

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ»

УДК 575.112+577.112+578.282

КАШИН  
ИВАН АЛЕКСАНДРОВИЧ

**КОМПЬЮТЕРНЫЙ СКРИНИНГ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ  
ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ВИЧ-1 НА ОСНОВЕ  
ВЫСОКОАФФИННЫХ ЛИГАНДОВ БЕЛКОВ ОБОЛОЧКИ ВИРУСА**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Минск 2017 г.

Работа выполнена в Государственном научном учреждении «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси».

**Научный руководитель:** **Андрианов Александр Михайлович,**  
доктор химических наук, главный  
научный сотрудник лаборатории  
белковой инженерии Института  
биоорганической химии НАН Беларуси

**Официальные оппоненты:** **Шадыро Олег Иосифович,**  
доктор химических наук, профессор,  
заведующий кафедрой радиационной  
химии и химико-фармацевтических  
технологий химического факультета  
БГУ  
**Вересов Валерий Гаврилович,**  
доктор биологических наук, главный  
научный сотрудник лаборатории  
биофизики и инженерии клетки  
Института биофизики и клеточной  
инженерии НАН Беларуси

**Оппонирующая организация:** Институт физико-органической химии  
НАН Беларуси

Защита состоится «18» января 2018 г. в 13.00 на заседании Совета по защите диссертаций Д 01.21.01 в Государственном научном учреждении «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» по адресу: 220141, г. Минск, ул. Академика Купревича, 5/2, в зале заседаний Ученого Совета, e-mail: babitskaya@iboch.bas-net.by, тел. (017) 267-85-53.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Я. Коласа НАН Беларуси.

Автореферат разослан «    » декабря 2017 г.

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций Д 01.21.01  
кандидат химических наук



С.В. Бабицкая

## ВВЕДЕНИЕ

Прошло более 30 лет с момента описания учеными США синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), сопровождающегося резким снижением эффективности работы иммунной системы человека и уменьшением числа Т-лимфоцитов. Французскими и американскими исследователями было установлено, что роль агента, вызывающего СПИД, выполняет ретровирус, получивший название вируса иммунодефицита человека типа 1. После этого начался период активного изучения вируса, и в 1985 году стали понятны способы передачи ВИЧ-1, проведено секвенирование его генома, идентифицированы белки, составляющие вирусные частицы, выявлены основные клетки-мишени и разработаны первые методы диагностики ВИЧ-инфекции. Значительные успехи на начальном этапе изучения вируса привели к тому, что уже в 1987 году в США был одобрен первый препарат для терапии СПИДа зидовудин (AZT, азидотимидин). С помощью этого препарата впервые было показано, что лечение СПИДа в принципе может обеспечить положительные результаты, приводя к снижению концентрации вирусных частиц в организме и замедлению развития заболевания. Однако монотерапия азидотимидином не останавливала прогрессирования ВИЧ-инфекции, а лишь замедляла темпы ее развития. Причиной этого явилась высокая частота мутаций вируса, способствующая быстрой выработке новых вирусных частиц, невосприимчивых к препарату. Это свойство ВИЧ-1 стало главной преградой на пути к разработке новых лекарственных препаратов для профилактики и лечения СПИДа.

Открытие в середине 90-х годов прошлого века новых классов лекарственных препаратов стало следующим важным шагом в терапии ВИЧ-инфекции. На сегодняшний день стандартным методом лечения является высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ), которая предполагает совместное использование нескольких препаратов, блокирующих разные стадии жизненного цикла вируса. Применение методов ВААРТ привело к существенному снижению уровня заболеваемости и смертности от ВИЧ-инфекции, и в настоящее время они являются главным средством борьбы против вируса. Тем не менее, методы ВААРТ по-прежнему остаются паллиативным средством и неспособны остановить пандемию ВИЧ-1. Кроме того, токсичность и высокая стоимость препаратов ВААРТ являются существенными факторами, ограничивающим их повсеместное использование.

С начала эпидемии СПИДа более 70 миллионов человек заразились ВИЧ-1, и около половины из них уже нет в живых. В последние годы темпы роста глобальной эпидемии СПИДа стабилизировались: с 1997 года, на протяжении которого было зафиксировано наибольшее количество заразившихся людей, ежегодное число новых ВИЧ-инфицированных постоянно уменьшалось. Однако

ситуация в ряде регионов не согласуется с общей тенденцией уменьшения числа ВИЧ-позитивных пациентов. Так, в странах Восточной Европы и Центральной Азии наблюдается рост показателей заражения ВИЧ. По состоянию на 1 марта 2017 г. в Республике Беларусь зарегистрированы 22 649 случаев ВИЧ-инфекции, а количество людей, живущих с ВИЧ, составило 17 605 при показателе распространенности, равном 185,2 на 100 тысяч населения.

Несмотря на то, что применение ВААРТ значительно увеличило продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных пациентов и повысило ее качество, необходимость пожизненного непрерывного применения нескольких терапевтических препаратов и связанные с этим токсичность и возникновение резистентности требуют разработки новых анти-ВИЧ препаратов с новыми механизмами действия. Обнаружение моноклональных антител широкого спектра действия создало предпосылки для разработки универсальной вакцины против ВИЧ-1. Однако, несмотря на интенсивные исследования, многочисленные попытки разработать иммуноген, индуцирующий антитела к ВИЧ-1 с широкой вирусной нейтрализацией, к настоящему времени не увенчались успехом. К сожалению, разработанные вакцины-кандидаты не могут стимулировать индукцию нейтрализующих антител против большинства циркулирующих в мире вирусных штаммов. Поэтому, задача создания вакцин, способных индуцировать их выработку, является главным приоритетом в развитии стратегий по разработке эффективных препаратов для профилактики и лечения ВИЧ-инфекции. Одной из существенных проблем в решении этой задачи является сложная пространственная организация антигенных детерминант, узнаваемых большинством нейтрализующих ВИЧ-1 антител. В связи с этим представляется чрезвычайно актуальным поиск низкомолекулярных соединений, способных имитировать фармакофорные свойства антител широкого спектра действия против ВИЧ.

В настоящей диссертационной работе использован комплексный подход к рациональному конструированию лекарств, включающий методы виртуального скрининга, высокопроизводительного докинга и молекулярной динамики для идентификации потенциальных анти-ВИЧ агентов, представляющих пептидомиметики высокоаффинных и селективных лигандов белков оболочки вируса – нейтрализующих антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4. На основе анализа данных компьютерного моделирования сделан вывод о перспективности использования идентифицированных соединений в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих ранние стадии развития ВИЧ-инфекции.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационная работа выполнена в Институте биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси в рамках следующих проектов: задание 2.17 «Выяснение роли монооксигеназ в окислительном стрессе и лекарственной резистентности опухолевых клеток» Государственной программы научных исследований на 2011-2015 годы «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» (подпрограмма 2 «Синтез и получение биологически активных соединений для производства реагентов и лекарственных средств», Химфармсинтез, № г.р. 20114747); задание 4.22 «Новые рациональные подходы к разработке противоопухолевых и противовирусных препаратов на основе количественной оценки их воздействия на макромолекулы-мишени» Государственной программы научных исследований на 2011-2015 годы «Химические технологии и материалы, природно-ресурсный потенциал (подпрограмма 2 «Синтез и получение биологически активных соединений для производства реагентов и лекарственных средств, Химфармсинтез, № г.р. 20143354); задание 3.2.05 «Исследование структурных свойств и мутаций вируса СПИДа на основе компьютерного моделирования, химического синтеза и медицинского тестирования» Государственной программы научных исследований на 2011-2015 годы «Конвергенция» (№ г.р. 20130278); задание 3.08 «Молекулярное конструирование и компьютерный скрининг потенциальных лекарственных препаратов против ВИЧ, блокирующих CD4-связывающий участок белка gp120 оболочки вируса» Государственной программы научных исследований на 2016-2020 годы «Конвергенция-2020» (№ г.р. 20162002); проект Х15-022 Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований «Скрининг и молекулярное моделирование новых потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 на основе моноклонального антитела 10E8, обладающего широким спектром нейтрализующей активности» (№ г.р. 20150985); проект Х17МС-004 Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований «Молекулярный de novo дизайн потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1 на основе методологии клик-химии» (№ г.р. 20171266).

### Цель и задачи исследования

*Цель исследования:* Осуществить компьютерный скрининг химических соединений – потенциальных пептидомиметиков анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4 и идентифицировать молекулы, перспективные для разработки новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1 широкого спектра действия.

*Задачи исследования:*

1. Построение фармакофорных моделей, описывающих совокупность структурно-функциональных признаков анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4, обеспечивающих специфичность их связывания с молекулярными мишенями – белками gp120 и gp41 оболочки вируса.

2. Компьютерный скрининг потенциальных пептидомиметиков антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4 в молекулярной базе данных MMsINC, содержащей 17 миллионов конформеров для 3,9 миллиона химических соединений, с использованием алгоритмов сверхбыстрого распознавания формы и поиска по фармакофорам.

3. Построение структурных комплексов идентифицированных соединений с молекулами-мишенями и анализ межмолекулярных взаимодействий, ответственных за их энергетическую стабилизацию.

4. Молекулярная динамика структурных комплексов идентифицированных соединений с молекулярными мишенями для лучших по данным докинга лигандов, расчет свободной энергии их образования и отбор молекул для тестирования на анти-ВИЧ активность против широкого набора модификаций вируса.

*Объект исследования:* низкомолекулярные соединения – пептидомиметики анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4.

*Предмет исследования:* механизм взаимодействия пептидомиметиков антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4 с белками оболочки ВИЧ-1.

