

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ  
АНАЛИЗ БИОПОЛИМЕРОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ

УДК 004.942:577.27

ПОИСК НА БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЕ СТРУКТУРНО  
НЕОБОСОБЛЕННЫХ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ  
С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

© 2013 г. М. Е. Попов\*, Д. М. Карлинский

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,  
Москва, 117997

Поступила в редакцию 29.11.2012 г.

Принята к печати 24.01.2013 г.

Существующие теоретические методы не позволяют определять неизвестный сайт связывания белкового рецептора с низкомолекулярными ингибиторами для предсказания параметров их взаимодействия в случае, когда этот сайт невозможно выделить среди других участков белковой молекулы по энергетическим и стерическим параметрам. Авторы разработали метод поиска неизвестного, не обособленного структурно сайта связывания низкомолекулярных ингибиторов с белком и предсказания кинетических параметров взаимодействия новых соединений при наличии кристаллографической структуры рецептора и экспериментальных данных о константах взаимодействия ряда ингибиторов. Этот метод применили для определения структурных и кинетических параметров связывания белка C1q с низкомолекулярными лигандами, ингибирующими его взаимодействие с иммунными комплексами. Установлен участок на глобулярной части C1q, взаимодействие которого с отрицательно заряженными низкомолекулярными лигандами, возможно, приводит к ингибированию активации комплемента по классическому пути. Он характеризуется положительно заряженными аминокислотными остатками Arg<sup>150</sup> цепи В, а также Lys<sup>160</sup> и His<sup>167</sup> цепи С. Лиганды, ингибирующие связывание C1q с иммунными комплексами, можно использовать в составе лекарственных средств для терапии патологических состояний, связанных с нежелательной активацией системы комплемента: аллергических реакций, отторжения трансплантированных органов и др.

**Ключевые слова:** “слепой” докинг, белок C1q, низкомолекулярные ингибиторы, сайт связывания.

FINDING AN “INVISIBLE” BINDING SITE FOR LOW-MOLECULAR COMPOUNDS ON A PROTEIN MOLECULE AND PREDICTING THEIR INHIBITING ACTIVITY, by M. E. Popov\*, D. M. Karlinsky (Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997 Russia; \*e-mail: popovm@gmail.com). Current computational methods have not been able to discover an unknown binding site for low-molecular ligands on a protein receptor and predict parameters of their interaction when this binding site is not distinguished by energy of binding or structural features. Authors propose a method to find an unknown, structurally undefined site for binding low-molecular inhibitors with a protein, as well as to predict kinetic parameters for new compounds using x-ray structure of a protein receptor and experimental interaction constants of a training set of inhibitors. The developed method is applied to discover structural and kinetic parameters of binding C1q, a protein from the first component of complement system, to low-molecular ligands that inhibit its interactions with immune complexes. Authors have suggested that these ligands bind to a region of C1q globular head near residues Arg<sup>150</sup> of chain B, and Lys<sup>160</sup> and His<sup>167</sup> of chain C, supposedly inhibiting the classical pathway of complement activation. Ligands that inhibit interaction of C1q with immune complexes can be used in the therapy of pathological conditions that are related to unwanted complement activation: allergic reactions, xenograft rejection, etc.

**Keywords:** Blind docking, protein C1q, low-molecular inhibitors, binding site, AutoDock.

DOI: 10.7868/S0026898413040125

Принятые сокращения: 1pk6.pdb – файл, содержащий трехмерную структуру gC1q (разрешение 1.85Å, 2003 г. [1], размещен на www.rcsb.org в формате .pdb); \*.pdbq, \*.pdbqs и \*.pdbqt – форматы файлов, содержащих трехмерную структуру молекул с последовательным добавлением парциальных зарядов, параметров сольватации и вращения некоторых связей вокруг двугранных углов соответственно; ADT – программа AutoDockTools; IC<sub>50</sub> – концентрация ингибитора, вызывающая 50% ингибирование.

\* Эл. почта: popovm@gmail.com

## ВВЕДЕНИЕ

Определение сайтов связывания лигандов на белковых молекулах — одна из ключевых задач молекулярной биологии, решение которой необходимо для направленной разработки лекарственных средств [2, 3]. Чтобы найти неизвестные сайты связывания лигандов на поверхности белков с известными кристаллографическими структурами с успехом используют расширения метода компьютерного молекулярного докинга, такие как “слепой докинг” [4], а также различные вычислительные методы поиска карманов связывания [5]. Они основаны на ранжировании предполагаемых сайтов связывания по оценке изменения свободной энергии  $\Delta G$ , энергии взаимодействия или по стерическим параметрам, таким как глубина карманов связывания.

