

ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПРОНИКНОВЕНИЯ ВИЧ-1 НА ОСНОВЕ ФАРМАКОФОРНОЙ МОДЕЛИ ВЫСОКОАФФИННОГО ЛИГАНДА БЕЛКА GP120 ОБОЛОЧКИ ВИРУСА

А.В. Резник

*Белорусский государственный университет, г. Минск;
alexander.reznik.01@gmail.com;*

науч.рук. – Г. И. Николаев, мл. науч. сопр. ГНУ «ОИПИ НАН Беларуси»

Обнаружены молекулы способные к специфическим и эффективным взаимодействиям с Phe43-полостью белка gp120, что указывает на высокую вероятность проявления ими ВИЧ-ингибирующих свойств, присущих полным функциональным антагонистам клеточного рецептора CD4.

Ключевые слова: виртуальный скрининг; ингибиторы проникновения; молекулярный докинг; фармакофор.

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 [1].

В настоящее время для терапии ВИЧ-инфекции в клинической практике используются более 25 лекарственных препаратов [2]. Однако высокая генетическая изменчивость ВИЧ-1 приводит к выработке устойчивости к определенному препарату через некоторое время после начала его применения. На сегодняшний день применяются только два ингибитора проникновения: энфувертид, блокирующий слияние мембран вируса и клетки-мишени, и маравирик, конкурирующий с ВИЧ-1 за связывание с корецептором CCR5 [2]. Однако эти препараты имеют ряд недостатков, ограничивающих их использование в антиретровирусной терапии, что обуславливает необходимость поиска новых, более эффективных анти-ВИЧ агентов [2].

Согласно данным рентгеноструктурного анализа [3], взаимодействия аминокислотных остатков Phe-43 и Arg-59 молекулы CD4 с консервативными остатками Asp-368, Glu-370 и Trp-427 белка gp120 являются критическими для связывания ВИЧ-1 с рецептором CD4. При этом остаток Phe-43_{CD4} погружается в гидрофобный “карман” CD4-связывающего участка белка gp120, именуемый Phe⁴³-полостью, и взаимодействует с остатками Asp-368, Glu-370, Ile-371, Asn-425, Met-426, Trp-427 и Gly-473, на долю которых приходится 23% от общего числа контактов ВИЧ-1 с рецептором CD4, а остаток Arg-59_{CD4} формирует две водородные

связи с Asp-368_{gp120} [3]. Именно эти взаимодействия обеспечивают прочное связывание белка gp120 ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4 [3].

Цель исследования: Осуществить поиск в базе данных химических соединений и оценку потенциальной нейтрализующей активности ингибиторов проникновения ВИЧ-1, способных блокировать Phe⁴³-полость CD4-связывающего участка белка gp120, и идентифицировать соединения, перспективные для разработки новых противовирусных препаратов с широким спектром нейтрализующего действия.

Для достижения поставленной цели в работе решены следующие задачи:

1. С помощью веб-сервиса Pharmit (<http://pharmit.csb.pitt.edu/>) определены фармакофоры известного ингибитора проникновения ВИЧ-1 NBD11021, обеспечивающие специфичность и эффективность его взаимодействия с молекулярной мишенью.

2. Построена фармакофорная модель NBD11021.

3. Проведен виртуальный скрининг базы данных ZINC (<http://zinc.docking.org>) для отбора соединений, соответствующих фармакофорной модели.

4. Методами молекулярного докинга построены структурные комплексы найденных молекул с белком gp120 ВИЧ-1, в результате анализа которых идентифицированы химические соединения, перспективные для синтеза и тестирования на противовирусную активность.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Решение поставленных задач выполнено в рамках подхода, использующего для поиска наиболее вероятных структур-кандидатов биологически активных соединений фармакофорную модель ингибитора проникновения ВИЧ-1 NBD11021, который взаимодействует с Phe⁴³-полостью белка gp120 и образует водородную связь с функционально важным остатком Asp-368 этого гликопротеина [4]. В качестве мишени была использована кристаллическая структура белка gp120, заимствованная из Банка данных белков (код 4rz8; <https://www.rcsb.org/structure/4rz8>).

При помощи веб-сервиса Pharmit построена фармакофорная модель NBD11021 и в базе данных ZINC осуществлен поиск соединений, удовлетворяющих этой модели. В результате было обнаружено 1642 соединения, согласующиеся с моделью фармакофора и удовлетворяющих «правилу пяти» Липинского, накладывающего на лиганд, взаимодействующий с молекулярной мишенью, условия подобия лекарству [5]. Для проведения молекулярного докинга были отобраны 635 соединений с отрицательной энергией связывания и значениями среднеквадратичного

отклонения атомных координат от соответствующих параметров ингибитора NBD11021, меньшими 2 Å.

Молекулярный докинг выполняли с помощью программы QuickVina 2 (<http://omictools.com/quickvina-tool>) с учетом конформационной подвижности лиганда. Ячейка для докинга представляла фрагмент белка gp120 с координатами $x \in (9 \text{ Å}; 35 \text{ Å})$, $y \in (0 \text{ Å}; 26 \text{ Å})$, $z \in (21 \text{ Å}; 47 \text{ Å})$, включающий Phe⁴³-полость гликопротеина; т.е. ее объем составлял $26 \times 26 \times 26 = 17576 \text{ Å}^3$. Для каждого лиганда генерировали 9 моделей комплекса, лучших по значению оценочной функции; при этом параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), был задан равным 50.