**Научная новизна**

В последнее десятилетие постоянно возрастающую роль в процессе создания новых лекарственных препаратов играют методы компьютерного молекулярного моделирования, которые позволяют значительно сократить сроки разработки лекарств и существенно уменьшить финансовые расходы. В настоящей работе эти методы использованы для идентификации низкомолекулярных соединений, способных имитировать взаимодействия лигандов белков оболочки ВИЧ-1 с функционально консервативными эпитопами вируса, ответственными за его проникновение в клетку-мишень. Впервые методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования обнаружены пептидомиметики моноклональных анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и первичного рецептора CD4, обладающие пространственными и фармакофорными признаками, ответственными за проявление биологической активности. Показано, что идентифицированные соединения могут проявлять высокую аффинность связывания с белками оболочки ВИЧ-1 путем имитации взаимодействий вируса с рецепторами клеточной мембраны, которые обеспечивают его прочную

адсорбцию на поверхности клетки-мишени. На основе анализа данных компьютерного моделирования сделан вывод о том, что обнаруженные пептидомиметики лигандов белков оболочки вируса формируют перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных анти-ВИЧ препаратов с широкой вирусной нейтрализацией. Предсказано, что комбинированное использование этих низкомолекулярных соединений, блокирующих три ключевых стадии процесса проникновения ВИЧ-1 в чувствительные клетки, позволит предотвратить репликацию вируса и существенно снизить уровень вирусной нагрузки в плазме крови.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Пептидомиметики моноклонального антитела VRC01, блокирующие CD4-связывающий участок ВИЧ-1 путем образования водородных связей и вандер-ваальсовых контактов с аминокислотными остатками белка gp120, ответственными за связывание вируса с первичным рецептором CD4.

2. Пептидомиметики моноклонального антитела 3074, имитирующие специфические  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействия остатка Phe-96 с пролином консервативного участка петли V3 белка gp120, критического для связывания вируса с корецепторами CCR5 и/или CXCR4 клетки-мишени.

3. Пептидомиметики моноклонального антитела 10E8, которые селективно связываются с помощью  $\pi$ - $\pi$  взаимодействий их ароматических колец с участком эктодомена белка gp41 ВИЧ-1, играющим ключевую роль в процессе слияния мембран вируса и клетки-мишени.

4. Пептидомиметики первичного рецептора CD4 ВИЧ-1, которые блокируют Phe<sup>43</sup>-полость белка gp120 и остаток Asp-368<sub>gp120</sub>, имитируя взаимодействия вируса с остатками Phe-43 и Arg-59 молекулы CD4, критические для его связывания с клеткой хозяина.

### **Личный вклад соискателя**

Все результаты, изложенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно. Определение темы и цели диссертационной работы, выбор методов исследования, анализ и обобщение полученных результатов проведены совместно с научным руководителем д.х.н. Андриановым А.М. Соавтор публикаций А.В. Тузиков (д.ф.-м.н., профессор, чл.-корр.) оказал консультационную помощь в выполнении работы.

### **Апробация результатов диссертации**

Основные результаты диссертации были представлены на Международных конференциях: «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем». X съезд Белорусского общественного

объединения фотобиологов и биофизиков (Беларусь, Минск, 2012), «Суперкомпьютерные системы и их применение» (Беларусь, Минск, 2012), «Структура и функция биомолекул» (Беларусь, Минск, 2012, 2014), «Moscow Conference on Computational Molecular Biology» (Россия, Москва, 2013, 2015, 2017), «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем». XI съезд Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков (Беларусь, Минск, 2014), The Ninth International Conference of Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology (Россия, Новосибирск, 2014), «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем». XII съезд Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков (Беларусь, Минск, 2016), 4-я Всероссийская научно-техническая конференция «Суперкомпьютерные технологии» (СКТ-2016) (Россия, Геленджик, 2016), «Современные проблемы биохимии». I Белорусский биохимический конгресс (Беларусь, Гродно, 2016), «Data analysis methods for software systems» (Lithuania, Druskininkai, 2016), «Conversation in Biomolecular Stereodynamics» (Олбани, США, 2013, 2015), «Молодежь в науке» (Беларусь, Минск, 2015), 12<sup>th</sup> International Symposium on Bioinformatics Research and Applications (Belarus, Minsk, 2016). Лауреат стипендии Президента Республики Беларусь для аспирантов (2015 год). Результаты диссертации вошли в цикл научных работ «Компьютерный скрининг и молекулярное моделирование новых потенциальных лекарственных препаратов против ВИЧ/СПИД», включенный в ТОП-10 результатов деятельности ученых НАН Беларуси в области фундаментальных и прикладных исследований за 2015 год.

### **Опубликование результатов диссертации**

Основные результаты диссертации изложены в 33 печатных работах, включающих главу в книге, 12 статей в рецензируемых научных журналах, 11 статей в сборниках конференций и тезисы 9 докладов. Общее количество страниц опубликованных материалов – 151 (8 авторских листов, из них 5,1 авторских листа – статьи в рецензируемых журналах).

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, списка цитируемой литературы, включающего 208 источников, списка публикаций автора, содержащего 33 источника, и одного приложения. Работа изложена на 138 страницах машинописного текста и содержит 24 рисунка, 21 таблицу.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

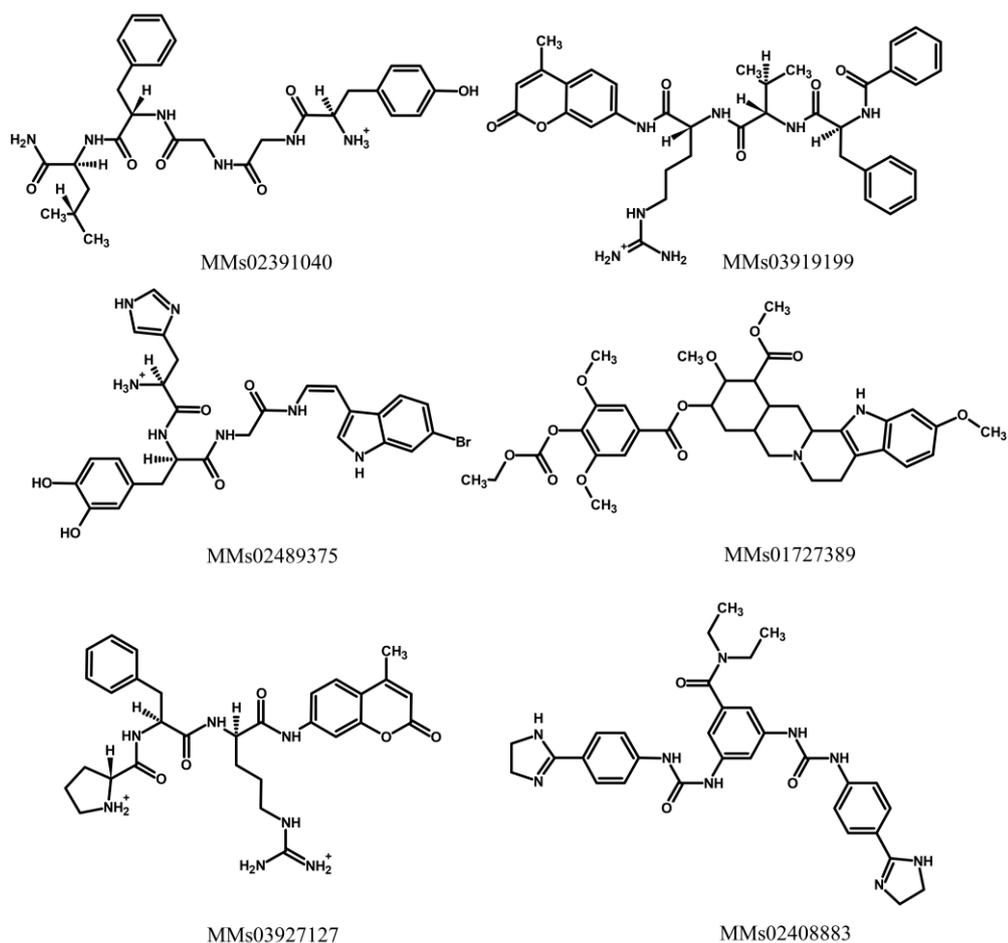
В первой главе диссертационной работы приведен обзор литературных данных о вирусе иммунодефицита человека, разрабатываемых анти-ВИЧ агентах и лекарственных препаратах, применяемых в клинической практике для терапии ВИЧ-инфекции. Представлена информация о типах ВИЧ, структурной организации вириона, его молекулярном строении, механизме проникновения в клетку хозяина и структуре белков оболочки вируса. Особое внимание уделено нейтрализующим антителам к ВИЧ-1 и клеточному рецептору CD4, использованным в диссертационной работе для идентификации низкомолекулярных соединений, способных имитировать их фармакологические свойства. Рассмотрены современные методы компьютерного конструирования лекарств. Показано, что большинство из применяемых в антиретровирусной терапии препаратов нацелено на вирусные ферменты: обратную транскриптазу и протеазу. Однако они не могут предотвращать проникновение вируса в клетку-мишень, что повышает внимание к ингибиторам ВИЧ-1, которые способны вмешиваться в ранние стадии жизненного цикла вируса путем блокирования процессов адсорбции и слияния мембран. В настоящее время для лечения ВИЧ-инфекции применяются только два ингибитора проникновения: энфувертид, блокирующий слияние мембран вируса и клетки хозяина, и маравирик, конкурирующий с ВИЧ-1 за связывание с корецептором CCR5. Тем не менее, эти препараты имеют ряд существенных недостатков, ограничивающих их использование в терапии ВИЧ, что обуславливает необходимость поиска новых, более эффективных и безопасных анти-ВИЧ агентов.

В главе 2 описан метод компьютерного конструирования потенциальных лекарств, использованный в работе для поиска пептидомиметиков анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4. На первом этапе метода на основе анализа структурного комплекса белка-лиганда с молекулярной мишенью идентифицируются аминокислотные остатки, играющие ключевую роль в специфическом связывании с рецептором. Эти остатки формируют исходные структурные блоки для построения моделей фармакофора, описывающих совокупность структурно-функциональных признаков, определяющих специфичность связывания с молекулой-мишенью. При этом могут быть задействованы элементы структуры лиганда, включающие различные группы критических для связывания аминокислот, которые взаимодействуют с разными функционально важными участками белка-рецептора. Построенные модели фармакофора используются в качестве набора входных данных для веб-сервера pepMMsMIMIC (<http://mms.dsfarm.unipd.it/pepMMsMIMIC/>), программное обеспечение которого включает пять процедур для виртуального скрининга базы данных MMsINC, представляющих собой различные комбинации

алгоритмов сверхбыстрого распознавания формы и поиска по фармакофорам. Эффективность связывания обнаруженных химических соединений с молекулярной мишенью оценивается методами высокопроизводительного докинга, молекулярной динамики (МД) и расчета свободной энергии образования структурных комплексов лиганд/мишень с последующим отбором молекул, перспективных для тестирования на биологическую активность.

