

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
ННІ «Фізико-технічний факультет»  
Кафедра медичної фізики та біомедичних нанотехнологій

## Пояснювальна записка

До дипломної роботи магістра

на тему (укр. мова) Взаємодія противірусного препарату молнупіравіру з  
головною протеазою вірусу SARS-CoV-2 за даними молекулярного докінгу

на тему (англ. мова) Molnupiravir interaction with main protease of SARS-CoV-2  
virus: a molecular docking study

Виконав: студент 6 курсу, групи ТЛ-61

Напрямок підготовки 105 «Прикладна фізика та  
наноматеріали»

 Закарія БУЛАГЖАМЕ

(підпис, прізвище та ініціали)

Науковий керівник:  Галина ГОРБЕНКО

(підпис, прізвище та ініціали)

Рецензент:  Валерій ЛІСОВСЬКИЙ

(підпис, прізвище та ініціали)

Харків – 2023 року

## АНОТАЦІЯ

Булагжаме З. – Взаємодія противірусного препарату молнупіравіру з головною протеазою вірусу SARS-CoV-2 за даними молекулярного докінгу. – Рукопис.

Дипломна робота магістра за спеціальністю 105 «Прикладна фізика та наноматеріали» – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, 2023.

70 с., 29 рис., 19 табл, 39 джерел.

Це дослідження спрямоване на вивчення взаємодії молнупіравіру з основною протеазою SARS-CoV-2 за допомогою методу молекулярного докінгу з використанням низки програм, таких як Patchdock, SeamDock, SwissDock та HDock, а також досліджувався розподіл електростатичного потенціалу поверхні білка з використанням таких інструментів як PDB2PQR та APBS. Для уточнення сайтів зв'язування та типів міжмолекулярних взаємодій, був використаний Protein-Ligand Interaction Profiler - сервер, для аналізу результатів докінгу.

Відомо, що сполуки можуть діяти як потенційні ліки проти SARS-CoV-2, якщо ці молекули зв'язуються з активним центром основної протеази SARS-CoV-2, що складається із залишків Гіс 41, Мет 49, Глі 143, Цис 145, Гіс 163, Гіс 164, Глу 166, Про 168 і Глн 189. Найважливішими каталітичними залишками основної протеази SARS-CoV-2 є гістидин 41 та цистеїн 145.

В цілому, результати аналізу найбільш енергетично вигідних моделей та/або комплексів з найкращою геометричною комплементарністю всіх досліджуваних програм, крім SwissDock, підтверджують ідею про те, що молнупіравір може бути інгібітором основної протеази SARS-CoV-2 та сприяти блокуванню реплікації вірусу. Отримані результати можуть слугувати основою для подальших експериментів *in vitro* та *in vivo*.

## ABSTRACT

Boulagjame Z. – Molnupiravir interaction with main protease of SARS-CoV-2 virus: a molecular docking study. - Manuscript.

Masters thesis in speciality 105 "Applied Physics and Nanomaterials" – V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, 2023.

70 pages, 29 pictures, 19 tables, 39 sources.

This study aimed at investigating the interaction of molnupiravir with SARS-CoV-2 main protease by molecular docking method using a number of programs such as Patchdock, SeamDock, SwissDock and HDock, and analyzing the electrostatic potential distribution on the protein surface using the tools such as PDB2PQR and APBS. To clarify the binding sites and the types of intermolecular interactions, the Protein-Ligand Interaction Profiler server was used while analyzing the docking results.

It is known that the compounds can act as potential drugs against SARS-CoV-2 if these molecules bind to the active site of the SARS-CoV-2 main protease, which consists of residues His 41, Met 49, Gly 143, Cys 145, His 163, His 164, Glu 166, Pro 168 and Gln 189. The most important catalytic residues of the SARS-CoV-2 main protease are histidine 41 and cysteine 145.

In general, the analysis of the most energetically favorable models and/or complexes with the best geometric complementarity of all the studied programs, except SwissDock, confirms the idea that molnupiravir can be an inhibitor of the main protease of SARS-CoV-2 and may contribute to the blocking of viral replication. This molecular docking research creates a basis for further experiments both *in vitro* and *in vivo*.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	6
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1 Головна протеаза SARS-CoV-2 .....	9
1.2 Молнупіравір.....	11
1.2.1 Метаболізм молнупіравіру .....	13
1.2.2 Протівірусна активність .....	14
1.2.3 Резистентність молнупіравіру.....	15
РОЗДІЛ 2: МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ .....	17
2.1 Підготовка та оптимізація ліганду для молекулярного докінгу.....	17
2.1.1 Підготовка вхідних файлів лігандів.....	17
2.2 Метод молекулярного докінгу .....	18
2.2.1 Використання SwissDock для молекулярного докінгу .....	19
2.2.2 Використання SeamDock для молекулярного докінгу .....	20
2.2.3 Використання HDock для молекулярного докінгу .....	22
2.2.4 Використання PatchDock для молекулярного докінгу .....	23
2.2.5 Використання PDB2PQR та APBS для дослідження електростатичного потенціалу поверхні білка .....	25
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	27
3.1 Дослідження взаємодії лікарського препарату з головною протеазою SARS-CoV-2 за результатами серверу Patchdock.....	27
3.1.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найкращою геометричною комплементарністю поверхонь ліганда і білка за результатами Patchdock.....	28
3.1.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів найкращою оцінкою комплементарності, отриманих за допомогою Patchdock .....	32

3.2 Дослідження зв'язування молнупіравіру з білком вірусу SARS-CoV-2 за допомогою серверу SeamDock.....	36
3.2.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найменшою енергією зв'язування за результатами SeamDock.....	37
3.2.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів білка з молнупіравіром з найменшою енергією зв'язування за результатами SeamDock.....	40
3.3 Дослідження зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 за допомогою серверу SwissDock.....	45
3.3.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найменшою енергією зв'язування за результатами SwissDock .....	46
3.3.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів білка з молнупіравіром з найменшою енергією зв'язування за результатами SwissDock .....	51
3.4 Дослідження зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 за допомогою серверу HDock.....	55
3.4.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найменшою оцінкою стикування за результатами HDock.....	56
3.4.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів білка з молнупіравіром з найменшим значенням оцінки стикування за результатами HDock .....	60
ВИСНОВКИ .....	64
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	64

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

PLIP	сервер, для аналізу результатів докінгу (Protein-Ligand Interaction Profiler)
SARS-CoV-2	головна протеаза (main protease) SARS-CoV-2
M-pro	

## ВСТУП

Пандемія COVID-19, спричинена вірусом SARS-CoV-2, серйозно вплинула на охорону здоров'я у всьому світі. Незважаючи на те, що весною 2023 року Всесвітня організація охорони здоров'я об'явила, що COVID-19 більше не є світовою надзвичайною загрозою, пандемія продовжує впливати на населення, хоча рівень зараження різниться в різних регіонах. Зусилля по боротьбі з вірусом розвивалися з часом, включаючи кампанії вакцинації, дослідження, лікування та глибше розуміння вірусу та його варіантів.

У 2022 році було досягнуто прогресу в зусиллях щодо вакцинації. Багато країн вводили бустерні дози для підвищення імунітету та боротьби з появою варіантів. Хоча рівень зараження все ще зберігається, у розробці препаратів, таких як молнупіравір, було досягнуто успіхів. Цей препарат отримав схвалення в деяких країнах після оцінки його ефективності та безпеки.

Поточні наукові дослідження зосереджені на вивченні компонентів вірусу SARS-CoV-2, його головної протеази (M-pro), щоб визначити нові мішені для противірусних препаратів і покращити розуміння механізмів реплікації вірусу. У той час кілька противірусних препаратів, включаючи молнупіравір, проходять випробування, щоб визначити їхню ефективність проти COVID-19.

Станом на 2023 рік було досягнуто прогресу в боротьбі з COVID-19 завдяки розширенню вакцинації, дослідженням методів лікування та підвищенню пильності щодо нових варіантів.

Головним пріоритетом залишається розуміння механізмів поширення вірусу, пошук способів його лікування та підвищення нашої готовності до потенційних майбутніх спалахів інфекційних захворювань.

Метою цього дослідження є вивчення взаємодії головної протеази SARS-CoV-2, що є ключовим білком для дозрівання вірусу та його реплікації, з молнупіравіром, антивірусною сполукою, що розглядається як потенційний інгібітор SARS-CoV-2 M-pro. Для розуміння стабільності комплексу протеаза-

ліганд використовували метод сліпого молекулярного докінгу за допомогою таких програм як SwissDock, SeamDock, PatchDock та HDock.

Завдяки аналізу, проведеному в PLIP, було визначено типи взаємодії між протеазою та молнупіравіром, що пролило світло на закономірності, які сприяють асоціації, та дозволило підкреслити конкретні молекулярні взаємодії, необхідні для стабільності комплексу. Було виявлено, що основними стабілізуючими силами є гідрофобні контакти та водневі зв'язки. Одними з ключових інструментів, використаними для аналізу систем білок-ліганд, були PDB2PQR та APBS. Вони допомогли розрахувати електростатичні потенціали поверхні кристалічної структури білка та результатів молекулярного докінгу, отриманих за допомогою серверів SwissDock, SeamDock, PatchDock та HDock. Порівняння електростатичних потенціалів поверхні білка в комплексі з лігандом та у вільному стані дозволили поглибити уявлення про природу зв'язування.

Використовуючи інструменти для молекулярного докінгу, такі як SwissDock, SeamDock, PatchDock, HDock, а також додатки PDB2PQR, APBS та PLIP, було отримано загальне розуміння сайтів зв'язування, типів взаємодій та електростатичних потенціалів поверхні білка у відсутності та присутності ліганду, що пояснює аффіність молнупіравіру до головної протеази SARS-CoV-2.

Висновки, отримані в рамках даного дослідження, створюють підґрунтя для подальших наукових досліджень як в лабораторних умовах, так і на живих організмах. Вони сприяють розвитку стратегій втручань проти вірусу SARS-CoV-2. Спільне використання цих інструментів молекулярного докінгу разом із PDB2PQR та APBS є важливим етапом у розумінні та розробці майбутніх противірусних підходів для практичного використання в живих організмах.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.

### 1.1 Головна протеаза SARS-CoV-2

Даний розділ присвячено всебічному аналізу літератури, що стосується нашого дослідження. Головна мета цього огляду полягає в забезпеченні глибокого розуміння двох ключових компонентів: головної протеази (M-про) у вірусі SARS-CoV-2 та противірусного препарату молнупіравіру. Значущість цього огляду виявляється в його потенціалі висвітлити взаємодію цих двох сутностей, що є критичною для розробки ефективних методів лікування проти SARS-CoV-2.

У основі пошуку прийняттого методу лікування SARS-CoV-2 лежить розгляд складної молекулярної машинерії вірусу. Головна протеаза SARS-CoV-2, ключовий компонент у вірусному життєвому циклі, виходить на передній план для дослідження [1]. Розуміння взаємодій цього ферменту з модельними мембранами важливе для розкриття вразливостей вірусу та розробки цільових терапевтичних стратегій.

Важливість поглиблення цього дослідження не може бути переоцінена, особливо в контексті широкомасштабних і далекосяжних наслідків поточної пандемії. З інфекціями SARS-CoV-2, які торкаються життів по всьому світу, існує термінова потреба в комплексній стратегії, яка поєднує традиційні фармацевтичні методи з останніми досягненнями в обчислювальних техніках. У цьому пошуку комп'ютерні симуляції пропонують потужний інструмент для розкриття молекулярних тонкощів, що лежать в основі вірусних інфекцій. [2]

Ця робота спрямована на дослідження двох різних кандидатів за допомогою комп'ютерних симуляцій — методу, який надає віртуальну лабораторію для вивчення молекулярних взаємодій. Зокрема, кандидати оцінюються на їх потенціал взаємодії з модельними мембранами, що імітують складне середовище, в якому діє вірус. Додатково, увага дослідження

розширюється на область зв'язування рецепторів головної протеази SARS-CoV-2, ключової мішені для потенційних терапевтичних втручань.

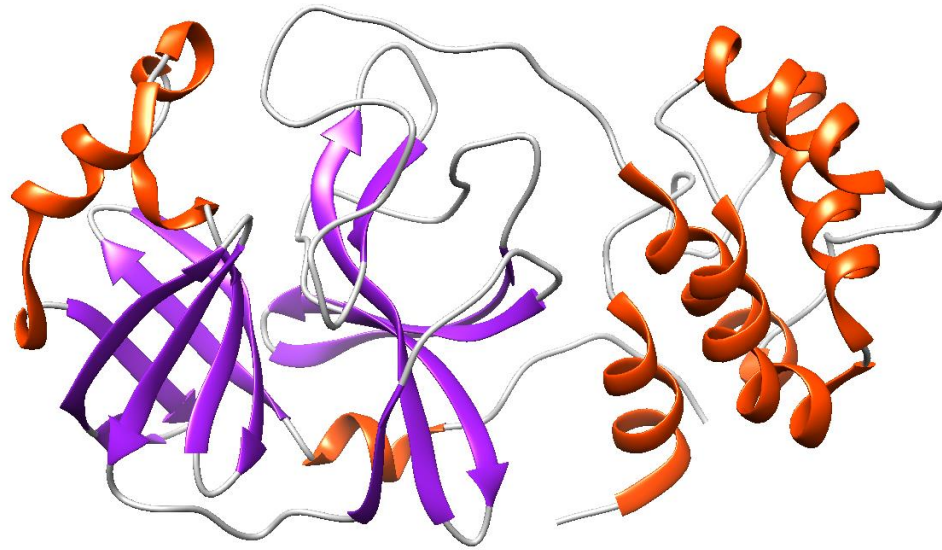


Рис. 1.1 Головна протеаза SARS-CoV-2

Один з кандидатів, що досліджується, молнупіравір, заслуговує особливої уваги [3]. На практичному рівні молнупіравір вже знаходить практичне застосування як противірусний препарат. Вибір цього препарату обґрунтований можливістю використання наявних противірусних сполук для прискорення розробки ліків, враховуючи їх встановлені профілі безпеки та механізми дії.

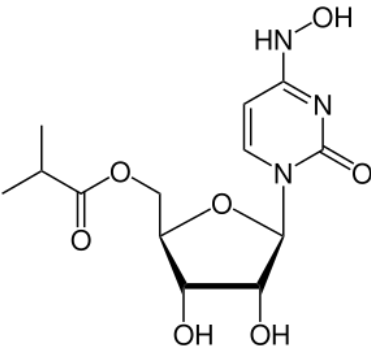
У вирішенні викликів взаємодії головної протеази SARS-CoV-2 та динаміки модельних мембран, мета не обмежується тільки теоретичним роз'ясненням. Це дослідження має прагматичний характер і може визначити терапевтичні стратегії для реальної боротьби з COVID-19. У подальших розділах буде розкрита методологія, представлені результати та освітлені наслідки цих симуляцій, що надасть детальне розуміння придатності кандидатів як потенційних засобів лікування SARS-CoV-2.

## 1.2 Молнупіравір

Молнупіравір, який переважно призначався як препарат N6-гідроксицитідину для лікування грипу у 2019 році, виступає вперед у галузі противірусних засобів. Його значимість стрімко зросла, коли з'явився вірус SARS-CoV-2, демонструючи вражаючу ефективність проти SARS-CoV-2 в тваринних моделях та лабораторних умовах. На 8 березня 2021 року пандемія COVID-19 зачепила понад 115 мільйонів осіб по всьому світу, вимагаючи майже 2,5 мільйонів життів [4]. Молнупіравір, спочатку як антивірусний препарат для лікування грипу під комерційними назвами (МК-4482 і EIDD-2801), показує перспективи в якості лікування COVID-19 [5].

Таблиця 1.1

Фізико-хімічні властивості та відповідність правилу п'яти Ліпінського для молнупіравіру.

Сполука	Молекулярна формула	Молекулярна структура	Правило п'яти Ліпінського	
			Показники	Значення
Молнупіравір	$C_{13}H_{19}N_3O_7$		Молекулярна маса (<500 Да)	329.12 daltons
			LogP (<5)	0,46
			Донор водневих зв'язків (<5)	4
			Акцептор водневих зв'язків (<10)	6
			Порушення	Nil

(Таблиця 1.1) надає комплексний огляд фізико-хімічних властивостей молнупіравіру, противірусного з'єднання. Вона висвітлює основні

молекулярні деталі, включаючи його молекулярну формулу ( $C_{13}H_{19}N_3O_7$ ) та молекулярну масу (329,12 дальтонів), що демонструє відповідність правилу п'яти Ліпінського. У таблиці представлені ключові властивості, такі як  $\text{LogP}$  (0,46), донори водневих зв'язків (4) та акцептори водневих зв'язків (6), які всі в межах встановлених порогів відповідно до правила п'яти Ліпінського. Важливо, що молнупіравір не демонструє жодних порушень, що підкреслює його потенційні фармакокінетичні переваги та сприятливі молекулярні характеристики [22].

Цей препарат має скелет нуклеозиду N4-гідроксицитидину, розроблений у співпраці з Університетом Еморі та компанією університетської інноваційної діяльності. На даний момент компанія Merck веде його розробку як нового перорального противірусного препарату для боротьби з COVID-19 [6,7].

Дослідження на тваринах підтвердили успішність молнупіравіру у пригніченні вірусної передачі та утриманні SARS-CoV-2 [8]. Виступаючи як пероральний противірусний рибонуклеозидний аналог, цей препарат розглядається як пролік 5'-ізобутірату прямиодійного противірусного рибонуклеозидного аналога, EIDD-1931 або  $\beta$ -DN4-гідроксицитидину [9,10]. Після розщеплення в плазмі молнупіравір вивільняє EIDD-1931, який, після фосфорилування внутрішньоклітинними кіназами, стає активним противірусним засобом.

Клінічні випробування показали перспективні результати, де фаза 1 виявила добру переносимість та безпеку серед здорових добровольців [11]. У фазі 2 випробувань, в яких брали участь хворі з легким та помірним COVID-19, препарат продемонстрував здатність знижувати транскрипцію SARS-CoV-2, зменшувати швидкість видалення інфекційного вірусу та утримувати прогресування COVID-19 разом із реплікацією SARS-CoV-2 [12,13]. Результати фази 2/3, представлені на Європейському конгресі клінічної мікробіології та інфекційних хвороб (ECCMID), підкреслили молнупіравір як перспективний терапевтичний варіант для пацієнтів з COVID-19, які не потребують госпіталізації. Більше того, тривають співпраці між компаніями

Merck та Ridgeback Bio, спрямовані на розробку нового противірусного засобу, EIDD-2801 [14].

