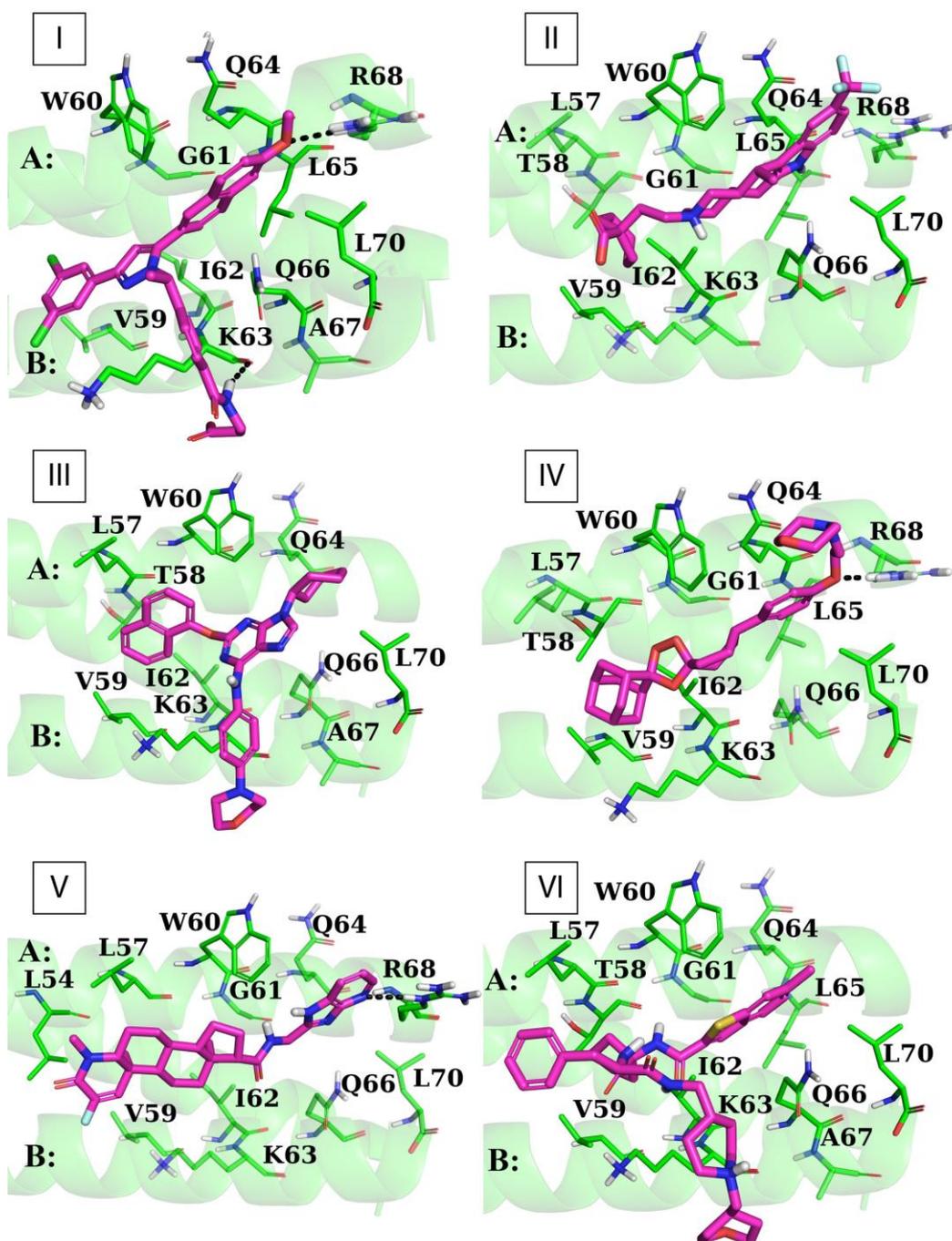
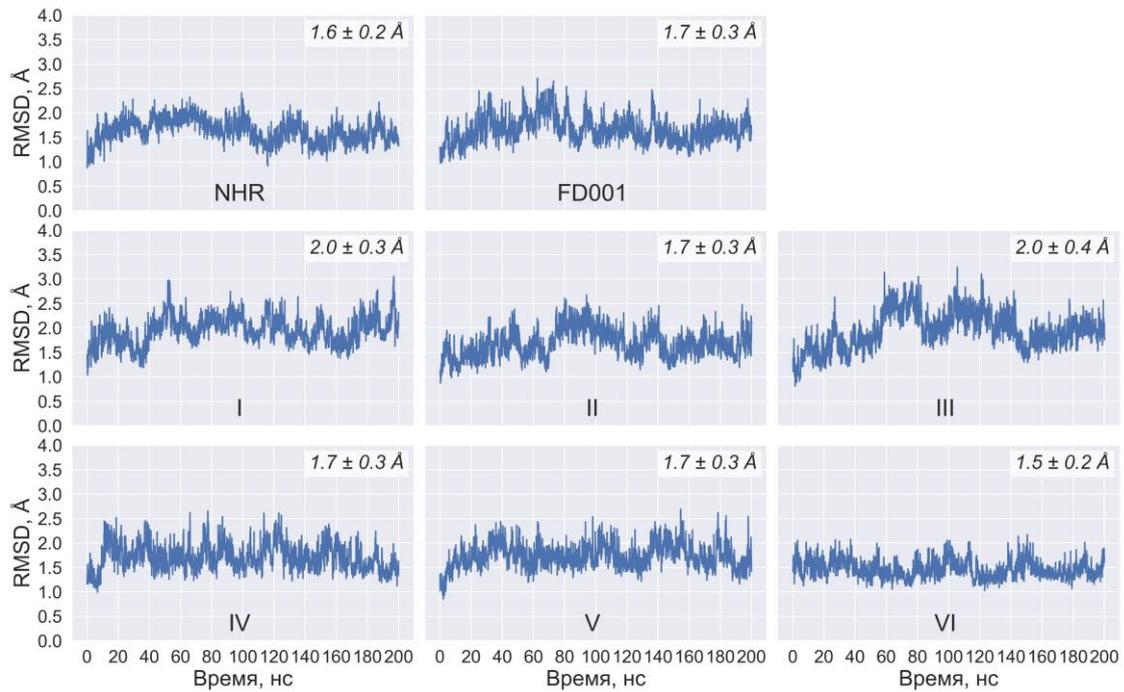
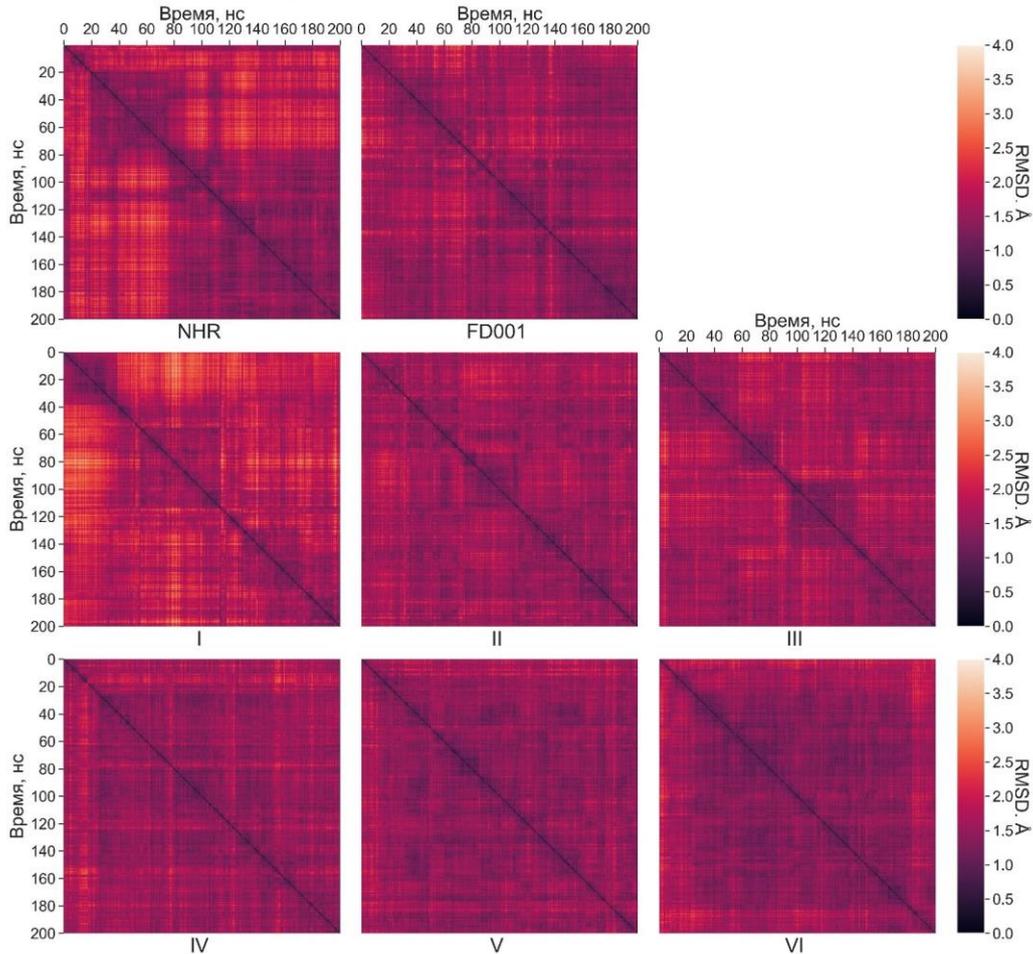