Структурные комплексы моноклональных антител (МКА) VRC01, 3074, 10E8 и молекулы CD4 с белками gp120 и gp41 ВИЧ-1 заимствовали из Банка данных белков (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Молекулярный докинг структур-кандидатов с белками оболочки ВИЧ-1 выполняли с помощью программы AutoDock Vina (<http://vina.scripps.edu>) с учетом конформационной подвижности лиганда, перебирая все его возможные ориентации относительно молекулы-рецептора. Для дальнейших исследований отбирали соединения, лучшие по значению оценочной функции AutoDock Vina. МД расчеты длительностью 30 нс проводили с помощью программного пакета Amber 11 (<http://ambermd.org/>) в силовом поле Amber (набор параметров ff10) в изобарно-изотермических условиях с явным заданием растворителя (трехточечная модель воды TIP3P). Для параметризации лигандов использовали обобщенное силовое поле AMBER (<http://ambermd.org/>). В качестве критерия стабильности комплексов использовали средние значения свободной энергии их образования, которые вычисляли с помощью процедуры MM-PB/SA, входящей в состав пакета AMBER 11 (<http://ambermd.org/>).

В третьей главе представлены результаты виртуального скрининга новых потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1 – пептидомиметиков МКА VRC01, которое проявляет широкую (более 90%) нейтрализующую активность к набору вирусов, полученных из различных подтипов. Проведенные исследования позволили идентифицировать шесть соединений-лидеров (рисунок 1), представляющих потенциальные пептидомиметики антитела VRC01. Совместный анализ статических и динамических моделей структурных комплексов этих соединений с белком gp120 ВИЧ-1 свидетельствует о наличии специфических и эффективных взаимодействий между ними, приводящих к блокаде аминокислотных остатков гликопротеина, критических для связывания вируса с первичным рецептором CD4 клетки-мишени. Согласно расчетным данным, четыре соединения – MMs02391040, MMs03919199, MMs02489375 и MMs03927127 (рисунок 1) – образуют водородные связи и солевые мостики с остатком Asp-368<sub>gp120</sub>, имитируя взаимодействия остатка Arg-59 клеточного рецептора CD4 с этой ключевой для связывания аминокислотой белка gp120 ВИЧ-1. Идентифицированные соединения используют для связывания с вирусом участок белка gp120, формирующий на его поверхности гидрофобный молекулярный «карман», называемый Phe<sup>43</sup>-полостью.



Здесь и на рисунках 2, 4, 6 указаны коды молекул в базе данных MMsINC  
**Рисунок 1. – Двумерные структуры химических соединений – потенциальных пептидомиметиков МКА VRC01**

Этот участок включает остатки Glu-370, Ile-371, Asn-425, Met-426, Trp-427 и Gly473, принимающие непосредственное участие во взаимодействии ВИЧ-1 с Phe-43 молекулы CD4 – остатком, который, наряду с Arg-59, доминирует в связывании с белком 120. При этом одно из колец, входящих в состав этих соединений (рисунок 1), проникает в Phe<sup>43</sup>-полость и формирует многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты с указанными остатками белка gp120, что, очевидно, должно приводить к блокированию его взаимодействия с клеточным рецептором CD4. Анализ расчетных данных показывает, что во всех рассматриваемых случаях значительная часть этих остатков формирует прямые межмолекулярные контакты как с CD4, так и с VRC01.

Данные молекулярной динамики структурных комплексов пептидомиметиков VRC01 с белком gp120 согласуются с выводами, сделанными на основе анализа результатов молекулярного докинга. Согласно этим данным, структурные комплексы идентифицированных соединений с белком gp120 энергетически стабильны, что подтверждается низкими значениями свободной

энергии их образования (таблица 1), сопоставимыми (с учетом погрешностей расчета) с величиной  $-9,5 \pm 0,1$  ккал/моль, измеренной методом изотермической титрационной калориметрии для комплекса gp120/CD4.

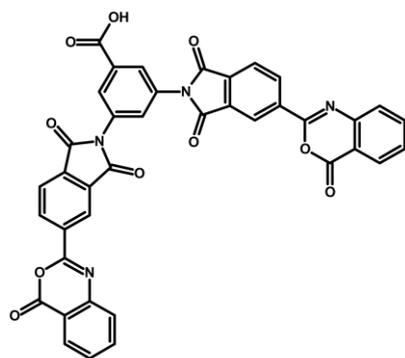
Таблица 1. – Средние значения свободной энергии  $\langle \Delta G \rangle$  образования комплексов пептидомиметиков МКА VRC01 с белком gp120 ВИЧ-1 и соответствующие им стандартные отклонения  $\Delta G_{\text{STD}}$

Пептидомиметик	$\langle \Delta H \rangle$ 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
MMs02391040	-42,7	6,0	-22,8	7,0	-19,9	6,5
MMs03919199	-34,3	7,7	-23,0	8,3	-11,3	8,0
MMs02489375	-31,7	7,0	-23,6	9,0	-8,1	7,9
MMs01727389	-30,4	4,6	-29,2	8,1	-1,2	6,1
MMs03927127	-40,4	9,7	-30,3	6,7	-10,1	8,1
MMs02408883	-33,1	6,1	-24,7	7,3	-8,4	6,7

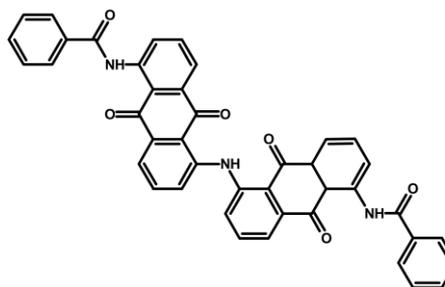
Примечание –  $\langle \Delta H \rangle$  и  $\langle T\Delta S \rangle$  – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии;  $(\Delta H)_{\text{STD}}$  и  $(T\Delta S)_{\text{STD}}$  – соответствующие этим значения стандартные отклонения

Таким образом, данные молекулярного моделирования указывают на то, что VRC01-миметики, обнаруженные в результате компьютерного скрининга базы данных MMsINC, способны к эффективной блокаде консервативных и функционально важных остатков CD4-связывающего участка белка gp120 и могут рассматриваться как перспективные кандидаты для разработки новых анти-ВИЧ препаратов с широкой вирусной нейтрализацией.

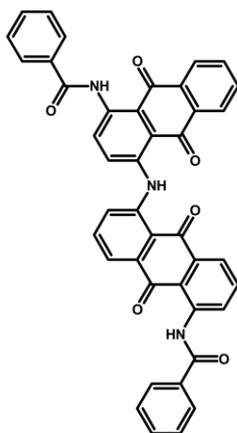
В главе 4 рассмотрены результаты исследования, в котором на основе анализа структурных комплексов пептидов петли V3 белка gp120 ВИЧ-1 из трех различных модификаций вируса (MN, UR29 и VI191) с Fab-фрагментом МКА 3074 осуществлен компьютерный поиск потенциальных пептидомиметиков этого антитела. МКА 3074 проявляет широкую нейтрализующую активность против ВИЧ-1, специфически связываясь с петлей V3 путем  $\pi$ -стэкинга ароматического остатка Phe<sup>H96</sup> с консервативным пролином иммуногенного участка белка gp120. В результате проведенных исследований обнаружены четыре химических соединения – наиболее вероятных пептидомиметика МКА 3074 (рисунок 2), способных блокировать участок белка gp120 ВИЧ-1, ответственный за связывание вируса с корцепторами CCR5 и/или CXCR4 клетки-мишени.



