

ХИМИЯ
CHEMISTRY

УДК 615.281:577.1; 616-097.3; 57:007
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-156-166>

Поступило в редакцию 16.02.2022
Received 16.02.2022

**А. М. Андрианов¹, К. В. Фурс², А. М. Юшкевич², А. В. Гончар²,
член-корреспондент А. В. Тузиков²**

¹*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

**IN SILICO СКРИНИНГ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ SARS-CoV-2,
БЛОКИРУЮЩИХ ТРИМЕР HR1 БЕЛКА S КОРОНАВИРУСА**

Аннотация. Сформирована виртуальная библиотека биологически активных молекул и осуществлен *in silico* скрининг низкомолекулярных химических соединений – потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2, способных связываться с тримером HR1 белка S и блокировать образование 6-спирального пучка 6-НВ (six-helix bundle), критического для слияния мембран вируса и клетки-мишени и его инфективности. Методами молекулярного моделирования выполнена оценка эффективности связывания идентифицированных соединений с тримером HR1 белка S. В результате обнаружены 12 молекул, характеризующихся высокой аффинностью связывания с этим функционально важным участком оболочки вируса. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования этих соединений в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов слияния SARS-CoV-2, которые могут блокировать проникновение вируса в клетку хозяина.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, белок S, тример HR1, ингибиторы слияния SARS-CoV-2, молекулярное моделирование, противовирусные препараты

Для цитирования. *In silico* скрининг потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2, блокирующих тример HR1 белка S коронавируса / А. М. Андрианов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 156–166. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-156-166>

**Alexander M. Andrianov¹, Konstantin V. Furs², Artsemi M. Yushkevich², Anna V. Gonchar²,
Corresponding Member Alexander V. Tuzikov²**

¹*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**IN SILICO SCREENING OF THE POTENTIAL SARS-CoV-2 INHIBITORS BLOCKING
THE HR1 TRIMER OF THE CORONAVIRUS PROTEIN S**

Abstract. A virtual library of biologically active molecules has been formed and *in silico* screening has been carried out for identification of small-molecule chemical compounds – potential SARS-CoV-2 inhibitors able to bind to the HR1 trimer of the protein S and to block the formation of a six-helix bundle 6-HB, which is critical for the virus-cell fusion and viral infectivity. Molecular modeling methods were used to evaluate the binding affinity of the identified compounds to the HR1 trimer of the protein S. As a result, 12 molecules exhibiting the high binding affinity to this functionally important region of the virus were found. The data obtained indicate the promise of using these compounds in the development of new antiviral drugs presenting SARS-CoV-2 fusion inhibitors that can block the virus entry into the host cell.

Keywords: SARS-CoV-2, protein S, trimer HR1, SARS-CoV-2 fusion inhibitors, molecular modeling, antiviral drugs

For citation. Andrianov A. M., Furs K. V., Yushkevich A. M., Gonchar A. V., Tuzikov A. V. *In silico* screening of the potential SARS-CoV-2 inhibitors blocking the HR1 trimer of the coronavirus protein S. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 156–166 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-156-166>

Введение. Первые два десятилетия XXI в. ознаменовались появлением новых зоонозных коронавирусных заболеваний, таких как тяжелый острый респираторный синдром (SARS, Severe Acute Respiratory Syndrome) [1], Ближневосточный респираторный синдром (MERS, Middle East Respiratory Syndrome) [2] и COVID-19 [3]. Все эти заболевания представляют собой серьезную угрозу для мировой общественности, подвергая риску здоровье людей и нанося значительный ущерб экономике. Широко распространенные коронавирусы человека 229E (HCoV-229E), HCoV-NL63 и HCoV-OC43 могут вызывать инфекции верхних дыхательных путей у взрослых и детей, в ряде случаев сопровождающиеся летальным исходом [4]. Более того, недавние исследования показали, что некоторые коронавирусы, обнаруженные у летучих мышей и связанные с атипичной пневмонией (SARS-CoV), могут привести к новым коронавирусным заболеваниям в будущем [5]. Очевидно, что это требует оперативной разработки новых эффективных противовирусных препаратов широкого спектра действия для терапии коронавирусных инфекций и предотвращения будущих пандемий или эпидемий.

Разработка ингибиторов коронавирусов, блокирующих их репликацию на различных этапах жизненного цикла, зависит от выявления консервативных и функционально важных целевых сайтов, которые могут быть использованы в качестве перспективных мишеней для создания противовирусных препаратов широкого спектра действия. Шиповидный белок оболочки коронавируса человека SARS-CoV-2 – этиологического агента COVID-19 – является трансмембранным гликопротеином класса I и включает две субъединицы S1 и S2, играющие ключевую роль в распознавании рецепторов, связывании, слиянии мембран и последующем проникновении вирусного генома в клетку-мишень [6]. Субъединица S2 состоит из пептида слияния, двух областей гептадных повторов HR1 и HR2, трансмембранного домена и цитоплазматического домена [6]. Взаимодействие рецептор-связывающего сайта в субъединице S1 с клеточным рецептором ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2) вызывает структурные изменения в субъединице S2, приводящие к обнажению пептида слияния и его внедрению в клеточную мембрану. Затем три спирали HR1 связываются друг с другом, образуя внутренний тример с тремя открытыми гидрофобными бороздками. Взаимодействие тримера HR1 со спиралью домена HR2 приводит к формированию консервативного 6-спирального пучка 6-НВ (six-helix bundle), инициирующего сближение мембран вируса и клетки-мишени [6]. Необходимо отметить, что образование 6-НВ, главным образом опосредованное областями HR1 и HR2 субъединицы S2 белка S, является общим для всех известных коронавирусов, включая доминирующий в настоящее время «омикрон»-штамм SARS-CoV-2 [7]. В связи с этим представляется крайне перспективной стратегия создания противовирусных агентов широкого спектра действия, способных предотвращать образование 6-спирального пучка 6-НВ, критического для слияния мембран и инфективности вируса.