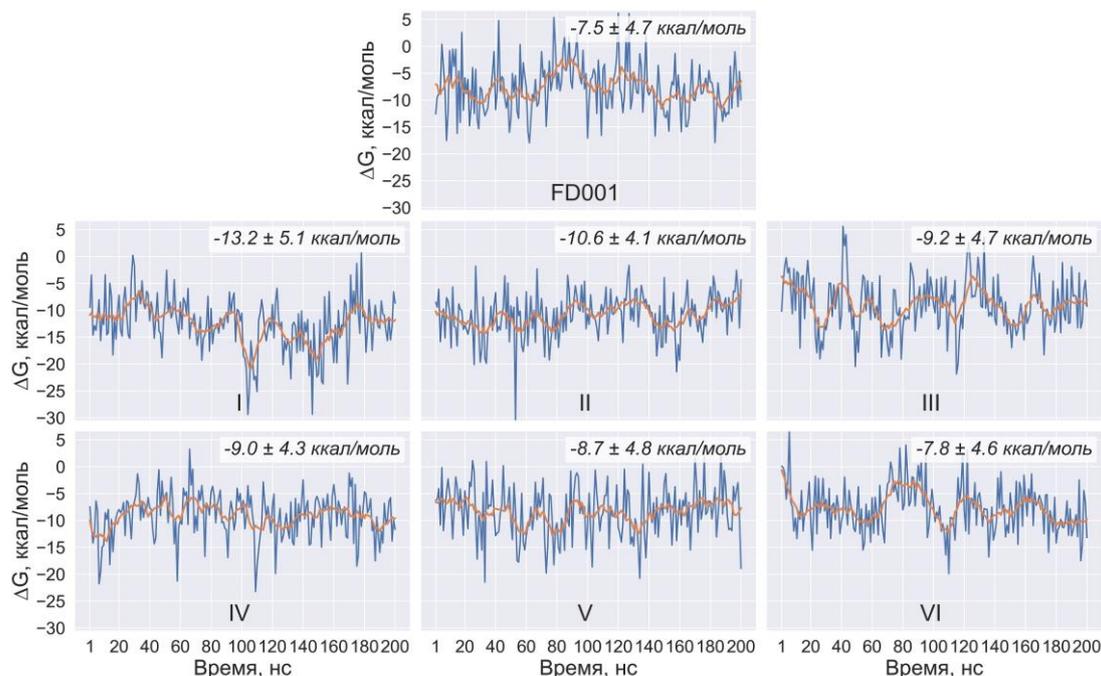
Рис. 3. Комплексы соединений I–VI с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1 согласно данным молекулярного докинга. Приведены остатки домена NHR, участвующие в межмолекулярных взаимодействиях с лигандами. Водородные связи показаны черными пунктирными линиями.