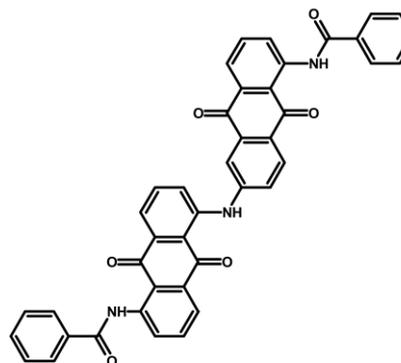
MMs01094745



MMs02384293



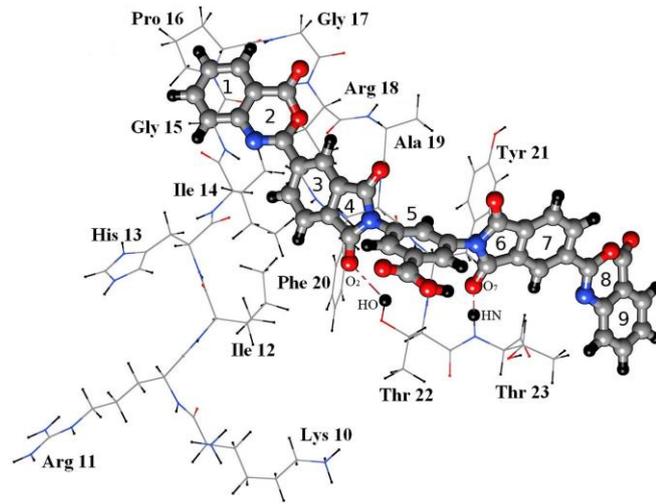
MMs02387687



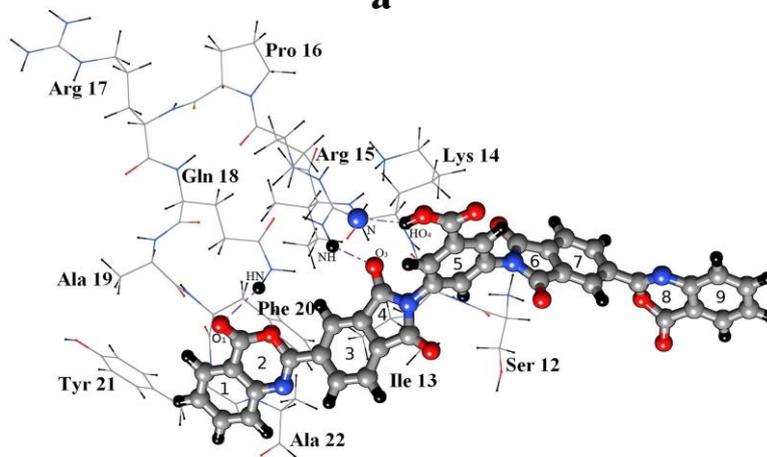
MMs02389422

**Рисунок 2. – Двумерные структуры потенциальных пептидомиметиков МКА 3074**

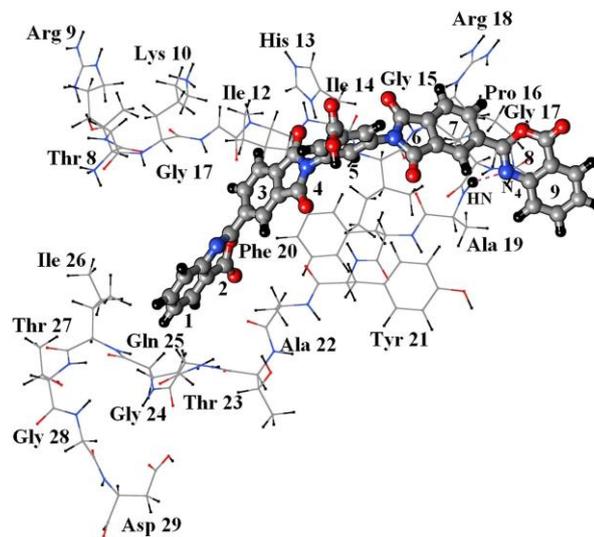
Исследование статических моделей структурных комплексов соединений MM02389422, MM01094745, MM02387687 и MM02384293 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 показывает, что для них характерно наличие специфических  $\pi$ - $\pi$  взаимодействий между  $\pi$ -сопряженными системами лигандов и пептидов-мишеней. При этом практически во всех рассматриваемых надмолекулярных структурах ароматические кольца лигандов образуют T-стэкинг с боковой цепью консервативного остатка Phe-20 пептидов петли V3. Кроме  $\pi$ - $\pi$  взаимодействий, вклад в энергетическую стабилизацию структурных комплексов вносят межмолекулярные водородные связи. В качестве примера на рисунке 3 приведены структурные комплексы соединения MM01094745 с пептидами MN, UR29 и VI191 петли V3 ВИЧ-1 для лучших по значению энергии надмолекулярных структур. Анализ комплексов свидетельствует о том, что связывание лиганда с пептидами-мишенями сопровождается блокадой участка Gly-Pro-Gly иммуногенного фрагмента петли V3, играющего важную роль в узнавании корцептора CCR5 белком gp120.



а



б



в

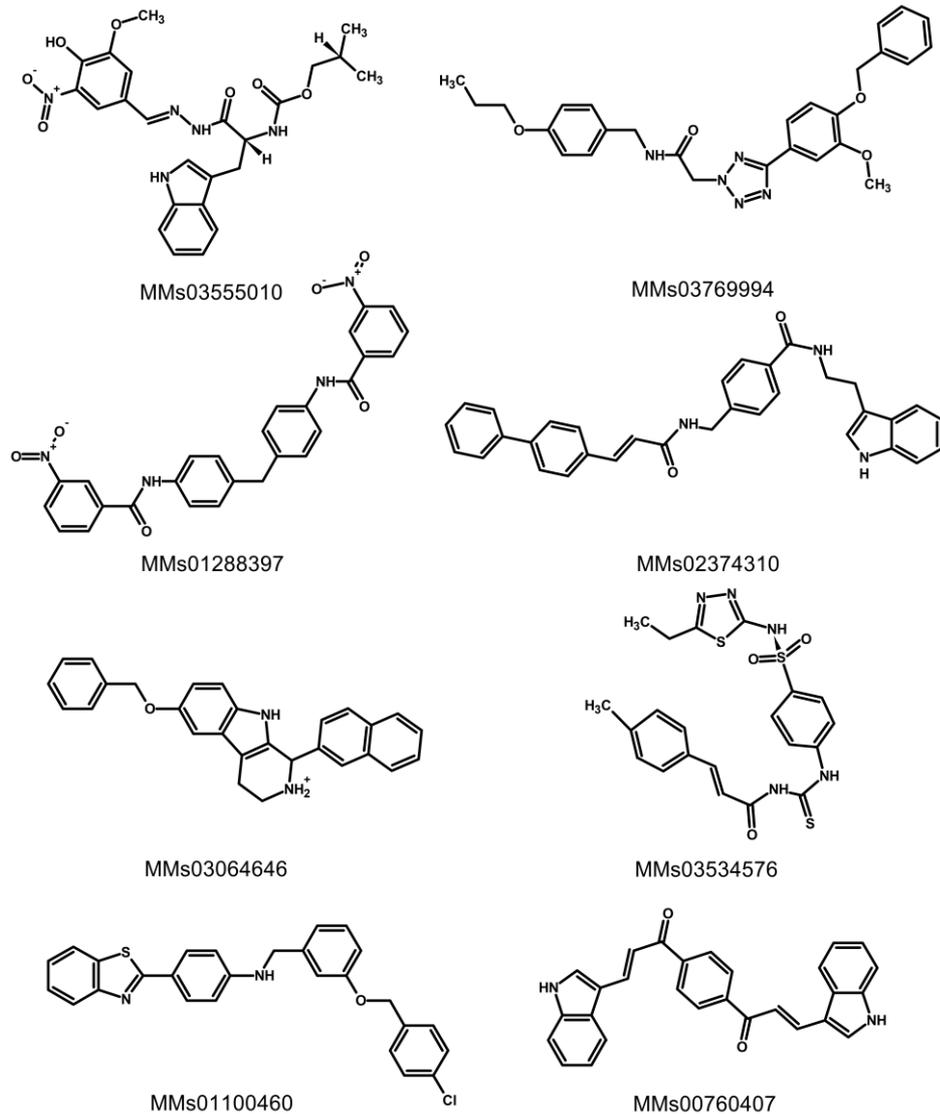
Номера остатков пептидов соответствуют их позициям в аминокислотной последовательности петли V3

Рисунок 3. – Структурные комплексы соединения MMs01094745 с пептидами MN (а), UR29 (б) и VI191 (в) петли V3 ВИЧ-1

Результаты молекулярной динамики комплексов идентифицированных соединений с пептидами петли V3 показывают, что на их МД траекториях преобладают структуры, в которых сохраняются межмолекулярные водородные связи, наблюдаемые в статических моделях, а ароматические кольца лигандов сближены с боковыми цепями фенилаланина и/или тирозина петли V3 на расстояния, благоприятные для реализации  $\pi$ - $\pi$  взаимодействий. Энергетическую стабильность анализируемых надмолекулярных структур подтверждают низкие средние значения свободной энергии их образования и соответствующие величины стандартных отклонений.

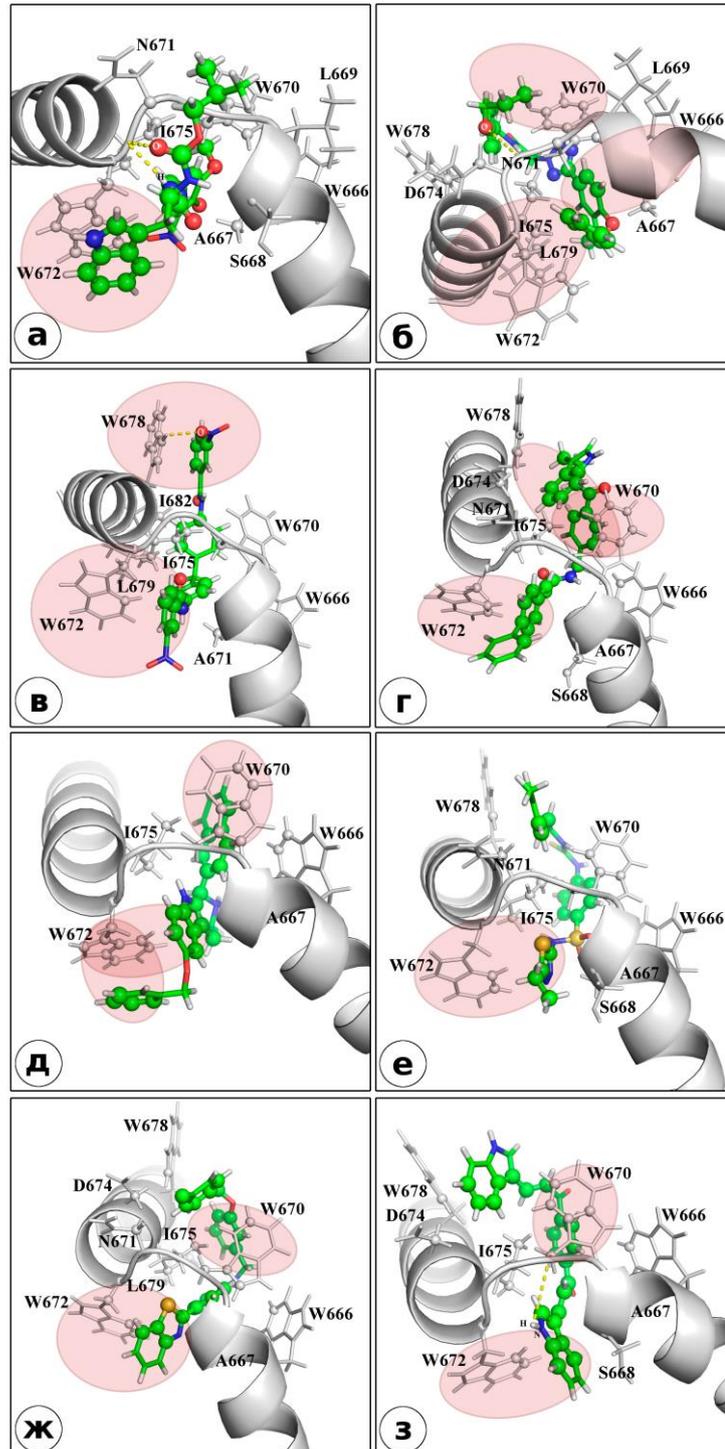
Таким образом, проведенные исследования структурных комплексов идентифицированных соединений с пептидами петли V3 из различных штаммов ВИЧ-1 показали, что их формирование приводит к блокаде иммуногенного участка белка gp120, образующего консервативный элемент структуры, в состав которого входят аминокислотные остатки, критические для связывания вируса с корцепторами CCR5 и/или CXCR4. Полученные данные позволяют предполагать, что найденные пептидомиметики МКА 3074 способны к нейтрализации различных модификаций ВИЧ-1 и, поэтому, должны пройти тестирование на анти-ВИЧ активность к широкому набору модификаций вируса.