Поиск карманов связывания этими методами, однако, провести нельзя, когда функциональный сайт связывания невозможно дискриминировать по геометрическим и энергетическим параметрам. Взаимодействие низкомолекулярных соединений с первым компонентом системы комплемента C1q — именно такой случай, а его результат — ингибирование связывания глобулярной части C1q (gC1q) с Fc-доменами антител IgG, входящими в состав иммунных комплексов. Взаимодействие C1q с IgG запускает классический путь активации комплемента. Ингибирование этого взаимодействия может служить терапевтической мишенью при аллергических реакциях, отторжении трансплантированных органов и других патологических состояниях, вызванных нежелательной или избыточной активацией комплемента [6–13].

Нами разработан вычислительный метод поиска неизвестных, структурно необособленных сайтов связывания низкомолекулярных ингибиторов на поверхности белка. Метод основан на ранжировании результатов “слепого докинга” ряда соединений с учетом экспериментальных данных их ингибирующей активности. В статье показана работоспособность метода на примере поиска сайтов связывания низкомолекулярных ингибиторов взаимодействия gC1q с Fc-доменами IgG и предсказания констант ингибирования новых, ранее неисследованных соединений.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Подготовка моделей рецептора и лигандов.** Трехмерная модель рецептора — глобулярной части C1q (gC1q) — доступна с разрешением 1.85 Å, код 1pk6.pdb [1] в базе данных Protein Data Bank на сайте <http://www.rcsb.org>. Эту модель gC1q подвергли стандартной подготовке [14] для докинга [15–18] с помощью программы AutoDock4: удалены все молекулы воды, ион кальция убрали в одном вариан-

те и оставили в другом — расчеты для кальцийсодержащего сайта провели в обоих вариантах. В файл 1pk6.pdb с помощью программы AutoDockTools (ADT) добавили расчетные значения парциальных зарядов, параметров сольватации и вращения некоторых связей вокруг двугранных углов с последующим разделением файла рецептора на “гибкую” (несколько боковых цепей аминокислотных остатков, моделируемые как подвижные) и “жесткую” части.

Структурные формулы ингибиторов взаимодействия C1q и IgG, а также концентрация ингибитора, вызывающая 50%-ное их ингибирование ( $IC_{50}$ ), измеренные *in vitro*, предоставлены Ю.Э. Андия-Правдивым и С.В. Буреевой [6, 7]. По структурным формулам мы получили трехмерные модели ингибиторов с помощью программы JME Editor [19] с силовым полем GROMOS96.1 [20] и сервиса Dundee PRODRG2.5 Server beta (<http://davapc1.bioch.dundee.ac.uk/>, [21]), использующего полуэмпирические квантово-механические методы расчета молекулярной топологии и парциальных зарядов.

**Докинг лигандов с известной активностью по 14 потенциально “ключевым” сайтам и обработка результатов.** Ранее с использованием “слепого докинга” (blind docking) [4] нами получены координаты 14 сайтов связывания с двумя вариантами кальцийсодержащего сайта: с ионом кальция и без [22].

Сетку параметров GRID, созданную при помощи программы AutoGrid4, центрировали отдельно для каждого из этих сайтов, она содержала 60 × 60 × 60 ячеек с шагом 0.375 Å. В программе AutoDock4 [14, 23] был проведен докинг с использованием генетического алгоритма Ламарка (Lamarckian genetic algorithm, LGA [24]) при следующих параметрах: количество определенных энергии (Energy evaluations) — 100000000; число поколений генетического алгоритма (number of generations) — 27000; число запусков генетического алгоритма (ga\_run) — 50–100. В результате докинга получены трехмерные модели связывания лигандов с глобулярной частью C1q, а также рассчитаны свободные энергии связывания для этих лигандов.

Значение изменения свободной энергии связывания Гиббса соотносится с константой ингибирования по формуле:  $\Delta G = -R \times T \times \ln K_i$ , где R — универсальная газовая постоянная, T — температура. В случае конкурентного ингибирования:  $IC_{50} = K_i \times (([IgG]/K_d) + 1)$ , где  $K_d$  — сродство gC1q к IgG [25]. При переходе от одного лиганда к другому значение в скобках неизменно, т.е. между  $\Delta G$  в сайте связывания, отвечающем за ингибирование, и  $\ln IC_{50}$  существует линейная зависимость. Иными словами, в этом сайте должна наблюдаться самая сильная корреляция между теоретически

