

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ ЦИАНИНОВЫХ И СКВАРИЛИЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С ЭНДОРИБОНУКЛЕАЗОЙ NSP15 КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2

© 2022 г. П. Г. Пронкин^{1*}, А. С. Татиколов¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

*E-mail: pronkinp@gmail.com

Поступила в редакцию 27.07.2021;

после доработки 16.08.2021;

принята в печать 20.08.2021

Продолжающееся распространение коронавирусной инфекции COVID-19 ставит целью найти новые инструменты и методы обнаружения, изучения инфекции и предотвращения заболеваемости (в частности, новые аналитические процедуры и тесты). С целью разработки зондов для обнаружения коронавируса SARS-CoV-2 методом моделирования *in silico* (молекулярный докинг) изучено нековалентное связывание цианиновых и скварилиевых красителей, имеющих различные заряды молекул и разные типы гетероциклических остатков и заместителей (всего 42 соединения), с разными вариантами эндорибонуклеазы NSP15 коронавируса SARS-CoV-2 (COVID-19): исходного (“дикого”) типа и мутантными типами. Определены энергии взаимодействия и пространственные конфигурации молекул красителей в комплексах с NSP15. Некоторые красители, имеющие отрицательные значения общей энергии комплекса E_{tot} , перспективны для дальнейшего практического изучения в качестве зондов на коронавирус.

Ключевые слова: коронавирус SARS-CoV-2 (COVID-19), эндорибонуклеаза NSP15, цианиновые красители, скварилиевые красители, нековалентное взаимодействие, молекулярный докинг.

DOI: 10.31857/S0207401X22020091

ВВЕДЕНИЕ

Угроза продолжающегося распространения коронавируса SARS-CoV-2 (COVID-19), которое сопровождается его мутациями, определяет необходимость разработки новых процедур и тестов для обнаружения, изучения и предотвращения распространения вируса. Один из наиболее эффективных подходов, используемых в настоящее время в вирусных исследованиях, включает использование флуоресцентных зондов и меток, таких как цианиновые красители [1–4] (в частности, оксамонометинцианины [5]). Основными преимуществами цианиновых красителей являются высокие коэффициенты экстинкции, поглощение и испускание в спектральном диапазоне от УФ- до ИК-области, перекрывающим оптическое окно прозрачности биологических образцов, а также их уникальные фотофизические и фотохимические свойства, зависящие от молекулярного окружения [6]. Нековалентное взаимодействие цианиновых красителей с биомолекулами (нуклеиновые кислоты, белками) приводит к изменению фотофизических и фотохимических свойств красителей и зачастую протекает с многократным усилением флуоресценции, что создает предпосылки

для использования цианинов в качестве зондов в природных и искусственных системах, содержащих биомакромолекулы [7–12]. Разнообразие структур и свойств цианиновых красителей разных типов (которые содержат полиметиновые цепи разной длины, разные концевые гетероциклы и заместители) требует молекулярного моделирования *in silico* для предварительного скрининга соединений [13–15]. Ранее нами было изучено *in silico* (методом молекулярного докинга) взаимодействие между различными полиметиновыми (цианиновыми) красителями (всего 45 соединений) и спайк-протеином (S) SARS-CoV-2 [16]. В данной работе методом моделирования *in silico* (молекулярный докинг) продолжено изучение взаимодействия цианиновых красителей с молекулярными компонентами коронавируса SARS-CoV-2 — смоделировано взаимодействие различных видов красителей (42 соединения) с разными типами белка-фермента вируса SARS-CoV-2 — эндорибонуклеазы NSP15: как исходного (“дикого”) типа, так и мутантными типами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Молекулярный докинг проводили с помощью сайта DockThor [17–19]. В эксперименте использовали целевые структуры белков, предложенные на сайте DockThor; в качестве референса изучали “дикий” тип белка-фермента NSP15 (PDB-код: 6wxc), соответствующий эталонной последовательности генома вируса (выделен в г. Ухань, провинция Хубэй, Китай, декабрь 2019 г.) [20]. Выполнен также докинг с четырьмя мутантными разновидностями белка NSP15: S294A, S294T, Y343C, Y343H. Структура NSP15 S294A соответствует мутации ключевого аминокислотного участка с нейтральным функциональным эффектом, связанной с заменой остатка Ser294 на Ala294 (замена гидрофильного остатка на гидрофобный в сайте связывания лиганда) [21]. Разновидность S294T имеет аминокислотную замену Ser293 на Thr293 (без изменения функционального эффекта); Y343C получена заменой аминокислотного остатка Tyr343 на Cys 343, что относится непосредственно к сайту связывания лигандов; структура Y343H соответствует мутации в сайте связывания белка с заменой Tyr343 на His343 [20].

Небелковые компоненты (молекулы воды, ионы, кофакторы и лиганды) были удалены (DockThor), добавлены атомы водорода и оптимизирована сеть водородных связей с учетом pH = 6.2 [22]. Для мутантных форм NSP15 “дикий” тип (с PDB-кодом: 6wxc) использован в качестве шаблона. В работе использовались предложенные структуры; дополнительную корректировку протонирования аминокислотных остатков не проводили.

Эксперименты проводили в режиме “слепого” докинга (blind docking); размер аппроксимирующей решетки – 22 Å, центр при X = 63.94, Y = –72.47, Z = 26.37, шаг дискретизации – 0.25 Å [17–20]. При анализе результатов учитывали до пяти лучших конфигураций.