**Рис. 4.** Временные зависимости значений RMSD (Å), рассчитанных между динамическими и стартовыми структурами комплексов лиганд/NHR-gp41. В правом верхнем углу указаны средние значения RMSD и соответствующие стандартные отклонения.



**Рис. 5.** Тепловые карты RMSD, полученные для комплексов лиганд/NHR-gp41 и домена NHR в свободном состоянии в разное время моделирования МД. Значения RMSD рассчитывали для атомов основной цепи NHR. Время измеряется по осям абсцисс и ординат. Значение RMSD между структурами комплексов в моменты времени  $t_1$  и  $t_2$  находится на пересечении значений  $t_1$  по оси абсцисс и  $t_2$  по оси ординат.



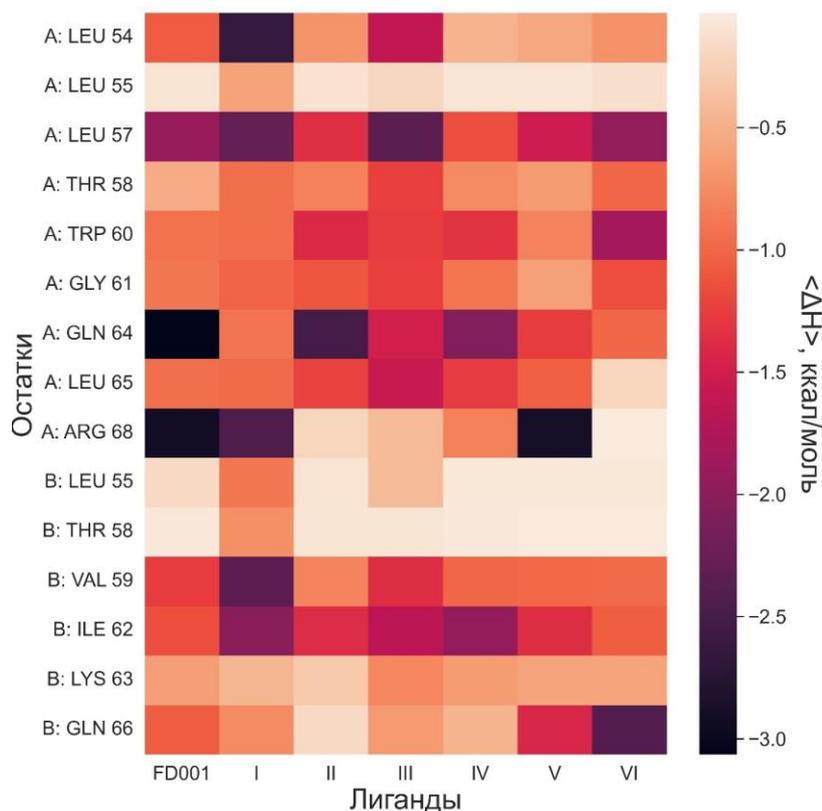
**Рис. 6.** Зависимости свободных энергий связывания для комплексов идентифицированных соединений и контрольного ингибитора FD001 с доменом NHR от времени. На графике оранжевая линия показывает простое скользящее среднее с размером окна 20 нс. В правом верхнем углу указаны средние значения свободных энергий связывания и соответствующие им стандартные отклонения, рассчитанные для последних 150 нс МД траекторий.

На стабильность комплексов лиганд/NHR-gr41 указывают также данные, полученные с помощью анализа парных тепловых карт RMSD (рис. 5), которые позволяют оценивать по всей МД траектории сходства и различия между динамическими структурами в терминах RMSD. Кроме того, дополнительным подтверждением устойчивости комплексов на МД траекториях являются данные о временных зависимостях значений свободной энергии связывания, которые, как и в случае с контрольным ингибитором FD001, не проявляют тенденции к увеличению в исследованном временном интервале (рис. 6).

Анализ вкладов индивидуальных аминокислотных остатков белка gr41 в энтальпийную компоненту свободной энергии Гиббса показал (табл. 6, рис. 7), что важная роль в образовании комплексов лиганд/NHR-gr41 принадлежит остаткам Leu-57, Trp-60, Gln-64, и Arg-68 спирали А домена NHR, а также Val-59 и Pe-62 спирали В, которые формируют “горячие точки” связывания, обеспечивающие процесс узнавания лигандами гидрофобного кармана молекулярной мишени и их эффективные взаимодействия. Примечательно, что именно эти аминокислотные остатки домена NHR, позволяющие стабилизировать положения идентифицированных молекул в сайте связывания белка gr41, использует контрольный ингибитор проникновения ВИЧ-1 FD001 (табл. 6, рис. 7).

Расчет среднеквадратических колебаний (RMSF, Root-Mean-Square Fluctuation) отдельных остатков домена NHR, определяющих средние отклонения положений атомов с течением времени, показывает, что большинство его остатков пространственно ограничены на МД траекториях. Анализ диаграммы RMSF (рис. 8) свидетельствует о небольших структурных флуктуациях остатков как в комплексах с соединениями I–VI, так и в свободном состоянии. Средние значения RMSF для домена NHR в связанном и свободном состоянии примерно одинаковы и варьируют от 0.85 Å до 1.21 Å. Исключение составляют остатки N- и C-концевых сегментов домена, демонстрирующие значительные колебания (рис. 8), что объясняется их естественной

конформационной подвижностью. Важно отметить, что остатки домена NHR, доминирующие во взаимодействии лиганд–NHR-gp41, также демонстрируют небольшие внутренние движения (табл. 7), что согласуется с данными об их значительном вкладе в энергию связывания (табл. 6). Для этих критически важных остатков значения RMSF составляют менее 1.4 Å (табл. 7). При этом значения RMSF, рассчитанные для остатков NHR, образующих «горячие точки» связывания с ингибитором FD001 (табл. 6), близки к величинам, полученным для идентифицированных соединений, что подтверждает их ключевую роль в образовании комплексов лиганд/NHR-gp41.