В [8] Шибо Дзян и соавт. разработали пептидный ингибитор слияния коронавирусов EK1, который нацелен на домен HR1 белка S и может ингибировать различные коронавирусы человека, включая SARS-CoV и MERS-CoV. В более поздней работе [9] эти авторы создали на основе EK1 набор липопептидов и обнаружили, что липопептидный аналог EK1 EK1C4 является более мощным ингибитором слияния SARS-CoV-2 и псевдовирусной инфекции по сравнению с исходным пептидом EK1 [9]. Липопептид EK1C4 оказался также высокоэффективным против слияния мембран и заражения другими псевдовирусами коронавируса человека, такими как SARS-CoV и MERS-CoV, и сильно ингибировал репликацию пяти исследованных живых коронавирусов человека, включая SARS-CoV-2 [9]. Интраназальное применение EK1C4 до или после заражения HCoV-OC43 защищало мышей от инфекции, что позволило высказать предположение о возможном использовании EK1C4 для профилактики и лечения инфекции, вызванной циркулирующими в настоящее время штаммами коронавируса SARS-CoV-2 [7; 9].

Несмотря на достигнутый успех в разработке пептидных агентов EK1 и EK1C4, способных блокировать слияние мембран коронавируса и клетки-мишени, эти ингибиторы имеют ряд недостатков, которые могут ограничить их применение в клинической практике. К этим недостаткам в первую очередь следует отнести ряд присущих пептидным молекулам нежелательных физико-

химических свойств, таких как переменная растворимость, низкая биодоступность и ограниченная стабильность, что делает затруднительной системную доставку лекарства к биологической мишени [10]. Поэтому актуальным является поиск низкомолекулярных соединений – пептидомиметиков ЕК1/ЕК1С4, которые могут связываться с тримером HR1 SARS-CoV-2 и блокировать образование 6-спирального пучка 6-НВ.

В настоящей работе методами виртуального скрининга идентифицированы малые молекулы, потенциально активные по отношению к домену HR1 белка S коронавируса. Для этого были проведены исследования, которые включали:

формирование виртуальной молекулярной библиотеки, содержащей соединения, находящиеся на стадиях лабораторных исследований, клинических испытаний или использования в медицинской практике;

молекулярный докинг этих соединений с доменом HR1 белка S SARS-CoV-2;

оценку аффинности связывания комплексов лиганд/HR1 с использованием трех разных оценочных функций (ОФ);

расчеты экспоненциального консенсусного ранга (ECR) для каждого соединения и выбор лигандов с лучшими значениями ECR;

молекулярную динамику комплексов лиганд/HR1 и отбор соединений, перспективных для тестирования на противовирусную активность.

Материалы и методы исследования. *Формирование виртуальной библиотеки биологически активных соединений.* При формировании библиотеки биологически активных молекул учитывали следующие критерии: свободный академический доступ к данным, наличие структур соединений в формате файлов химических данных SDF (Structure Data File) (<https://www.fda.gov/media/151718/download>), активная поддержка баз данных и наличие информации о возможности синтеза и покупки молекулы. В соответствии с этими критериями были выбраны следующие базы данных со свободным доступом:

DrugBank – база данных, содержащая подробную информацию о более чем 10 000 лекарств (<https://go.drugbank.com/>);

ZINC15 – база данных, включающая несколько сотен миллионов коммерчески доступных соединений для виртуального скрининга потенциальных лекарств (<https://zinc.docking.org/>);

Selleck Chemicals – база данных, содержащая более 120 000 ингибиторов, используемых в исследованиях сигнальных путей клеток (<https://www.selleckchem.com/>).

При сборке молекулярной библиотеки из приведенных баз были отобраны и загружены в формате SDF химические соединения, находящиеся на стадиях лабораторных исследований, клинических испытаний или применения в медицинской практике. В результате собранная виртуальная библиотека включала 28 806 соединений, потенциальную активность которых по отношению к домену HR1 SARS-CoV-2 оценивали методами молекулярного докинга.

Молекулярный докинг. Подготовку соединений для молекулярного докинга осуществляли с помощью программного пакета MGLTools (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>). Докинг проводили с использованием программы AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu>) в приближении жесткого рецептора и гибких лигандов. Структуру домена HR1 выделяли из его комплекса с доменом HR2 белка S SARS-CoV-2 в кристалле (PDB ID: 6LXT) [9]. Ячейка для докинга охватывала область белка S, которая включала сайт связывания пептида ЕК1 с доменом HR1 [9] и имела следующие параметры: $\Delta X = 16,18 \text{ \AA}$, $\Delta Y = 13,62 \text{ \AA}$, $\Delta Z = 38,82 \text{ \AA}$ с центром в точках $X = -3,97 \text{ \AA}$, $Y = 1,81 \text{ \AA}$, $Z = -25,89 \text{ \AA}$. Параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), был задан равным 100 (<https://vina.scripps.edu>).