Исследованы симметричные скварилиевые красители: моно-, три-, пента- и гептаметинцианины, как катионные, так и анионные (имеющие отрицательно заряженные сульфогруппы), с различными гетероциклами (бензимидазолил, бензотиазолил, бензоксазолил) и заместителями в гетероциклах. Триметинцианины (карбоцианины) также имели различные заместители в гетероатомах и мезо-положении полиметиновой цепи. Для создания PDB-структур красителей-лигандов и оптимизации их геометрии (силового поля MMFF94) использовали молекулярный редактор Avogadro [23]. Для трехмерной визуализации и анализа результатов стыковки использовали программу UCSF Chimera [24]. Исходная изомерная форма мезо-замещенных карбоцианинов соответствовала *цис*-конфигурации как наиболее

стабильной для красителей этого типа в полярных растворителях [25].

О стабильности возможных комплексов краситель–белок судили по знаку и величине полной энергии системы E_{tot} , полученной в результате докинга [17, 20]: предполагалось, что образование стабильных комплексов более вероятно при достаточно низких (т.е. больших по абсолютной величине) отрицательных энергиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулярный докинг катионных карбоцианиновых и нейтральных скварилиевых красителей с NSP15

Изучено взаимодействие катионных мезо-замещенных карбоцианиновых (K1–K7) и нейтральных скварилиевых красителей (СК1–СК5) с различными вариантами NSP15. Структурные формулы красителей представлены на рис. 1. Карбоцианиновые красители отличаются друг от друга как заместителями в мезо-положении полиметиновой цепи, так и концевыми гидроциклами. Скварилиевые красители отличаются друг от друга заместителями R1, R2.

Исследованные катионные и нейтральные красители характеризуются положительными значениями полной энергии E_{tot} при взаимодействии со всеми типами NSP15. В частности, при докинге K1 и K7 с NSP15 “дикого” типа получено: $E_{tot} = 16.7 \pm 0.7$ и 55.4 ± 0.33 ккал · моль^{–1} соответственно, что практически совпадает с результатом, полученным для мутантного варианта NSP15 Y343H. Наименьшие значения E_{tot} при докинге с “диким” типом NSP15 получены для оксакарбоцианина K5 ($E_{tot} = 6.95 \pm 0.17$ ккал · моль^{–1}) и для тиакарбоцианина K3 ($E_{tot} = 10.6 \pm 0.93$ ккал · моль^{–1}). Отметим, что для катионных карбоцианиновых красителей значения энергии Ван-дер-Ваальса (E_{vdW}) оказались отрицательными: для красителей с различными гетероциклами они близки и лежат в пределах от -19.6 ± 3.32 ккал · моль^{–1} (краситель K4) до -27.8 ± 0.67 ккал · моль^{–1} (краситель K3). Аналогичные результаты ($E_{tot} > 0$) были получены ранее для катионных красителей при докинге со спайк-протеином SARS-CoV-2 [16].

Положительные значения E_{tot} были получены и при докинге незаряженных скварилиевых красителей с NSP15. В частности, для красителей СК2 и СК3 с заместителями R₁ = OH значения $E_{tot} = 59.4 \pm 1.15$ и 15.2 ± 0.79 ккал · моль^{–1} (с “диким” типом NSP15) соответственно. Докинг с NSP15 незамещенного СК1 дает значительно более благоприятное (но тоже положительное) значение энергии ($E_{tot} = 7.7 \pm 0.56$ ккал · моль^{–1}). Аналогичные данные получены при докинге нейтральных скварилиевых красителей со спайк-протеином