**Рис. 7.** Тепловые карты энтальпии связывания аминокислотных остатков домена NHR белка gp41 в комплексах с предсказанными соединениями. Вертикальная колонка справа показывает вклад остатков NHR в свободную энергию образования комплексов. Оттенками цвета указаны средние значения энтальпии связывания (чем темнее цвет, тем ниже величина энтальпийной компоненты свободной энергии Гиббса).

Таким образом, полученные с помощью методов молекулярного моделирования данные об энергии связывания обнаруженных соединений с доменом NHR белка gp41 ВИЧ-1 свидетельствуют о высоком потенциале их ингибиторной активности. Как упоминалось выше, эти соединения были обнаружены в библиотеке биоактивных молекул, которые используются в медицинской практике или находятся на различных стадиях клинических испытаний и лабораторных исследований. В частности, соединение I – МК 0893 – является мощным и селективным антагонистом рецепторов глюкагона и использовалось в исследованиях по лечению сахарного диабета 2 типа [46], а соединение II – Авакопан – является одобренным FDA лекарственным препаратом и представляет собой пероральный биодоступный антагонист рецептора комплемента 5a (C5aR) для лечения тяжелого васкулита, связанного с антинейтрофильными цитоплазматическими (ауто)антителами [47, 48]. Остальные соединения имеют на сегодняшний день статус кандидатов в лекарственные средства и проходят доклинические (соединение III) [49] и клинические (соединения IV–VI) [50–52] испытания. Поскольку терапевтический потенциал найденных соединений известен

или исследуется в настоящее время, они могут быть использованы в качестве базовых соединений для разработки в ближайшем будущем новых, эффективных и безопасных противовирусных средств, способных связываться с доменом NHR белка gp41 оболочки ВИЧ-1 и блокировать его проникновение в клетку хозяина.

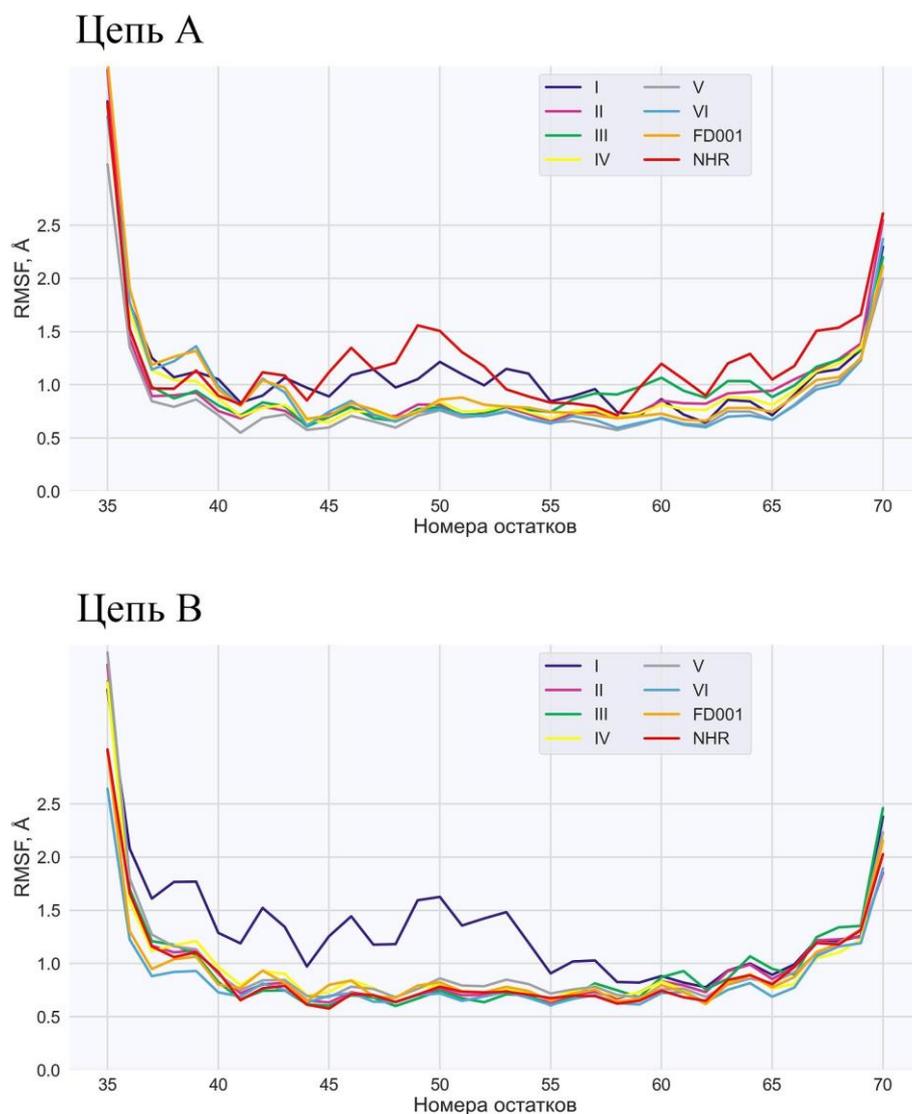
**Таблица 6.** Средние значения и стандартные отклонения энтальпии связывания для индивидуальных аминокислотных остатков домена NHR белка gp41 ВИЧ-1 в комплексах с соединениями I–VI и контрольным ингибитором FD001