Оценка аффинности связывания комплексов лиганд/HR1. Значения свободной энергии связывания лигандов с тримером HR1 рассчитывали с помощью классической ОФ AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu>) и двух функций машинного обучения – RF-Score-4 (<https://pjballester.wordpress.com/software/>) и NNScore 2.0 (<https://git.durrantlab.pitt.edu/jdurrant/nnscore2>). Затем для всех соединений определяли их ранги согласно каждой ОФ и из этих данных вычисляли величину экспоненциального консенсусного ранга (ECR) по следующей формуле [11]:

$$ECR = \sum_{sf} \frac{1}{\sigma_{sf}} \exp \left\{ -\frac{\text{rank}_{sf}}{\sigma_{sf}} \right\},$$

где rank_{sf} – ранг соединения по данным ОФ sf ; σ_{sf} – параметр, контролирующий влияние ОФ на результаты консенсусного отбора (при расчетах ECR для всех рассматриваемых ОФ значение σ_{sf} задавали равным 10, предполагая, что их вклады в суммарную величину ECR одинаковы). Соединения ранжировали на основе величин ECR; при этом соединения с одинаковым рангом включали в отдельные группы. В результате из 28 806 исходных молекул были отобраны лиганды, которые принадлежали к 11 группам с высшими значениями ECR, что позволило идентифицировать 43 соединения, комплексы которых с тримером HR1 анализировали методами молекулярной динамики.

Молекулярная динамика. Молекулярную динамику комплексов лиганд/HR1 в воде выполняли в программном пакете Amber18 с использованием силовых полей Amber ff14SB (домен HR1) и GAFF (лиганды) (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Для задания парциальных зарядов атомов (модель AM1-BCC) использовали модуль Antechamber программного пакета AmberTools18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Атомы водорода добавляли с помощью программы tleap пакета AmberTools18. Комплексы помещали в кубическую коробку, заполняли растворителем (модель воды TIP3P; <https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>) и добавляли ионы Na^+ и 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 и 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 150 нс в изобарно-изотермических условиях при температуре 300 К и давлении 1 атм. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма «leap-frog» (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>) с шагом интегрирования 2,0 фс. Для фиксации длин связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Максимальное расстояние, на котором учитывали электростатические взаимодействия, задавали равным 8,0 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>).

Анализ межмолекулярных взаимодействий и аффинности связывания. Водородные связи, катион-π взаимодействия и ван-дер-ваальсовы контакты, реализующиеся в статических моделях комплексов лиганд/HR1, идентифицировали с помощью программы BINANA (<https://durrant-lab.pitt.edu/binana/>). Средние значения энергии связывания для динамических моделей комплексов лиганд/HR1 рассчитывали с помощью метода MM/GBSA в программном пакете AMBER 18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). При расчете свободной энергии первые 30 нс молекулярно-динамического (МД) моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Энергию связывания вычисляли для 120 «точек» МД траектории, разделенных временным интервалом 1 нс. Для расчета полярной составляющей энергии сольватации использовали континуальную модель растворителя Пуассона–Больцмана с ионной силой 0,15 М. Неполарные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Энтропийную компоненту свободной энергии Гиббса рассчитывали с использованием программного модуля Nmode (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Анализ МД траекторий выполняли с помощью программного модуля CPPTRAJ пакета AmberTools 18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>).

Результаты и их обсуждение. В результате анализа полученных данных были идентифицированы 12 соединений (рис. 1), лучших по значению экспоненциального консенсусного ранга ECR и проявляющих высокое сродство к домену HR1 S-белка SARS-CoV-2. Поэтому эти соединения были отобраны в качестве наиболее перспективных кандидатов для разработки эффективных ингибиторов слияния коронавируса.

Исследование статических моделей комплексов лиганд/HR1 (рис. 2) показывает, что все идентифицированные соединения связываются с гидрофобной бороздкой между спиралями