В главе 5 выполнен анализ данных компьютерного поиска потенциальных пептидомиметиков одного из самых эффективных антител к ВИЧ-1 – МКА 10E8, нейтрализующего около 98% вирионов из различных штаммов ВИЧ-1 путем специфического связывания с участком MPER (Membrane Proximal External Region) белка gp41, ответственным за слияние мембран вируса и клетки-мишени. Этот консервативный гидрофобный сегмент gp41 состоит из двух  $\alpha$ -спиралей, соединенных короткой «шарнирной» областью (петлей), включает 22 аминокислотных остатка и формирует линейные эпитопы для связывания ряда антител с широкой вирусной нейтрализацией. В результате виртуального скрининга базы данных MMsINC и последующей оценки эффективности связывания структур-кандидатов с участком MPER белка gp41, выполненной методами молекулярного моделирования, были идентифицированы восемь соединений – наиболее вероятных пептидомиметиков МКА 10E8 (рисунок 4). Исследование структурных комплексов идентифицированных соединений с пептидом MPER белка gp41 показало наличие специфических  $\pi$ - $\pi$  взаимодействий между  $\pi$ -сопряженными системами лигандов и молекулы-мишени (рисунок 5). При этом во всех рассматриваемых надмолекулярных структурах ароматические кольца лигандов образуют  $\pi$ - и/или T-стэкинг с боковой цепью консервативного остатка Trp-672 белка gp41. Для пяти соединений (MMs03769994, MMs02374310, MMs03064646, MMs01100460, MMs00760407) реализуются  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействия с участием остатка Trp-670 белка gp41, а в двух случаях наблюдается  $\pi$ -стэкинг с Trp-666 (MMs03769994) и Trp-678 (MMs01288397).



**Рисунок 4. – Двумерные структуры химических соединений – потенциальных пептидомиметиков МКА 10Е8**

Существенный вклад в энергетическую стабилизацию структурных комплексов вносят ван-дер-ваальсовы взаимодействия, образующие широкую сеть межмолекулярных контактов, суммарное число которых варьирует от 39-ти (MMs01100460) до 68-ми (MMs02374310). Полученные данные свидетельствуют о том, что все идентифицированные соединения участвуют в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях с консервативными остатками Trp-666, Trp-670 и Trp-672, расположенными в N-концевой спирали участка MPER белка gp41, оказывающей существенное влияние на процесс слияния мембран: известно, что их замещение на аланин предотвращает проникновение вируса в клетку-мишень.



Соединения изображены с использованием молекулярной модели «шарик–палочка». Приведены аминокислотные остатки пептида MPER, образующие межатомные контакты с лигандами. Нумерация остатков пептида соответствует их позициям в аминокислотной последовательности белка gp41.

Элементы структуры лигандов и пептида MPER, участвующие в  $\pi$ - $\pi$  взаимодействиях, выделены с помощью окружностей

Рисунок 5. – Структурные комплексы соединений MMs03555010 (а), MMs03769994 (б), MMs01288397 (в), MMs02374310 (г), MMs03064646 (д), MMs03534576 (е), MMs01100460 (ж) и MMs00760407 (з) с пептидом MPER белка gp41 ВИЧ-1

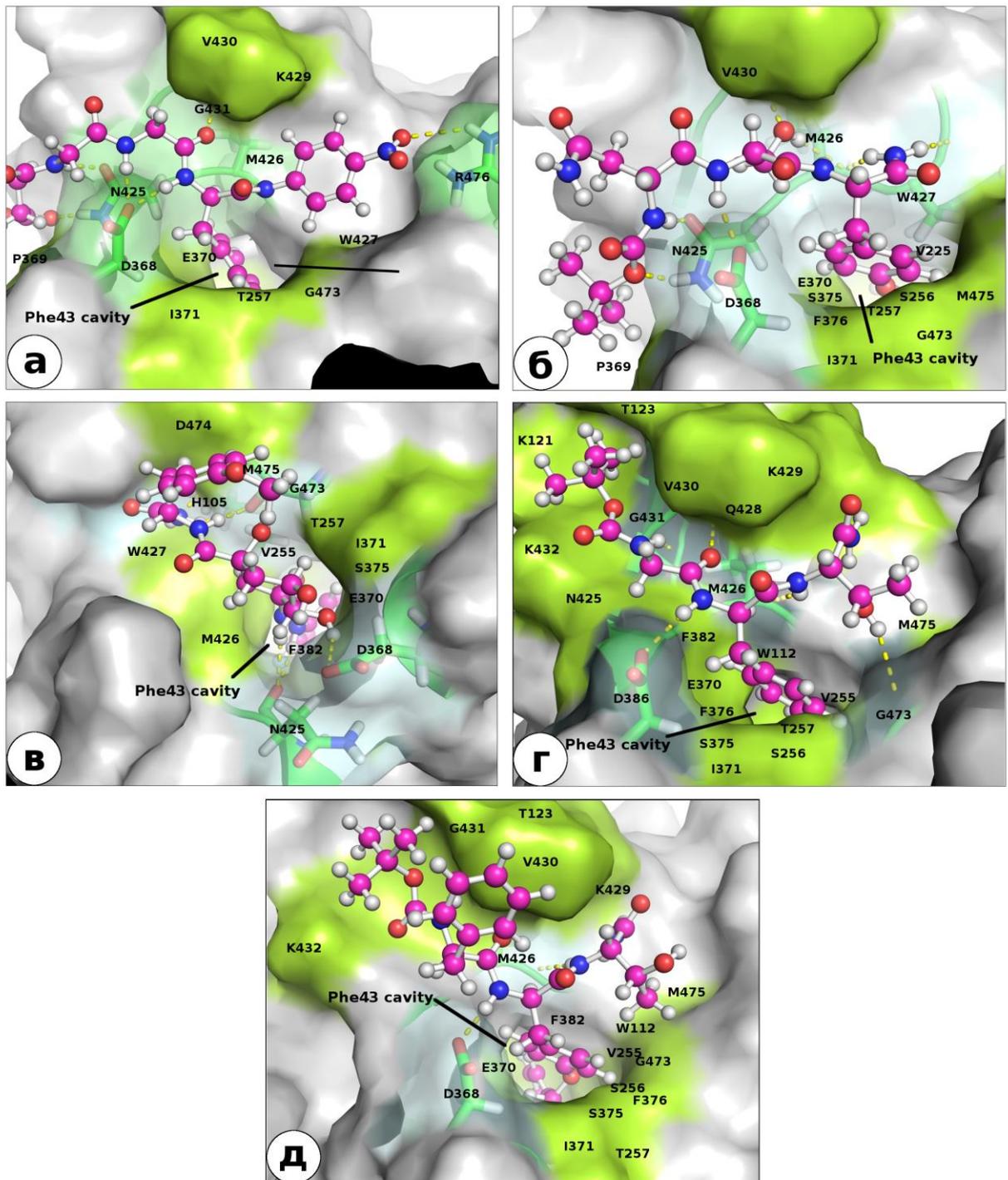
Визуализация структурных комплексов показывает (рисунок 5), что обнаруженные в базе данных MMsINC соединения блокируют расположенную между двумя  $\alpha$ -спиралями «шарнирную» область пептида MPER белка gp41, которая обеспечивает его конформационную подвижность, необходимую для проявления функциональной активности в процессе слияния мембран.

Из анализа данных МД расчетов комплексов 10E8-миметиков с белком gp41 ВИЧ-1 следует, что величины свободной энергии связывания, варьирующие в интервале от  $-5,3$  до  $-16,1$  ккал/моль, сопоставимы с величиной  $-10,9 \pm 0,1$  ккал/моль, измеренной методом изотермической титрационной калориметрии для пептида MPER белка gp41 в комплексе с МКА 10E8. Более того, расчетные значения энтальпии связывания для потенциальных 10E8-миметиков принимают значительно более низкие значения по сравнению с экспериментальной величиной для Fab-фрагмента 10E8, равной  $-9,6 \pm 0,1$  ккал/моль, что указывает на наличие энергетически благоприятных нековалентных взаимодействий между анализируемыми соединениями и антителом.

Проведенные расчеты показывают, что найденные в базе данных MMsINC химические соединения характеризуются близким с МКА 10E8 механизмом взаимодействия с участком MPER ВИЧ-1, основу которого формируют специфические  $\pi$ - $\pi$  взаимодействия и ван-дер-ваальсовы контакты, приводящие к блокаде аминокислотных остатков белка gp41, ответственных за слияние мембран вируса и клетки-мишени.