Остаток	Лиганд						
	FD001	I	II	III	IV	V	VI
	Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль)						
A: Leu-54	-1.1 ± 0.5	-2.6 ± 0.5	-0.7 ± 0.3	-1.6 ± 0.5	–	-0.5 ± 0.3	-0.7 ± 0.3
A: Leu-55	–	-0.6 ± 0.2	–	–	–	–	–
<b>A: Leu-57</b>	<b>-1.9 ± 0.7</b>	<b>-2.3 ± 0.6</b>	<b>-1.4 ± 0.4</b>	<b>-2.3 ± 0.6</b>	<b>-1.2 ± 0.4</b>	<b>-1.5 ± 0.6</b>	<b>-1.9 ± 0.6</b>
A: Thr-58	-0.5 ± 0.4	-0.9 ± 0.4	-0.8 ± 0.3	-1.2 ± 0.6	-0.8 ± 0.3	-0.6 ± 0.3	-1.0 ± 0.3
<b>A: Trp-60</b>	<b>-0.9 ± 0.3</b>	<b>-1.0 ± 0.4</b>	<b>-1.4 ± 0.4</b>	<b>-1.3 ± 0.7</b>	<b>-1.3 ± 0.3</b>	<b>-0.8 ± 0.4</b>	<b>-1.8 ± 0.8</b>
A: Gly-61	-0.9 ± 0.3	-1.0 ± 0.3	-1.1 ± 0.3	-1.2 ± 0.5	-0.9 ± 0.3	-0.6 ± 0.3	-1.1 ± 0.3
<b>A: Gln-64</b>	<b>-3.1 ± 1.3</b>	<b>-0.9 ± 1.1</b>	<b>-2.5 ± 0.6</b>	<b>-1.5 ± 0.9</b>	<b>-2.1 ± 0.5</b>	<b>-1.3 ± 0.8</b>	<b>-1.0 ± 0.5</b>
A: Leu-65	-1.0 ± 0.3	-1.0 ± 0.3	-1.2 ± 0.3	-1.6 ± 0.8	-1.3 ± 0.3	-1.0 ± 0.4	–
<b>A: Arg-68</b>	<b>-2.9 ± 2.0</b>	<b>-2.4 ± 3.3</b>	–	–	<b>-0.8 ± 1.1</b>	<b>-2.9 ± 2.0</b>	–
B: Leu-55	–	-0.9 ± 0.3	–	–	–	–	–
B: Thr-58	–	-0.7 ± 0.3	–	–	–	–	–
<b>B: Val-59</b>	<b>-1.3 ± 0.6</b>	<b>-2.3 ± 0.6</b>	<b>-0.8 ± 0.3</b>	<b>-1.4 ± 0.5</b>	<b>-1.0 ± 0.3</b>	<b>-1.0 ± 0.5</b>	<b>-1.0 ± 0.3</b>
<b>B: Ile-62</b>	<b>-1.2 ± 0.5</b>	<b>-2.0 ± 0.5</b>	<b>-1.4 ± 0.5</b>	<b>-1.7 ± 0.6</b>	<b>-1.9 ± 0.5</b>	<b>-1.4 ± 0.4</b>	<b>-1.1 ± 0.3</b>
B: Lys-63	-0.6 ± 0.8	–	–	-0.8 ± 0.7	-0.6 ± 0.6	-0.6 ± 0.6	-0.6 ± 0.8
B: Gln-66	-1.1 ± 0.7	-0.8 ± 1.4	–	-0.7 ± 0.6	–	-1.4 ± 1.2	-2.4 ± 0.8

Примечание: Приведены данные для остатков домена NHR белка gp41 с энтальпией ≤ -0.5 ккал/моль. Жирным шрифтом выделены остатки, вносящие значительный вклад в энтальпию связывания.

**Таблица 7.** Значения RMSF, рассчитанные для аминокислотных остатков домена NHR белка gp41, образующих “горячие точки” связывания с соединениями I–VI и контрольным ингибитором FD001

Остаток	Лиганд						
	I	II	III	IV	V	VI	FD001
	Значения RMSF (Å)						
A: Leu-57	0.6	0.6	0.7	0.9	0.7	0.7	0.7
A: Trp-60	0.6	0.6	0.8	0.9	0.8	0.7	0.7
A: Gln-64	0.7	0.7	0.8	0.9	0.9	0.7	0.7
A: Arg-68	1.2	1.3	1.4	1.3	1.4	1.3	1.2
B: Val-59	0.7	0.8	0.8	0.9	0.8	0.9	0.8
B: Ile-62	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	0.8



**Рис. 8.** Значения RMSF (Å) для каждого остатка аминокислотной последовательности цепей А и В домена NHR белка gp41. Используются следующие обозначения: синяя, фиолетовая, зеленая, желтая, серая и голубая линии – домен NHR в комплексах с соединениями I, II, III, IV, V и VI соответственно; оранжевая линия – домен NHR в комплексе с ингибитором FD001; красная линия – домену NHR в свободном состоянии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании с помощью методов молекулярного докинга и молекулярной динамики проведен виртуальный скрининг 28 806 биологически активных молекул, направленный на идентификацию потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1, способных блокировать образование структурного мотива 6-НВ, играющего важную роль в слиянии мембран и инфективности вируса. На основе полученных данных в качестве наиболее перспективных молекул-кандидатов идентифицированы шесть соединений, обладающих высоким сродством к домену NHR белка gp41 ВИЧ-1, что подтверждают низкие значения свободной энергии связывания, RMSD и RMSF, свидетельствующие о высоком потенциале их ингибиторной активности. Полученные данные позволяют предполагать, что найденные соединения образуют многообещающую основу для разработки новых противовирусных агентов