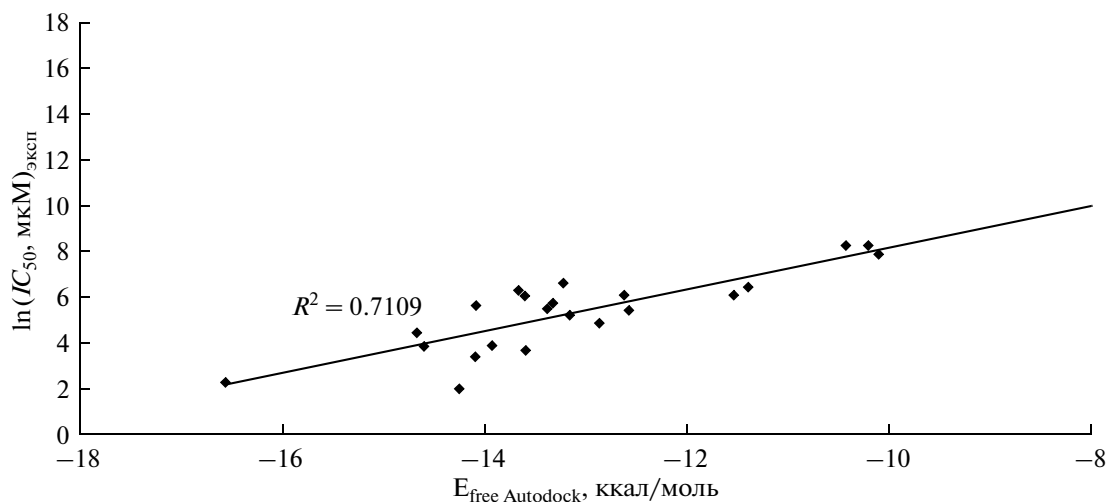


Рис. 1. Корреляция между расчетной свободной энергией связывания и экспериментально известными  $\ln IC_{50}$  для сайта 13.

рассчитанными  $\Delta G$  и экспериментально полученными величинами  $\ln IC_{50}$  — самые сильные в эксперименте ингибиторы должны оказаться наиболее сильными и по результатам расчетов.

После статистической обработки “лучшие” значения рассчитанной свободной энергии связывания представлены на отдельном графике для каждого рассматриваемого сайта и сопоставлены с экспериментально известными значениями  $IC_{50}$  (рис. 1).

**Подготовка моделей лигандов с неизвестной активностью и их докинг на сайт, показавший наилучшую корреляцию.** При докинге моделей лигандов с неизвестной активностью использовали описанный выше протокол докинга, но посадку осуществляли только на один сайт — тот, который показал наилучшую корреляцию ( $R^2 = 0.71$ ). Полученные при докинге значения рассчитанной свободной энергии связывания и параметры корреляции между  $\Delta G$  и  $IC_{50}$  использовали для предсказания теоретических величин  $IC_{50}$ .

**Оборудование.** Расчеты проводили на вычислительных кластерах Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Компьютерное моделирование связывания ряда ингибиторов с 14 возможными сайтами связывания на поверхности gC1q

В результате докинга по модели “гибкий лиганд/полужесткий рецептор” [17, 18] получен набор конформаций лигандов, соответствующий минимальным значениям свободной энергии связывания в каждом сайте. В сайте, отвечающем за ингибирование взаимодействия gC1q с IgG, согласно выдвинутой гипотезе, должна наблюдаться

наиболее сильная корреляция между натуральным логарифмом значений  $IC_{50}$ , полученных *in vitro* в лабораториях кафедры биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ [6, 7], и расчетной свободной энергией связывания. Сильное связывание ингибитора в расчете должно соответствовать сильному ингибированию в эксперименте *in vitro*, а слабое расчетное связывание — слабому. Это позволяет выделить отвечающий за ингибирование сайт среди прочих сайтов, которые также могут связывать низкомолекулярные лиганды, иногда приводя даже к более сильному изменению расчетной  $\Delta G$ .

### Обнаружен сайт связывания, который может быть ключевым для ингибирования

Максимальное значение квадрата коэффициента корреляции ( $R^2 = 0.71$ , стандартная ошибка расчета свободной энергии  $-0.90$  Ккал/моль) располагающийся на границе цепей В и С (табл. 1) сайт с порядковым номером 13 (рис. 1).

Сайт характеризуется электростатическими взаимодействиями положительно заряженных боковых цепей остатков  $Arg^{B150}$ ,  $Lys^{C160}$  и  $His^{C167}$  с отрицательно заряженными группами ингибиторов (рис. 2).

### Апробация метода предсказания активности ингибиторов при неизвестном сайте связывания

В рамках тестирования метода проведен дополнительный компьютерный скрининг нескольких

<sup>1</sup> Номера аминокислотных остатков указаны в виде: трехбуквенное сокращение аминокислотного остатка, идентификатор цепи, номер остатка. Например,  $Arg^{B150}$  — остаток аргинина в цепи В с номером 150.