В шестой главе приведены результаты виртуального скрининга потенциальных пептидомиметиков первичного рецептора CD4 клетки-мишени, в результате которого идентифицированы пять соединений-лидеров (рисунок 6), проявляющих высокое сродство к CD4-связывающему участку белка gp120 ВИЧ-1. Анализ межмолекулярных взаимодействий, реализующихся в статических моделях структурных комплексов найденных соединений с белком gp120, показывает (рисунок 7), что существенный вклад в их стабилизацию вносят водородные связи с участием аминокислотных остатков gp120, критических для его связывания с первичным рецептором CD4. Так, согласно проведенным расчетам, все рассматриваемые соединения образуют водородные связи с Asp-368 белка gp120 – остатком, который, участвуя в донорно-акцепторных взаимодействиях с Arg-59 молекулы CD4, доминирует в связывании ВИЧ-1 с клеткой-мишенью. Среди аминокислот белка gp120, формирующих водородные связи с пептидомиметиками CD4, следует также отметить Asn-425 (соединения MMs03927209, MMs01102125, MMs00029542), Met-426 (MMs03927209, MMs01102125, MMs01087500, MMs01087509), Gly-473 (MMs00029542, MMs01087500) и Trp-427 (MMs01102125), используемые вирусом для взаимодействия с остатком Phe-43 клеточного рецептора CD4.





Показан фрагмент белка gp120, формирующий участок связывания для пептидомиметиков CD4. Отмечены аминокислотные остатки гликопротеина, образующие водородные связи и ван-дер-ваальсовы контакты с этими соединениями

Рисунок 7 – Структурные комплексы химических соединений MM03927209 (а), MM01102125 (б), MM00029542 (в), MM01087500 (г) и MM01087509 (д) с белком gp120 ВИЧ-1

Кроме этих двух остатков, в блокаде оказываются такие аминокислоты Phe<sup>43</sup>-полости, как Gly-473 (соединения MMs03927209, MMs01102125 и MMs01087509), Asn-425 (MMs01087500), Met-426 (MMs00029542) и Trp-427 (MMs03927209 и MMs00029542).

Результаты МД расчетов свидетельствуют о конформационной устойчивости анализируемых комплексов: величины свободной энергии их образования варьируют в интервале от  $-7,1$  до  $-15,8$  ккал/моль и близки к экспериментальному значению  $-9,5 \pm 0,1$  ккал/моль, полученному для комплекса CD4/gp120. Разложение энтальпийной составляющей свободной энергии на вклады индивидуальных остатков gp120 показывает, что Asp-368<sub>gp120</sub>, Asn-425<sub>gp120</sub>, Met-426<sub>gp120</sub> и Trp-427<sub>gp120</sub>, критические для взаимодействия с CD4, доминируют в связывании с CD4-миметиками. Кроме того, величины свободной энергии связывания ингибиторов ВИЧ-1 NBD-11021 ( $IC_{50} < 1,7$  мкмоль) и (+)-DMJ-II-121 ( $IC_{50} < 2,3$  мкмоль) с белком gp120, полученные нами с помощью использованных в работе методов и расчетных параметров и равные  $-8,3 \pm 4,2$  и  $-8,0 \pm 5,1$  ккал/моль соответственно, сопоставимы с соответствующими значениями для обнаруженных соединений. Это указывает на высокую вероятность проявления ими ингибиторной активности, а также свидетельствует о корректности выбранных для решения поставленных задач методов и полученных результатов.

Таким образом, из анализа данных молекулярного моделирования следует, что соединения, обнаруженные в базе данных MMsINC (рисунок 6), могут блокировать два консервативных элемента структуры CD4-связывающего участка белка gp120 – Phe<sup>43</sup>-полость и остаток Asp-368<sub>gp120</sub> (рисунок 7), что является характерным признаком полных функциональных антагонистов первичного рецептора CD4.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

На основе анализа структурных комплексов анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4 методами компьютерного скрининга и молекулярного моделирования идентифицированы:

1. Шесть пептидомиметиков моноклонального антитела VRC01, блокирующих CD4-связывающий участок ВИЧ-1 путем образования водородных связей и ван-дер-ваальсовых контактов с аминокислотными остатками белка gp120, ответственными за связывание вируса с первичным рецептором CD4. При этом идентифицированные соединения блокируют Phe<sup>43</sup>-полость белка gp120, а именно остатки Glu-370, Ile-371, Asn-425, Met-426, Trp-427 и Gly473, принимающие непосредственное участие во взаимодействии с Phe-43 молекулы CD4. Показано, что обнаруженные соединения формируют перспективные базовые структуры для создания новых лекарственных препаратов против ВИЧ-1

широкого спектра действия [1, 5, 8, 13, 17, 19, 21, 24, 28, 29, 30].

2. Четыре пептидомиметика моноклонального антитела 3074, имитирующих специфические  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействия ароматического остатка Phe-96 тяжелой цепи антитела с консервативным пролином иммуногенного участка белка gp120 – элементом структуры, в состав которого входят аминокислотные остатки петли V3, образующие прямые межмолекулярные контакты с корцепторами CCR5 или CXCR4 клетки-мишени. Идентифицированные пептидомиметики антитела 3074 могут быть использованы для разработки лекарственных препаратов нового поколения, терапевтическое действие которых основано на блокаде петли V3 белка gp120 оболочки ВИЧ-1 [1, 2, 3, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 26, 27].

3. Восемь пептидомиметиков моноклонального антитела 10E8, которые селективно связываются с участком эктодомена белка gp41 ВИЧ-1, критическим для слияния мембран вируса и клетки-мишени. Показано, что важный вклад в стабилизацию комплексов обнаруженных соединений с молекулярной мишенью вносят  $\pi$ - $\pi$  взаимодействия  $\pi$ -сопряженных систем их ароматических колец с боковой цепью остатка Trp-672, представляющего одну из ключевых аминокислот линейного эпитопа, используемого антителом для связывания с белком gp41. Установлено, что, как и антитело 10E8, найденные соединения блокируют расположенную между двумя  $\alpha$ -спиралями «шарнирную» область пептида MPER, которая обеспечивает его конформационную подвижность, необходимую для проявления функциональной активности белка gp41 в процессе слияния мембран. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования идентифицированных соединений для создания новых противовирусных препаратов – ингибиторов слияния ВИЧ-1, нейтрализующих участок MPER белка gp41 [1, 6, 7, 9, 11, 13, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 32, 33].

4. Пять пептидомиметиков первичного рецептора CD4 ВИЧ-1, проявляющих высокое сродство к CD4-связывающему участку белка gp120 ВИЧ-1 – функционально консервативному эпитопу оболочки вируса. Показано, что обнаруженные CD4-миметики блокируют два фрагмента оболочки вируса, необходимые для связывания с первичным рецептором – Phe<sup>43</sup>-полость белка gp120 и остаток Asp-368<sub>gp120</sub>, имитируя ключевые взаимодействия ВИЧ с остатками Phe-43 и Arg-59 молекулы CD4. Все найденные соединения образуют водородные связи с Asp-368<sub>gp120</sub> и многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты с аминокислотами белка gp120, непосредственно участвующими во взаимодействии, критическом для связывания с остатком Phe-43<sub>CD4</sub>. Полученные данные указывают на высокую вероятность проявления этими соединениями ВИЧ-ингибирующих свойств, присущих полным функциональным антагонистам клеточного рецептора CD4 [1, 4, 10, 12, 18, 21, 24, 31].

## Рекомендации по практическому использованию результатов

Полученные в диссертационном исследовании результаты могут быть использованы в работах по разработке новых анти-ВИЧ препаратов, терапевтическое действие которых основано на блокаде ключевых стадий процесса проникновения вируса в клетку-хозяина. Поэтому, дальнейшее развитие настоящей работы предусматривает тестирование обнаруженных в базе данных MMsINC молекул на анти-ВИЧ активность против широкого набора модификаций вируса, идентификацию соединений-лидеров, оптимизацию структур базовых соединений, синтез наиболее перспективных из них с последующими биологическими испытаниями на противовирусную активность и фармакокинетические свойства.

В последние годы идентифицированы анти-ВИЧ антитела, блокирующие новые консервативные эпитопы оболочки вируса, расположенные в связанных с N-гликанами областях петель V1/V2 и V3 белка gp120 и гликан-зависимых участках интерфейса gp41–gp120. Очевидно, что в результате компьютерного поиска пептидомиметиков этих антител с помощью подхода, использованного в настоящей работе, могут быть найдены потенциальные терапевтические агенты с новыми механизмами действия, что позволит сформировать наборы соединений различных классов – перспективных кандидатов для разработки эффективных противовирусных препаратов широкого спектра нейтрализующего действия.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

### *Глава в книге:*

1. Andrianov, A.M. Computer-Based Technologies for Virtual Screening and Analysis of Chemical Compounds Promising for Anti-HIV-1 Drug Design / A.M. Andrianov, I.A. Kashyn, A.V. Tuzikov // In: Krasnoproshin V., Ablameyko S. (eds) Pattern Recognition and Information Processing. PRIP 2016. – Commun. Computer Inf. Sci., Springer. – 2017. – Vol. 673. – P. 14–23.

### *Статьи в рецензируемых научных журналах:*

2. Андрианов, А.М. Компьютерный поиск новых анти-ВИЧ-1 агентов - пептидомиметиков нейтрализующих антител - и оценка их потенциальной ингибиторной активности методами молекулярного моделирования / А.М. Андрианов, И.А. Кашин, А.В. Тузиков // Мат. биология и биоинформатика. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 119–134.

3. Andrianov, A.M. Discovery of novel anti-HIV-1 agents based on a broadly neutralizing antibody against the envelope gp120 V3 loop: a computational study / A.M. Andrianov, I.A. Kashyn, A.V. Tuzikov // J. Biomol. Struct. Dyn. – 2014. – Vol. 32, № 12. – P. 1993–2004.

4. Кашин, И.А. Виртуальный скрининг новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих CD4-связывающий участок белка gp120 оболочки вируса /

И.А. Кашин, А.В. Тузиков, А.М. Андрианов // *Мат. биология и биоинформатика*. – 2014. – Т. 9, № 2. – С. 359–372.