широкого спектра действия, обладающих приемлемыми фармакологическими свойствами и активностью против функционально значимого участка оболочки вируса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственной программы научных исследований «Конвергенция-2025» Республики Беларусь (задание 3.04.1).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lyumkis D., Julien J.-P., de Val N., Cupo A., Potter C.S., Klasse P.-J., Burton D.R., Sanders R.W., Moore J.P., Carragher B., Wilson I.A., Ward A.B. Cryo-EM structure of a fully glycosylated soluble cleaved HIV-1 envelope trimer. *Science*. 2013. V. 342. P. 1484–1490. doi: [10.1126/science.1245627](https://doi.org/10.1126/science.1245627)
2. Julien J.-P., Cupo A., Sok D., Stanfield R.L., Lyumkis D., Deller M.C., Klasse P.J., Burton D.R., Sanders R.W., Moore J.P., Ward A.W., Wilson I.A. Crystal structure of a soluble cleaved HIV-1 envelope trimer. *Science*. 2013. V. 342. P. 1477–1483. doi: [10.1126/science.1245625](https://doi.org/10.1126/science.1245625)
3. Cocchi F., DeVico A.L., Garzino-Demo A., Cara A., Gallo R.C., Lusso P. The V3 domain of the HIV-1 gp120 envelope glycoprotein is critical for chemokine-mediated blockade of infection. *Nat. Med.* 1996. V. 2. P. 1244–1247. doi: [10.1038/nm1196-1244](https://doi.org/10.1038/nm1196-1244)
4. Feng Y., Broder C.C., Kennedy P.E., Berger E.A. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*. 1996. V. 272. P. 872–877. doi: [10.1126/science.272.5263.872](https://doi.org/10.1126/science.272.5263.872)
5. Wilen C.B., Tilton J.C., Doms R.W. HIV: Cell binding and entry. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. a006866. doi: [10.1101/cshperspect.a006866](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006866)
6. Chan D.C., Fass D., Berger J.M., Kim P.S. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell*. 1997. V. 89. № 2. P. 263–273. doi: [10.1016/s0092-8674\(00\)80205-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80205-6)
7. Weissenhorn W., Dessen A., Harrison S.C., Skehel J.J., Wiley D.C. Atomic structure of the ectodomain from HIV-1 gp41. *Nature*. 1997. V. 387. № 6631. P. 426–430. doi: [10.1038/387426a0](https://doi.org/10.1038/387426a0)
8. Tan K., Liu J., Wang J., Shen S., Liu M. Atomic structure of a thermostable subdomain of HIV-1 gp41. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. № 23. P. 12303–12308. doi: [10.1073/pnas.94.23.12303](https://doi.org/10.1073/pnas.94.23.12303)
9. Chan D.C., Chutkowski C.T., Kim P.S. Evidence that a prominent cavity in the coiled coil of HIV type 1 gp41 is an attractive drug target. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. № 26. P. 15613–15617. doi: [10.1073/pnas.95.26.15613](https://doi.org/10.1073/pnas.95.26.15613)
10. Arts E.J., Hazuda D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. doi: [10.1101/cshperspect.a007161](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007161)
11. Kumari G., Singh R.K. Highly active antiretroviral therapy for treatment of HIV/AIDS patients: current status and future prospects and the Indian scenario. *HIV & AIDS Rev.* 2012. V. 11. P. 5–14. doi: [10.1016/J.HIVAR.2012.02.003](https://doi.org/10.1016/J.HIVAR.2012.02.003)
12. Matthews T., Salgo M., Greenberg M., Chung J., DeMasi R., Bolognesi D. Enfuvirtide: The first therapy to inhibit the entry of HIV-1 into host CD4 lymphocytes. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2004. V. 3. P. 215–225. doi: [10.1038/nrd1331](https://doi.org/10.1038/nrd1331)
13. Kozal M., Aberg J., Pialoux G., Cahn P., Thompson M., Molina J.-M., Grinsztejn B., Diaz R., Castagna A., Kumar P., Latiff G., DeJesus E., et al., for the BRIGHT Trial Team. Fostemsavir in adults with multidrug-resistant HIV-1 infection. *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382. P. 1232–1243. doi: [10.1056/NEJMoa1902493](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1902493)
14. Chahine E.B. Fostemsavir: The first oral attachment inhibitor for treatment of HIV-1 infection. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2021. V. 78. № 5. P. 376–388. doi: [10.1093/ajhp/zxaa416](https://doi.org/10.1093/ajhp/zxaa416)
15. MacArthur R.D., Novak R.M. Maraviroc: The first of a new class of antiretroviral agents. *Clin. Infect. Dis.* 2008. V. 47. P. 236–241. doi: [10.1086/589289](https://doi.org/10.1086/589289)