В качестве контрольного соединения в расчетах использовали ингибитор проникновения ВИЧ-1 NBD-11021.

Межмолекулярные водородные связи, солевые мостики и π - π взаимодействия в структурных комплексах потенциальных лигандов с белком gp120 ВИЧ-1 определяли с помощью программы BINANA (<http://nbcrc.ucsd.edu/data/sw/hosted/binana/>). Ван-дер-ваальсовы взаимодействия идентифицировали и визуализировали средствами программы LigPlot (<http://ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LIGPLOT/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ результатов молекулярного докинга позволил выделить пять соединений-лидеров, характеризующихся более низкими значениями энергии связывания с белком gp120 ВИЧ-1 по сравнению с ингибитором ВИЧ-1 NBD-11021 (табл. 1).

Таблица 1

Химические соединения – потенциальные ингибиторы проникновения ВИЧ-1

Лиганд	Химическая формула	Молекулярная масса (Да)	LogP ₁	Число доноров водородной связи	Число акцепторов водородной связи	Энергия связывания (ккал/моль)
I	C ₂₁ H ₁₉ F ₃ N ₄ O	400	4,9	2	2	-10,2
II	C ₁₈ H ₁₈ F ₂ N ₆ O	372	3,5	3	3	-10,0
III	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O ₂	387	3,2	2	4	-9,9
IV	C ₁₉ H ₁₈ F ₂ N ₆ O	384	2,7	2	5	-9,8
V	C ₁₉ H ₂₄ F ₂ N ₄ O	362	4,1	2	2	-9,7
NBD 11021	C ₂₂ H ₂₅ ClN ₄ O ₂ S	445	0,7	4	6	-8,9

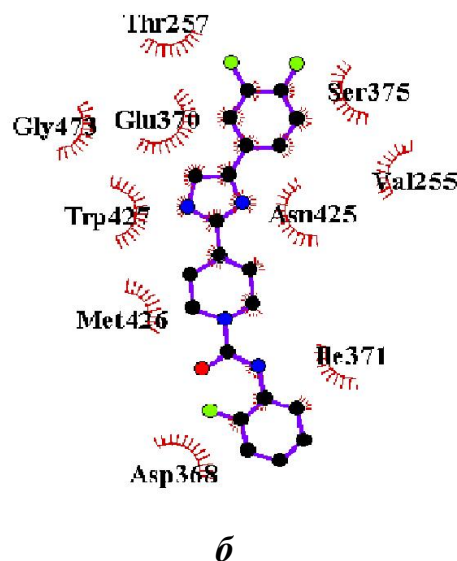
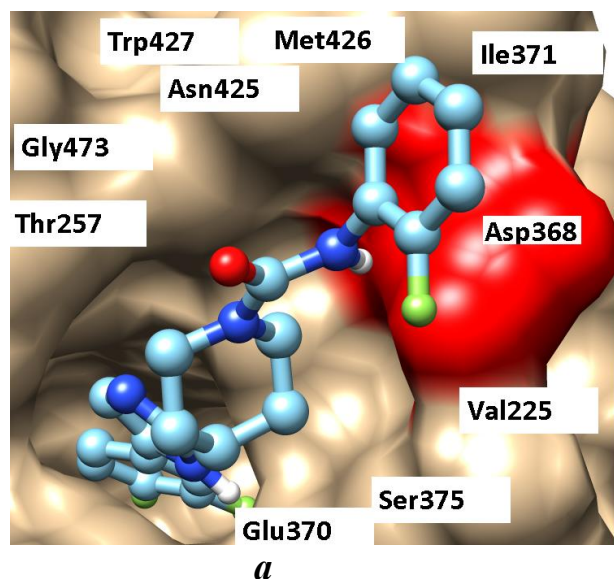


Рис. 1. (а) Структурный комплекс соединения I с белком gp120 ВИЧ-1. (б) Аминокислотные остатки белка gp120, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с соединением I.

Согласно полученным результатам (рис. 1), обнаруженные с помощью виртуального скрининга потенциальные ингибиторы ВИЧ-1 блокируют функционально важную гидрофобную полость белка gp120 (рис. 1, а) и формируют широкую сеть ван-дер-ваальсовых контактов с аминокислотными остатками белка gp120, критическими для взаимодействия ВИЧ-1 с клеточным рецептором CD4 (рис. 1, б).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, данные молекулярного моделирования (табл. 1; рис. 1) свидетельствуют о том, что обнаруженные в результате виртуального скрининга молекулы способны к специфическим и эффективным взаимодействиям с Phe⁴³-полостью белка gp120, что указывает на высокую вероятность проявления ими ВИЧ-ингибирующих свойств, присущих полным функциональным антагонистам клеточного рецептора CD4 [6].

Библиографические ссылки

1. Андрианов А. М. // Конформационный анализ белков. Теория и приложения. Мн: Издательский дом «Беларуская навука». 2013. 518 с.
2. Arts E. J., Hazuda D. J. // Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2012. Vol. 2. a007161.
3. Kwong P. D., Wyatt R., Robinson J. et al. // Nature. 1998. Vol. 393. P. 648–659.
4. F. Currelia Y. D. Kwon H. Zhanga et al. (2015) Structure-based design of a small molecule CD4-antagonist with broad spectrum anti-HIV-1 activity. J. Med. Chem., 58: 6909–6927.
5. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2001. Vol. 46. P. 3–26.
6. Courter J. R., Madani N., Sodroski J. et al. // Acc. Chem. Res. 2014. Vol. 47. P. 1228–1237.