5. Кашин, И.А. Виртуальный скрининг новых анти-ВИЧ агентов – пептидомиметиков моноклонального антитела VRC01, проявляющего широкую вирусную нейтрализацию / И.А. Кашин, А.В. Тузиков, А.М. Андрианов // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2014. – Т. 58, № 2. – С. 63–72.

6. Кашин, И.А. Идентификация новых потенциальных ингибиторов белка gp41 ВИЧ-1 методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования / И.А. Кашин, А.В. Тузиков, А.М. Андрианов // *Мат. биология и биоинформатика*. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 325–343.

7. Кашин, И.А. Компьютерный скрининг низкомолекулярных ингибиторов проникновения вич-1 на основе нейтрализующего антитела 10e8 / И.А. Кашин, А.М. Андрианов, А.В. Тузиков // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси* – 2015. – Т. 59, № 3. – С. 56–65.

8. Andrianov, A. Computational discovery of novel HIV-1 entry inhibitors based on potent and broad neutralizing antibody VRC01 / A. Andrianov, I. Kashyn, A. Tuzikov // *J. Mol. Graph. Model.* – 2015. – Vol. 61. – P. 262–271.

9. Кашин, И.А. Молекулярная динамика структурного комплекса белка gp41 вич-1 с моноклональным антителом 10e8, проявляющим широкую вирусную нейтрализацию / И.А. Кашин, А.М. Андрианов, А.В. Тузиков // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси* – 2015. – Т. 59, № 1. – С. 68–73.

10. Кашин, И.А. Компьютерный поиск новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1 на основе анализа взаимодействий клеточного рецептора CD4 с белком gp120 оболочки вируса / И. А. Кашин, А. М. Андрианов // *Молодежь в науке – 2015: прил. к журн. «Известия Нац. акад. наук Беларуси»*. В 5 ч. Ч. 1 – 2016. – С. 24 – 27.

11. Andrianov, A. M. Identification of novel HIV-1 fusion inhibitor scaffolds by virtual screening, high-throughput docking and molecular dynamics simulations / A. M. Andrianov, I. A. Kashyn, A. V. Tuzikov // *JSM Chem.* – 2016. – Vol. 4, № 2. – 1022.

12. Andrianov, A.M. Computational identification of novel entry inhibitor scaffolds mimicking primary receptor CD4 of HIV-1 gp120 / A.M. Andrianov, I.A. Kashyn, A.V. Tuzikov // *J. Mol. Model.* – 2017. – Vol. 23, № 1. – P. 1–18.

13. Компьютерный дизайн и синтез потенциальных лекарств против ВИЧ-1 / А.М. Андрианов, И.А. Кашин, Ю.В. Корноушенко, А.В. Тузиков // *Наука и инновации*. – 2017. – № 10. – С. 70–72.

***Статьи в сборниках трудов международных конференций:***

14. Кашин, И.А. Компьютерное конструирование потенциальных анти-ВИЧ агентов на основе анализа структурных комплексов петли V3 белка gp120 оболочки вируса с нейтрализующими антителами / И.А. Кашин, А.М. Андрианов // *Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования*

биосистем: междунар. науч. конф., Минск, 28–30 июня 2016 г. : сб. ст. : в 2 ч. / Двенадцатый съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков [и др.] ; редкол.: И. Д. Вологовский [и др.]. – Минск, 2016. – Ч. 1. – С. 299–301.

15. Кашин, И.А. Компьютерный дизайн потенциальных пептидомиметиков антитела 3074, обладающего широким спектром нейтрализующей активности к ВИЧ-1 / И.А. Кашин, А.М. Андрианов // Суперкомпьютерные системы и их применение : SSA'2012 : четвертая Междунар. науч. конф., Минск, 23–25 окт. 2012 г. : доклады / Объед. ин-т проблем информатики НАН Беларуси ; науч. ред. В. В. Анищенко. – Минск, 2012. – С. 198–202.

16. Andrianov, A.M. Computer-aided search for novel HIV-1 entry inhibitors based on a broadly neutralizing antibody against the envelope gp120 V3 loop [Electronic resource] / A.M. Andrianov, I.A. Kashyn, A.V. Tuzikov // Computational molecular biology «MCCMB'2013» : proc. of the Intern. Moscow conf., Moscow, July 25–28 2013 / Inst. for Inform. Transmission Problems RAS ; ed. board: V. Skulachev (co-chair) [et al.]. – Moscow, 2013. – Mode of access: <http://mccmb.belozersky.msu.ru/2013/abstracts/abstracts/138.pdf>. – Date of access: 22.12.2013.

17. Кашин, И.А. Идентификация новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1 на основе моноклонального антитела VRC01, обладающего широким спектром нейтрализующей активности / И.А. Кашин, А.В. Тузииков, А.М. Андрианов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : Междунар. науч. конф., Минск, 17–20 июня 2014 г. : сб. ст. : в 2 ч. / Одиннадцатый съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков [и др.] ; редкол.: И. Д. Вологовский [и др.]. – Минск, 2014. – Ч. 1. – С. 271–273.

18. Andrianov, A.M. Computer-aided identification of small-molecule HIV-1 entry inhibitors mimicking cellular receptor CD4 [Electronic resource] / A.M. Andrianov, I.A. Kashyn, A.V. Tuzikov // Computational molecular biology «MCCMB'2015» : proc. of the Intern. Moscow conf., Moscow, July 16–19 2015 / Inst. for Inform. Transmission Problems RAS ; ed. board: V. Skulachev (co-chair) [et al.]. – Moscow, 2015. – Mode of access: <http://mccmb.belozersky.msu.ru/2015/proceedings/abstracts/68.pdf>. – Date of access: 15.09.2015.

19. Andrianov, A.M. Virtual screening of novel anti-HIV-1 agents based on a broadly neutralizing antibody VRC01 and evaluation of their potential inhibitory activity by molecular docking and dynamics simulations / A.M. Andrianov, I.A. Kashyn, A.V. Tuzikov // Computational molecular biology «MCCMB'2015» : proc. of the Intern. Moscow conf., Moscow, July 16–19 2015 / Inst. for Inform. Transmission Problems RAS ; ed. board: V. Skulachev (co-chair) [et al.]. – Moscow, 2015. – Mode of access: <http://mccmb.belozersky.msu.ru/2015/proceedings/abstracts/69.pdf>. – Date of access: 15.09.2015.

20. Kashyn, I.A. Molecular dynamics simulations to identify the binding hot spots of the HIV-1 coat protein gp41 and broadly neutralizing antibody 10E8 / I.A. Kashyn,

A.V. Tuzikov, A.M. Andrianov // Computational molecular biology «MCCMB'2015» : proc. of the Intern. Moscow conf., Moscow, July 16–19 2015 / Inst. for Inform. Transmission Problems RAS ; ed. board: V. Skulachev (co-chair) [et al.]. – Moscow, 2015. – Mode of access: <http://mccmb.belozersky.msu.ru/2015/proceedings/abstracts/67.pdf>. – Date of access: 15.09.2015.

21. Кашин, И.А. Компьютерный поиск химических соединений для создания потенциальных лекарств против ВИЧ / И.А. Кашин, А.В. Тузиков, А.М. Андрианов // Материалы 4-й Всероссийской научно-технической конференции «Суперкомпьютерные технологии» (СКТ-2016) – 2016. – Т. 2. – С. 248–251.

22. Кашин, И.А. Компьютерный скрининг новых потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1 – пептидомиметиков нейтрализующего антитела 10e8 / И.А. Кашин, А.В. Тузиков, А.М. Андрианов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : междунар. науч. конф., Минск, 28–30 июня 2016 г. : сб. ст. : в 2 ч. / Двенадцатый съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков [и др.] ; редкол.: И. Д. Волотовский [и др.]. – Минск, 2016. – Ч. 1. – С. 101–104.

23. Кашин, И.А. Компьютерный скрининг новых ингибиторов слияния ВИЧ-1 и оценка их потенциальной нейтрализующей активности методами молекулярного моделирования / И.А. Кашин, А.В. Тузиков, А.М. Андрианов // Современные проблемы биохимии : сб. науч. ст. I Белорус. биохим. конгр., Гродно, 5–6 июля 2016 г. : в 2 ч. / Ин-т биохимии биологически актив. соединений НАН Беларуси ; редкол.: Л. И. Надольник (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2016. – Ч. 2. – С. 174 – 179.

24. Computer screening and modelling for anti HIV-1 drug development / A. V. Tuzikov, I.A. Kashyn, Y.V. Kornoushenko, A.M. Andrianov // 8<sup>th</sup> International Workshop on «Data analysis methods for software systems» : proceedings, Druskininkai, Lithuania, December 1–3, 2016 / Vilnius University, faculty of mathematics and informatics ; the editorial board: Dr. Saulius Maskeliūnas [et al.]. – Druskininkai, 2016. – P. 59–61.

25. In silico discovery of novel fusion inhibitor scaffolds targeting a membrane proximal external region of HIV-1 gp41 / I.A. Kashyn, A. V. Tuzikov, V.M. Andrianov, A.M. Andrianov // Computational molecular biology «MCCMB'2017» : proc. of the Intern. Moscow conf., Moscow, July 27–30 2017 / Inst. for Inform. Transmission Problems RAS ; ed. board: V. Skulachev (co-chair) [et al.]. – Moscow, 2017. – Mode of access: <http://mccmb.belozersky.msu.ru/2017/proceedings/abstracts/103.pdf>. – Date of access: 15.09.2017.

**Тезисы докладов:**

26. Кашин, И.А. Компьютерное конструирование пептидомиметиков нейтрализующих антител, индуцированных к третьему вариабельному домену белка gp120 ВИЧ-1 / И.А. Кашин, А.М. Андрианов // Химия, структура и функция

биомолекул : сб. материалов IV междунар. науч. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения акад. А. А. Ахрема, Минск, 17–19 окт. 2012 г. / НАН Беларуси [и др.]. – Минск, 2012. – С. 90–91.