Цей підхід спрямований на розгляд механізму дії та нового синтетичного шляху молнупіравіру як противірусного засобу, що надає уявлення про логічний синтез більш потужних варіантів молнупіравіру як потенційних противірусних кандидатів.

### *1.2.1 Метаболізм молнупіравіру*

Молнупіравір, спочатку розроблений як пероральний пролік N6-гідроксицитидину з фокусом на боротьбу з грипом у 2019 році, виявив потужну активність проти SARS-CoV-2 після появи пандемії [8]. Цей новознайдений потенціал проти нового коронавірусу, підтверджений через відмінні оцінки в тваринних моделях та *in vitro* дослідженнях, підкреслив молнупіравір як перспективного кандидата для терапевтичного втручання [8].

Серед нуклеозидів та аналогів нуклеотидів різні сполуки продемонстрували потужні та вибіркові противірусні властивості проти коронавірусів, включаючи ті, які містять SARS-CoV-2 [13]. Варто зауважити, що деякі з цих сполук швидко просунулися через клінічні випробування для лікування COVID-19, що підкреслює терміновість та прогрес у пошуку ефективних терапевтичних засобів [13].

Однак те, що відділяє молнупіравір від кількох інших ліків, схвалених для екстреного використання проти COVID-19, це його потенціал для виробництва в широкому масштабі без залежності від лікарняних умов або строгих протоколів транспортування при низьких температурах [16]. Обширні докази, отримані з фаз 1, 2 та 3 клінічних випробувань, послідовно вказують на високу переносимість та безпеку молнупіравіру в короткостроковому періоді, помітно позбавлені значних побічних ефектів [16].

У фазі 1, в якій брали участь 130 учасників у подвійно-сліпих рандомізованих контрольованих плацебо умовах, два різних дослідження підтвердили безпеку та переносимість щоденної дози молнупіравіру у 1600 мг,

не повідомляючи про жодні важкі побічні явища протягом 5,5 днів [11]. Одночасно, додаткове дослідження з 18 учасниками, проведене за рандомізованим відкритим підходом, вказувало на випадки, переважно визначені як помірні за важкістю симптомів [17].

Переходячи до фази 2 випробувань, що охопили 202 учасників у подвійно-сліпих рандомізованих контрольованих плацебо умовах, було виявлено значно прискорене очищення від RNA учасників з легким або помірним COVID-19 під впливом молнупіравіру у дозі 800 мг двічі на день порівняно з плацебо [7].

Проте у фазі 3 випробувань відзначалося помітне зниження (до 50%, зі значенням  $p = 0,0012$ ) ризику госпіталізації чи смертності лише у негоспіталізованих випадках COVID-19. Відсутня значна перевага молнупіравіру на пізніх стадіях з помірними або важкими випадками COVID-19 [7, 11, 15, 16, 17].

### *1.2.2 Противірусна активність*

Противірусна активність є важливим аспектом терапевтичних втручань у боротьбі з інфекційними захворюваннями. Молнупіравір, який вирізняється вираженою антивірусною активністю, здобув увагу завдяки своїй ефективності проти SARS-CoV-2, патогенного агента COVID-19, як підтверджено у ключовому дослідженні [18]. Цей препарат діє за механізмом, що викликає помітний приріст мутацій у геномі вірусу. Отримані мутації, характеризуючись каскадом небажаних помилок по всьому генетичному складу вірусу, призводять до того, що вірус стає невірусним і ефективно утруднюють його реплікаційний цикл [18].

У процесі виявлення ефективності проти варіантів SARS-CoV-2, експерименти проведені *in vitro* і підтвержені ранніми клінічними дослідженнями, підкреслили стійкість противірусної потужності молнупіравіру [18]. Сполука продемонструвала стійкість до варіантів SARS-CoV-2, що викликали особливість (VoC), включаючи B.1.1.7 (альфа), B.1351

(бета), Р.1 (гамма) та В.1.617.2 (дельта), які були виявлені шляхом комплексних значень EC50. Ці значення, що охоплюють діапазон від 1,32 до 1,77 мікромоля, підкреслюють його стабільність у пригніченні реплікації різноманітних варіантів, демонструючи його широкоспектральну ефективність [19].

Додатково, для підтвердження ефективності, клінічні дослідження розкрили ключовий час для призначення молнупіравіру. Застосування цього антивірусного засобу, спеціально ініційоване на 6-7-й день терапії, продемонструвало значний вміст видалення вірусу з організму. Такі результати підкреслюють клінічну важливість та вчасність в терапевтичному застосуванні молнупіравіру, визначаючи критичне вікно для його максимальної ефективності в боротьбі з інфекціями SARS-CoV-2 [19].

Крім того, оцінка молнупіравіру в поєднанні з різними антивірусними препаратами розкрила цікавий аспект. Під час тестування поряд з рядом антивірусних засобів, включаючи абакавір, емтриситабін, гідроксихлорохін та інші, не спостерігалось помітного впливу на стійкість противірусної активності молнупіравіру проти SARS-CoV-2 *in vitro* [19].

Загальні дані підтверджують багатогранну та стійку противірусну активність молнупіравіру проти SARS-CoV-2 та його варіантів, проявляючи як його ефективність, так і стратегічну часову перспективу у клінічних застосуваннях.

### *1.2.3 Резистентність молнупіравіру*

Профіль резистентності молнупіравіру виступає як унікальний та цікавий аспект, розкриваючи свою особливість через ретельний аналіз як *in vitro*, так і *in vivo* досліджень [20,21]. У основі його ефективності лежить вроджена здатність препарату викликати значну частоту мутацій у геномі вірусу, створюючи вражаючий бар'єр перед спробами вірусу розвинути опірність [20]. Цей визначальний механізм, заснований на навмисних помилках у генетичному плані вірусу, відрізняє молнупіравір від традиційних

антивірусних засобів, значно зменшуючи ймовірність крос-опірності та підвищуючи його ефективність проти різних штамів вірусу [20,21].

Необхідно відзначити, що незважаючи на обширні клінічні дослідження, конкретні заміни амінокислот у структурі SARS-CoV-2 однозначно не пов'язані з опірністю до ННС [20]. Цікаво, що висвітлені висновки з проведених *in vitro* досліджень показали помітно низьку ймовірність еволюції вірусу до опірності до ННС, що ще більше підсилює стійкість сполуки до мутаційної адаптації [20]. Рівно так само захоплюючою є стійкість ННС, що демонструє стійку потужність навіть у присутності замін полімерази, часто пов'язаних зі зменшеною схильністю до інших встановлених антивірусних засобів, таких як ремдесивір, що свідчить про його відсутність схильності до крос-опірності [21].

Ці захопливі відкриття колективно позиціонують молнупіравір як символ надії у постійній боротьбі проти COVID-19. Ньюансовані складнощі, які включають його профіль опірності, закликають до глибшого аналізу, закликаючи до комплексного дослідження його метаболічних шляхів, широких антивірусних властивостей та складного поля потенційних механізмів опірності [21]. Такий комплексний аналіз обіцяє розкрити цінні висновки щодо динамічної взаємодії між молнупіравіром та вірусним ландшафтом, сприяючи розвитку вдосконалених терапевтичних стратегій та глибокому розумінню антивірусних препаратів.

## РОЗДІЛ 2: МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

### 2.1 Підготовка та оптимізація ліганду для молекулярного докінгу

#### 2.1.1 Підготовка вхідних файлів лігандів

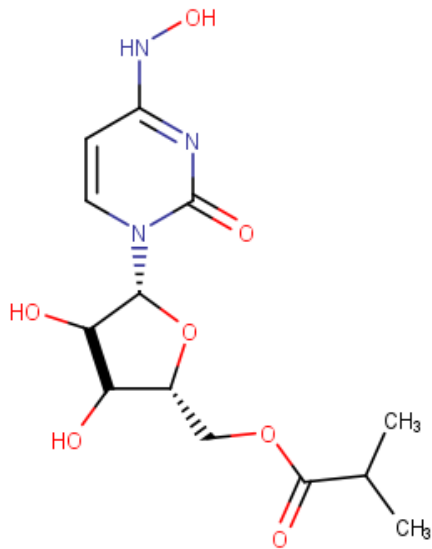
Детальний дизайн та початкова оптимізація хімічної структури молнупіравіру, зображеної на рисунку 2.1, пройшли процес вдосконалення за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення. Дизайн базової структури розпочався з використання MarvinSketch (версія 21.16.0), вдосконаленого інструменту, який використовується для точного зображення молекулярних структур [23]. Після цієї початкової фази ретельна оптимізація структури продовжувалася за допомогою програми Avogadro (версія 1.1.0) [24], забезпечуючи всебічний і детальний процес вдосконалення.

Рисунок 2.1 відображає крок за кроком конструкцію молнупіравіру. На початкових етапах конструкція розпочинається в програмі MarvinSketch, що ілюструє базову структуру та прогресує через подальші етапи [23]. Візуалізація на панелі А представляє основну структуру під час конструкції, в той час як панелі Б та В демонструють деталізовану еволюцію структури після включення та оптимізації водневих атомів, що завершується вдосконаленою 3D-структурою.

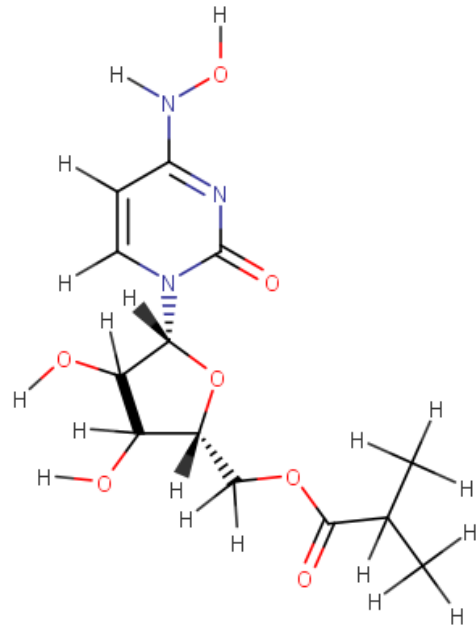
Процес вдосконалення продовжувався в програмі Avogadro [24], де структури додатково оптимізувалися для досягнення їх остаточної форми. Вигляд структури препарату після оптимізації в програмі Avogadro зображений на панелі Г, демонструючи ретельно вдосконалену та чітко визначену молекулярну структуру.

Цей ретельний процес вдосконалення, від початкової концептуалізації в MarvinSketch до детальної оптимізації в Avogadro, забезпечує міцне і точне відображення молекулярної архітектури молнупіравіру, створюючи міцну основу для подальших аналізів та фармацевтичних досліджень.

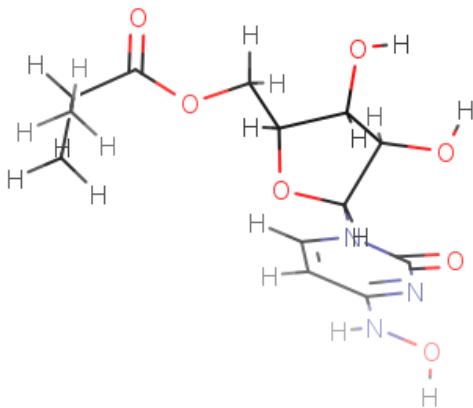
А



Б



В



Г

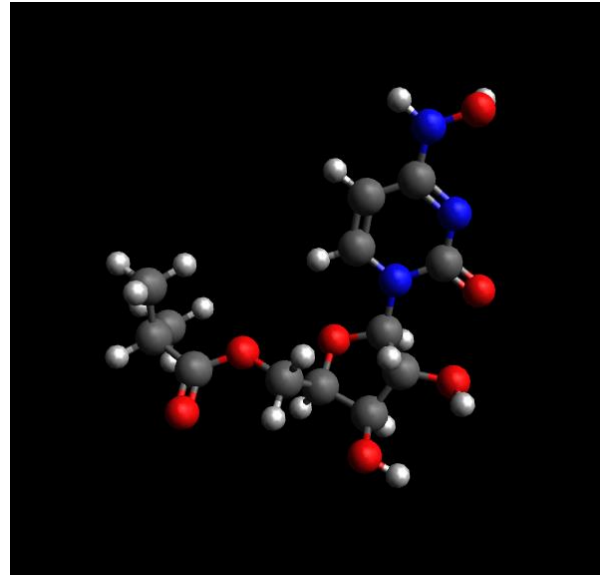


Рис. 2.1 Конструювання молнупіравіру (А) у програмі MarvinSketch. Структура після відображення всіх атомів водню (Б) та оптимізації її тривимірної структури (В). Вигляд препарату після оптимізації в Avogadro (Г).

## 2.2 Метод молекулярного докінгу

Структура молнупіравіру була ретельно побудована та оптимізована за допомогою стандартних методик. Для моделювання взаємодії з порожнім (без

ліганду) активним сайтом головної протеази SARS-CoV-2, пов'язаної з 2019-nCoV (коронавірусна хвороба 2019, COVID-19), використовуваний комплекс містив головну протеазу (важливу вірусну складову). Конкретна макромолекула, вибрана для цієї симуляції, представлена PDB-кодом 6Y84 [27].

The image shows the PDB entry page for 6Y84. At the top, there is a search bar and navigation tabs for Structure Summary, Structure, Annotations, Experiment, Sequence, Genome, and Versions. The main content area features a 3D ribbon diagram of the protein structure in green and orange. To the right of the structure, the entry title is '6Y84 SARS-CoV-2 main protease with unliganded active site (2019-nCoV, coronavirus disease 2019, COVID-19)'. Below the title, there is a classification as 'VIRAL PROTEIN', organism as 'Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2', and expression system as 'Escherichia coli'. The page also includes experimental data such as resolution (1.39 Å), R-value free (0.200), and R-value work (0.178). A 'wwPDB Validation' section shows percentile ranks for various metrics: Rfree (0.172), Clashescore (3), Ramachandran outliers (0.3%), Sidechain outliers (0.4%), and RSRZ outliers (4.6%).

Рис. 2.2 PDB-запис 6Y84: Структура головної протеази SARS-CoV-2

Дослідження методом молекулярного докінгу проводилися за допомогою комплексного підходу, використовуючи чотири різні програми: SwissDock, PatchDock, SeamDock та Hdock.

### 2.2.1 Використання SwissDock для молекулярного докінгу

Сервер SwissDock, доступний за адресою <http://www.swissdock.ch/docking> [25], виявився ключовим інструментом в арсеналі. Використовуючи алгоритм EADock простору дігедральних кутів [26], оснований на силовому полі CHARMM, SwissDock сприяв складному розумінню молекулярних взаємодій. Як показано на Рисунку 2.3, SwissDock

продемонстрував свою досконалість, вправно створивши значний набір з 256 моделей. Зокрема, ці моделі були ретельно організовані у кластери, стратегічний прийом, який залежав від сайту зв'язування ліганду. Ця організаційна стратегія довела важливу роль у навігації в широкому просторі взаємодій, що дозволило ідентифікувати та описати найбільш енергетично вигідні комплекси.