лигандов в предположительном сайте связывания. Затем на кафедре биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ Е.А. Лесовой и Н.В. Рукосуевой проведено определение активности этих ингибиторов *in vitro*. В четырех из пяти случаев экспериментально полученные значения попали в интервал стандартной ошибки теоретически предсказанной активности (табл. 2).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами предложен новый метод поиска неизвестных сайтов связывания низкомолекулярных лигандов с белковыми молекулами на основе компьютерного докинга [15–18] и экспериментальных данных по биологической активности ряда сходных соединений. Компьютерный докинг сегодня широко используют для оценки стерических и энергетических параметров взаимодействия лигандов с белковыми рецепторами в известных сайтах связывания. Докинг также позволяет обнаружить неизвестные сайты связывания на поверхности рецептора в случае, если известна его трехмерная структура [4]. Метод, получивший название “слепого докинга”, основан на предположении, что молекула лиганда в сайте связывания характеризуется наиболее низкой свободной энергией по сравнению с состоянием в растворе — за счет максимальной реализации невалентных взаимодействий в специфических карманах связывания. При наличии выраженных карманов связывания “слепой докинг” позволяет корректно предсказать как расположение природного сайта связывания, так и ориентацию лиганда в нем, используя в качестве критерия отбо-

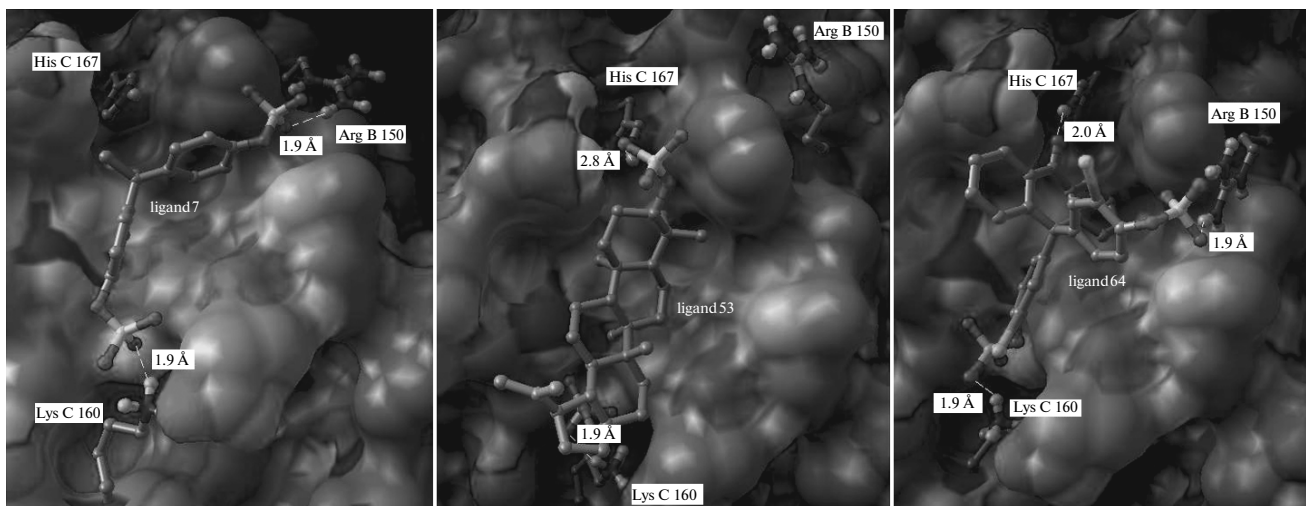
ра оценку свободной энергии взаимодействия ( $\Delta G$ ). В работе [26] метод использовался для поиска сайтов связывания на 43 белках размером до 1000 аминокислотных остатков. Среднеквадратичное отклонение 43 лигандов от кристаллографических структур составило в среднем 1.00 Å.

Метод “слепого докинга” [4], однако, не позволяет выделить биологически значимый сайт связывания низкомолекулярных лигандов на поверхности белковой молекулы из нескольких сайтов, которые невозможно дискриминировать по энергии. Примером такой ситуации является взаимодействие белка gC1q с низкомолекулярными лигандами, ингибирующими его связывание с иммунными комплексами. Эмпирически установлено [6–9], что эффективными ингибиторами являются молекулы вида R-A-R, где R — группы, несущие отрицательный заряд, А — гидрофобная (например, ароматическая) группировка. Поверхность молекулы gC1q предоставляет этим лигандам широкие возможности для связывания. Глобула белка равномерно покрыта положительно заряженными остатками Lys и Arg, боковые цепи которых экспонированы в раствор и могут участвовать в связывании отрицательно заряженных лигандов.