27. Andrianov, A.M. Computer-aided search for novel anti-HIV-1 agents presenting peptidomimetics of broadly neutralizing antibodies against the virus envelope gp120 V3 loop / Andrianov A.M., Kashyn I.A., Tuzikov A.V. // *Conversation in biomolecular stereodynamics : proc. of the 18th Intern. conf., Albany, 2013 / publisher: «Taylor and Francis». – J. of Biomolecular Structure a. Dynamics. – Vol. 31, supplement 1. – P. 124– 125.*

28. Кашин, И.А. Компьютерное предсказание новых анти-ВИЧ агентов – пептидомиметиков нейтрализующего антитела VRC01 / И.А. Кашин, А.В. Тузиков, А.М. Андрианов // *Химия, структура и функция биомолекул : материалы V Междунар. науч. конф., посвящ. 40-летию Ин-та биоорг. химии и 85-летию Нац. акад. наук Беларуси, Минск, 4–6 июня 2014 г. / НАН Беларуси [и др.] ; редкол.: Ф. А. Лахвич [и др.]. – Минск, 2014. – С. 92– 93.*

29. Andrianov, A.M. Computational prediction of novel anti-HIV-1 agents based on potent and broad neutralizing antibody VRC01 / A.M. Andrianov, I.A. Kashyn, A.V. Tuzikov // *Abstracts of the Ninth International Conference of Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology BGRS\SB-2014, June 22-28, 2014, Novosibirsk, Russia, 23.*

30. Andrianov, A.M. In silico discovery of novel HIV-1 entry inhibitors based on potent and broad neutralizing antibody VRC01 / A. M. Andrianov, I. A. Kashyn, A. V. Tuzikov // *Conversation in biomolecular stereodynamics : proc. of the 19th Intern. conf., Albany, 2015 / publisher: «Taylor and Francis». – J. of Biomolecular Structure a. Dynamics. – Vol. 33, supplement 1. – P. 121– 122.*

31. Andrianov, A.M. Virtual screening of novel anti-HIV-1 agents targeting CD4-binding site of the envelope gp120 protein / A. M. Andrianov, I. A. Kashyn, A. V. Tuzikov // *Conversation in biomolecular stereodynamics : proc. of the 19th Intern. conf., Albany, 2015 / publisher: «Taylor and Francis». – J. of Biomolecular Structure a. Dynamics. – Vol. 33, supplement 1. – P. 122– 123.*

32. Kashyn, I.A. Molecular dynamics simulations of the structure of human antibody 10E8 Fab in complex with membrane-proximal external region of the HIV-1 gp41 protein // I. A. Kashyn, A. V. Tuzikov, A. M. Andrianov // *Conversation in biomolecular stereodynamics : proc. of the 19th Intern. conf., Albany, 2015 / publisher: «Taylor and Francis». – J. of Biomolecular Structure a. Dynamics. – Vol. 33, supplement 1. – P. 123.*

33. Kashyn, I. A. Pharmacophore-based virtual screening of novel HIV-1 fusion inhibitors mimicking potent and broad neutralizing antibody 10e8 / I. A. Kashyn, A. V. Tuzikov, A. M. Andrianov // *ISBRA 2016 : proc. of the 12th Intern. Symp., Minsk, June 5–8 2016 / Belarus. State Univ. ; ed. board: A. Bourgeois (co-chair) [et al.]. – Minsk, 2016. – Mode of access: <http://link.springer.com/openurl.asp?genre=issue&issn=0302-9743&volume=9683> – Date of access: 11.07.2016.*



## РЕЗЮМЕ

**Кашин Иван Александрович**

### **Компьютерный скрининг и идентификация потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 на основе высокоаффинных лигандов белков оболочки вируса**

**Ключевые слова:** ВИЧ-1, белки gp120 и gp41, нейтрализующие антитела, клеточный рецептор CD4, молекулярное моделирование, ингибиторы проникновения ВИЧ-1.

**Цель работы:** Осуществить компьютерный скрининг химических соединений – потенциальных пептидомиметиков анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и клеточного рецептора CD4 и идентифицировать молекулы, перспективные для разработки новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1 широкого спектра действия.

**Методы исследования:** Виртуальный скрининг, высокопроизводительный докинг, молекулярная динамика, расчет свободной энергии связывания.

**Результаты работы и их новизна:** Впервые методами виртуального скрининга и компьютерного моделирования обнаружены пептидомиметики моноклональных анти-ВИЧ антител VRC01, 3074, 10E8 и первичного рецептора CD4, обладающие пространственными и фармакофорными признаками, ответственными за проявление биологической активности. Показано, что идентифицированные соединения могут проявлять высокую аффинность связывания с белками оболочки ВИЧ-1 путем имитации взаимодействий вируса с рецепторами клеточной мембраны, которые обеспечивают его прочную адсорбцию на поверхности клетки-мишени. На основе анализа данных компьютерного моделирования сделан вывод о том, что обнаруженные пептидомиметики лигандов белков оболочки вируса формируют перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных анти-ВИЧ препаратов с широкой вирусной нейтрализацией. Предсказано, что комбинированное использование этих низкомолекулярных соединений, блокирующих три ключевых стадии процесса проникновения ВИЧ-1 в чувствительные клетки, позволит предотвратить репликацию вируса и существенно снизить уровень вирусной нагрузки в плазме крови.

**Рекомендации по использованию:** Полученные результаты могут быть использованы в работах по разработке новых анти-ВИЧ препаратов, терапевтическое действие которых основано на блокаде ключевых стадий процесса проникновения вируса в клетку хозяина.

**Область применения:** Биоорганическая химия, биофизика, биоинформатика, медицина.

## РЭЗІЮМЭ

**Кашын Іван Аляксандравіч**

### **Кампутарны скрынінг і ідэнтыфікацыя патэнцыйных інгібітараў ВІЧ-1 на аснове высокаафінных лігандаў бялкоў абалонкі віруса**

**Ключавыя словы:** ВІЧ-1, бялкі gp120 і gp41, нейтралізуючыя антыцелы, клеткавы рэцэптар CD4, малекулярнае мадэляванне, інгібітары пранікнення ВІЧ-1.

**Мэта работы:** Рэалізаваць кампутарны скрынінг хімічных злучэнняў – патэнцыйных пептыдаміметыкаў анты-ВІЧ антыцелаў VRC01, 3074, 10E8 і клеткавага рэцэптара CD4 і ідэнтыфікаваць малекулы, перспектыўныя для распрацоўкі новых інгібітараў пранікнення ВІЧ-1 шырокага спектру дзеяння.

**Метады даследавання:** Віртуальны скрынінг, высокапрадукцыйны докінг, малекулярная дынаміка, разлік свабоднай энергіі звязвання.

**Вынікі працы і іх навізна:** Упершыню метадамі віртуальнага скрынінга і камп'ютарнага мадэлявання выяўлены пептыдаміметыкі моноклональных анты-ВІЧ антыцелаў VRC01, 3074, 10E8 і першаснага рэцэптара CD4, якія валодаюць прасторавымі і фармакофорнымі прыкметамі, адказнымі за праява біялагічнай актыўнасці. Паказана, што ідэнтыфікаваныя злучэнні могуць праяўляць высокую афіннасць звязвання з бялкамі абалонкі ВІЧ-1 шляхам імітацыі узаемадзеянняў віруса з рэцэптарамі клеткавай мембраны, якія забяспечваюць яго трывалую адсорбцыю на паверхні клеткі-мішэні. На аснове аналізу дадзеных камп'ютэрнага мадэлявання зроблена выснова аб тым, што знойдзеныя пептыдаміметыкі лігандаў бялкоў абалонкі віруса фармуюць перспектыўныя базавыя структуры для распрацоўкі новых эфектыўных анты-ВІЧ прэпаратаў з шырокай віруснай нейтралізацыяй. Прадказана, што камбінаванае выкарыстанне гэтых нізкамалекулярных злучэнняў, якія блакіруюць тры ключавых стадыі працэсу пранікнення ВІЧ-1 у адчувальныя клеткі, дазволіць прадухіліць рэплікацыю віруса і істотна знізіць узровень віруснай нагрузкі ў плазме крыві.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні:** Атрыманая вынікі могуць быць выкарыстаны ў працах па распрацоўцы новых анты-ВІЧ прэпаратаў, тэрапеўтычнае дзеянне якіх заснавана на блакадзе ключавых стадыі працэсу пранікнення віруса ў клетку гаспадара.

**Вобласць ужывання:** Біяарганічная хімія, біяфізіка, біяінфарматыка, медыцына.

## SUMMARY

**Kashyn Ivan Alexandrovich**

### **Computer screening and identification of potential HIV-1 inhibitors based on the high-affinity ligands of the viral envelope proteins**

**Key words:** HIV-1, gp120 and gp41 proteins, neutralizing antibodies, cellular receptor CD4, molecular modeling, HIV-1 entry inhibitors.

**Objective:** To carry out computer screening of chemical compounds presenting potential peptidomimetics of anti-HIV antibodies VRC01, 3074, 10E8 and cellular receptor CD4 and identify molecules promising for the development of novel broad-spectrum HIV-1 entry inhibitors.

**Methods of the research:** Virtual screening, high-throughput docking, molecular dynamics, binding free energy calculations.

**The results and their novelty:** Peptidomimetics of monoclonal anti-HIV antibodies VRC01, 3074, 10E8 and primary receptor CD4 that exhibit spatial and pharmacophore features responsible for biological activity were first found by virtual screening and computer modeling tools. The identified compounds were shown to expose a high binding affinity to the HIV-1 envelope proteins by mimicking critical interactions between HIV-1 and cellular receptors, providing its strong adsorption on the surface of a target cell. Based on the data obtained, the identified molecules were shown to form promising scaffolds for the development of novel effective anti-HIV drugs with broad viral neutralization. It is supposed that combined use of these low-molecular compounds blocking the HIV-1 entry into susceptible cells may suppress the viral replication and reduction of the plasma HIV-1 load.

**Recommendations for use:** The findings obtained can be used in the design of novel anti-HIV drugs with therapeutic action based on the blockade of the key stages of the virus entry into a host cell.

**Application guidelines:** Bioorganic chemistry, biophysics, bioinformatics, medicine.