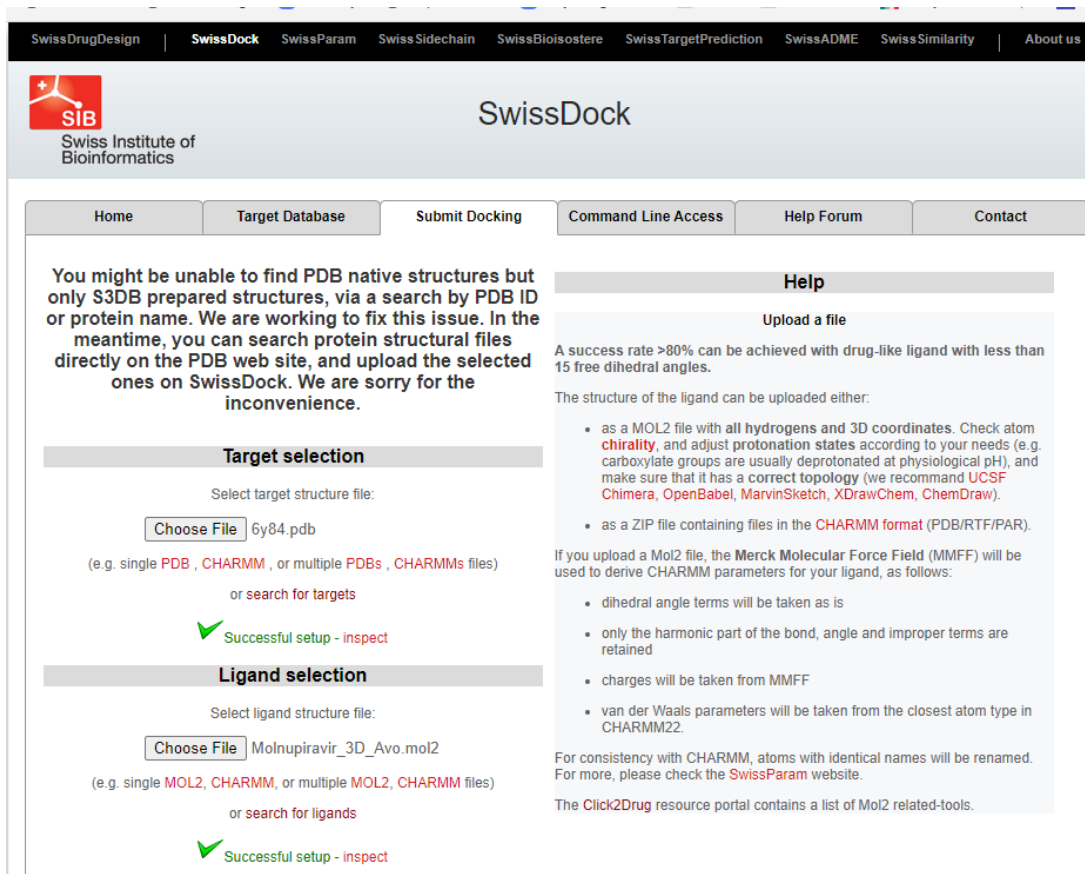
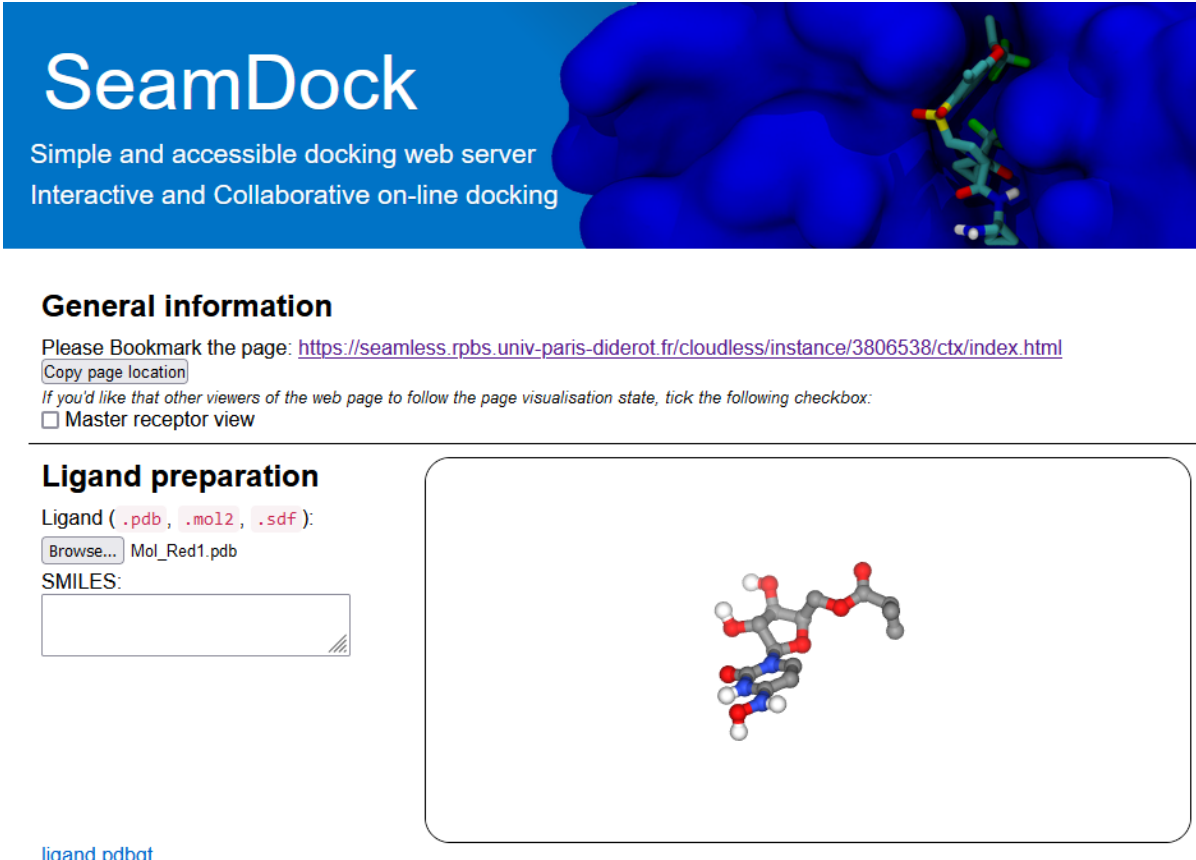


Рис 2.3 Завантаження структур макромолекули та ліганду в SwissDock.

### 2.2.2 Використання SeamDock для молекулярного докінгу

Продовжуючи дослідження методом молекулярного докінгу, програма SeamDock відіграла ключову роль у складному процесі. Як показано на Рисунку 2.4, SeamDock [28], доступний за адресою <https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/SeamDock/>, як важлива складова комплексного підходу, вніс унікальні можливості у дослідження взаємодій ліганду та макромолекули.

Стратегічне використання SwissDock поклало міцну основу для наступних етапів молекулярного докінгу. Цей багатогранний підхід, що поєднує передові обчислювальні інструменти, свідчить про зобов'язання до комплексного та систематичного дослідження взаємодій між лігандом та макромолекулою.



**SeamDock**  
Simple and accessible docking web server  
Interactive and Collaborative on-line docking

**General information**  
Please Bookmark the page: <https://seamless.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cloudless/instance/3806538/ctx/index.html>  
[Copy page location](#)  
If you'd like that other viewers of the web page to follow the page visualisation state, tick the following checkbox:  
 Master receptor view

**Ligand preparation**  
Ligand ( [.pdb](#) , [.mol2](#) , [.sdf](#) ):  
[Browse...](#) Mol\_Red1.pdb  
SMILES:

[ligand pdbaf](#)

Рис 2.4 Завантаження структур макромолекули та ліганду в SeamDock.

Значущість SeamDock полягає в його спеціалізованому алгоритмі та функціональності, які безперешкодно інтегруються в широкий контекст дослідження. Ця програма, хоча й відрізняється від SwissDock, PatchDock та Hdock, додає додатковий рівень складності до дослідження. Витончені алгоритми та методології SeamDock виявилися важливими для підвищення точності та достовірності докінгових симуляцій.

Використання SeamDock поряд із іншими програмами ілюструє цілісну стратегію, обрану в рамках цього дослідження. Застосування різноманітного набору інструментів, кожен з власними унікальними перевагами, спрямоване

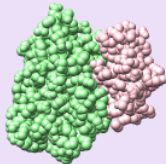
на отримання деталізованого розуміння зв'язування лігандів у витканому ландшафті вивчених макромолекулярних структур. Цей комплексний підхід підкреслює зобов'язання до ретельного та систематичного дослідження в пошуках значущих наукових відкриттів.

### *2.2.3 Використання HDock для молекулярного докінгу*

У широкому вивченні взаємодій ліганд-макромолекула дослідження методом молекулярного докінгу було додатково збагачене за рахунок включення HDock [29,30,31,32,33]. Як показано на Рисунку 2.5, HDock, доступний за адресою <http://hdock.phys.hust.edu.cn/>, унікальна програма серед інструментів, використовуваних у цьому дослідженні, привнесла свої спеціалізовані можливості на передній план, сприяючи глибині та складності дослідження.

Використання HDock, розташованого в широкому контексті дослідження, є невід'ємною частиною комплексної стратегії, обраної в рамках цього наукового проекту. Основна мета сервера HDock полягає у прогнозуванні конфігурацій зв'язування між різними біомолекулами, такими як білки та нуклеїнові кислоти, використовуючи гібридний докінговий підхід. Його унікальний внесок у дослідження полягає у здатності надавати деталізоване розуміння складних взаємодій зв'язування між лігандами та макромолекулами.

Як показано в комплексному підході, обраному у цьому дослідженні, HDock, разом з іншими програмами, становить важливу складову обчислювального набору інструментів. Цей різноманітний набір інструментів, кожен зі своїми унікальними перевагами, стратегічно використовується для розгадування складнощів зв'язування лігандів у динамічних макромолекулярних структурах, які перевіряються. Цей всеохоплюючий підхід підкреслює прагнення до ретельного та систематичного дослідження, спрямованого на отримання значущої наукової ідеї зі складного світу молекулярних взаємодій



## HDOCK SERVER

Protein-protein and protein-DNA/RNA docking based on a hybrid algorithm of template-based modeling and *ab initio* free docking.

[\[Huang Lab\]](#) [\[HDOCK\]](#) [\[Help\]](#) [\[Output example\]](#)

---

**Input Receptor Molecule** using **ONE** of the following four options: [\[help\]](#)

- Upload your **pdb** file in **PDB format**:  6y84.pdb [\[example\]](#)
- OR** provide your **pdb** file in PDB ID:ChainID:  (Example: 1CGI:E)
- OR** copy and paste your **sequence** below in **FASTA format** (Sample input: 1CGI:E, 1HCJ:A )

- OR** upload your **sequence** file in **FASTA format**:  No file selected. [\[example\]](#)

---

**Input Ligand Molecule** using **ONE** of the following four options: [\[help\]](#)

- Upload your **pdb** file in **PDB format**:  Mol\_Red1.pdb [\[example\]](#)
- OR** provide your **pdb** file in PDB ID:ChainID:  (Example: 1CGI:I)
- OR** copy and paste your **sequence** below in **FASTA format** (Sample input: 1CGI:I)  [\[help\]](#)

- OR** upload your **sequence** file in **FASTA format**:  No file selected. [\[example\]](#)

Рис 2.5 Завантаження структур макромолекули та ліганду у HDock.

#### 2.2.4 Використання PatchDock для молекулярного докінгу

У багатогранному світі досліджень молекулярного докінгу PatchDock виступає як ключовий учасник, що додає унікальні аспекти до вивчення взаємодій лігандів з макромолекулою. Ця високотехнологічна програма, вбудована в комплексний інструментарій, значно збагачує глибину і складність дослідження, підкреслюючи зобов'язання до ретельного та систематичного аналізу [34].

Як показано на рисунку 2.6, PatchDock, який бездоганно інтегрований в методологію дослідження, надає свої унікальні переваги загальній стратегії дослідження. Використовуючи складні алгоритми та функціонал, PatchDock спеціалізується на виявленні структурної взаємодоповнюваності взаємодій лігандів з макромолекулою. Його роль у дослідженні виходить за рамки

простого моделювання, активно беручи участь у вдосконаленні та оптимізації докінг-моделей.

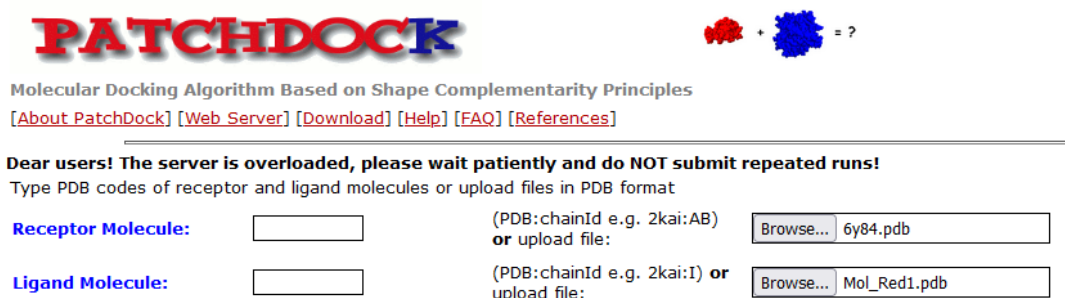


Рис 2.6 Завантаження структур макромолекули та ліганду в PatchDock.

Як показано у загальному підході, що використовується в цьому дослідженні, PatchDock гармонійно співпрацює з іншими програмами, становлячи невідємну частину обчислювального арсеналу. Цей спільний та всебічний підхід призначений для розбору складнощів, що властиві зв'язуванню лігандів, надаючи докладне розуміння динамічних взаємодій у макромолекулярних структурах. У спільному пошуку наукових висновків, конкретні внески PatchDock збагачують загальне дослідження, підвищуючи аналітичну строгість, застосовану до складного світу молекулярних взаємодій.

Візуальне представлення та аналіз зв'язаних комплексів було забезпечено використанням програми VMD та програми UCSF Chimera 1.14 [35,36]. Ці інструменти забезпечили безперешкодний та ефективний спосіб огляду моделей, що були згенеровані після докінгу, забезпечуючи комплексну оцінку отриманих молекулярних взаємодій.

Крім того, Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP) відіграв важливу роль у докладному аналізі найбільш енергетично вигідних комплексів [37]. Цей веб-інструмент, як показано на Рисунку 2.7, доступний за адресою <https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>, був використаний для розрізнення характерних типів взаємодій між препаратом та доменом зв'язування рецептора SARS-CoV-2.

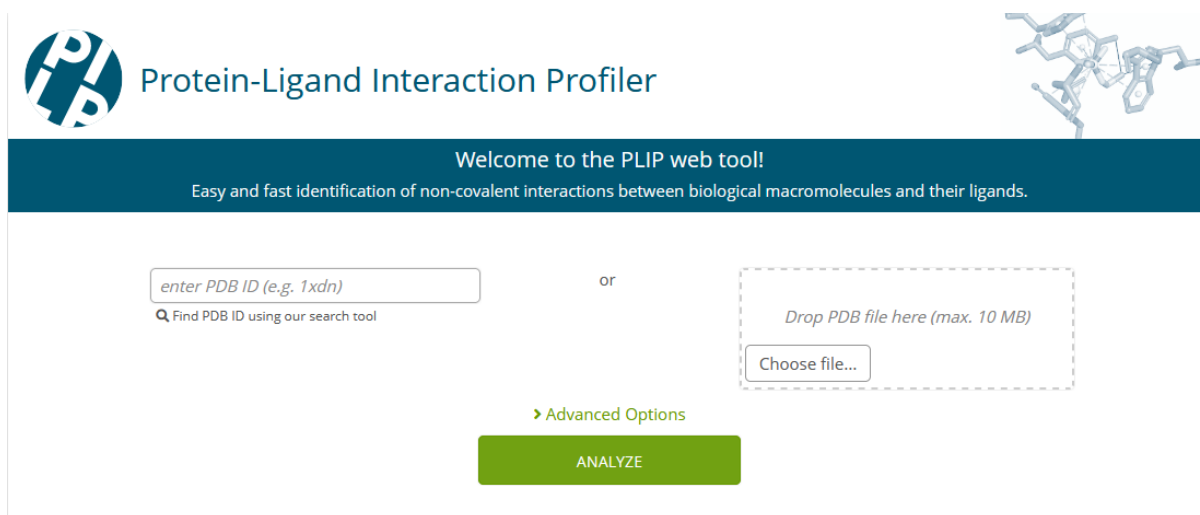


Рис 2.7 Завантаження структур макромолекули та ліганду в PLIP.

Коллективне використання цих програм та платформ підкреслює докладний та багатоплановий підхід до розкриття складнощів взаємодії препарату з рецептором у контексті SARS-CoV-2.

### 2.2.5 Використання PDB2PQR та APBS для дослідження електростатичного потенціалу поверхні білка

У вивченні найбільш енергетично вигідних комплексів, що включають молнупіравір та основну протеазу SARS-CoV-2, інструмент PDB2PQR та пов'язаний з ним інструмент APBS, доступні за адресою <https://server.poissonboltzmann.org/pdb2pqr>, використовувалися як основний ресурс [38].

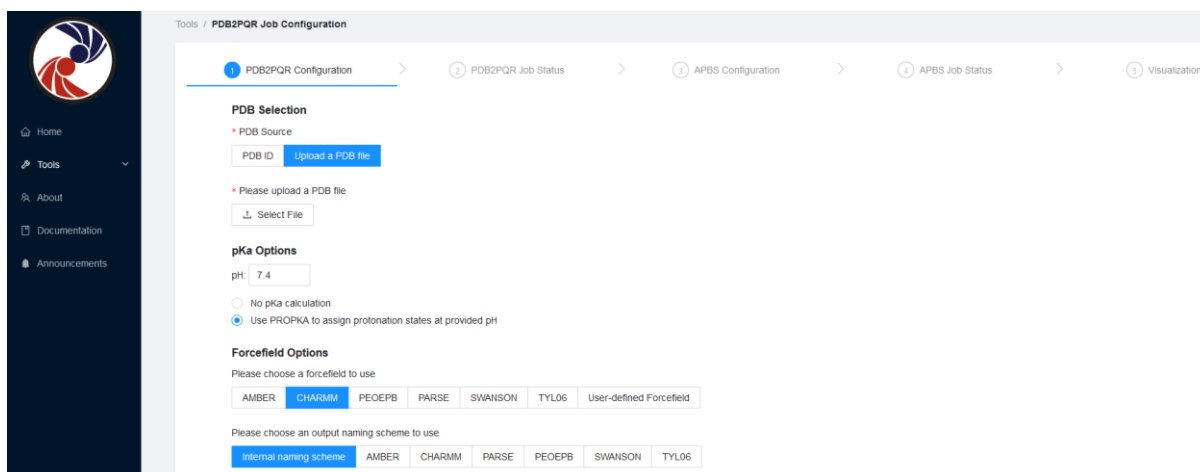


Рис 2.8 Завантаження структур макромолекули та ліганду в PDB2PQR.

Завдяки інтеграції функціональних можливостей PDB2PQR та APBS, як показано на Рис. 2.8, дослідження було спрямоване на аналіз електростатичного поверхневого потенціалу та пов'язаних з ним взаємодій у цих важливих молекулярних комплексах. Цей підхід уможливив комплексне вивчення складних взаємодій, сприяючи розумінню механізмів молекулярного зв'язування, важливих для терапевтичного дослідження.

## РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1 Дослідження взаємодії лікарського препарату з головною протеазою SARS-CoV-2 за результатами серверу Patchdock

На першому етапі роботи було проведено дослідження взаємодії молнупіравіру з SARS-CoV-2 М-рго методом молекулярного докінгу за допомогою серверу PatchDock. Рисунок 3.1 представляє сайти зв'язування ліганду для десяти найкращих комплексів молекули молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, тобто для яких спостерігалось найвище значення оцінки комплементарності поверхні (score), визначені сервером Patchdock. Ці комплекси були візуалізовані в програмі UCSF Chimera для подальшого аналізу.