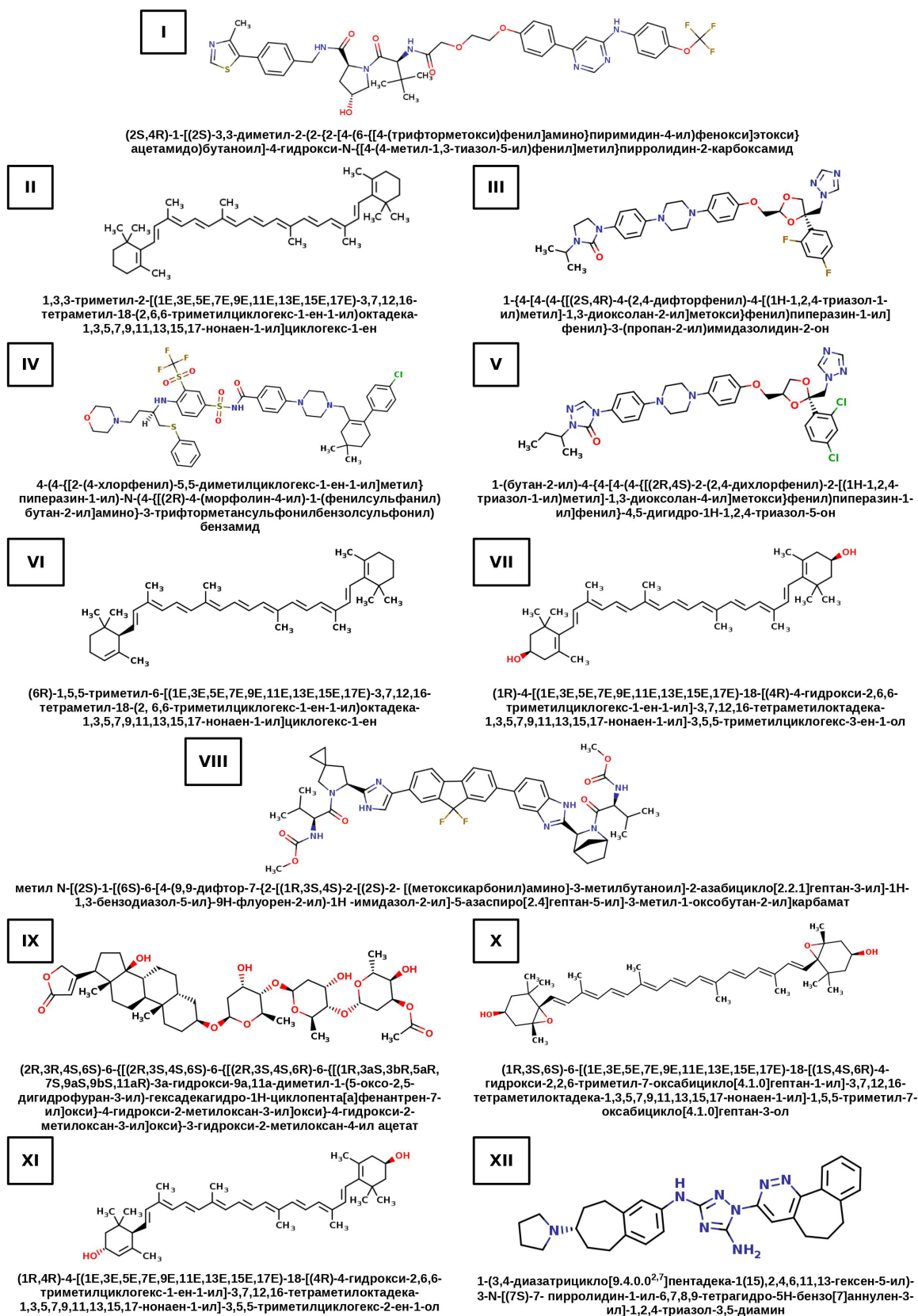


Рис. 1. Химические структуры идентифицированных соединений. Приведены названия соединений согласно систематической номенклатуре ИЮПАК

Fig. 1. Chemical structures of the identified compounds. The names of the compounds are given according to the IUPAC systematic nomenclature