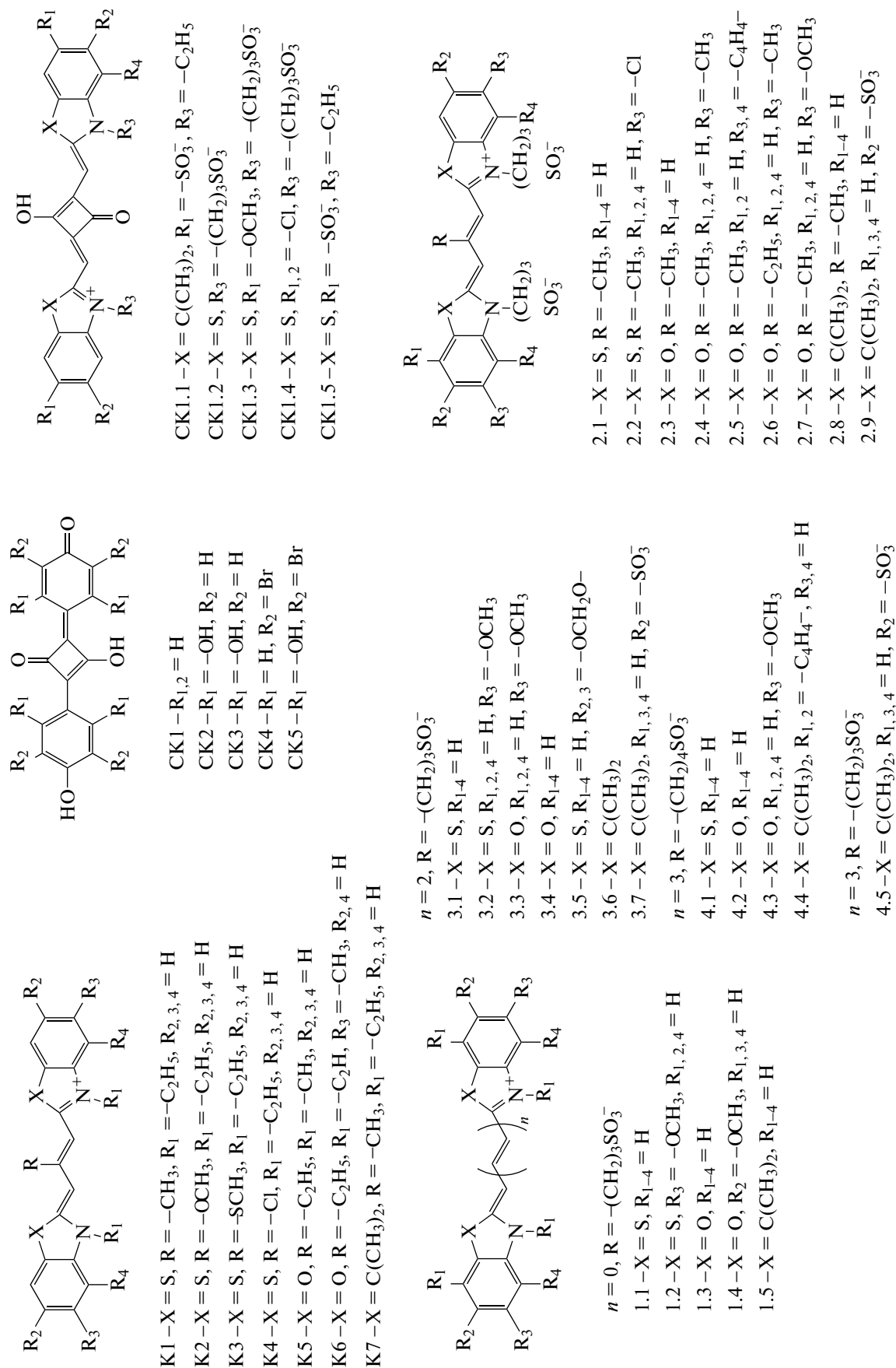


Рис. 1. Структурные формулы цианиновых красителей, а также нейтральных и анионных скварилиевых красителей.

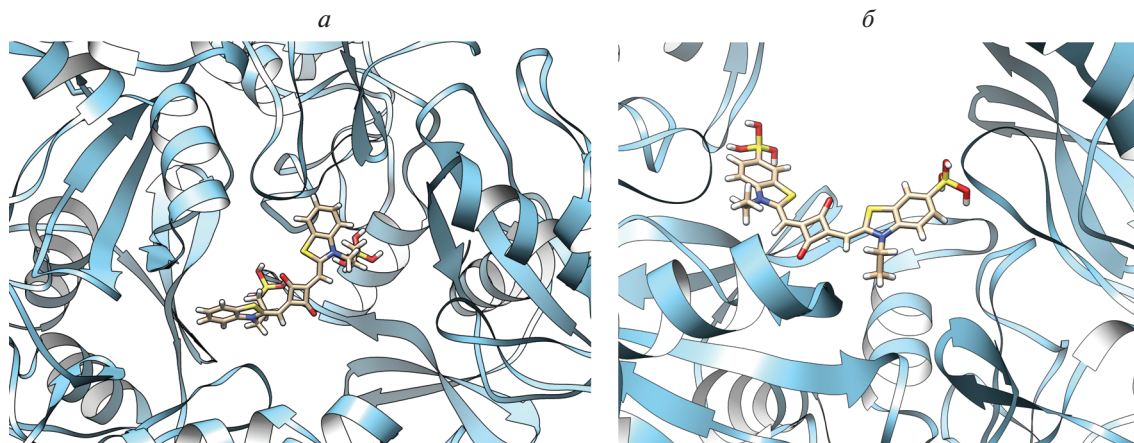


Рис. 2. Результаты докинга с NSP15 красителей: *a* – СК1.1 (“дикий” тип NSP15 и *б* – СК1.5 (Y343H). Исходные конфигурации красителей соответствовали *цис*-изомерам.

[16]. Положительные значения E_{tot} могут указывать на недостаточную стабильность комплексов катионных полиметиновых красителей и нейтральных скварилиевых красителей с NSP15.

Независимо от использования мутантных подтипов NSP15, энергии электростатического взаимодействия, E_{el} , и Ван-дер-Ваальса, E_{vdW} , оказались отрицательными; для основной части красителей их средние значения составляют -13.7 ± 1.01 и -13.4 ± 3.7 ккал · моль $^{-1}$ соответственно. Бромзамещенные красители СК4 и СК5 при докинге с NSP15 (“дикий” тип) имеют $E_{vdW} = -29.1 \pm 0.62$ и -25.6 ± 0.26 ккал · моль $^{-1}$ и $E_{el} = -0.31 \pm 0.51$ и -1.28 ± 0.39 ккал · моль $^{-1}$ соответственно.

Молекулярный докинг анионных красителей с NSP15

Анионные скварилиевые красители. Наряду с незаряженными (нейтральными) скварилиевыми красителями (СК1–СК5) был проведен молекулярный докинг анионных скварилиевых красителей СК1.1–СК1.5 с NSP15 (структуры красителей приведены на рис. 1). В результате докинга для большинства исследованных анионных скварилиевых красителей получены отрицательные значения полной энергии ($E_{tot} < 0$). В частности, при взаимодействии СК1.4 с “диким” и мутантным (Y343H) типами NSP15 получены $E_{tot} = -8.78 \pm 0.55$ и -9.46 ± 1.14 ккал · моль $^{-1}$. В то же время в случае СК1.1 получены положительные значения $E_{tot} = 20.5 \pm 0.42$ и 20.6 ± 0.89 ккал · моль $^{-1}$ соответственно. Возможно, это обусловлено стерическими препятствиями для образования комплекса, создаваемыми группами $C(CH_3)_3$ [16].