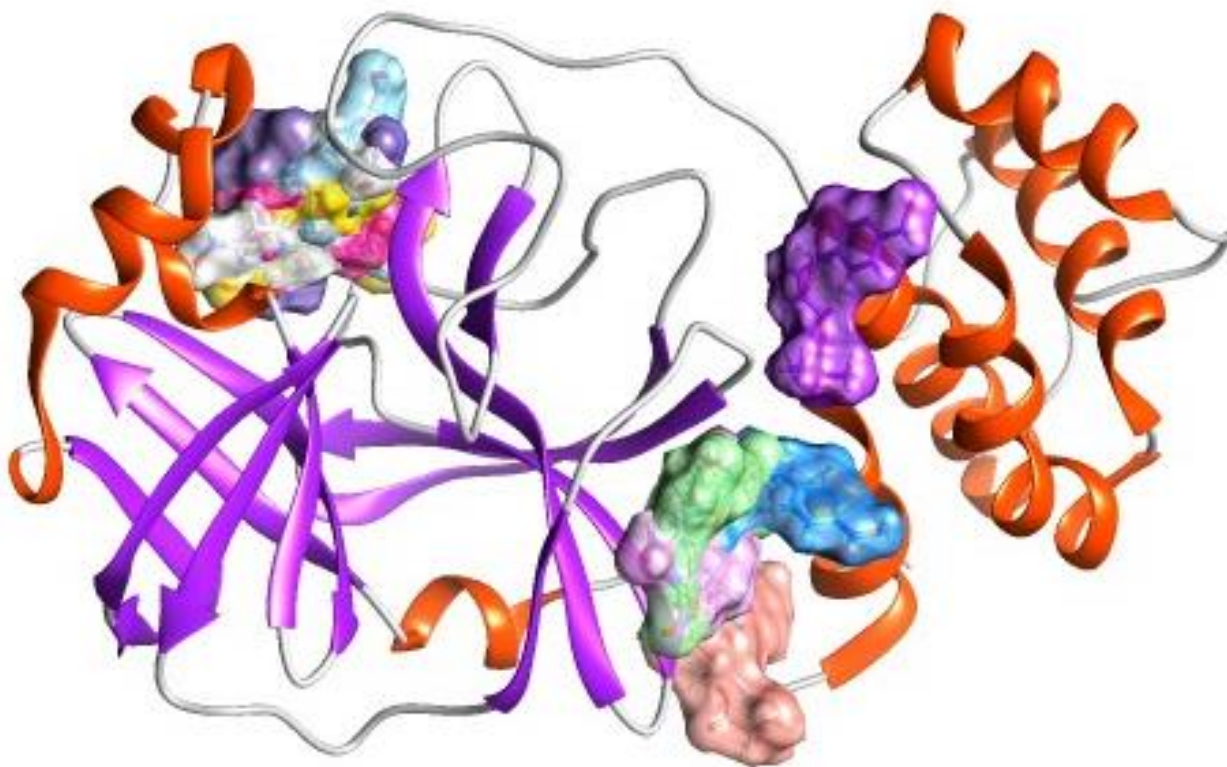


Рис. 3.1 10 комплексів молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 з найкращою оцінкою комплементарності, визначених сервером Patchdock та візуалізованих в програмі UCSF Chimera.

Таблиця 3.1

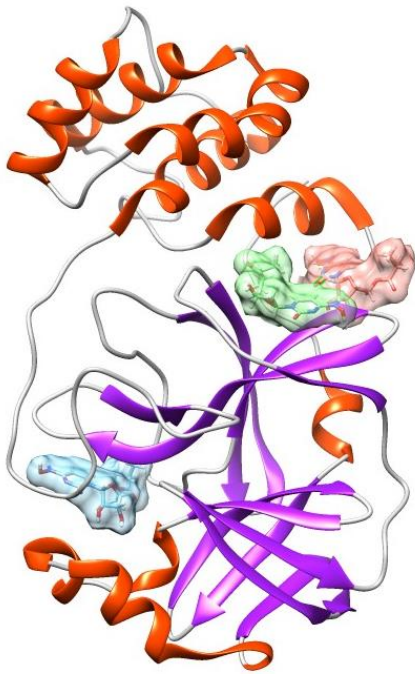
Параметри зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, отримані з використанням серверу PatchDock.

Модель	Оцінка комплементарності поверхонь (score)	Орієнтовна площа сполучення комплексу, Å <sup>2</sup>
1	4370	480.10
2	3988	429.00
3	3924	489.3
4	3870	442.10
5	3838	440.10
6	3832	451.70
7	3802	443.40
8	3792	439.10
9	3790	425.20
10	3784	449.00

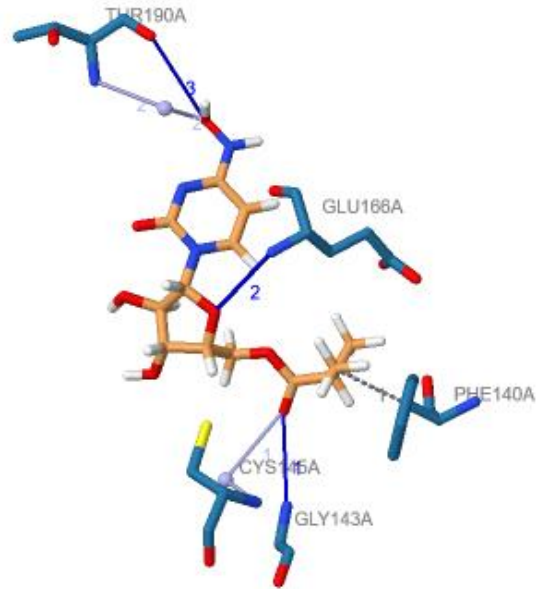
Таблиця 3.1. демонструє результати молекулярного докінгу Molnupiravir з головною протеазою SARS-CoV-2, які були отримані за допомогою сервера PatchDock. У таблиці представлені різні моделі докінгу з відповідними оцінками комплементарності поверхонь (score) та орієнтованою площею сполучення комплексу в ангстремах квадратних.

### *3.1.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найкращою геометричною комплементарністю поверхонь ліганда і білка за результатами Patchdock*

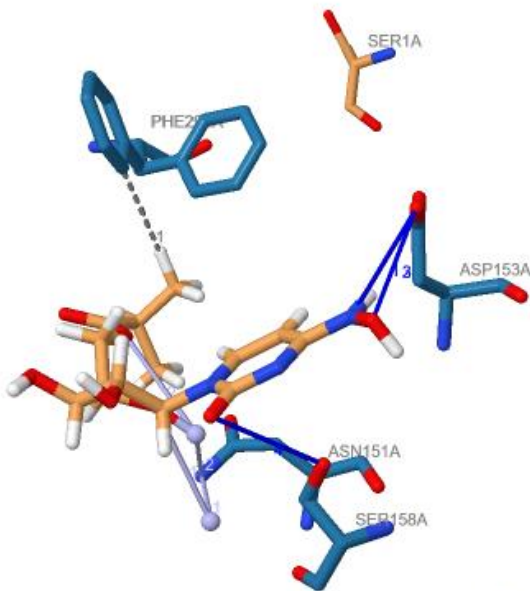
Рисунок 3.2 демонструє три моделі молнупіравіру, що мають найкращі оцінки комплементарності при зв'язуванні з головною протеазою SARS-CoV-2. Вони також візуалізовані в програмі UCSF Chimera. У частині (А) вказано кольорами: блакитним - модель з номером 1, зеленим - з номером 2, рожевим - з номером 3. Частини (Б), (В) та (Г) ілюструють взаємодію ліганда з амінокислотними залишками білка після аналізу PLIP для моделей 1, 2 та 3 відповідно.



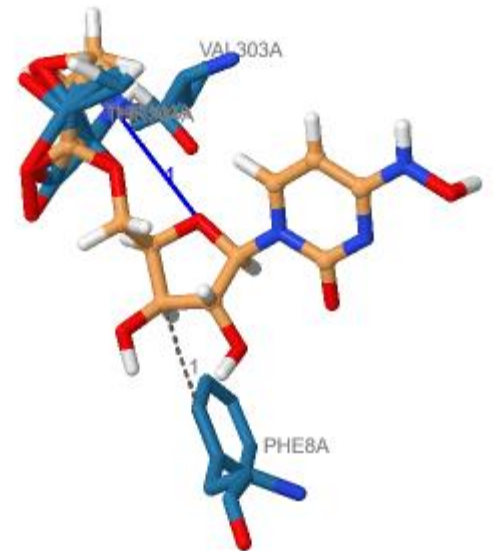
А



Б



В



Г

Рис. 3.2 3 моделі молнупіравіру з найкращою оцінкою комплементарності, зв'язаного з головною протеазою SARS-CoV-2, візуалізовані в програмі UCSF Chimera (А). Блакитним позначена модель з номером 1, зеленим – з номером 2, рожевим – з номером 3. Взаємодія ліганда з амінокислотними залишками білка після PLIP для моделей 1 (Б), 2 (В) та 3 (Г)

Таблиця 3.2

Гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм PatchDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань, Å
Модель 1, score 4370			
140	PHE	A	3.96
Модель 2, score 3988			
294	PHE	A	3.90
Модель 3, score 3924			
8	PHE	A	3.78
303	VAL	A	3.61
304	THR	A	0.72

Таблиця 3.2 відображає гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, які були виявлені за допомогою програм PatchDock та PLIP. Вона містить номери амінокислотних залишків, амінокислоти, ланцюжок, до якого вони належать, і відстані між ними в ангстремах для кожної з трьох моделей комплексу молнупіравір-протеаза SARS-CoV-2.

Таблиця 3.3

Водневі зв'язки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм PatchDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань Н-А	Відстань D-А	Кут донору	Білок донор?	Бічний ланцюг
Модель 1, score 4370							
143	GLY	A	2.82	3.46	123.21	Так	Ні
166	GLU	A	2.89	3.68	134.56	Так	Ні
190	THR	A	3.19	3.89	129.39	Ні	Ні
Модель 2, score 3988							
153	ASP	A	2.74	3.61	142.76	Ні	Так
153	ASP	A	3.17	4.05	157.41	Так	Так
153	ASP	A	3.57	4.05	113.47	Ні	Так
158	SER	A	2.97	3.68	131.21	Так	Так
Модель 3, score 3924							
304	THR	A	3.22	3.70	111.28	Так	Ні

Таблиця 3.3 представляє водневі зв'язки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм PatchDock та PLIP. Вона включає номери амінокислотних залишків, амінокислоти, ланцюжок, до якого вони належать, відстані між воднем та акцептором (H-A), відстані між донором та акцептором (D-A), кути між донором та акцептором (кут донору), наявність білка-донора та боковий ланцюг для кожної з трьох моделей комплексу молнупіравір-протеаза SARS-CoV-2.

Таблиця 3.4

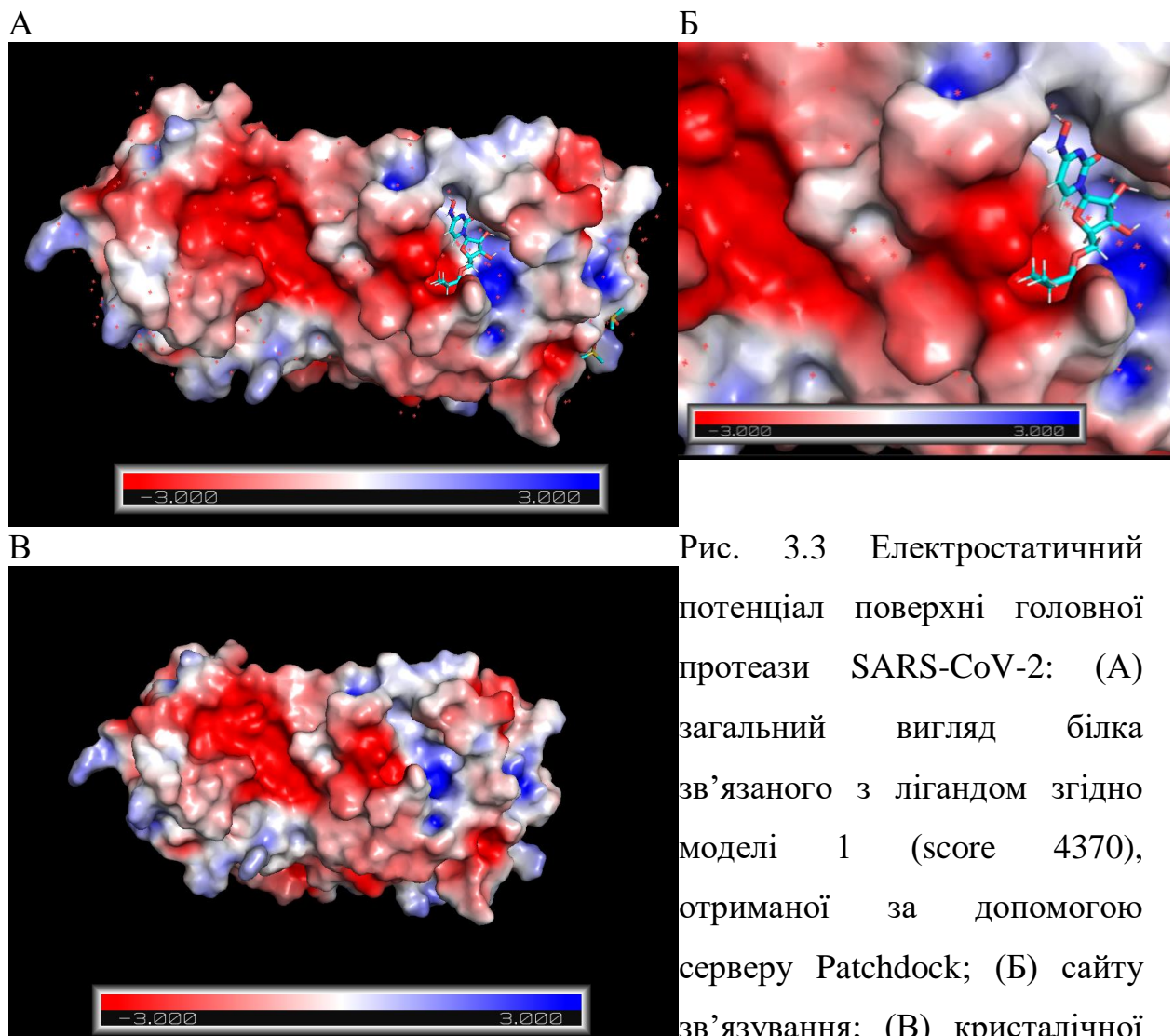
Водяні містки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм PatchDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань A-W	Відстань D-W	Кут донору	Кут молекули води	Білок донор?
Модель 1, score 4370							
145	CYS	A	3.68	3.19	157.37	71.57	Так
190	THR	A	3.15	3.33	145.77	89.46	Так
Модель 2, score 3988							
151	ASN	A	3.85	2.80	164.18	90.07	Так
151	ASN	A	3.77	3.89	111.26	87.09	Так

У таблиці 3.4 наведено водяні містки між молекулою молнупіравіру та молекулою білка, визначені за допомогою Protein-Ligand Interaction Profiler, серверу, що використовується для аналізу результатів докінгу. Водяні містки означають, що молекула води з'єднує ліганд і атоми білка через водневий зв'язок, тобто молекула води розташована між парами донорів/акцепторів водневого зв'язку ліганду та білка. Подібно до стандартних водневих зв'язків, молекула води може брати участь лише як донор у двох водневих зв'язках (два атоми водню як донори) [37]. Як можна бачити з таблиці, такий тип зв'язків виникає між молекулою ліганду та полярними, незарядженими амінокислотними залишками, такими як цистеїн, треонін та аспарагін.

### 3.1.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів найкращою оцінкою комплементарності, отриманих за допомогою Patchdock

На наступному етапі роботи було проведено дослідження розподілу електростатичного потенціалу на поверхні білка у двох випадках: 1) розподіл на поверхні кристалічної структури головної протеази SARS-CoV-2, що була отримана з бази даних PDB та не модифікувалась, 2) розподіл на поверхні білка в комплексі, отриманому з сервера для молекулярного докінгу. Це проводилось для того, щоб визначити електростатичний потенціал у сайті



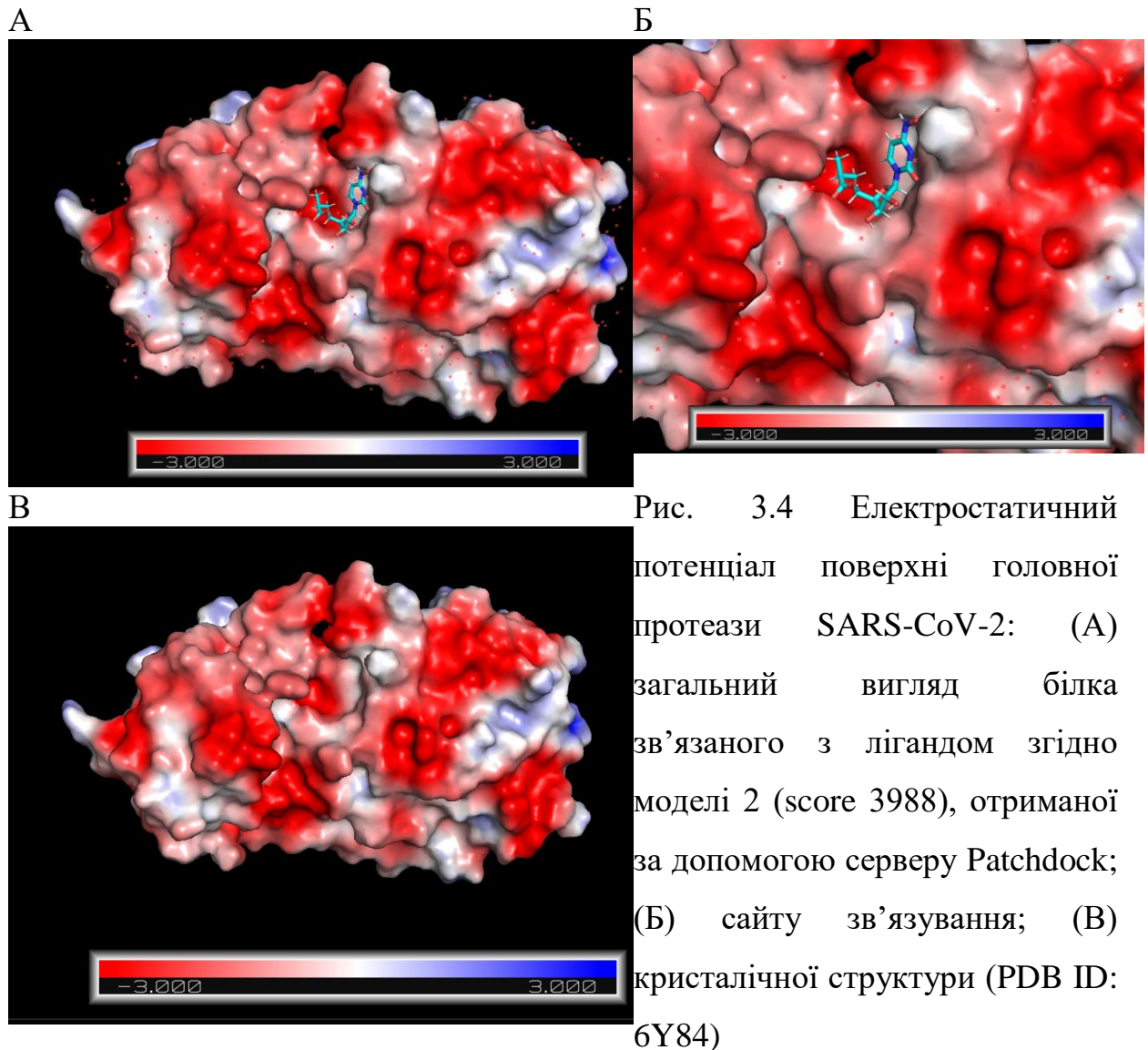
зв'язування, а також виявити можливий вплив ліганда на значення цього параметру.