Располагая экспериментальными данными [6, 7] и личными сообщениями Ю.Э. Андия-Правдивого и С.В. Буреевой об ингибирующей активности ряда соединений упомянутого вида, мы предположили, что отвечающий за ингибирование сайт должен характеризоваться наиболее сильной корреляцией между экспериментальными значениями  $\ln K_i$  или  $\ln IC_{50}$  и рассчитанными значениями

**Таблица 1.** Расположение и значения  $R^2$  для потенциальных “ключевых” сайтов связывания C1q с отрицательно заряженными низкомолекулярными лигандами

№ сайта связывания	Ближайшие положительно заряженные аминокислоты	$R^2$
1 (без Ca <sup>2+</sup> )	Lys <sup>A173</sup> , His <sup>C167</sup> , Lys <sup>C170</sup>	0.17
1a (с Ca <sup>2+</sup> )	Lys <sup>A173</sup> , His <sup>C167</sup> , Lys <sup>C170</sup>	0.28
2	Arg <sup>A163</sup> , Lys <sup>A197</sup> , Lys <sup>A201</sup>	0.29
3	Arg <sup>B101</sup> , Arg <sup>B108</sup> , Arg <sup>B150</sup> , Lys <sup>B202</sup>	0.43
4	Arg <sup>C98</sup> , His <sup>C101</sup>	0.21
5	Lys <sup>A197</sup> , His <sup>A203</sup>	0.13
6	Arg <sup>C98</sup> , Arg <sup>C111</sup> , Lys <sup>C129</sup> , Lys <sup>C160</sup>	0.45
7	Arg <sup>C98</sup> , His <sup>C101</sup> , Arg <sup>C111</sup> , Lys <sup>C129</sup>	0.46
8	Arg <sup>A158</sup> , Arg <sup>A162</sup> , Arg <sup>A163</sup>	0.53
9	Arg <sup>A92</sup> , Arg <sup>B159</sup> , Arg <sup>B161</sup> , Arg <sup>B163</sup> , Lys <sup>B166</sup> , Lys <sup>B188</sup>	0.0001
10	Arg <sup>B101</sup> , His <sup>B117</sup> , Arg <sup>C156</sup> , Lys <sup>C160</sup> , Arg <sup>C182</sup>	0.17
11	Lys <sup>B94</sup> , Lys <sup>B136</sup> , Arg <sup>C156</sup> , Arg <sup>C182</sup>	0.19
12	Arg <sup>B101</sup> , Arg <sup>B108</sup> , Arg <sup>B114</sup> , Arg <sup>B129</sup> , Lys <sup>B132</sup>	0.26
13	Arg <sup>B150</sup> , Lys <sup>C160</sup> , His <sup>C167</sup>	0.71



**Рис. 2.** Шаро-стержневые модели расположения нескольких отрицательно заряженных низкомолекулярных лигандов относительно боковых цепей Arg<sup>B150</sup>, Lys<sup>C160</sup> и His<sup>C167</sup> глобулярной части C1q (сайт 13). *a* – Дисульфат бисфенола А; *б* – дисульфат бетулина; *в* – дисульфат фенолантрона.

$\Delta G$ . Самый сильный ингибитор в предполагаемом сайте связывания должен приводить к наибольшему падению  $\Delta G$ , а самый слабый – к наименьшему. Мы исходили из предположения, что ингибирование взаимодействия gC1q с антителами происходит по конкурентному механизму [7]. Наше исследование пересекается с поисками на поверхности C1q сайта связывания с IgG в составе иммунных комплексов [27–31], однако относится непосредственно к разработке метода поиска более эффективных ингибиторов. Эти соединения могут быть использованы в составе лекарственных средств, снижающих активность компонента. Некоторые из подобных ингибиторов уже известны, и ведется работа над поиском новых, более эффективных аналогов [6–13].

Актуальность поиска эффективных ингибиторов взаимодействия gC1q с иммунными комплексами обусловлена задачей снижения активности системы комплемента при ряде патологических состояний, в том числе инфаркте миокарда, аллергии, астме, ревматоидном артрите, болезни Альцгеймера, рассеянном склерозе и отторжении органов при трансплантации [6, 9, 11–13].