Сильно отрицательные значения E_{tot} были получены при докинге скварилиевых красителей СК1.2 и СК1.5; при этом наиболее отрицательные

значения E_{tot} – при докинге с S294T для имеющего бензтиазольные гетероциклы красителя СК1.2 ($E_{tot} = -72.1 \pm 1.32$ ккал · моль $^{-1}$). Энергии электростатического взаимодействия и Ван-дер-Ваальса для анионных скварилиевых красителей СК1.1–СК1.5 оказались отрицательными. Для красителей СК1.2 и СК1.4, имеющих сульфогруппы в заместителях при атомах N, получены наименьшие значения E_{el} (-57.2 ± 5.1 и -65.1 ± 3.4 ккал · моль $^{-1}$ соответственно). В среднем для изученных анионных скварилиевых красителей $E_{vdW} = -6.2 \pm 3.0$ ккал · моль $^{-1}$, тогда как $E_{el} = -55.7 \pm 8.5$ ккал · моль $^{-1}$, т.е. E_{el} выше по абсолютной величине, чем E_{vdW} , в 4.2–20 раз, что свидетельствует о значительном вкладе сил электростатического взаимодействия в стабилизацию комплексов краситель–белок.

Скварилиевые красители в комплексах с NSP15 зачастую принимают скрученную (близкую к перпендикулярной) конфигурацию, например, СК1.1 с “диким” типом NSP15 (рис. 2а). Однако для красителя СК1.7 со всеми разновидностями NSP15 характерны практически плоские структуры, близкие к *транс*-изомерам, в которых концевые гетероциклы красителя лишь незначительно (на $\sim 20^\circ$) выводятся из плоскости.

Докинг располагает молекулы лигандов в центральной полости тримера вблизи одной из субъединиц белка. Используя программу UCSF Chimera [22], мы провели анализ поверхностного связывания и поиск водородных связей между атомами лиганда и белка, а также поиск межатомных конфликтов и контактов (на основе ван-дер-ваальсовых радиусов молекул). Анализ связывания показал, что в комплексе с NSP15 молекулы скварилиевого красителя СК1.1 расположены на расстоянии ~ 4 Å от GLY165, и TYR89 субъединицы С, сульфогруппа красителя находится на

расстоянии 4 Å от ARG91. В случаях SK1.5 и мутантных форм S294A и Y343H докинг дал практически одинаковые положения лигандов (взаимодействие с субъединицей A). В случае SK1.5 и Y343H (структура красителя в комплексе приведена на рис. 2б) краситель образует водородные связи (2 Å) с GLN203 (с участием концевой сульфогруппы) и с ASP269 (за счет атома O скварилиевого кольца). Поиск межатомных контактов указывает на близкий (3 Å) контакт ARG92 с сульфогруппой красителя; также отмечен контакт (4 Å) GLU268 со скварилиевым кольцом.

Анионные цианиновые красители. Молекулярный докинг также проведен с серией из 26 анионных цианинов с различной длиной полиметиновой цепи: пяти анионных монометинцианиновых красителей (см. рис. 1, структуры 1.1–1.5), девяти мезо-замещенных триметинцианиновых красителей (карбоцианинов, структуры 2.1–2.9), семи пентаметинцианиновых красителей (структуры 3.1–3.7) и пяти гептаметинцианиновых красителей (структуры 4.1–4.5). Мезо-замещенные карбоцианины соответствовали *цис*-конфигурации.

Докинг показал, что большинство (~90%) выбранных соединений характеризуются отрицательными значениями полной энергии ($E_{tot} < -19$ ккал · моль⁻¹, см. табл. 1). Значительные отрицательные значения E_{tot} получены для анионных монометинцианиновых красителей: так, при докинге красителя 1.3, представляющего собой бензоксазолильное производное, с эндорибонуклеазой “дикого” типа $E_{tot} = -83.8 \pm 1.8$ ккал · моль⁻¹. Отметим, что для его аналогов 1.1 и 1.5 получены меньшие по абсолютной величине на ~30–44 ккал · моль⁻¹ значения E_{tot} . Возможно, здесь так же как и в случае скварилиевых красителей, играет роль стерический фактор, понижающий E_{tot} (по абсолютной величине) для более объемистых красителей 1.1 и 1.5 по сравнению с 1.3.

Докинг карбоцианинов (рис. 1, структуры 2.1–2.9) с NSP15 (“дикий” тип) также показал, что эти красители могут образовывать энергетически стабильные комплексы. В частности, при докинге оксакарбоцианинов 2.3, 2.4 и 2.6 получены значения E_{tot} в диапазоне $-31.7...-63.9$ ккал · моль⁻¹.

Тиакробоцианины 2.1 и 2.2 показывают сравнимые значения E_{tot} (см. табл. 1). Положительные значения E_{tot} получены для красителей 2.5 и 2.7 (табл. 1), которые имеют объемистые заместители в гетероядрах.

Отрицательные значения E_{tot} получены для большинства пентаметинцианиновых (дикарбоцианиновых) красителей (в частности, для тиадикарбоцианина 3.2 и его окса-аналога 3.4) с NSP15, что может свидетельствовать о стабильности межмолекулярных комплексов этих красителей. Для красителей 3.1 и 3.3 получены положительные зна-

чения E_{tot} (2.7 ± 1.57 и 4.1 ± 2.01 ккал · моль⁻¹ соответственно). Значения энергий электростатического взаимодействия и Ван-дер-Ваальса для большинства пентаметинцианиновых красителей (за исключением 3.7) оказались отрицательными; для красителей 3.2 и 3.3, имеющих заместители $-\text{OCH}_3$, получены наименьшие значения E_{el} (табл. 1).