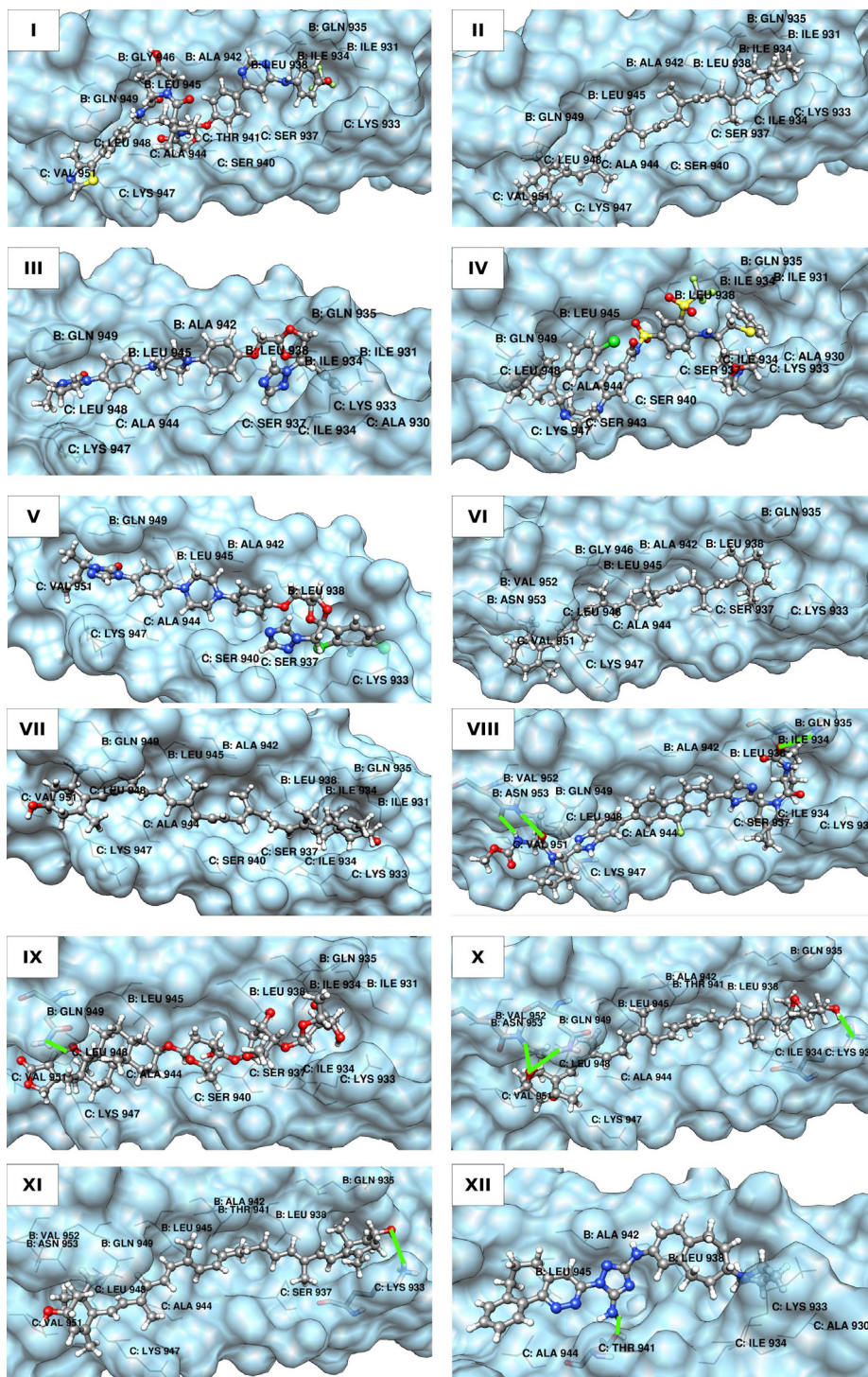


Рис. 2. Структурные комплексы идентифицированных соединений с тримером HR1 S-белка SARS-CoV-2, построенные методом молекулярного докинга. Соединения представлены моделью «шарик–палочка». Остатки HR1, образующие межатомные контакты с лигандами, указаны вместе с обозначениями соответствующих спиралей тримера. Остатки HR1, участвующие в водородных связях, обозначены палочковой моделью. Водородные связи показаны сплошными зелеными линиями. Проволочная модель использована для обозначения остатков HR1, образующих ван-дер-ваальсовы контакты

Fig. 2. Structural complexes of the identified compounds with the HR1 trimer of the SARS-CoV-2 S protein obtained by molecular docking. The compounds are represented by a ball-stick model. The HR1 residues forming interatomic contacts with the ligands are indicated together with the notations of the corresponding protein chains. Residues of the HR1 trimer involved in hydrogen bonding are indicated by a stick model. Hydrogen bonds are shown by green solid lines. The wire model is used to designate the HR1 residues forming van der Waals contacts

тримера и образуют широкую сеть межмолекулярных взаимодействий, включающую многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты, водородные связи (соединения VIII–XII) и катион-π взаимодействия (соединение VIII). При этом доминирующую роль в стабилизации структурных комплексов домена HR1 SARS-CoV-2 с лигандами играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия, в которые вовлечены остатки, важные для образования 6-спирального пучка 6-НВ. Эффективность межмолекулярных взаимодействий обнаруженных соединений с доменом HR1 SARS-CoV-2 подтверждают низкие значения свободной энергии связывания, свидетельствующие о высоком химическом средстве этих лигандов к молекулярной мишени (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Значения свободной энергии связывания ΔG и констант диссоциации K_d , рассчитанные для статических моделей комплексов лиганд/HR1 с помощью ОФ Vина, RFScore4 и NNScore 2.0

T a b l e 1. The values of binding free energy ΔG and dissociation constants K_d , calculated for the static ligand/HR1 models using scoring functions Vина, RFScore4 and NNScore 2.0

Лиганд Ligand	ΔG_{VINA} , ккал/моль ΔG_{VINA} , kcal/mol	Kd_{VINA} , нМ Kd_{VINA} , nM	$\Delta G_{RFScore4}$, ккал/моль $\Delta G_{RFScore4}$, kcal/mol	$Kd_{RFScore4}$, нМ $Kd_{RFScore4}$, nM	$\Delta G_{NNScore2.0}$, ккал/моль $\Delta G_{NNScore2.0}$, kcal/mol	$Kd_{NNScore2.0}$, нМ $Kd_{NNScore2.0}$, nM
I	-8,2	1655	-10,6	32,4	-9,6	169,70
II	-8,5	1017	-9,7	134,9	-12,8	1,00
III	-9,2	326	-10,6	33,1	-10,0	95,50
IV	-8,7	735	-11,1	14,8	-12,7	1,10
V	-8,7	735	-10,3	51,3	-11,1	14,10
VI	-8,7	735	-9,6	169,8	-13,1	0,54
VII	-9,0	452	-9,8	123,0	-12,4	1,90
VIII	-9,1	384	-10,6	31,6	-13,1	0,58
IX	-8,8	625	-10,5	39,8	-11,4	8,80
X	-9,4	236	-10,4	50,1	-13,1	0,60
XI	-8,8	625	-9,7	151,4	-12,7	1,10
XII	-9,8	123	-9,7	151,4	-10,4	50,20

Известно, что расчеты методами молекулярного докинга энергии межмолекулярных взаимодействий связаны с различными приближениями, которые варьируют от упрощенных форм уравнений до приближений, ограничивающих размер системы и фундаментальных приближений в уравнениях, необходимых для решения задачи, что приводит к относительно большим погрешностям в оценке аффинности связывания [11]. Поэтому для более корректного ранжирования

Т а б л и ц а 2. Средние значения свободной энергии связывания $\langle \Delta G \rangle$ и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD} , рассчитанные для динамических моделей комплексов лиганд/HR1

T a b l e 2. The mean values of binding free energy $\langle \Delta G \rangle$ and their standard deviations ΔG_{STD} calculated for the dynamic ligand/HR1