16. Bettiker R.L., Koren D.E., Jacobson J.M. Ibalizumab. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2018. V. 13. № 4. P. 354–358. doi: [10.1097/COH.0000000000000473](https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000473)
17. Rizza S.A., Bhatia R., Zeuli J., Temesgen Z. Ibalizumab for the treatment of multidrug-resistant HIV-1 infection. *Drugs Today (Barc)*. 2019. V. 55. № 1. P. 25–34. doi: [10.1358/dot.2019.55.1.2895651](https://doi.org/10.1358/dot.2019.55.1.2895651)
18. Blair H.A. Ibalizumab: A Review in multidrug-resistant HIV-1 infection. *Drugs*. 2020. V. 80. № 2. P. 189–196. doi: [10.1007/s40265-020-01258-3](https://doi.org/10.1007/s40265-020-01258-3)
19. Lai Y.-T. Small molecule HIV-1 attachment inhibitors: Discovery, mode of action and structural basis of inhibition. *Viruses*. 2021. V. 13. P. 843. doi: [10.3390/v13050843](https://doi.org/10.3390/v13050843)
20. Jiang S., Tuzikov A.V., Andrianov A.M. Small-molecule HIV-1 entry inhibitors targeting the epitopes of broadly neutralizing antibodies. *Cell Chem. Biol.* 2022. V. 29. № 5. P. 757–773. doi: [10.1016/j.chembiol.2022.03.009](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2022.03.009)
21. Park K. A review of computational drug repurposing. *Transl. Clin. Pharmacol.* 2019. V. 27. № 2. P. 59–63. doi: [10.12793/tcp.2019.27.2.59](https://doi.org/10.12793/tcp.2019.27.2.59)
22. Pushpakom S., Iorio F., Eyers P.A., Escott K.J., Hopper S., Wells A., Doig A., Guilliams T., Latimer J., McNamee C., Norris A., Sanseau P., Cavalla D., Pirmohamed M. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2019. V. 18. № 1. P. 41–58. doi: [10.1038/nrd.2018.168](https://doi.org/10.1038/nrd.2018.168)
23. Zhan P., Yu B., Ouyang L. Drug repurposing: An effective strategy to accelerate contemporary drug discovery. *Drug Discov. Today*. 2022. V. 27. № 7. 1785–1788. doi: [10.1016/j.drudis.2022.05.026](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.05.026)
24. Андрианов А.М., Фурс К.В., Гончар А.В., Асланян Л.А., Тузиков А.В. Применение технологий виртуального скрининга и молекулярного моделирования для идентификации потенциальных ингибиторов основной протеазы коронавируса SARS-CoV-2. *Мат. биол. и биоинф.* 2023. Т. 18. № 1. С. 15–32. doi: [10.17537/2023.18.15](https://doi.org/10.17537/2023.18.15)
25. Fanke J., Andrianov A., Wang L., Furs K, Gonchar A., Wang Q., Xu W., Lu L., Xia S., Tuzikov A., Jiang S. Repurposing Navitoclax to block SARS-CoV-2 fusion and entry by targeting heptapeptide repeat sequence 1 in S2 protein. *J. Med. Virol.* 2023. V. 95. № 10. P. e29145. doi: [10.1002/jmv.29145](https://doi.org/10.1002/jmv.29145)
26. Palacio-Rodríguez K., Lans I., Cavasotto C.N., Cossio P. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking. *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. Article No. 5142. doi: [10.1038/s41598-019-41594-3](https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3)
27. Wishart D.S., Feunang Y.D., Guo A.C., Lo E.J., Marcu A., Grant J.R., Sajed T., Johnson D., Li C., Sayeeda Z., Assempour N., Iynkkaran I., Liu Y., Maciejewski A., Gale N., Wilson A., Chin L., Cummings R., Le D., Pon A., Knox C., Wilson M. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucl. Acids Res.* 2017. V. 46. P. D1074–D1082. doi: [10.1093/nar/gkx1037](https://doi.org/10.1093/nar/gkx1037)
28. Sterling T., Irwin J.J. ZINC 15 – Ligand discovery for everyone. *J. Chem. Inf. Model.* 2015. V. 55. № 11. P. 2324–2337. doi: [10.1021/acs.jcim.5b00559](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00559)
29. Landrum G. *The RDKit documentation*. URL: <https://www.rdkit.org/docs/> (дата обращения: 26/03/2024).
30. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comp. Chem.* 2010. V. 31. P. 455–461. doi: [10.1002/jcc.21334](https://doi.org/10.1002/jcc.21334)
31. Zhang X., Zhu Y., Hu H., Zhang S., Wang P., Chong H., He J, Wang X., He Y. Structural insights into the mechanisms of action of short-peptide HIV-1 fusion inhibitors targeting the Gp41 pocket. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018. V. 8. P. 51. doi: [10.3389/fcimb.2018.00051](https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00051)
32. Gordon J.C., Myers J.B., Folta T., Shoja V., Heath L.S., Onufriev A. H<sup>++</sup>: a server for estimating pK<sub>a</sub>s and adding missing hydrogens to macromolecules. *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. № suppl\_2. P. W368–W371. doi: [10.1093/nar/gki464](https://doi.org/10.1093/nar/gki464)