Рисунок 3.3 показує електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2. У частині (А) представлено загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом згідно з моделлю 1 (з оцінкою 4370), отриманою через сервер Patchdock. Частина (Б) уявляє місце зв'язування, а (В) демонструє кристалічну структуру білка (PDB ID: 6Y84). Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування молнупіравіру для комплексу з найкращою оцінкою стикування за результатами Patchdock містить амінокислотні залишки як з негативним електростатичним потенціалом (червоні), так і з позитивним (сині) та нейтральні, однак за інтенсивністю кольору можна зробити висновок, що значення електронегативного потенціалу вище, ніж позитивного електростатичного потенціалу. Із таблиць 3.2 – 3.4 можна бачити, що даний сайт зв'язування складають ароматичні (фенілаланін 140), неполярні (гліцин 143), полярні незаряджені (треонін 190, цистеїн 145) та від'ємно заряджені (глутамінова кислота 166) амінокислотні залишки, що в цілому узгоджується із отриманим розподілом за допомогою іструментів PDB2PQR та APBS.

Порівнюючи панелі А, Б, де показаний розподіл електростатичного потенціалу білка у комплексі з лігандом, з панеллю В, тобто контролем, можна бачити, що вплив молнупіравіру на розподіл даного параметру на поверхні сайту зв'язування незначний або й відсутній зовсім.

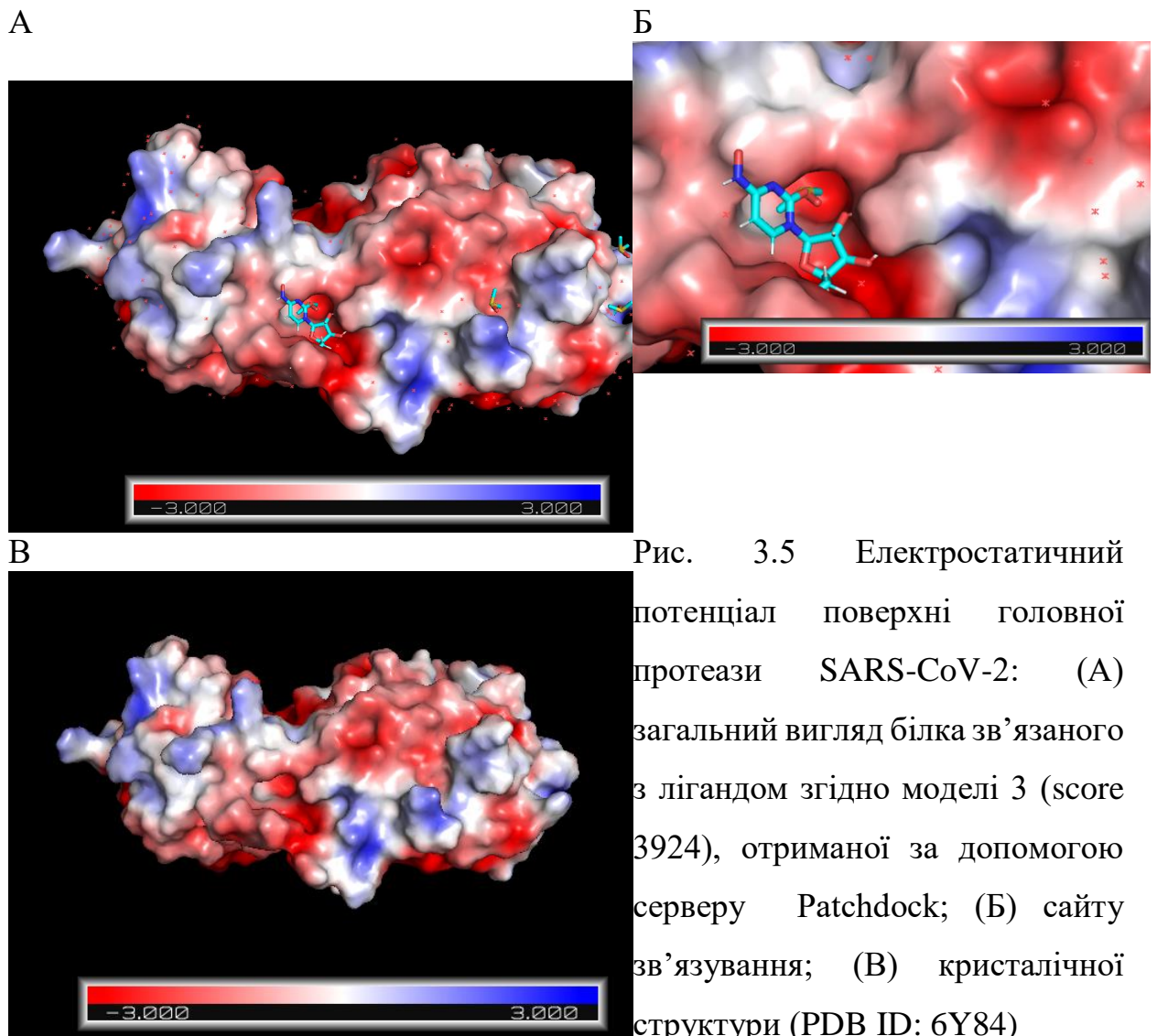
На Рисунку 3.4 відображений електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2 для моделі 2 (з оцінкою 3988), отриманої через сервер Patchdock. Частина (А) представляє загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом, (Б) демонструє сайт зв'язування, та (В) показує кристалічну структуру білка, отриману з бази даних PDB. Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування для цієї моделі вистелений переважно залишками з негативним та нейтральним значенням електростатичного потенціалу, в той час як позитивно заряджені залишки відсутні в інтерфейсі білок-ліганд. Це, в свою чергу, узгоджується із даними таблиць 3.2 – 3.4, згідно яких молнупіравір

взаємодіє із ароматичними (фенілаланін 294), полярними незарядженими (аспарагін 151, серин 158) та від'ємно зарядженими (аспарагінова кислота 153) амінокислотними залишками.



На Рисунку 3.5 представлено зображення електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 для моделі 3 (з оцінкою стикування 3924), отриманої через сервер Patchdock. Панель (А) показує загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом, (Б) відображає сайт зв'язування, та (В) показує кристалічну структуру білка, отриману з бази даних PDB. Згідно рисунку, сайт зв'язування ліганду третьої з найбільш комплементарних моделей знаходиться біля досить глибокого жолобка, вистеленого

амінокислотними залишками з негативним електростатичним потенціалом. Однак сама молекула молнупіравіру не заглибилась в нього, а взаємодіє із залишками пофарбованими в слабо-червоний колір, що узгоджується із переліком амінокислотних залишків, отриманих за допомогою серверу PLIP: Фен 8 (ароматичний залишок), Вал 303 (неполярний) та Тре 304 (полярний незаряджений амінокислотний залишок). На розподіл електростатичного потенціалу білка молнупіравір впливає незначним чином.



### 3.2 Дослідження зв'язування молнупіравіру з білком вірусу SARS-CoV-2 за допомогою серверу SeamDock

Для того, щоб більш детально дослідити молекулярні механізми зв'язування молнупіравіру з вірусним білком було проведено дослідження методом молекулярного докінгу за допомогою наступного серверу, SeamDock.

Рисунок 3.6 показує 10 комплексів молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, які проявили найкращу афінність за результатами, отриманими за допомогою серверу SeamDock. Ці комплекси були візуалізовані за допомогою програми UCSF Chimera.

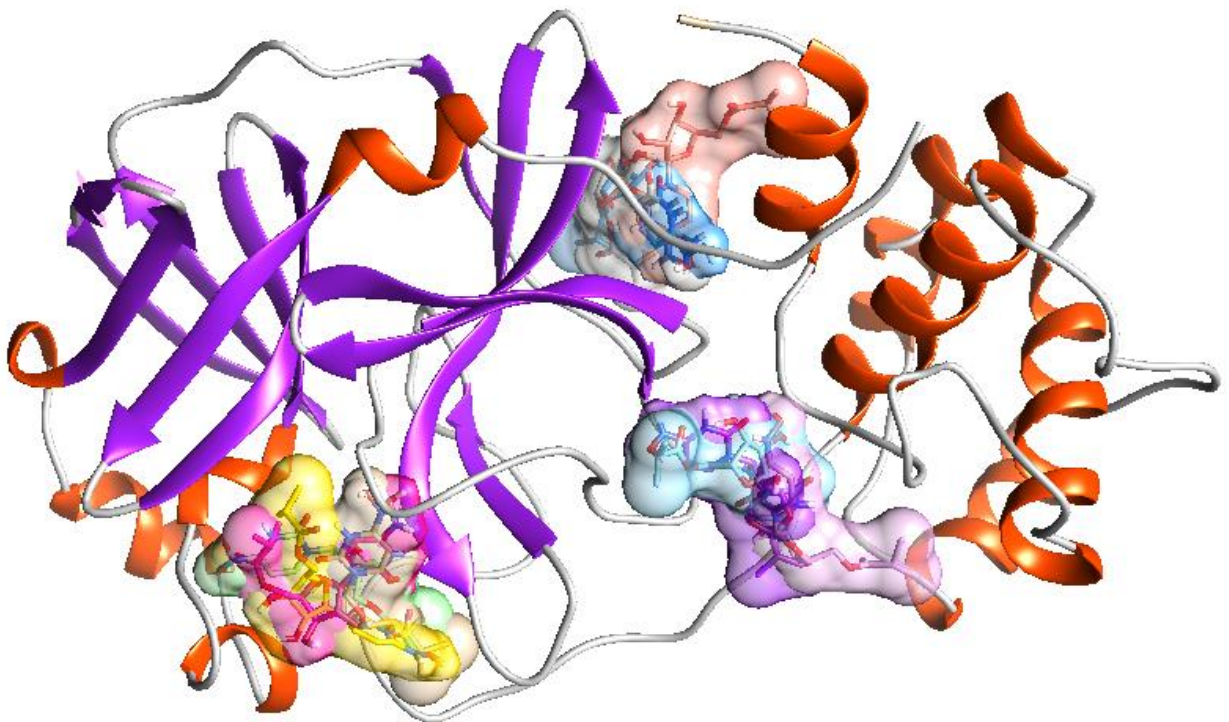


Рис. 3.6 10 комплексів молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 з найкращою афінністю, визначених сервером SeamDock та візуалізованих в програмі UCSF Chimera.

Отримані параметри зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 відображено у Таблиці 3.5. Кожна модель характеризується афінністю зв'язування, що виражена у ккал/моль. Зі сторони серверу SeamDock передбачає використання бібліотеки `docking_py` для підготовки лігандів/рецепторів і обчислення докінгу, яка дозволяє просто та уніфіковано використовувати програмне забезпечення для молекулярного докінгу таке як AutoDock 4, AutoDock Vina, Qvina і Smina [28]. Взаємодія молнупіравіру з білком на сервері SeamDock розраховувалась за допомогою програмного забезпечення AutoDock Vina.

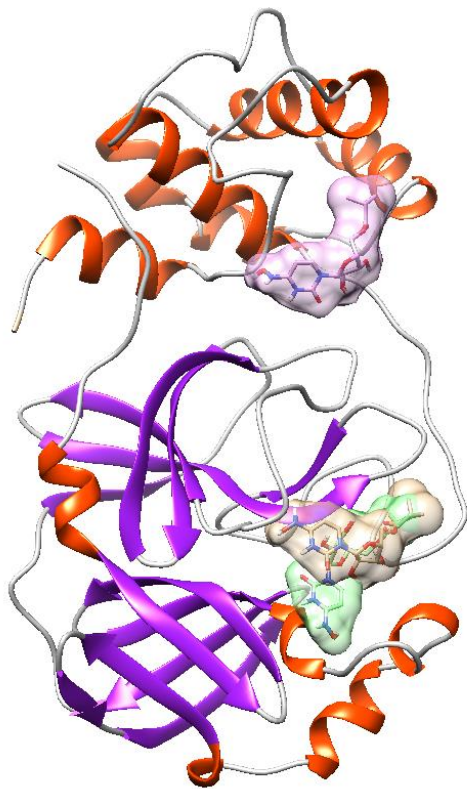
Таблиця 3.5

Параметри зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, отримані з використанням серверу SeamDock.

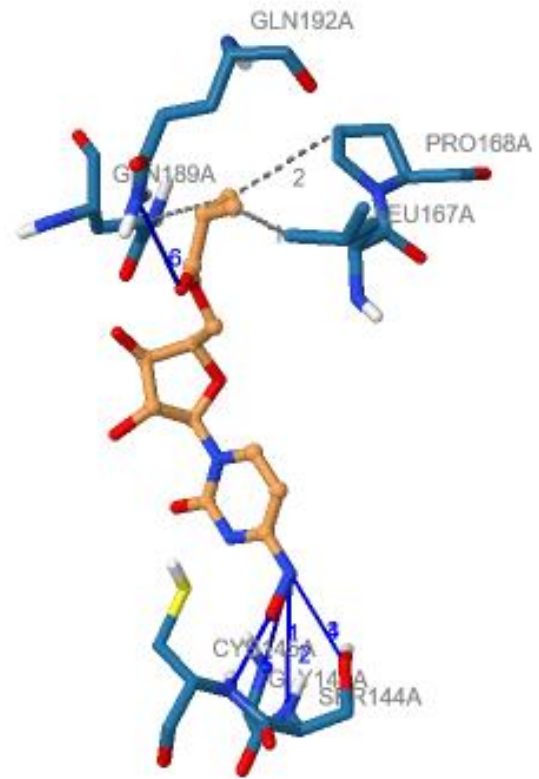
Модель	Афінність зв'язування, ккал/моль
1	-7
2	-7
3	-6.8
4	-6.6
5	-6.2
6	-6.1
7	-6.1
8	-5.9
9	-5.9
10	-5.9

### 3.2.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найменшою енергією зв'язування за результатами SeamDock

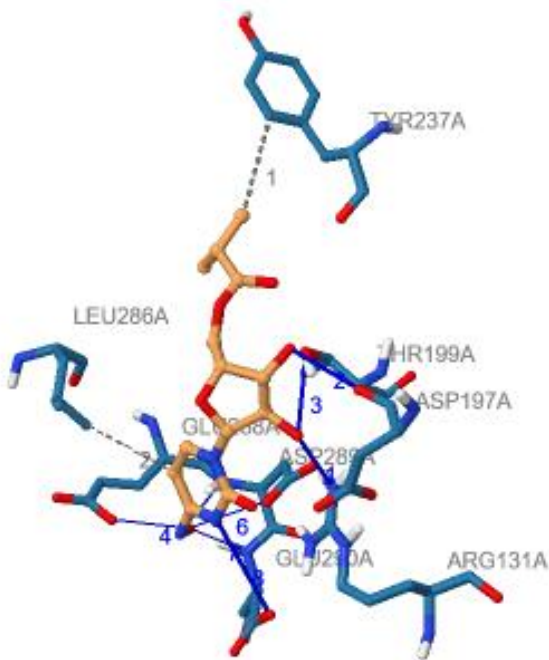
Рисунок 3.7 демонструє 3 комплекси молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, що мають найвищу афінність. На панелі (А), бежевим позначена модель з номером 1, фіолетовим – з номером 2, зеленим – з номером 3. Панелі (Б), (В) та (Г) відображають взаємодію ліганда з амінокислотними залишками білка після використання PLIP для моделей 1, 2 та 3 відповідно.



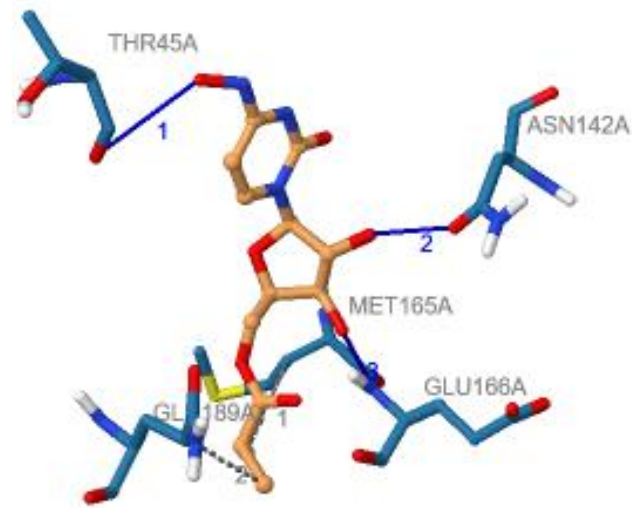
А



Б



В



Г

Рис. 3.7 3 комплексу молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 з найкращою аффіністю, візуалізовані в програмі UCSF Chimera (А). Бежевим позначена модель з номером 1, фіолетовим – з номером 2, зеленим – з номером 3. Взаємодія ліганда з амінокислотними залишками білка після PLIP для моделей 1 (Б), 2 (В) та 3 (Г)

Таблиця 3.6

Гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SeamDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань, Å
Модель 1, affinity -7 kcal/mol			
167	LEU	A	3.65
168	PRO	A	3.72
189	GLN	A	3.59
Модель 2, affinity -7 kcal/mol			
237	TYR	A	3.73
286	LEU	A	3.94
Модель 3, affinity -6.8 kcal/mol			
165	MET	A	3.85
189	GLN	A	3.70

Таблиця 3.6 відображає гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SeamDock та PLIP. Для кожної моделі вказані номер залишку, амінокислота, ланцюг та відстань в ангстремах. У першій моделі, з афінністю -7 ккал/моль, зазначені гідрофобні взаємодії для залишків 167, 168 та 189. У другій моделі, також з афінністю -7 ккал/моль, вказані взаємодії для залишків 237 та 286. У третій моделі, з афінністю -6.8 ккал/моль, вказані взаємодії для залишків 165 та 189.