Изучение взаимодействия с NSP15 анионных гептаметинцианиновых красителей (соединения 4.1–4.5) показало, что для части этих красителей энергетически возможно нековалентное взаимодействие, приводящее к образованию стабильных комплексов ($E_{tot} < 0$). Для красителей 4.2 (оксацианин) и 4.4 (индо-производное) получены положительные E_{tot} (18.3 ± 1.01 и 8.9 ± 2.8 ккал · моль⁻¹ соответственно).

Значения E_{el} и E_{vdW} для большинства гептаметинцианиновых красителей оказались отрицательными, исключение — краситель 4.5 (для него получено $E_{vdW} = 5.1 \pm 3.31$ ккал · моль⁻¹). Для пентаметинцианиновых (дикарбоцианиновых) красителей 3.1–3.6 значение E_{el} оказалось в 3.4–24 раз выше по абсолютной величине, чем E_{vdW} ; для гептаметинцианиновых красителей 4.1–4.4 E_{el} выше по абсолютной величине, чем E_{vdW} в 5.2–9.4 раз. Это свидетельствует о значительном вкладе сил электростатического взаимодействия в стабилизацию комплексов краситель–белок. Действительно, молекулярный докинг индокарбоцианинов с четырьмя сульфогруппами (соединения 2.9, 3.7, 4.5) дает значительно более отрицательные значения полной энергии ($E_{tot} \sim -77.8...-96.0$ ккал · моль⁻¹) из-за большого вклада электростатического взаимодействия в стабилизацию комплексов ($E_{el} \sim -87.6...-90.5$ ккал · моль⁻¹). Наиболее отрицательные значения E_{tot} получены для индокарбоцианина 2.9 при докинге с NSP15. Красители с большей длиной полиметиновой цепи показывают более умеренные значения E_{tot} (см. табл. 1).

Докинг анионных цианиновых красителей с мутантными формами целевого белка (S294A, S294T, Y343C и Y343H) показал практически одинаковые энергетические параметры связывания по сравнению с “диким” типом. Для монометинцианина 1.1 величины полной энергии, полученные для четырех мутантных форм, практически совпадают с E_{tot} , полученной для исходного белка: -53.62 ± 0.49 и -53.2 ± 0.86 ккал · моль⁻¹ соответственно. Аналогичная ситуация прослеживается и в случае других анионных красителей. Так, для пентаметинцианинового окса-красителя 3.4 величины E_{tot} , полученные при докинге с S294A, S294T, Y343C и Y343H, составляют -74.3 ± 1.56 ккал · моль⁻¹; для гептаметинового окса-красителя 4.2 докинг с мутантными формами дает $E_{tot} = -58.9 \pm 1.09$ ккал · моль⁻¹, что с учетом доверительного интервала

Таблица 1. Результаты молекулярного докинга анионных цианиновых красителей с NSP15 (“дикий” тип): общая энергия взаимодействия, энергии Ван-дер-Ваальса и электростатического взаимодействия (ккал · моль⁻¹)

Краситель	X	E_{tot}	E_{vdW}	E_{el}
1.1	S	-53.2 ± 0.86	-14.2 ± 3.34	-43 ± 4.12
1.2		-61.4 ± 0.66	-5.1 ± 7.7	-73.3 ± 7.05
1.3	O	-83.8 ± 1.81	0.25 ± 3.15	-73.8 ± 3.75
1.4		-76.2 ± 2.91	-0.96 ± 2.87	-74.6 ± 5.36
1.5	C(CH ₃) ₂	-39.8 ± 1.42	-5.9 ± 2.7	-50.3 ± 4.98
2.1	S	-49.6 ± 0.77	-4.4 ± 5.55	-83.3 ± 5.05
2.2		-51.7 ± 2.36	-1.5 ± 3.03	-83.7 ± 3.57
2.3	O	-57.9 ± 0.48	-4.2 ± 5.19	-67.3 ± 6.66
2.4		-55.1 ± 0.34	-11.1 ± 8.19	-62.7 ± 8.15
2.5		26 ± 1.07	-6.5 ± 4.71	-68.6 ± 3.97
2.6		-59.3 ± 0.42	-14.0 ± 1.06	-58.0 ± 3.15
2.7		36.9 ± 3.71	-3 ± 7.98	-71.7 ± 5.78
2.8	C(CH ₃) ₂	-36.4 ± 1.45	-7.6 ± 4.58	-53.8 ± 6.13
2.9	C(CH ₃) ₂	-96 ± 3.39	4.6 ± 4.93	-90.5 ± 6.97
3.1	S	2.7 ± 1.57	-8.1 ± 3.12	-58.3 ± 4.27
3.2		-55 ± 0.55	-3.9 ± 6.07	-67.7 ± 5.24
3.3	O	4.1 ± 2.01	-3.5 ± 6.51	-86.6 ± 7.85
3.4		-74.7 ± 2.32	-6.3 ± 10.93	-65.6 ± 11.8
3.5	S	-23.5 ± 1.04	-9.7 ± 6.02	-49.9 ± 5.39
3.6	C(CH ₃) ₂	-19.7 ± 0.69	-14.4 ± 6.82	-48.8 ± 2.6
3.7	C(CH ₃) ₂	-86.7 ± 0.28	4.3 ± 5.69	-87.6 ± 8.05
4.1	S	-43.4 ± 2.39	-9.8 ± 4.09	-61.9 ± 4.41
4.2	O	18.3 ± 1.01	-6.7 ± 6.22	-63.3 ± 6.03
4.3		-58.4 ± 0.88	-9.8 ± 4.56	-62 ± 4.51
4.4	C(CH ₃) ₂	8.9 ± 2.8	-11.2 ± 3.44	-58.1 ± 3.42
4.5	C(CH ₃) ₂	-77.8 ± 2.44	5.1 ± 3.31	-88.6 ± 5.54

соответствует данным табл. 1. Исключение составляет лишь оксакарбоцианиновый краситель 2.3, при докинге с мутантными формами белка для которого обнаружено уменьшение E_{tot} на 7% ($E_{tot} = -62.0 \pm 1.29$ ккал · моль⁻¹).