33. Wójcikowski M., Ballester P., Siedlecki P. Performance of machine-learning scoring functions in structure-based virtual screening. *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 46710. doi: [10.1038/srep46710](https://doi.org/10.1038/srep46710)
34. Durrant J.D., McCammon J.A. NNScore 2.0: A neural-network receptor–ligand scoring function. *J. Chem. Inf. Model.* 2011. V. 51. № 11. P. 2897–2903. doi: [10.1021/ci2003889](https://doi.org/10.1021/ci2003889)
35. Kaushik M. A review of innovative chemical drawing and spectra prediction computer software. *Mediterr. J. Chem.* 2014. V. 3. № 1. P. 759–766. doi: [10.13171/mjc.3.1.2014.04.04.16](https://doi.org/10.13171/mjc.3.1.2014.04.04.16)
36. Case D.A., Ben-Shalom I.Y., Brozell S.R., Cerutti D.S., Cheatham T.E., III, Cruzeiro V.W.D., Darden T.A., Duke R.E., Ghoreishi D., Gilson M.K. et al. *AMBER 2018*. University of California, 2018.
37. Ryckaert J.P., Ciccotti G., Berendsen H.J.C. Numerical integration of the Cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J. Comput. Phys.* 1977. V. 23. № 3. P. 327–341. doi: [10.1016/0021-9991\(77\)90098-5](https://doi.org/10.1016/0021-9991(77)90098-5)
38. Essmann U., Perera L., Berkowitz M.L., Darden T., Lee H., Pedersen L.G. A smooth particle mesh Ewald method. *J. Chem. Phys.* 1995. V. 103. P. 8577–8593. doi: [10.1063/1.470117](https://doi.org/10.1063/1.470117)
39. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinity. *Expert Opin. Drug Discov.* 2015. V. 10. № 5. P. 449–461. doi: [10.1517/17460441.2015.1032936](https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936)
40. Pu J., He X., Xu W., Wang C., Lan Q., Hua C., Wang K., Lu L., Jiang S. The analogs of furanyl methylenediphosphorane exhibit broad-spectrum inhibitory and inactivating activities against enveloped viruses, including SARS-CoV-2 and its variants. *Viruses.* 2022. V. 14. № 3. P. 489. doi: [10.3390/v14030489](https://doi.org/10.3390/v14030489)
41. Katritzky A.R., Tala S.R., Lu H., Vakulenko A.V., Chen Q.Y., Sivapackiam J., Pandya K., Jiang S., Debnath A.K. Design, synthesis, and structure-activity relationship of a novel series of 2-aryl 5-(4-oxo-3-phenethyl-2-thioxothiazolidinylidene)methyl)furans as HIV-1 entry inhibitors. *J. Med. Chem.* 2009. V. 52. P. 7631–7639. doi: [10.1021/jm900450n](https://doi.org/10.1021/jm900450n)
42. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001. V. 46. P. 3–26.
43. Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.Y., Smith B.R., Ward K.W., Kopple K.D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.* 2002. V. 45. № 12. P. 2615–2623. doi: [10.1021/jm020017n](https://doi.org/10.1021/jm020017n)
44. Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 42717. doi: [10.1038/srep42717](https://doi.org/10.1038/srep42717)
45. Durrant J.D., McCammon J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. *J. Mol. Graph. Model.* 2011. V. 29. № 6. P. 888–893. doi: [10.1016/j.jmgm.2011.01.004](https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2011.01.004)
46. Song F., Xu G., Gaul M.D., Zhao B., Lu T., Zhang R., DesJarlais R.L., DiLoreto K., Huebert N., Shook B., Rentzeperis D., Santulli R., Eckardt A., Demarest K. Design, synthesis and structure activity relationships of indazole and indole derivatives as potent glucagon receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2019. V. 29. № 15. P. 1974–1980. doi: [10.1016/j.bmcl.2019.05.036](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.05.036)
47. Jayne D.R., Merkel P.A., Schall T.J., Bekker P. Avacopan for the treatment of ANCA-associated vasculitis. *New Eng. J. Med.* 2021. V. 384. № 7. P. 599–609. doi: [10.1056/NEJMoa2023386](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2023386)

48. Soulsby W.D. Journal Club Review of “Avacopan for the Treatment of ANCA-Associated Vasculitis”. *ACR Open Rheumatol.* 2022. V. 4. № 7. P. 558–561. doi: [10.1002/acr2.11412](https://doi.org/10.1002/acr2.11412)
49. Gupta R., Mehan S., Sethi P., Prajapati A., Alshammari A., Alharbi M., Al-Mazroua H.A., Narula A.S. Smo-Shh agonist Purmorphamine prevents neurobehavioral and neurochemical defects in 8-OH-DPAT-induced experimental model of obsessive-compulsive disorder. *Brain Sci.* 2022. V. 12. № 3. P. 342. doi: [10.3390/brainsci12030342](https://doi.org/10.3390/brainsci12030342)
50. Blank B.R., Gut J., Rosenthal P.J., Renslo A.R. Artefenomel regioisomer RLA-3107 is a promising lead for the discovery of next-generation endoperoxide antimalarials. *ACS Med. Chem. Lett.* 2023. V. 14. № 4. P. 493–498. doi: [10.1021/acsmchemlett.3c00039](https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.3c00039)
51. Schmidt A., Kimmel D.B., Bai C., Scafonas A., Rutledge S., Vogel R.L., McElwee-Witmer S., Chen F., Nantermet P.V., Kasparcova V., et al. Discovery of the selective androgen receptor modulator MK-0773 using a rational development strategy based on differential transcriptional requirements for androgenic anabolism versus reproductive physiology. *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. № 22. P. 17054–17064. doi: [10.1074/jbc.M109.099002](https://doi.org/10.1074/jbc.M109.099002)
52. Tack J., Schumacher K., Tonini G., Scartoni S., Capriati A., Maggi C.A. The neurokinin-2 receptor antagonist ibodutant improves overall symptoms, abdominal pain and stool pattern in female patients in a phase II study of diarrhoea-predominant IBS. *Gut.* 2016. V. 66. № 8. doi: [10.1136/gutjnl-2015-310683](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310683)

Рукопись поступила в редакцию 01.02.2024, переработанный вариант поступил 26.03.2024.  
Дата опубликования 02.04.2024.

===== BIOINFORMATICS =====

## Using a Drug Repurposing Strategy to Virtually Screen Potential HIV-1 Entry Inhibitors That Block the NHR Domain of the Viral Envelope Protein gp41

Andrianov A.M.<sup>1</sup>, Laykov Y.V.<sup>2</sup>, Tuzikov A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

<sup>2</sup>*United Institute of Informatics Problems, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

**Abstract.** Using a drug repurposing strategy, virtual screening of potential inhibitors of the NHR domain of the HIV-1 gp41 protein, a conserved region critical for the virus-cell membrane fusion and viral infectivity, was carried out. The used computational approach included: (1) molecular docking of this functionally significant region of the HIV-1 envelope with compounds from a library of bioactive molecules containing clinically approved drugs, experimental drugs, and investigational drug candidates; (2) assessing the binding affinity of these compounds to the therapeutic target; (3) molecular dynamics simulations of ligand/NHR-gp41 complexes; (4) calculations of the binding free energy followed

by the analysis of molecular dynamics trajectories and selection of compounds promising to test for anti-HIV-1 activity. As a result, six compounds that exhibited the high binding affinity to the NHR domain of the HIV-1 gp41 protein and showed acceptable pharmacological properties were identified. The predicted compounds are assumed to form a promising basis for the development of new, effective and safe broad-spectrum antiviral agents able to inhibit the HIV-1 entry into the host cell.

**Key words:** *HIV-1, protein gp41, domain NHR, virtual screening, molecular docking, molecular dynamics, anti-HIV drugs.*