Таблиця 3.7 відображає водневі зв'язки між основною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SeamDock та PLIP. Для кожної моделі зазначені номер залишку, амінокислота, ланцюг та різні параметри, такі як відстань між атомом Гідрогену та акцептором (H-A), відстань між донором та акцептором (D-A), кут донору та інші. У першій моделі з афінністю -7 ккал/моль зазначені водневі зв'язки для залишків 143, 144, 145, 192. У другій моделі також з афінністю -7 ккал/моль, вказані взаємодії молнупіравіру із залишками 131, 197, 199, 288, 289, 290. У третій моделі з афінністю -6.8 ккал/моль вказані водневі зв'язки для залишків 45, 142, 166.

Водневі зв'язки головної протеази SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SeamDock та PLIP

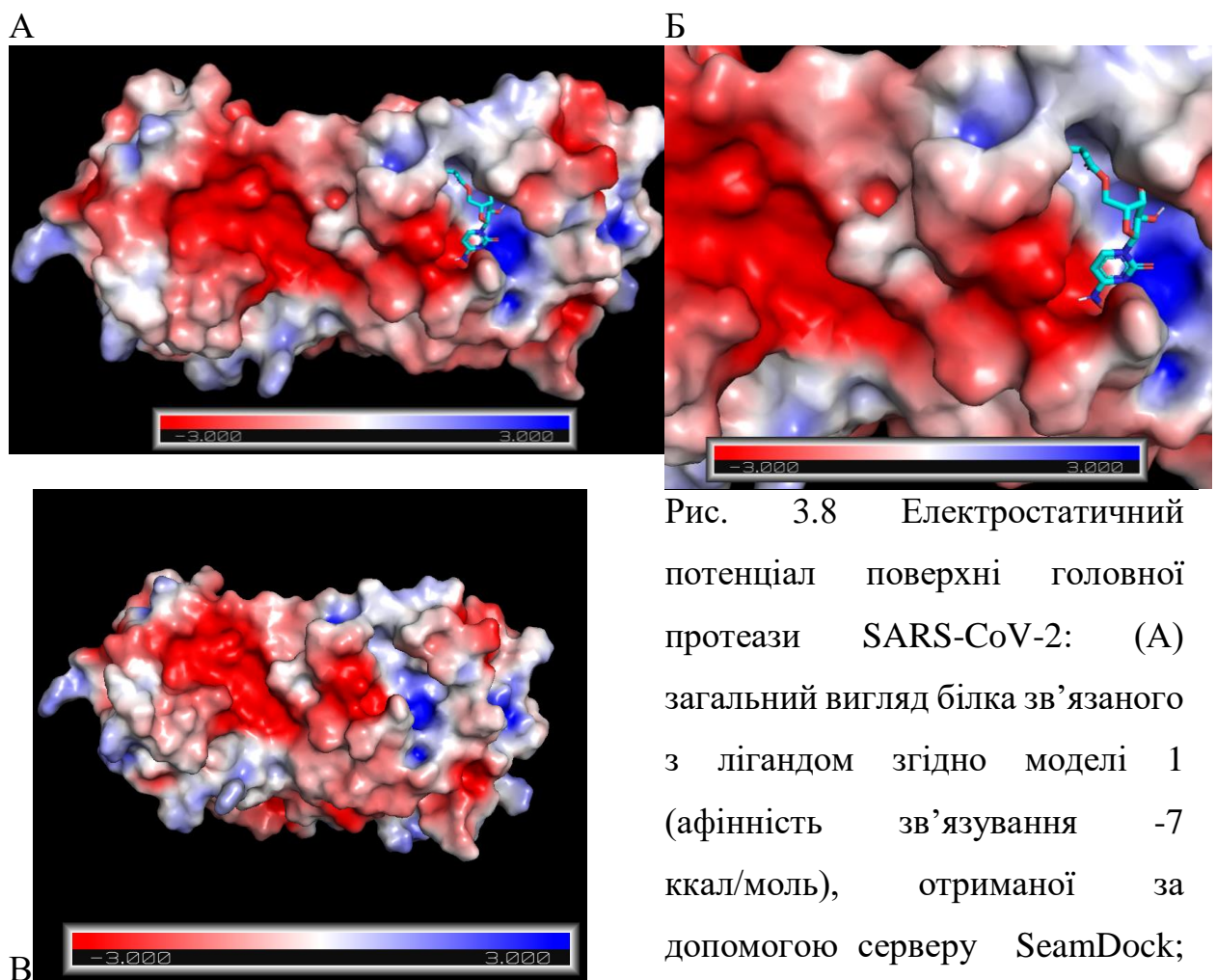
Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань Н-А	Відстань D-А	Кут донору	Білок донор?	Бічний ланцюг
Модель 1, affinity -7 kcal/mol							
143	GLY	A	3.36	4.03	123.13	Так	Ні
144	SER	A	3.28	4.06	134.20	Так	Ні
144	SER	A	2.79	3.33	114.22	Так	Так
144	SER	A	2.94	3.33	104.42	Ні	Так
145	CYS	A	2.30	3.07	130.55	Так	Ні
192	GLN	A	3.40	3.98	117.63	Так	Так
Модель 2, affinity -7 kcal/mol							
131	ARG	A	2.42	2.81	102.42	Так	Так
197	ASP	A	2.19	3.07	150.81	Ні	Ні
199	THR	A	2.90	3.85	157.55	Так	Так
288	GLU	A	2.40	3.05	126.89	Так	Так
289	ASP	A	2.98	3.98	162.57	Так	Ні
289	ASP	A	2.37	3.04	125.37	Ні	Так
290	GLU	A	2.56	3.12	114.89	Так	Ні
290	GLU	A	3.57	3.91	104.64	Так	Так
Модель 3, affinity -6.8 kcal/mol							
45	THR	A	3.04	3.78	133.43	Ні	Ні
142	ASN	A	2.97	3.55	119.62	Ні	Так
166	GLU	A	2.23	3.21	153.72	Так	Ні

3.2.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів білка з молнупіравіром з найменшою енергією зв'язування за результатами SeamDock

Так само, як і для комплексів отриманих за допомогою Patchdock у попередньому розділі, для досліджуваних моделей, отриманих за допомогою SeamDock, було визначено розподіл електростатичного потенціалу поверхні білка та проведено порівняння з розподілом даного параметру для немодифікованої кристалічної структури основної протеази SARS-CoV-2.

На Рисунку 3.8 представлено зображення електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 для моделі 1 (афінність зв'язування -7 ккал/моль), отриманої за допомогою серверу Seamdock. Панель (А) показує

загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом, (Б) відображає сайт зв'язування, та (В) показує кристалічну структуру білка, отриману з бази даних PDB. Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування молнупіравіру для моделі з найвищою афінністю містить амінокислотні залишки як з позитивним (сині) так і з негативним (червоні) електростатичним потенціалом. Нейтрально заряджені залишки (білі) також присутні. Із таблиць 3.6 – 3.7 можна бачити, що даний сайт зв'язування складають неполярні (лейцин 167, пролін 168, гліцин 143), полярні незаряджені (глутамін 189 та 192, серин 144, цистеїн 145) амінокислотні залишки.



Цікаво відмітити, що присутність молнупіравіру, здається, дещо впливає на розподіл електростатичного потенціалу, збільшуючи глибину кольору та розширюючи область синього кольору, що відповідає позитивному електростатичному потенціалу, поблизу молекули ліганду (див. Рис. 3.8 панелі А та В).

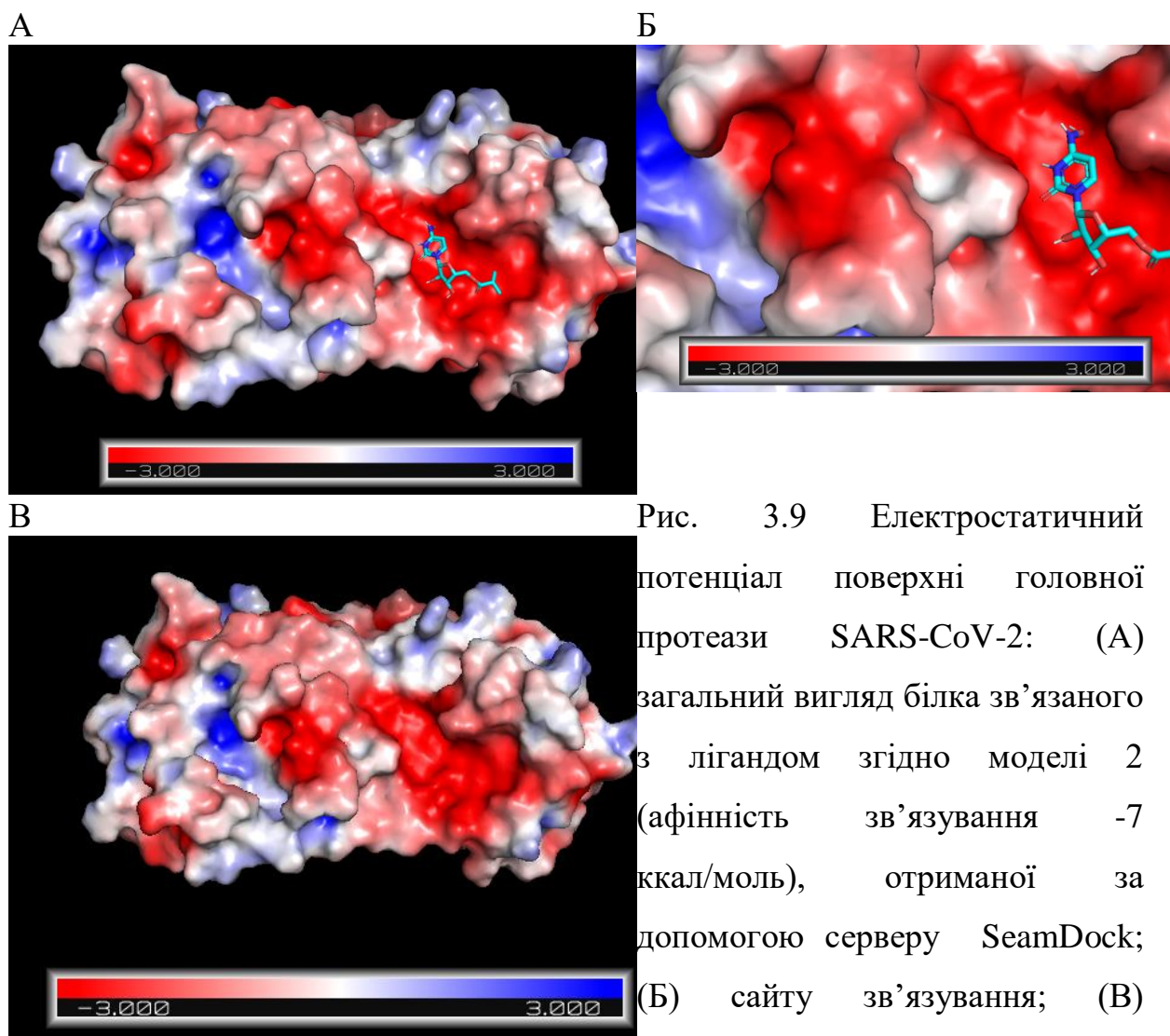


Рис. 3.9 Електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2: (А) загальний вигляд білка зв'язаного з лігандом згідно моделі 2 (афінність зв'язування -7 ккал/моль), отриманої за допомогою серверу SeamDock; (Б) сайту зв'язування; (В) кристалічної структури (PDB ID: 6Y84)

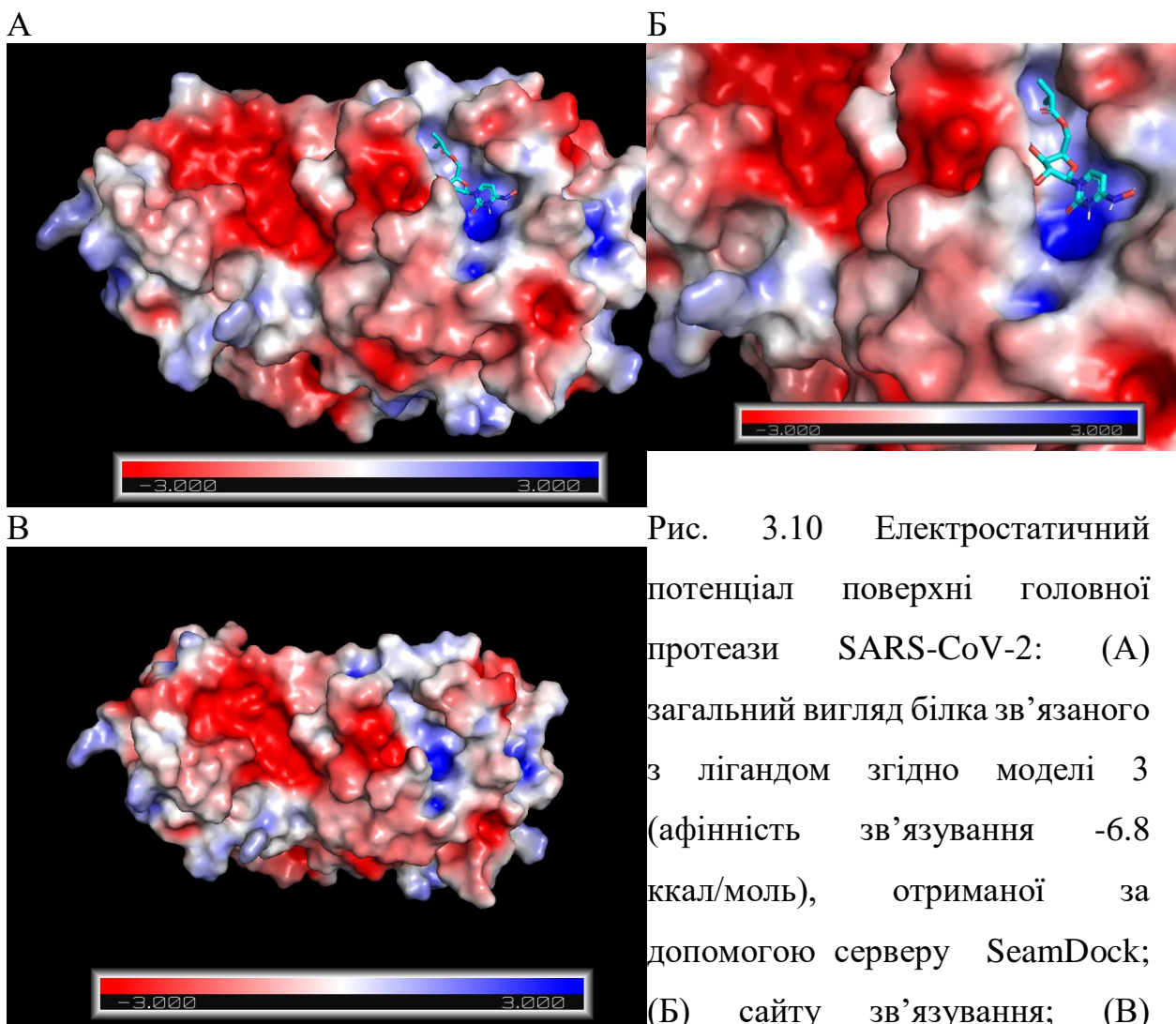
На Рисунку 3.9 представлено зображення електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 для моделі 2 (афінність зв'язування -7 ккал/моль), отриманої через сервер Seamdock. Частина (А) показує загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом, (Б) відображає сайт зв'язування, та (В)

показує розподіл потенціалу на поверхні кристалічної структури білка, отриманої з бази даних PDB. Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування для цієї моделі вистелений виключно залишками з негативним значенням електростатичного потенціалу, причому присутність ліганду, схоже не впливає на розподіл. Як можна бачити із таблиць 3.6 – 3.7, молнупіравір взаємодіє із ароматичними (тирозин 237), неполярними (лейцин 286), полярними незарядженими (треонін 199) залишками. Крім того, із позитивно зарядженим (аргінін 131) амінокислотним залишком, хоч за розподілом електростатичного потенціалу поверхні в сайті зв'язування не спостерігається відповідного синього кольору, та досить значною кількістю від'ємно заряджених (аспарагінова кислота 197 та 289, глютамінова кислота 288 та 290) амінокислотних залишків.

На Рисунку 3.10 представлено зображення електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 для моделі 3 (афінність зв'язування -6.8 ккал/моль), отриманої через сервер Seamdock. Частина (А) показує загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом, (Б) відображає сайт зв'язування, та (В) показує розподіл потенціалу на поверхні кристалічної структури білка, отриманої з бази даних PDB.

Згідно рисунку, сайт зв'язування ліганду третьої моделі з найвищою афінністю представлений амінокислотними залишками, електростатичний потенціал поверні яких має нейтральне та позитивне значення. Як можна бачити з рисунку, молекула молнупіравіру заглиблена в жолобок, який спостерігався раніше для моделі 1 (Seamdock) та моделі 1 (Patchdock), однак, на відміну від цих моделей, розташовується в жолобку під іншим кутом та взаємодіє з дещо іншими амінокислотними залишками. Згідно таблиць 3.6 та 3.7, сформованими за допомогою серверу PLIP, лікарський препарат взаємодіє із полярними незарядженими (метіонін 165, глютамін 189, треонін 45, аспарагін 142) та від'ємно зарядженим (глютамінова кислота 166) амінокислотними залишками.

Як і для моделі 1, для третьої моделі присутність молнупіравіру, здається, дещо впливає на розподіл електростатичного потенціалу, збільшуючи глибину кольору та розширюючи область синього кольору, що відповідає позитивному електростатичному потенціалу, поблизу молекули ліганду (див. Рис. 3.10 панелі А та В).