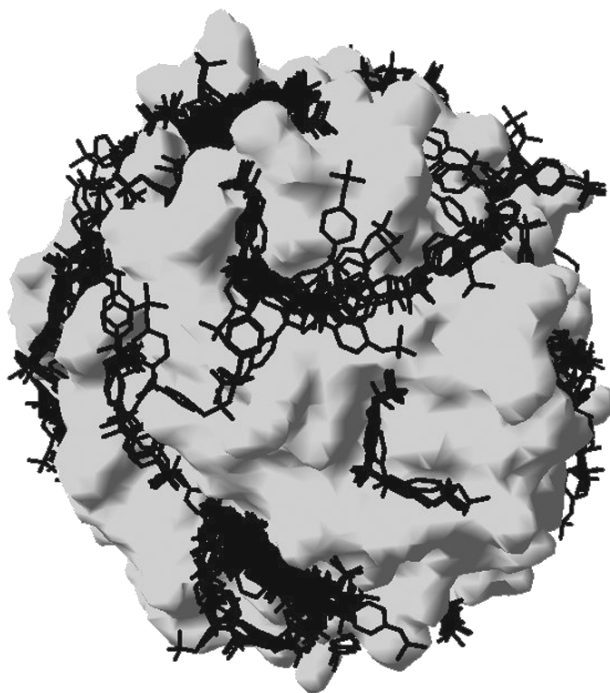
Наша работа позволила не только предположить вероятный сайт связывания gC1q с отрицательно заряженными низкомолекулярными ингибиторами, но и показать структурные основы их взаимодействия. Анализ низкоэнергетических конформаций свидетельствует о том, что на сайте 13 (см. рис. 2) лиганды связываются на границе цепей В и С и координируются электростатическими взаимодействиями отрицательно заряженных групп лиганда с положительно заряженными боковыми группами остатков Arg<sup>B150</sup>, Lys<sup>C160</sup> и His<sup>C167</sup>. Лиганд всегда связывается с Lys<sup>C160</sup>. Для

небольшого лиганда, дифенил-2,2'-дикарбоксилата, это – единственное взаимодействие с одним из трех положительно заряженных аминокислотных остатков сайта, однако этот лиганд обладает низкой активностью как ингибитор. Гидрофобное ядро лигандов образует низкоэнергетические ван-дер-ваальсовы взаимодействия с остатками Gly<sup>B210</sup>, Ala<sup>B211</sup>, Tyr<sup>C196</sup> и с образующими дисульфидный мостик остатками Cys<sup>C151</sup> и Cys<sup>C165</sup>. Кроме Lys<sup>C160</sup>, они связываются либо с His<sup>C167</sup> (например, 3,28-дисульфат бетулина), либо с Arg<sup>B150</sup> (например, дисульфат бисфенола А), либо со всеми тремя положительно-заряженными аминокислотными остатками сайта (например, дисульфат фенолантрона).

Анализ подвижности боковых цепей Arg<sup>B150</sup> и Lys<sup>C160</sup> показал, что с точки зрения электростатических взаимодействий с этими остатками расстояние 7–14 Å между отрицательно заряженными атомами лиганда является оптимальным и в

**Таблица 2.** Результаты экспериментального измерения  $IC_{50}$  нескольких из лигандов, для которых активность предсказана методом компьютерного скрининга в системе “гибкий лиганд/полужесткий рецептор”

№ лиганда	Теор. $IC_{50}$ , мкМ (интервал с учетом стандартной ошибки)	Эксп. $IC_{50}$ , мкМ
1	161 (72.2–359)	120.5
41	153 (68.5–341)	428.8
42	228 (102–509)	285.1
45	81.8 (36.7–183)	182.9
62	642 (288–1431)	295
63	542 (243–1208)	258



**Рис. 3.** Полученная методом “слепого” докинга трехмерная модель с 500 вариантами связывания дисульфата бисфенола на поверхности глобулярной части С1q.

рамках данной модели уже не является основополагающим элементом само по себе. Прделанная ранее работа по модели “гибкий лиганд – жесткий рецептор” программного пакета AutoDock3 [24, 32] без учета подвижности боковых цепей Arg и Lys на поверхности gC1q [22] позволила определить возможные сайты связывания (рис. 3) отрицательно заряженных лигандов, но была слишком грубым приближением для расчета их свободной энергии связывания. Переход к модели “гибкий лиганд – полужесткий рецептор” в AutoDock4 [14, 23] позволяет более точно оценить активность лигандов в рамках предложенного метода.

При конструировании ингибиторов *de novo* необходимо также учитывать подвижность лигандов (вращение вокруг двугранных углов), которая может менять расстояние между отрицательно заряженными группами, а также профиль сайта связывания, определяющий ван-дер-ваальсовы взаимодействия с лигандом.

Апробация метода на лигандах с неизвестной активностью показала, что для 4 из 5 молекул теоретически предсказанная активность с учетом интервала стандартной ошибки совпала с позднее измеренной экспериментальной активностью (табл. 2). Поскольку константа ингибирования экспоненциально зависит от свободной энергии связывания, широкий интервал стандартной ошибки позволяет лишь приблизительно предсказывать значение  $IC_{50}$ . Предложенный

метод можно использовать для предварительного отбора ингибиторов перед экспериментальным определением их активности *in vitro*.