Лиганд Ligand	$\langle \Delta H \rangle$, ккал/моль $\langle \Delta H \rangle$, kcal/mol	ΔH_{STD} , ккал/моль ΔH_{STD} , kcal/mol	$\langle T\Delta S \rangle$, ккал/моль $\langle T\Delta S \rangle$, kcal/mol	$(T\Delta S)_{STD}$, ккал/моль $(T\Delta S)_{STD}$, kcal/mol	$\langle \Delta G \rangle$, ккал/моль $\langle \Delta G \rangle$, kcal/mol	ΔG_{STD} , ккал/моль ΔG_{STD} , kcal/mol
I	-39,36	4,40	-28,30	4,25	-12,98	4,23
II	-42,42	3,35	-28,93	2,74	-13,61	4,15
III	-37,35	5,10	-26,93	2,58	-10,80	5,43
IV	-36,22	5,99	-26,85	3,23	-9,25	6,68
V	-41,40	4,26	-28,42	2,83	-12,95	4,55
VI	-42,00	3,47	-29,65	3,34	-12,37	4,48
VII	-43,45	3,79	-30,73	3,21	-12,76	4,11
VIII	-36,50	5,56	-26,84	2,98	-9,44	5,14
IX	-41,55	4,94	-29,65	3,28	-11,47	4,67
X	-41,64	4,35	-30,47	3,19	-10,21	5,09
XI	-42,26	3,59	-30,75	3,14	-11,75	4,69
XII	-33,65	3,36	-23,88	2,72	-9,49	4,24

П р и м е ч а н и я: $\langle \Delta H \rangle$ и $\langle T\Delta S \rangle$ – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии; $(\Delta H)_{STD}$ и $(T\Delta S)_{STD}$ – соответствующие этим значениям стандартные отклонения.

N o t e s: $\langle \Delta H \rangle$ and $\langle T\Delta S \rangle$ are the mean values of enthalpic and entropic components of free energy, respectively; $(\Delta H)_{STD}$ and $(T\Delta S)_{STD}$ are standard deviations for these values.

потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2 по эффективности связывания с HR1 в настоящей работе кроме классической ОФ Vina использованы две дополнительные функции – RFScore4 и NNScore 2.0 – и выполнено ранжирование лигандов по величине ECR. Такой подход повышает надежность ранжирования лигандов по данным молекулярного докинга [11] и позволяет провести отбор наиболее перспективных соединений для проведения более точных МД расчетов.

Действительно, данные молекулярной динамики согласуются с основными выводами, сделанными на основе анализа статических моделей комплексов лиганд/HR1. Эти комплексы отно-