Анионные цианиновые красители могут связываться с NSP15 SARS-CoV-2 в различных конформациях. Монометинцианины характеризуются скрученной (неплоской) конфигурацией их молекул в связанных состояниях; однако для окса-красителей 1.3, 1.4 возможны почти плоские (энергетически оптимальные) конфигурации. Для монометинцианиновых красителей анализ поверхностного связывания не выявил наличия водородных связей и межатомных конфликтов.

Близкие к плоским конфигурации характерны для карбоцианинов 2.1, 2.2, 2.3. В частности, для 2.2 докинг с NSP15 (“дикий” тип) дает близкую к *транс*-изомерам конфигурацию красителя (рис. 3а); при этом метильная группа почти перпендикулярна плоскости одного из гетероциклов, а другой гетероцикл повернут на угол ~15°. Для взаимодействия оксакарбоцианина 2.3 и индокарбоцианина 2.8 также характерны почти плоские *транс*-конфигурации, при этом *мезо*-заместители выводятся за пределы плоскостей. Для красителей 2.4 и 2.6 расчеты дают “закрученные” на ~45° перпланарные формы. Докинг красителя 2.9, имеющего дополнительную пару сульфогрупп, с NSP15

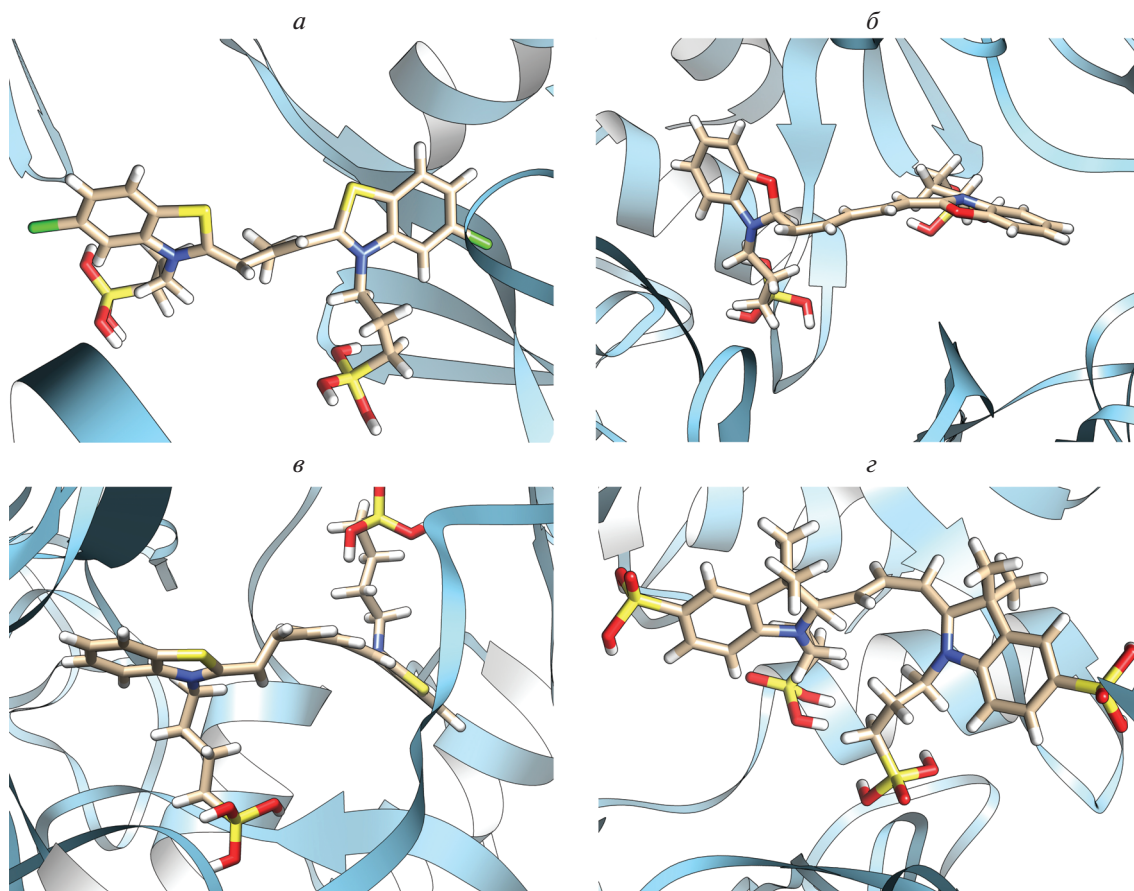


Рис. 3. Результаты докинга анионных красителей с NSP15: 2.2 (а), 3.4 (б), 4.1 (в) и 2.9 (г).

(“дикий” тип) предполагает искаженную конфигурацию, близкую к *транс*-изомеру (рис. 3г).