Авторы благодарят профессора кафедры биотехнологии и бионанотехнологии А.П. Каплуна за руководство экспериментальными исследованиями комплемента, Ю.Э. Андия-Правдивого, С.В. Бурееву, Е.А. Лесовую и Н.В. Рукосуеву за предоставленные результаты экспериментов *in vitro* и предложение формул лигандов для скрининга; Л.В. Козлова, главного научного сотрудника НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского за плодотворные идеи и дискуссии, заведующего лабораторией химии протеолитических ферментов ИБХ РАН профессора Л.Д. Румша за полезное обсуждение, старшего научного сотрудника лаборатории моделирования биомолекулярных систем ИБХ РАН Д.Е. Нольде за помощь в высокопроизводительных вычислениях; а также коллективы кафедры биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ и лаборатории химии протеолитических ферментов ИБХ РАН.

Работа выполнена при сотрудничестве Московского государственного университета тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова и Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Работа – часть научных исследований, проводимых на кафедре биотехнологии и бионано-

технологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова, в рамках госбюджетной темы 1Б-5-356 “Исследования липидов, нуклеозидов, пептидов, ретиноидов методами биотехнологии и химического синтеза с целью создания препаратов медицинского назначения (онкологические и вирусные болезни, возрастные патологии)”, а также в рамках Аналитической ведомственной целевой программы “Развитие потенциала высшей школы” (проект 2.1.1.3243), госконтрактов с Роснаукой №№ 02.445.11.7355, 02.512.11.2144, 02.522.11.20011, при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований 06-04-49795.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gaboriaud C., Juanhuix J., Gruez A., Lacroix M., Darnault C., Pignol D., Veger D., Fontecilla-Camps J.C., Arlaud G.J. 2003. The crystal structure of the globular head of complement protein C1q provides a basis for its versatile recognition properties. *J. Biol. Chem.* **278**, 46974–46982.
- Pérot S., Sperandio O., Miteva M.A., Camproux A.C., Villoutreix B.O. 2010. Druggable pockets and binding site centric chemical space: a paradigm shift in drug discovery. *Drug Discov Today*. **15**, 656–667.
- Henrich S., Salo-Ahen O.M., Huang B., Rippmann F.F., Cruciani G., Wade R.C. 2010. Computational approaches to identifying and characterizing protein binding sites for ligand design. *J. Mol. Recognit.* **23**, 209–219.
- Hetenyi C., van der Spoel D. 2002. Efficient docking of peptides to proteins without prior knowledge of the binding site. *Protein Sci.* **11**, 1729–1737.
- Laurie A.T., Jackson R.M. 2006. Methods for the prediction of protein-ligand binding sites for structure-based drug design and virtual ligand screening. *Curr. Protein Pept. Sci.* **7**, 395–406.
- Bureeva S., Andia-Pravdivy J., Petrov G., Igumnov M., Romanov S., Kolesnikova E., Kaplun A., Kozlov L. 2005. Inhibition of classical pathway of complement activation with negative charged derivatives of bisphenol A and bisphenol disulphates. *Bioorg. Med. Chem.* **13**, 1045–1052.
- Bureeva S., Andia-Pravdivy J., Symon A., Bichucher A., Moskaleva V., Popenko V., Shpak A., Shvets V., Kozlov L., Kaplun A. 2007. Selective inhibition of the interaction of C1q with immunoglobulins and the classical pathway of complement activation by steroids and triterpenoids sulfates. *Bioorg. Med. Chem.* **15**, 3489–3498.
- Каплун А.П., Андия-Правдивый Ю.Э., Буреева С.В., Козлов Л.В., Швец В.И. 2004. Производные бетулина как ингибиторы комплемента. Патент РФ № 2243233.
- Bureeva S., Andia-Pravdivy J., Kaplun A. 2005. Drug design using the example of the complement system inhibitors' development. *Drug. Discov. Today*. **10**, 1535–1542.
- Roumenina L., Bureeva S., Kantardjiev A., Karlinsky D., Andia-Pravdivy J.E., Sim R., Kaplun A., Popov M., Kishore U., Atanasov B. 2007. Complement C1q-target proteins recognition is inhibited by electric moment effectors. *J. Mol. Recognit.* **20**, 405–415.
- Fryer J.P., Leventhal J.R., Pao W., Stadler C., Jones M., Walsh T., Zhong R., Zhang Z., Wang H., Goodman D.J., Kurek M., d'Apice A.J., Blondin B., Ivancic D., Buckingham F., Kaufman D., Abecassis M., Stuart F., Anderson B.E. 2000. Synthetic peptides which inhibit the interaction between c1q and immunoglobulin and prolong xenograft survival. *Transplantation*. **70**, 828–836.
- Roos A., Nauta A.J., Broers D., Faber-Krol M.C., Trouw L.A., Drijfhout J.W., Daha M.R. 2001. Specific inhibition of the classical complement pathway by C1q-binding peptides. *J. Immunol.* **167**, 7052–7059.
- Roumenina L.T., Radanova M., Atanasov B.P., Popov K.T., Kaveri S.V., Lacroix-Desmazes S., Frémeaux-Bacchi V., Dimitrov J.D. 2011. Heme interacts with c1q and inhibits the classical complement pathway. *J. Biol. Chem.* **286**, 16459–16469.
- Huey R., Morris G. 2007. Using AutoDock 4 with AutoDockTools: A Tutorial.
- Joseph-McCarthy D. 1999. Computational approaches to structure-based ligand design. *Pharmacol. Ther.* **84**, 179–191.
- Shoichet B.K., McGovern S.L., Wei B., Irwin J.J. 2002. Lead discovery using molecular docking. *Curr. Opin. Chem Biol.* **6**, 439–446.
- Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R. 2002. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins*. **47**, 409–443.
- Mohan V., Gibbs A.C., Cummings M.D., Jaeger E.P., DesJarlais R.L. 2005. Docking: Successes and Challenges. *Curr. Pharm. Des.* **11**, 323–333.
- Ertl P. 2010. Molecular structure input on the web. *J. Cheminform.* **2**, 1.
- Oostenbrink C., Villa A., Mark A.E., van Gunsteren W.F. 2004. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *J. Comput. Chem.* **25**, 1656–1676.
- Schuttelkopf A.W., van Aalten D.M.F. 2004. PRODRG: a tool for high-throughput crystallography of protein-ligand complexes. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* **60**, 1355–1363.
- Карлинский Д.М., Каплун А.П., Попов М.Е. 2009. Предсказание активности низкомолекулярных ингибиторов активации классического пути комплемента методом компьютерного скрининга. *Вестник МИТХТ*. **4**, 57–63.
- Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* **30**, 2785–2891.
- Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S., Huey R., Hart W.E., Belew R.K., Olson A.J. 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comp. Chem.* **19**, 1639–1662.
- Cer R.Z., Mudunuri U., Stephens R., Lebeda F.J. 2009. IC<sub>50</sub>-to-K<sub>i</sub>: a web-based tool for converting IC<sub>50</sub> to K<sub>i</sub>