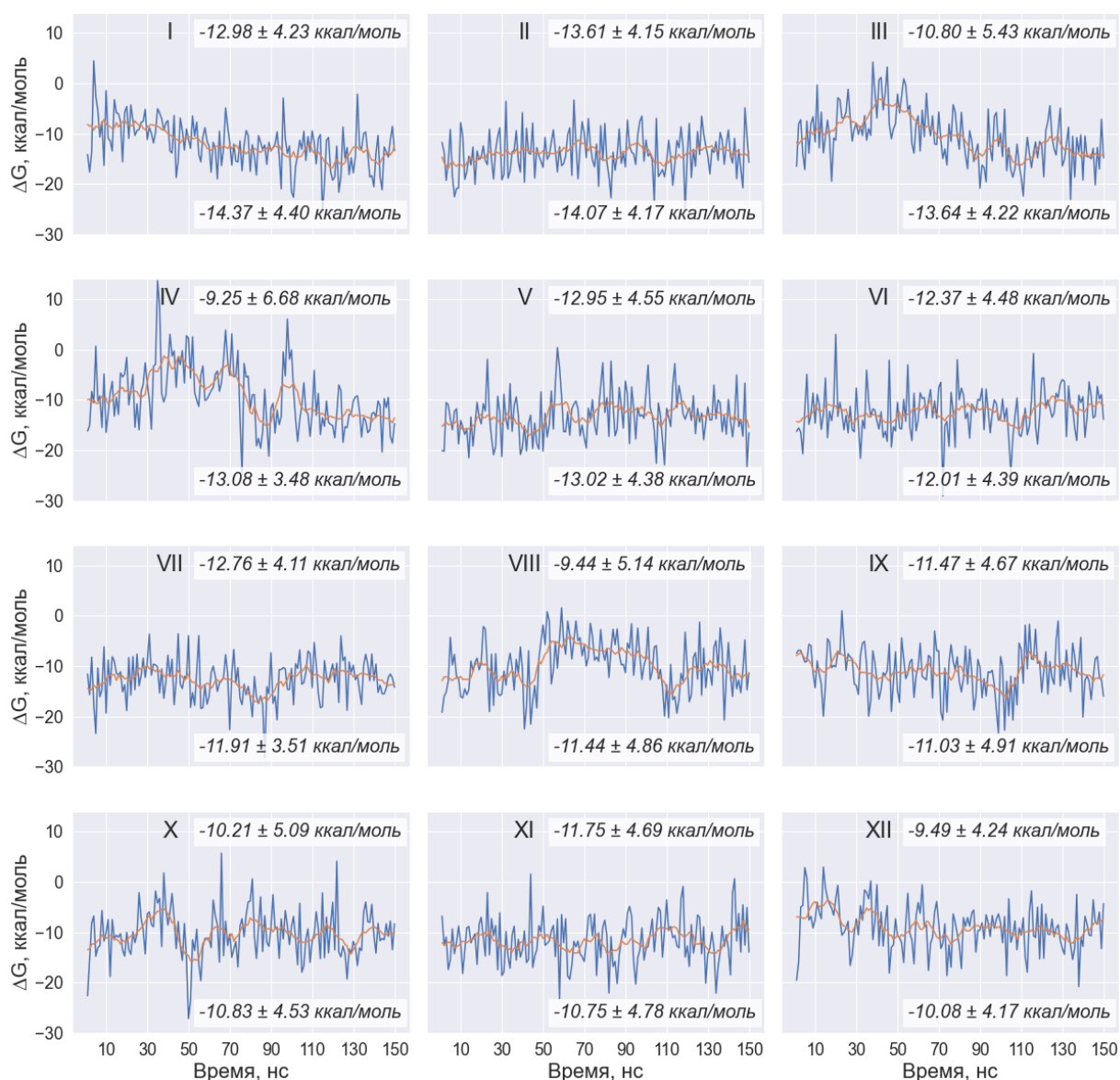


Рис. 3. Зависимости свободных энергий связывания для комплексов идентифицированных соединений с доменом HR1 S-белка SARS-CoV-2 от времени. На графике оранжевая линия показывает простое скользящее среднее во временном диапазоне 11 нс. В правом верхнем углу указаны средние значения свободных энергий связывания и соответствующие им стандартные отклонения, рассчитанные для последних 120 нс траекторий МД. В правом нижнем углу приведены средние значения свободной энергии образования комплексов и соответствующие стандартные отклонения, вычисленные для конечного временного интервала 50 нс

Fig. 3. Time dependences of binding free energies for complexes of the identified compounds with the HR1 domain of the SARS-CoV-2 S protein. On the chart, the orange line shows a simple moving average over the 11 ns time domain. In the upper right corner, the mean values of binding free energies and corresponding standard deviations calculated for the last 120 ns of the MD trajectories are indicated. In the lower right corner, the averages of binding free energy and corresponding standard deviations calculated for the final 50 ns time domain are given

сительно стабильны в течение МД расчетов, на что указывают средние значения свободной энергии связывания и соответствующие им стандартные отклонения (табл. 2). Вывод о стабильности динамических структур лиганд/HR1 подтверждают также данные о временных зависимостях свободной энергии связывания, свидетельствующие об отсутствии тенденции к увеличению значений ΔG с течением времени (рис. 3). Более того, комплексы соединений I–IV и VIII с доменом HR1 демонстрируют снижение средних значений энергии связывания на заключительных участках МД траекторий длительностью 50 нс (рис. 3), что является дополнительным свидетельством их конформационной стабильности.

Изучение данных о вкладах отдельных аминокислотных остатков S-белка SARS-CoV-2 в энергию связывания позволило выявить аминокислоты, доминирующие в интерфейсе лиганд/HR1. Среди этих остатков следует в первую очередь выделить аминокислоты В:Gln 935, В:Leu 938, В:Ala 942, В:Leu 945, С:Lys 933, С:Ile 934, С:Ser 937, С:Ala. 944 и С:Leu 948 (рис. 2). Эти данные показывают, что существует ряд ключевых остатков, которые играют роль «горячих» точек связывания, способствующих идентифицированным соединениям эффективно взаимодействовать с тримером HR1.

Таким образом, данные об аффинности связывания предсказанных соединений с тримером HR1, полученные с использованием четырех различных ОФ, согласуются друг с другом (табл. 1 и 2), свидетельствуя о том, что вычислительный подход, примененный в данном исследовании, позволил избежать ложноположительных результатов и правильно оценить силу межмолекулярных взаимодействий. Это предположение косвенно подтверждается данными новой работы Шена и соавт. [12], в которой изучалось влияние комбинаций термов из нескольких ОФ на точность предсказания энергии связывания. Согласно этому исследованию, комбинация NNScore 2.0 с несколькими другими классическими ОФ может обеспечить наилучшую точность предсказания аффинности связывания [12]. В целом эти результаты обеспечивают убедительные доказательства того, что идентифицированные молекулы могут демонстрировать низкие значения свободной энергии связывания в комплексах с доменом HR1.

Заключение. Результаты молекулярного докинга и молекулярной динамики показывают, что идентифицированные соединения (рис. 1) способны связываться с тримером HR1 S-белка SARS-CoV-2 путем эффективных взаимодействий с гидрофобными бороздками между спиралью тримера, которые включают многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты, водородные связи (соединения VIII–XII) и катион- π взаимодействия (соединение VIII) (рис. 2). Эффективность этих взаимодействий подтверждают низкие значения свободной энергии образования комплексов лиганд/HR1 и Kd (табл. 1), указывающие на высокое сродство обнаруженных молекул к области белка S, критической для слияния мембран вируса и клетки-мишени (табл. 1 и 2, рис. 3). Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования этих соединений в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов слияния SARS-CoV-2, блокирующих проникновение вируса в клетку хозяина.

В заключение следует отметить, что идентифицированные соединения (рис. 1) разработаны для терапии различных заболеваний, не связанных с коронавирусной инфекцией, и находятся либо на различных стадиях клинических испытаний, либо уже используются в медицинской практике (соединения II, V, VII, VIII, IX и XI). Очевидно, что профили безопасности соединений, одобренных для применения в клинике, хорошо документированы, и эти данные могут существенно облегчить и ускорить процесс их перепрофилирования для лечения пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

Благодарности. Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект X21COVID-003).