### 3.3 Дослідження зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 за допомогою серверу SwissDock

На наступному етапі було проведено дослідження зв'язування лікарського препарату з SARS-CoV-2 М-рго методом молекулярного докінгу за допомогою серверу SwissDock. Рис. 3.11 відображає всі 256 моделей зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 відповідно до програми SwissDock. Ліганди на малюнку позначені ван-дер-ваальсовими радіусами, а атоми Карбону, Гідрогену, Оксигену та Нітрогену представлені відповідно ціановим, білим, червоним та синім кольорами.

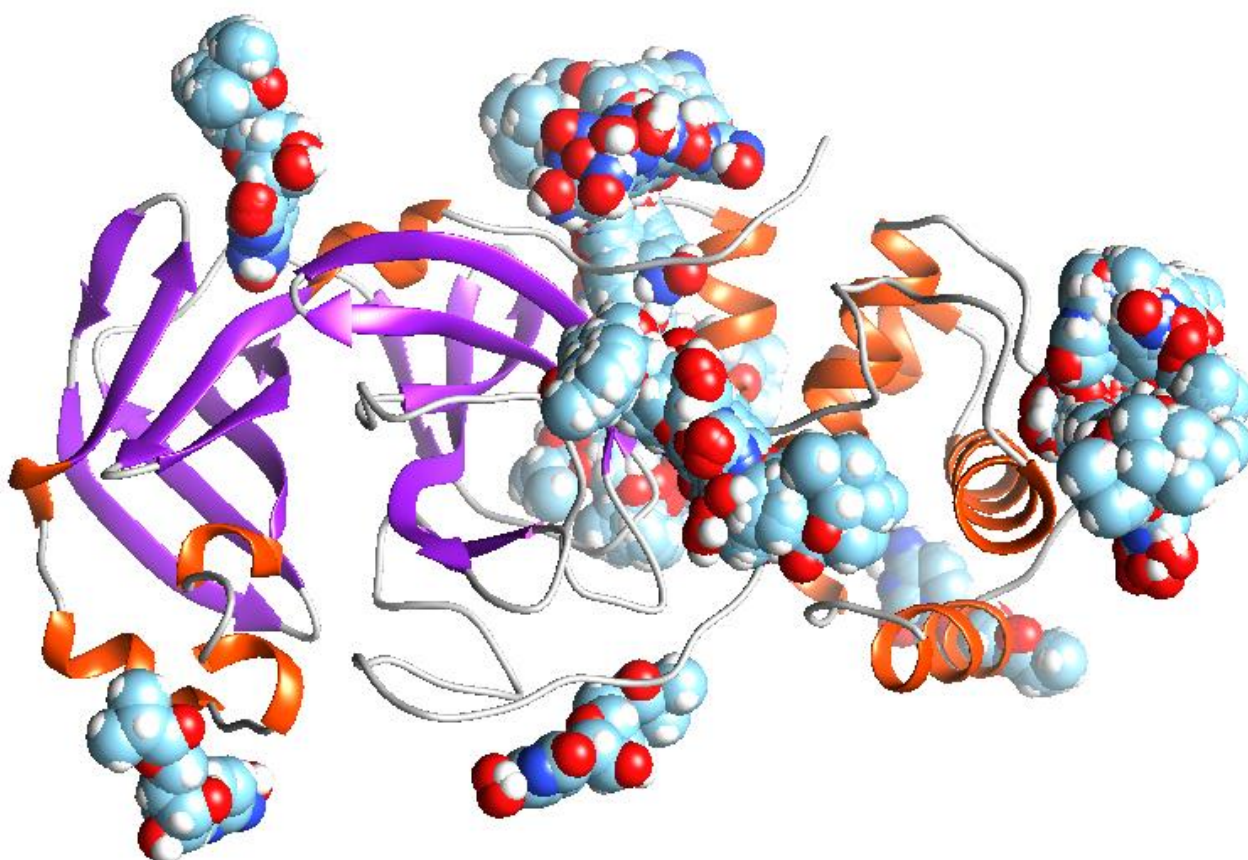


Рис. 3.11 256 моделей зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, отриманих за допомогою програми SwissDock. Ліганди позначені ван-дер-ваальсовими радіусами, ціановим, білим, червоним та синім позначені атоми Карбону, Гідрогену, Оксигену та Нітрогену, відповідно.

3.3.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найменшою енергією зв'язування за результатами SwissDock

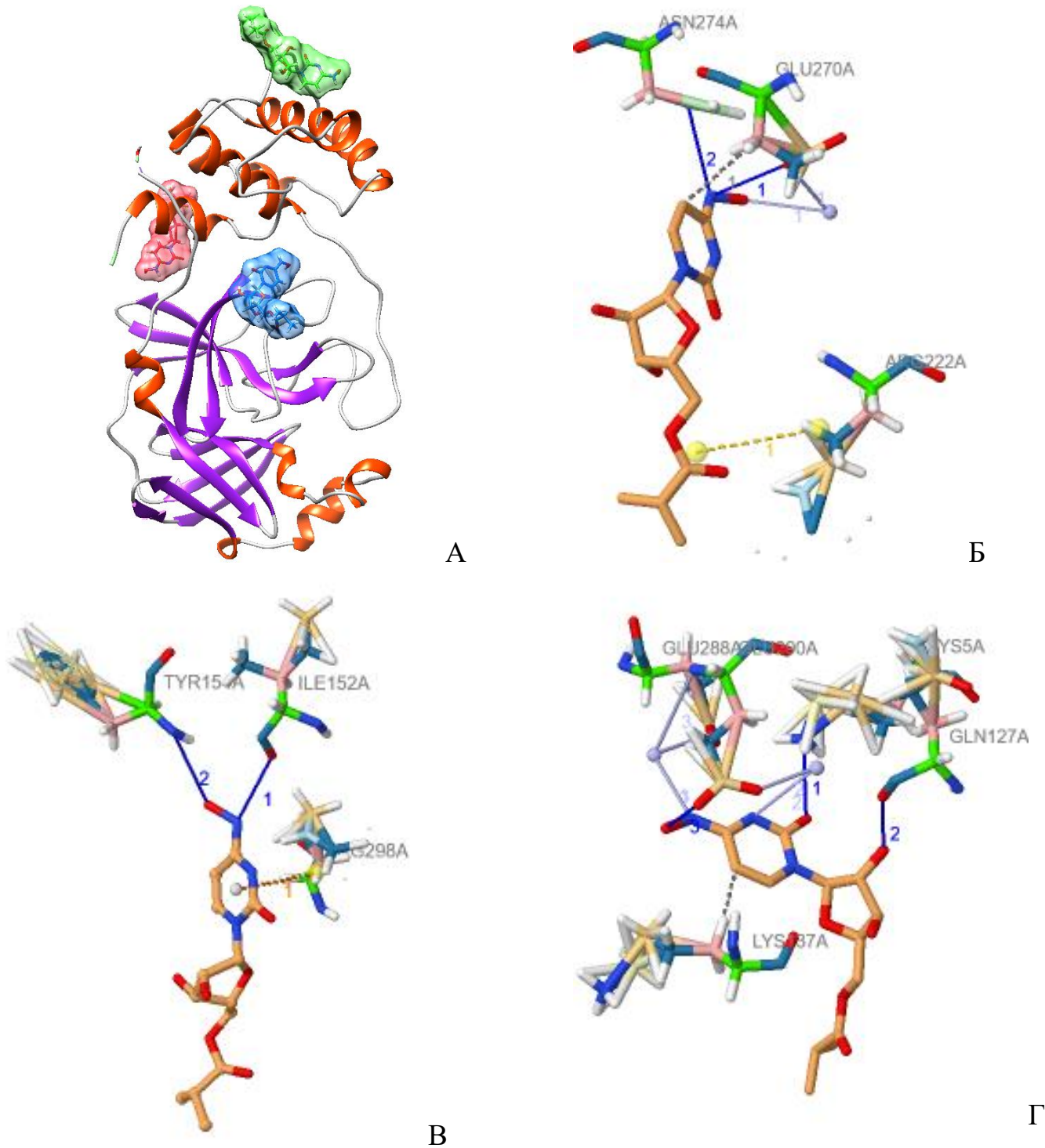


Рис. 3.12.3 моделі молнупіравіру, зв'язаного з головною протеазою SARS-CoV-2, з найменшою загальною енергією зв'язування, візуалізовані в програмі UCSF Chimera (А), після серверу SwissDock. зеленим позначена модель №1.65, червоним – №1.17, синім – №1.192. Взаємодія ліганда з амінокислотними залишками білка після PLIP для моделі з  $\Delta G = -7.29$  ккал/моль (Б),  $-7.12$  ккал/моль (В) та  $-7.01$  ккал/моль (Г)

Рисунок 3.12 демонструє три моделі зв'язування молнупіравіру з основною протеазою SARS-CoV-2, які мають найменшу загальну енергію зв'язування, і візуалізовані у програмі UCSF Chimera. На частині (А) зеленим кольором позначена модель №1.65, червоним – №1.17, синім – №1.192. Частини (Б), (В) та (Г) показують взаємодію ліганда з амінокислотними залишками білка після аналізу PLIP для моделей з  $\Delta G = -7.29$  ккал/моль,  $-7.12$  ккал/моль та  $-7.01$  ккал/моль відповідно.

Таблиця 3.8

Параметри зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, отриманих за допомогою серверу SwissDock

Номер моделі	№1.65	№1.17	№1.192
$\Delta G$ , ккал/моль	-7.293903	-7.127373	-7.0172586
$\Delta G_{elec}$ , ккал/моль	0	0	0
$\Delta G_{vdw}$ , ккал/моль	-46.381	42.8705	-43.7908
$\Delta G_{ligsolvnopol}$ , ккал/моль	8.19252	8.51065	8.46275
$\Delta G_{ligsolvpol}$ , ккал/моль	19.9746	19.4356	17.6082
$\Delta G_{protolvnopol}$ , ккал/моль	268.374	268.374	268.374
$\Delta G_{protolvpol}$ , ккал/моль	-1287.28	-1287.28	-1287.28
$\Delta G_{compsolvnopol}$ , ккал/моль	267.874	268.298	268.379
$\Delta G_{compsolvpol}$ , ккал/моль	1276.11	-1278.44	-1273.59
extraFull	0	0	0
surfFull	267.874	268.298	268.379
solvFull	1276.11	1278.44	1273.59
IntraFull	46.9363	43.5707	45.1016
InterFull	46.381	42.8705	43.7908
FullFitness	1007.68066	1009.4418	1003.90015
SimpleFitness	22.5686	22.6378	23.0314
Energy	22.5686	22.6378	23.0314

Таблиця 3.8 містить параметри зв'язування молнупіравіру з основною протеазою SARS-CoV-2, отримані через сервер SwissDock. Для трьох моделей (№1.65, №1.17, №1.192) наведено значення різних енергетичних компонентів, таких як  $\Delta G$  (загальна енергія зв'язування),  $\Delta G_{elec}$  (електростатична енергія),  $\Delta G_{vdw}$  (ван-дер-Ваальсові взаємодії),  $\Delta G_{lignonpol}$  та  $\Delta G_{ligpol}$  (неполярні та полярні розчинення ліганду),  $\Delta G_{protnonpol}$  та  $\Delta G_{protpol}$  (неполярні та полярні розчинення білка),  $\Delta G_{compnonpol}$  та  $\Delta G_{compol}$  (неполярні та полярні розчинення комплексу), extraFull, surfFull, solvFull, IntraFull, InterFull, FullFitness, SimpleFitness та Energy.

Таблиця 3.9

Гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SwissDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань, Å
Модель 1, №1.65			
270	GLU	A	3.84
Модель 3, №1.192			
137	LYS	A	3.87

Таблиця 3.9 містить інформацію про гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром. Для моделі 1 з номером 1.65 вказано відстань взаємодії між лігандом та амінокислотою 270 (GLU) ланцюга A, яка складає 3.84 Å. Для моделі 3 з номером 1.192 вказано відстань взаємодії між лігандом та амінокислотою 137 (LYS) ланцюга A, яка складає 3.87 Å.

Таблиця 3.10 містить інформацію про водневі зв'язки між основною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром. Для моделі 1 з номером 1.65 наведено відстані H-A (відстань між воднем та атомом акцептора), D-A (відстань між воднем та донором), кут донору, а також позначено, чи є білок донором у водневому зв'язку для амінокислот 270 (GLU) та 274 (ASN) ланцюга A. Для моделі 2 з номером 1.17 вказано відстані та позначення для амінокислот 152 (ILE) та 154 (TYR) ланцюга A. Для моделі 3 з номером 1.192 вказано

відстані та позначення для амінокислот 5 (LYS), 127 (GLN) та 290 (GLU) ланцюга А.

Таблиця 3.10

Водневі зв'язки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SwissDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань Н-А	Відстань D-А	Кут донору	Білок донор?	Бічний ланцюг
Модель 1, №1.65							
270	GLU	A	2.59	3.23	123.30	Так	Так
274	ASN	A	3.07	3.88	139.88	Ні	Так
Модель 2, №1.17							
152	ILE	A	2.83	3.57	133.05	Ні	Так
154	TYR	A	2.92	3.66	131.77	Так	Так
Модель 3, №1.192							
5	LYS	A	2.48	3.01	111.28	Так	Так
127	GLN	A	2.75	3.12	103.31	Ні	Так
290	GLU	A	2.46	2.86	105.01	Ні	Так

Таблиця 3.11

Водяні містки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SwissDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань А-W	Відстань D-W	Кут донору	Кут молекули води	Білок донор?
Модель 1, №1.65							
270	GLU	A	3.40	3.18	107.78	126.75	Ні
Модель 3, №1.192							
288	GLU	A	3.32	2.91	139.71	91.47	Ні
290	GLU	A	3.64	2.66	131.51	105.09	Так
290	GLU	A	2.91	4.07	107.65	73.25	Так

Таблиця 3.11 містить відомості про водяні містки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром. Для моделі 1 з номером 1.65 наведено відстані А-W (відстань між атомом ацептора та молекулою води), D-W (відстань між донором та молекулою води), кут донору, кут молекули води

та вказано, чи є білок донором у водяному мостіку для амінокислоти 270 (GLU) ланцюга А. Для моделі 3 з номером 1.192 наведено відстані та кути для амінокислот 288 та 290 (GLU) ланцюга А, визначено, чи є білок донором у водяному мостіку та відстані від атома до молекули води.

Таблиця 3.12

Сольові містки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SwissDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань, Å	Білок позитивний?	Група ліганду
Модель 1, №1.65					
222	ARG	A	4.24	Так	Карбоксилат

В таблиці 3.12 наведено інформацію про сольові містки між основною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром. Для моделі 1 з номером 1.65 вказано відстань до амінокислоти 222 (ARG) ланцюга А, чи є білок позитивним у цьому мостіку, а також зазначена група ліганду, яка утворює місток.

Таблиця 3.13

$\pi$ -Катіонні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм SwissDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань	Зсув	Білок позитивний?	Група ліганду
Модель 2, №1.17						
298	ARG	A	5.01	1.17	Так	Ароматична

Таблиця 3.13 містить дані про  $\pi$ -Катіонні взаємодії між основною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром. Для моделі 2 з номером 1.17 вказано номер залишку амінокислоти (298 - ARG) у ланцюгу А, відстань, зсув, наявність позитивного білка в цій взаємодії та групу ліганду, яка взаємодіє з білком.

3.3.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів білка з молнупіравіром з найменшою енергією зв'язування за результатами SwissDock

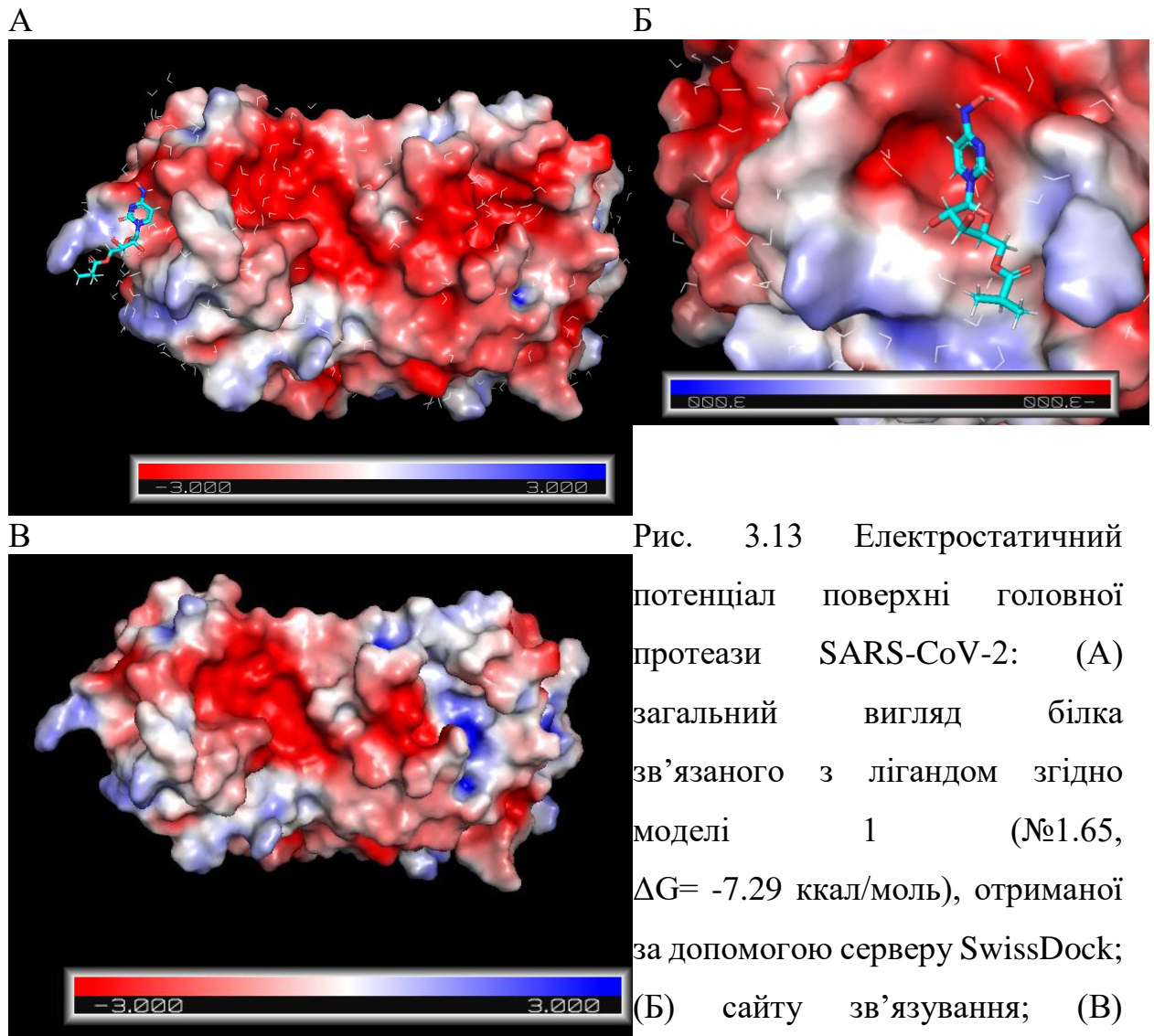


Рис. 3.13 Електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2: (А) загальний вигляд білка зв'язаного з лігандом згідно моделі 1 (№1.65,  $\Delta G = -7.29$  ккал/моль), отриманої за допомогою серверу SwissDock; (Б) сайту зв'язування; (В) кристалічної структури (PDB ID: 6Y84)

На Рисунку 3.13 подано зображення електростатичного потенціалу поверхні основної протеази SARS-CoV-2 за моделлю 1 (з номером 1.65 та  $\Delta G = -7.29$  ккал/моль), отримане через сервер SwissDock. Панель (А) відображає загальний вигляд білка, зв'язаного з лігандом, (Б) показує сайт зв'язування, а (В) виділяє кристалічну структуру білка з позначенням PDB ID:

6Y84, яка ідентифікує його в базі даних білків. Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування молнупіравіру для моделі з найменшою енергією зв'язування містить амінокислотні залишки як з негативним (червоні), так і з слабо позитивним (сині) електростатичним потенціалом. Нейтрально заряджені залишки (білі) також присутні. Із таблиць 3.9 – 3.13 можна бачити, що даний сайт зв'язування складають від'ємно заряджені (глутамінова кислота 270), позитивно заряджені (аргінін 222) та полярні незаряджені (аспарагін 274) амінокислотні залишки.