- values for inhibitors of enzyme activity and ligand binding. *Nucl. Acids Res.* **37**, W441–W445.
26. Hetenyi C., van der Spoel D. 2006. Blind docking of drug-sized compounds to proteins with up to a thousand residues. *FEBS Letts.* **580**, 1447–1450.
27. Burton D.R., Boyd J., Brampton A. D., Easterbrook-Smith S.B., Emanuel E.J., Novotny J., Rademacher T.W., van Schravendijk M.R., Sternberg M.J.E., Dwek R.A. 1980. The C1q receptor site on immunoglobulin G. *Nature.* **288**, 338–344.
28. Marques G. Anton L.C., Barrio E., Sanchez A., Ruiz S., Gavilanes F., Vivanco F. 1993. Arginine residues of the globular regions of human C1q involved in the interaction with immunoglobulin G. *J. Biol. Chem.* **268**, 10393–10402.
29. Kishore U., Gupta S., Perdikoulis M., Kojouharova M., Urban B., Reid K.B. 2003. Modular organization of the carboxyl-terminal, globular head region of human C1q A, B, and C chains. *J. Immunol.* **171**, 812–820.
30. Kishore U., Ghai R., Greenhough T., Shrive A., Bonifati D., Gadjeva M., Waters P., Kojouharova M., Chakraborty T., Agrawal A. 2004. Structural and functional anatomy of the globular domain of complement protein C1q. *Immunol. Lett.* **95**, 113–128.
31. Kojouharova M., Gadjeva M., Tsacheva I., Zlatarova A., Roumenina L., Tchorbadjieva M., Atanasov B., Waters P., Urban B., Sim R., Reid K.B., Kishore U. 2004. Mutational analyses of the recombinant globular regions of human C1q A, B, and C chains suggest an essential role for arginine and histidine residues in the C1q-IgG interaction. *J. Immunol.* **172**, 4351–4358.
32. Morris G., Goodsell D., Huey R., Hart W., Halliday S., Belew R., Olson A. 2001. Automated docking of flexible ligands to receptors version 3.0.5 user's guide.