Acknowledgments. The research is supported by the Belarusian Republican Foundation of Fundamental Research (Project X21COVID-003).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Holmes, K. V. SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy / K. V. Holmes // *J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 111, N 11. – P. 1605–1609. <https://doi.org/10.1172/jci18819>
2. Graham, R. L. A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses / R. L. Graham, E. F. Donaldson, R. S. Baric // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2013. – Vol. 11, N 12. – P. 836–848. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3143>
3. Jiang, S. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies / S. Jiang, L. Du, Z. Shi // *Emerg. Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 9, N 1. – P. 275–277. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1723441>
4. More than just a common cold: Endemic coronaviruses OC43, HKU1, NL63, and 229E associated with severe acute respiratory infection and fatality cases among healthy adults / A. Veiga [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93, N 2. – P. 1002–1007. <https://doi.org/10.1002/jmv.26362>
5. Cui, J. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses / J. Cui, F. Li, Z. L. Shi // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2019. – Vol. 17, N 3. – P. 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
6. Pan-coronavirus fusion inhibitors as the hope for today and tomorrow / X. Wang [et al.] // *Prot. Cell.* – 2021. – Vol. 12, N 2. – P. 84–88. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00806-7>
7. Peptide-based pan-CoV fusion inhibitors maintain high potency against SARS-CoV-2 Omicron variant / S. Xia [et al.] // *Cell Res.* – 2022. <https://doi.org/10.1038/s41422-022-00617-x>
8. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike / S. Xia [et al.] // *Sci. Adv.* – 2019. – Vol. 5, N 4. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav4580>
9. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion / S. Xia [et al.] // *Cell Res.* – 2020. – Vol. 30, N 4. – P. 343–355. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x>
10. Peptides as drug candidates: Limitations and recent development perspectives / Y. A. Haggag [et al.] // *Biomed. J. Sci. & Tech. Res.* – 2018. – Vol. 8, N 4. – P. 6659–6662. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2018.08.001694>
11. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking / K. Palacio-Rodríguez [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, N 1. – Art. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
12. Can machine learning consistently improve the scoring power of classical scoring functions? Insights into the role of machine learning in scoring functions / C. Shen [et al.] // *Brief. Bioinform.* – 2021. – Vol. 22, N 1. – P. 497–514. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz173>

References

1. Holmes K. V. SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy. *Journal of Clinical Investigation*, 2003, vol. 111, no. 11, pp. 1605–1609. <https://doi.org/10.1172/jci18819>
2. Graham R. L., Donaldson E. F., Baric R. S. A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, vol. 11, no. 12, pp. 836–848. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3143>
3. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerging Microbes & Infection*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 275–277. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1723441>
4. Veiga A. B. G., Martins L. G., Riediger I., Mazetto A., Debur M. C., Gregianini T. S. More than just a common cold: Endemic coronaviruses OC43, HKU1, NL63, and 229E associated with severe acute respiratory infection and fatality cases among healthy adults. *Journal of Medical Virology*, 2021, vol. 93, no. 2, pp. 1002–1007. <https://doi.org/10.1002/jmv.26362>
5. Cui J., Li F., Shi Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, vol. 17, no. 3, pp. 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
6. Wang X., Xia S., Zhu Y., Lu L., Jiang S. Pan-coronavirus fusion inhibitors as the hope for today and tomorrow. *Protein and Cell*, 2021, vol. 12, no. 2, pp. 84–88. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00806-7>
7. Xia S., Chan J. F.-W., Wang L., Jiao F., Chik K. K.-H., Chu H., Lan Q., Xu W., Wang Q., Wang C., Yuen K.-Y., Lu L., Jiang S. Peptide-based pan-CoV fusion inhibitors maintain high potency against SARS-CoV-2 Omicron variant. *Cell Research*, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41422-022-00617-x>
8. Xia S., Yan L., Xu W., Agrawal A. S., Algaissi A., Tseng C.-T. K., Wang Q., Du L., Tan W., Wilson I. A., Jiang S., Yang B., Lu L. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Science Advances*, 2019, vol. 5, no. 4. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav4580>
9. Xia S., Liu M., Wang C., Xu W., Lan Q., Feng S., Qi F., Bao L., Du L., Liu S., Qin C., Sun F., Shi Z., Zhu Y., Jiang S., Lu L. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Research*, 2020, vol. 30, no. 4, pp. 343–355. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x>
10. Haggag Y. A., Donia A. A., Osman M. A., El-Gizawy S. A. Peptides as drug candidates: Limitations and recent development perspectives. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 2018, vol. 8, no. 4, pp. 6659–6662. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2018.08.001694>
11. Palacio-Rodríguez K., Lans I., Cavasotto C. N., Cossio P. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 1, art. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
12. Shen C., Hu Y., Wang Z., Zhang X., Zhong H., Wang G., Yao X., Xu L., Cao D., Hou T. Can machine learning consistently improve the scoring power of classical scoring functions? Insights into the role of machine learning in scoring functions. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, vol. 22, no. 1, pp. 497–514. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz173>

Информация об авторах

Андрианов Александр Михайлович – д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrianov@iboch.by.

Фурс Константин Викторович – инженер-программист. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: кybujlo@gmail.com.

Юшкевич Артемий Михайлович – стажер мл. науч. сотрудника. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: geneprog@gmail.com.

Гончар Анна Викторовна – стажер мл. науч. сотрудника. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: raphaelkyzy@gmail.com.

Тузиков Александр Васильевич – член-корреспондент, д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий лабораторией. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

Information about the authors

Andrianov Alexander M. – D. Sc. (Chemistry), Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andrianov@iboch.by.

Furs Konstantin V. – Software Engineer. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: кybujlo@gmail.com.

Yushkevich Artsemi M. – Trainee of Junior Researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: artsemi.yushkevich@gmail.com.

Gonchar Anna V. – Trainee of Junior Researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: raphaelkyzy@gmail.com.

Tuzikov Alexander V. – Corresponding Member, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Laboratory. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.