Докинг пентаметинцианинов 3.1, 3.2 с NSP15 дает сильно изогнутые из-за искаженных валентных углов полиметиновой цепи структуры, в которых концевые гетероциклы располагаются практически параллельно друг к другу. Красители 3.4 (рис. 3б) и 3.7 (имеет 4 сульфогруппы) приобретают при взаимодействии с NSP15 скрученные (близкие к перпланарной) структуры; красители не образуют водородных связей и межатомных контактов с белком.

Для докинга гептаметинцианиновых красителей получены различные варианты структур молекул, в основном для них характерны изогнутые структуры. При докинге красителя 4.1 искажения “скручивают” концевые гетероциклические остатки, и заместители в положениях 3 и 3' могут выводиться из плоскости молекулы (рис. 3в). Для красителя 4.2 получена структура с практически перпланарным положением концевых гетероциклов, краситель не образует водородных связей и межатомных контактов с NSP15. Красители 4.3 и 4.5 (4 сульфогруппы) имеют серповидно изогнутые структуры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты молекулярного докинга показали, что на нековалентное комплексообразование цианиновых и скварилиевых красителей с NSP15 SARS-CoV-2 существенное влияние оказывают кулоновские взаимодействия в структуре краситель–белок. Положительные значения полной энергии комплекса ($E_{tot} > 0$) для катионных цианиновых (K1–K7) или нейтральных скварилиевых (СК1–СК5) красителей могут указывать на нестабильность комплексов этих красителей с NSP15. Для многих анионных красителей получены отрицательные значения E_{tot} , что может характеризовать более высокую стабильность соответствующих комплексов. Для индокарбоцианинов с четырьмя сульфогруппами, увеличивающими отрицательный заряд молекулы красителя (2.9, 3.7 и 4.5), получены еще более благоприятные результаты. Кроме того, для большинства анионных красителей значение E_{el} значительно превышает по абсолютной величине E_{vdw} , что также указывает на ведущую роль кулоновских сил в образовании комплексов. Аналогичное влияние кулоновского взаимодействия на устойчивость

комплекса краситель–белок было обнаружено при докинге цианиновых красителей со спайк-протеином SARS-CoV-2 [16].

Структурные различия в молекулах красителя существенно влияют на стабильность комплексов. Для окса-красителей в целом были получены более отрицательные значения E_{tot} , чем для их аналогов с тиазольными и индольными концевыми гетероциклами. Возможно, это связано с более компактной структурой окса-красителей, чем тиа- и индо-аналогов.

По критерию величины E_{tot} , характеризующей устойчивость комплексов с NSP15, можно выделить анионные скварилиевые красители СК1.2, СК1.5, монометинцианиновые анионные красители 1.1–1.5, тиа- и оксацианины 2.1–2.4, 2.6, 3.2, 3.4, 3.5, 4.1, 4.3, индоцианины 2.8, 3.6, а также цианины с четырьмя сульфогруппами 2.9, 3.7 и 4.5.

При использовании красителей для спектральной детекции белков, наряду с устойчивостью комплексов краситель–белок, важную роль играет изменение спектрально-флуоресцентных свойств красителей при комплексообразовании. Для мезо-замещенных карбоцианинов (триметинцианинов) характерен более резкий рост интенсивности флуоресценции и более существенные изменения в спектрах из-за сдвига динамического *цис-транс*-равновесия, что позволяет обнаруживать очень низкие концентрации биомолекул при использовании красителей в качестве флуоресцентных зондов [7, 8, 10, 12, 26]. Учитывая вышеизложенное, перспективными в качестве таких зондов являются карбоцианины 2.1–2.4 и 2.6.

В комплексах карбоцианинов с биомолекулами наблюдается усиление процесса интеркомбинационной конверсии в триплетное состояние, что приводит к заселению триплетных энергетических уровней [27–29]. Это определяет возможность фотохимических реакций с участием возбужденных триплетных состояний красителей в этих системах и потенциально может привести к образованию активных форм кислорода (фотодинамический эффект). Таким образом, цианины могут быть перспективны для индуцированного светом повреждения компонентов вируса (белков, с которыми связывается краситель) и, таким образом, инактивации самого вируса. Отметим, что УФ-фотоинактивация коронавирусов MERS-CoV и SARS-CoV-2 в сыворотке крови рибофлавином в настоящее время изучается [30, 31]. С рассматриваемой точки зрения мезо-замещенные тиакарбоцианины 2.1 и 2.2 можно выделить для дальнейших практических исследований в этой области.

Следует отметить, что при докинге цианиновых красителей с мутантными формами NSP15 — S294A, S294T, Y343C и Y343H — величина E_{tot} практически совпадала с таковой для “дикого” типа NSP15 (лишь для красителя 2.3 при докинге

с мутантными формами обнаружено небольшое уменьшение E_{tot}). Это может свидетельствовать о действенности цианиновых красителей-зондов не только для исходной формы вируса SARS-CoV-2, но и для его мутантных форм, что особенно актуально в настоящее время, когда мутантные формы SARS-CoV-2 получают все большее распространение в мире.

Молекулярная графика и анализы, выполненные с помощью программы UCSF Chimera, разработаны Ресурсом для биокомпьютеров, визуализации и информатики Калифорнийского университета в Сан-Франциско при поддержке NIH P41-GM103311.

Работа выполнена в рамках госзадания № 001201253314 ИБХФ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Saarnio V.K., Salorinne K., Ruokolainen V.P. et al. // *Dyes Pigm.* 2020. V. 77. P. 108282; <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108282>
2. Eriksson M., Hardelin M., Larsson A., Bergenholtz J., Akerman B. // *J. Phys. Chem. B.* 2007. V. 111. P. 1139; <https://doi.org/10.1021/jp064322m>
3. Soto C.M., Blum A.S., Vora G.J. et al. // *J. Amer. Chem. Soc.* 2006. V. 128. P. 5184; <https://doi.org/10.1021/ja058574x>
4. Robertson K.L., Soto C.M., Archer M.J., Odoemene O., Liu J.L. // *Bioconjugate Chem.* 2011. V. 22. P. 595; <https://doi.org/10.1021/bc100365j>
5. Vus K., Tarabara U., Balklava Z. et al. // *J. Mol. Liq.* 2020. V. 302. P. 112569; <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112569>
6. Gopika G.S., Prasad P.M.H., Lekshmi A.G. et al. // *Mater. Today: Proceedings.* 2021. V. 46. P. 3102; <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.622>
7. Татикилов А.С., Пронкин П.Г., Шведова Л.А., Панова И.Г. // *Хим. физика.* 2019. Т. 38. № 12. С. 11; <https://doi.org/10.1134/S1990793119060290>
8. Бычкова А.В., Пронкин П.Г., Сорокина О.Н., Татикилов А.С., Розенфельд М.А. // *Коллоид. журн.* 2014. Т. 76. № 4. С. 420; <https://doi.org/10.7868/S002329121404003X>
9. Пронкин П.Г., Татикилов А.С. // *Химия высоких энергий.* 2009. Т. 43. № 6. С. 527; <https://doi.org/10.1134/S0018143909060101>
10. Пронкин П.Г., Татикилов А.С. // *Журн. прикл. спектроскопии.* 2015. Т. 82. № 3. С. 429; <https://doi.org/10.1007/s10812-015-0126-8>
11. Аниковский М.Ю., Татикилов А.С., Пронкин П.Г. и др. // *Химия высоких энергий.* 2003. Т. 37. № 6. С. 445; <https://doi.org/10.1023/B:НЕС.0000003399.44000.ec>
12. Pronkin P.G., Shvedova L.A., Tatikolov A.S. // *Biophys. Chem.* 2020. V. 261. P. 106378; <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2020.106378>
13. Beg M.A., Athar F. // *Pharm. Pharmacol. Intern. J.* 2020. V. 8. P. 163; <https://doi.org/10.15406/ppij.2020.08.00292>

14. *Tazikeh-Lemeski E., Moradi S., Raoufi R. et al.* // J. Biomol. Struct. Dyn. 2021. V. 39. № 13. P. 4633; <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779133>
15. *Al-Masoudi N.A., Elias R.S., Saeed B.* // Biointerface Res. Appl. Chem. 2020. V. 10. P. 6444; <https://doi.org/10.33263/BRIAC105.64446459>
16. *Пронкин П.Г., Татиколов А.С.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 2. С. 3; <https://doi.org/10.31857/S0207401X2102014X>
17. *Guedes I.A., Barreto A.M.S., Marinho D. et al.* // Sci. Rep. 2021. V. 11. P. 3198; <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82410-1>
18. *dos Santos K.B., Guedes I.A., Karl A.L.M., Dardenne L.* // J. Chem. Inf. Model. 2020. V. 60. P. 667; <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00905>
19. *de Magalhães C.S., Almeida D.M., Barbosa H.J.C., Dardenne L.E.* // Inf. Sci. 2014. V. 289. P. 206; <https://doi.org/10.1016/j.ins.2014.08.002>
20. *Guedes I.A., Costa L.S.C., dos Santos K.B. et al.* // Sci. Rep. 2021. V. 11. P. 5543; <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84700-0>
21. *Kim Y., Jedrzejczak R., Maltseva N.I. et al.* // Protein Sci. 2020. V. 29. P. 1596; <https://doi.org/10.1002/pro.3873>
22. *Olsson M.H.M., Søndergaard C.R., Rostkowski M., Jensen J.H.* // J. Chem. Theory Comp. 2011. V. 7. P. 525; <https://doi.org/10.1021/ct100578z>
23. *Hanwell M.D., Curtis D.E., Lonie D.C. et al.* // J. Cheminformatics. 2012. V. 4. P. 1; <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
24. *Yang Z., Lasker K., Schneidman-Duhovny D. et al.* // J. Struct. Biol. 2012. V. 179. P. 269; <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2011.09.006>
25. *Khimenko V., Chibisov A.K., Görner H.* // J. Phys. Chem. A. 1997. V. 101. P. 7304; <https://doi.org/10.1021/jp971472b>
26. *Pronkin P.G., Shvedova L.A., Tatikolov A.S.* // J. Chem. Sci. 2020. V. 132. P. 152; <https://doi.org/10.1007/s12039-020-01858-2>
27. *Пронкин П.Г., Татиколов А.С., Скляренко В.И., Кузьмин В.А.* // Химия высоких энергий. 2006. Т. 40. № 4. С. 295; <https://doi.org/10.1134/S0018143906040096>
28. *Пронкин П.Г., Татиколов А.С., Скляренко В.И., Кузьмин В.А.* // Там же. № 6. С. 451; <https://doi.org/10.1134/S0018143906060087>
29. *Татиколов А.С.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 2. С. 11; <https://doi.org/10.31857/S0207401X21020163>
30. *Keil S.D., Bowen R., Marschner S.* // Transfusion. 2016. V. 56. P. 2948; <https://doi.org/10.1111/trf.13860>
31. *Keil S.D., Ragan I., Yonemura S. et al.* // Vox Sang. 2020. V. 115. P. 495; <https://doi.org/10.1111/vox.12937>