Цікаво відмітити, що присутність молнупіравіру, здається, дещо впливає на розподіл електростатичного потенціалу, збільшуючи глибину кольору та розширюючи область червоного кольору, що відповідає негативному електростатичному потенціалу, поблизу молекули ліганду (див. Рис. 3.13 панелі А та В).

На Рисунку 3.14 представлено зображення електростатичного потенціалу поверхні основної протеази SARS-CoV-2 відповідно до моделі 2 (з номером 1.17 та  $\Delta G = -7.13$  ккал/моль), отримане за допомогою серверу SwissDock. Частина (А) показує загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом, (Б) відображає сайт зв'язування, а (В) показує розподіл потенціалу на поверхні кристалічної структури білка, отриманої з бази даних PDB.

Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування для цієї моделі вистелений виключно залишками з слабконегативним значенням електростатичного потенціалу, причому присутність ліганду, схоже, не впливає на його розподіл. В таблицях 3.9 – 3.13 зазначено, що молнупіравір взаємодіє із неполярними (ізолейцин 152) ароматичними (тирозин 154) та позитивно зарядженими (аргінін 298) залишками. Варто зазначити, що розрахунок розподілу електростатичного потенціалу на поверхні білка проводився при нейтральному значенні рН (7.4) з використанням силового поля CHARMM.

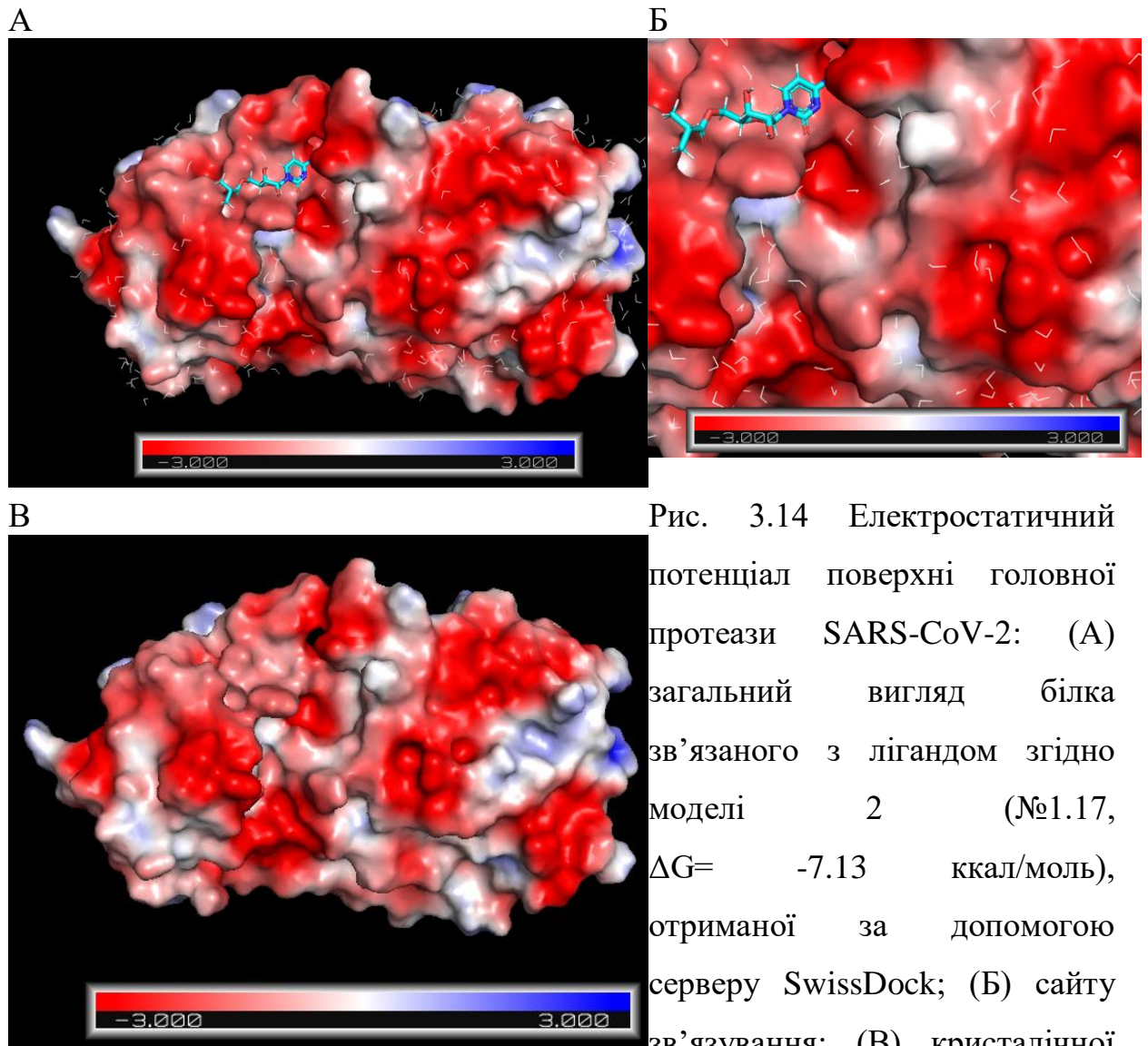
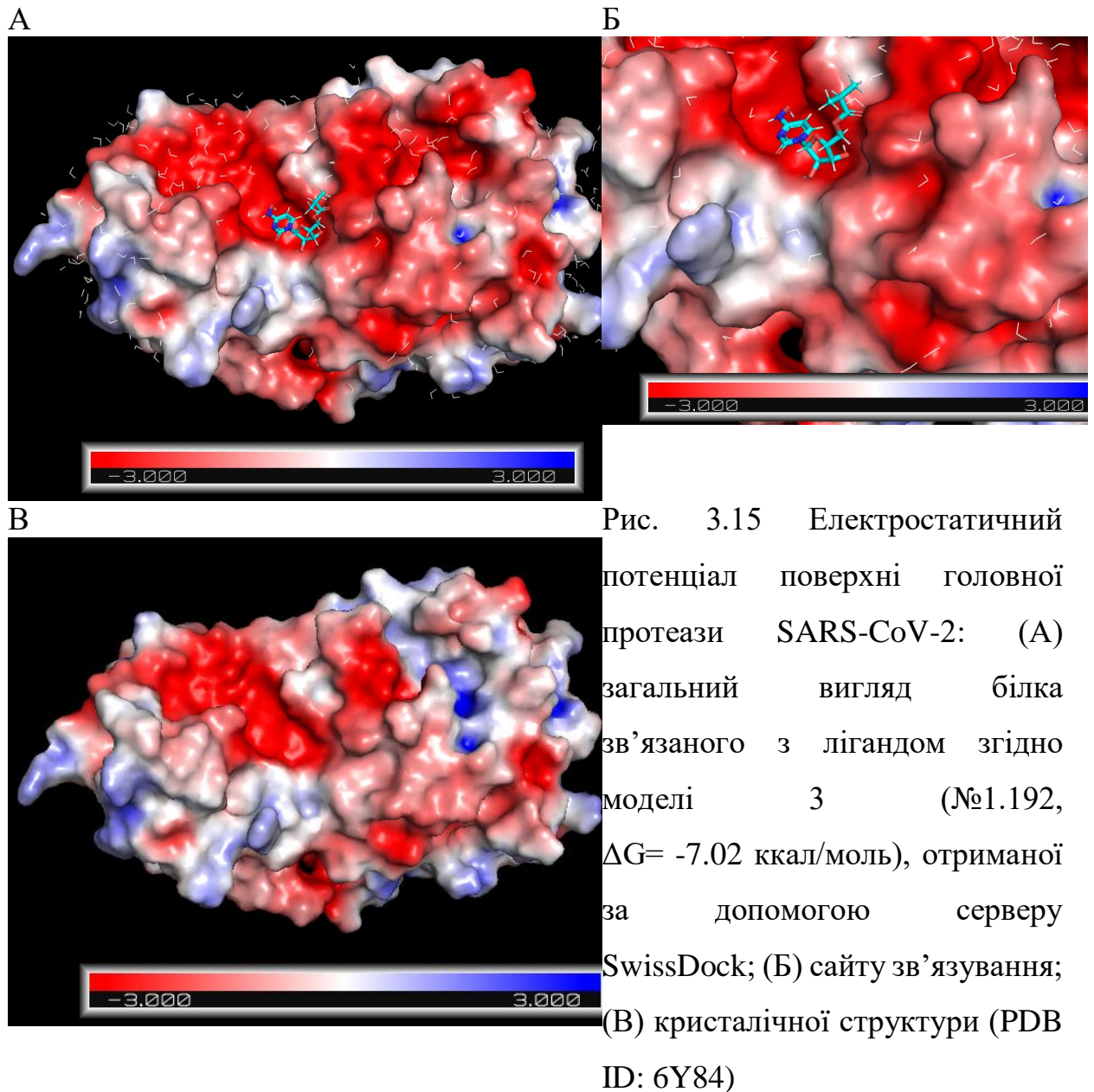


Рис. 3.14 Електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2: (А) загальний вигляд білка зв'язаного з лігандом згідно моделі 2 (№1.17,  $\Delta G = -7.13$  ккал/моль), отриманої за допомогою серверу SwissDock; (Б) сайту зв'язування; (В) кристалічної структури (PDB ID: 6Y84)

На Рисунку 3.15 зображено електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2 у відповідності з моделлю 3 (з номером 1.192 та  $\Delta G = -7.02$  ккал/моль), отриманою за допомогою серверу SwissDock. Частина (А) показує загальний вигляд білка, що зв'язаний з лігандом, (Б) відображає сайт зв'язування, (В) показує розподіл потенціалу на поверхні кристалічної структури білка, отриманої з бази даних PDB.

Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування для цієї моделі утворений залишками з негативним та нейтральним значенням електростатичного потенціалу.



В таблицях 3.9 – 3.11 зазначено, що молнупіравір взаємодіє із негативно зарядженими (глутамінова кислота 127, 290, 288), полярними (глутамін 127), а також позитивно зарядженими (лізин 5 та 137) залишками.

Цікаво зазначити, що розподіл електростатичного потенціалу по поверхні комплексу дещо відрізняється від розподілу на кристалічній структурі головної протеази SARS-CoV-2, однак не в сайті зв'язування третього комплексу, а в областях віддалених від молекули молнупіравіру. Порівнюючи панелі А та В рисунка 3.15, можна бачити, що поверхня комплексу в деяких областях має більш червоне забарвлення, що відповідає

негативному потенціалу. Оскільки після проведення дослідження з використанням серверу SwissDock користувач отримує 256 моделей зв'язування, можна припустити, що в інших, менш енергетичновигідних комплексах молнупіравіру змінював розподіл потенціалу в більш негативну сторону. І, хоча ці комплекси не представлені на рисунку і не завантажувались на розрахунок в інструменти PDB2PQR та APBS, однак молекула білка після процедури докінга, що використовувалась як білок-мішень для третьої позиції молнупіравіру, «пам'ятає» про інші 255 результатів.

### 3.4 Дослідження зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2 за допомогою серверу HDock

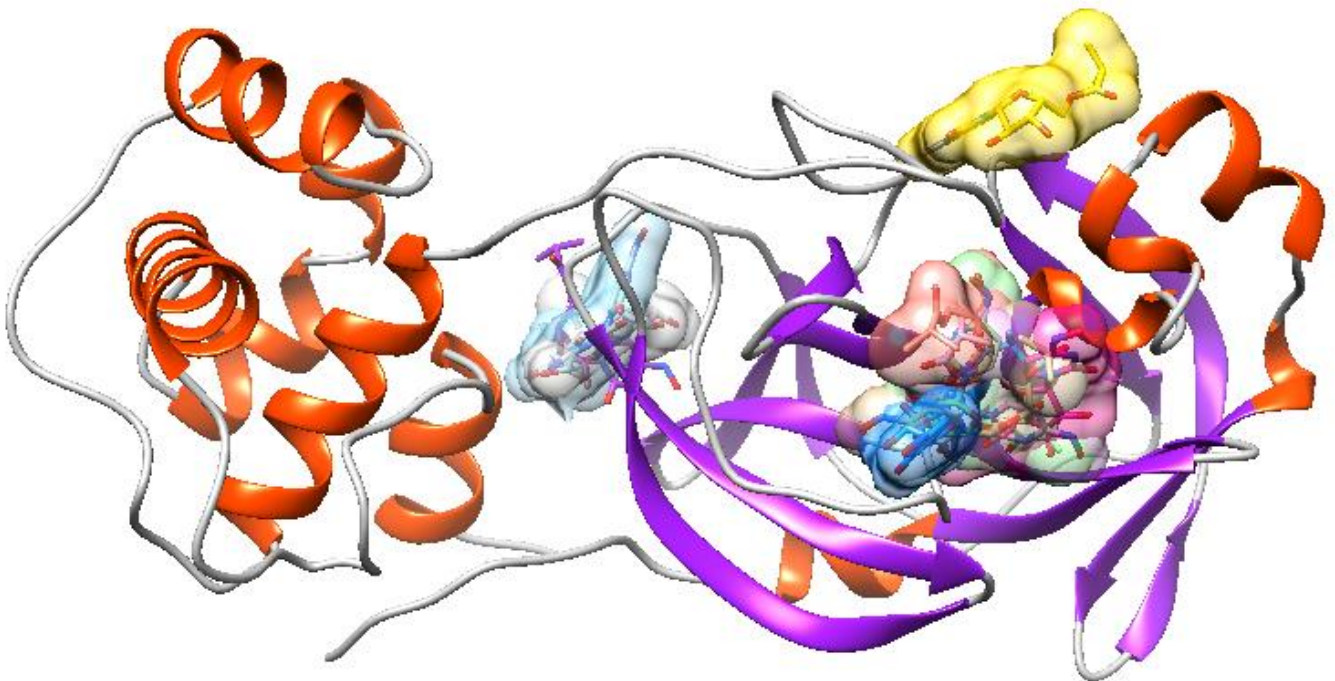


Рис. 3.16 10 моделей зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, отриманих за допомогою програми HDock та візуалізованих в програмі UCSF Chimera.

На Рисунку 3.16 представлено візуалізацію 10 моделей зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, які були отримані за допомогою програми HDock та відображені в програмі UCSF Chimera.

Таблиця 3.14

Параметри зв'язування молнупіравіру з головною протеазою SARS-CoV-2, отримані з використанням серверу HDock.

Модель	Оцінка стикування (docking score)	Оцінка впевненості (confidence score)	Середньоквадратичні відхилення ліганду, Å
1	-153.25	0.5162	19.90
2	-150.03	0.5001	19.54
3	-146.65	0.4833	19.94
4	-142.96	0.4649	20.28
5	-138.52	0.4429	16.14
6	-135.66	0.4288	21.55
7	-132.62	0.4140	28.11
8	-132.59	0.4138	19.88
9	-132.53	0.4135	15.87
10	-132.44	0.4131	15.35

Таблиця 3.14 містить параметри зв'язування молнупіравіру з основною протеазою SARS-CoV-2, отримані від серверу HDock. Вона включає оцінки стикування (docking score), оцінки впевненості (confidence score) та середньоквадратичні відхилення ліганду у десяти різних моделях зв'язування.

#### *3.4.1 Детальний аналіз трьох досліджуваних комплексів з найменшою оцінкою стикування за результатами HDock*

Із літературних даних відомо, що сполуки можуть діяти як потенційні ліки проти SARS-CoV-2, якщо ці молекули зв'язуються з активним центром основної протеази SARS-CoV-2. Цей сайт зв'язування інгібітора в протеазі SARS-CoV-2 складається із залишків HIS 41, MET 49, GLY 143, CYS 145, HIS 163, HIS 164, GLU 166, PRO 168 і GLN 189 [39]. Найважливіші каталітичні залишки головної протеази складають HIS 41 і CYS 145. Цікаво зазначити, що моделі Patchdock (модель 1 з найкращою оцінкою комплементарності поверхні) та SeamDock (модель 1 і модель 3 з високою афінністю) підтверджують потенціал молнупіравіру як інгібітора цього ферменту/протеази, що має важливе значення для блокування реплікації вірусу.

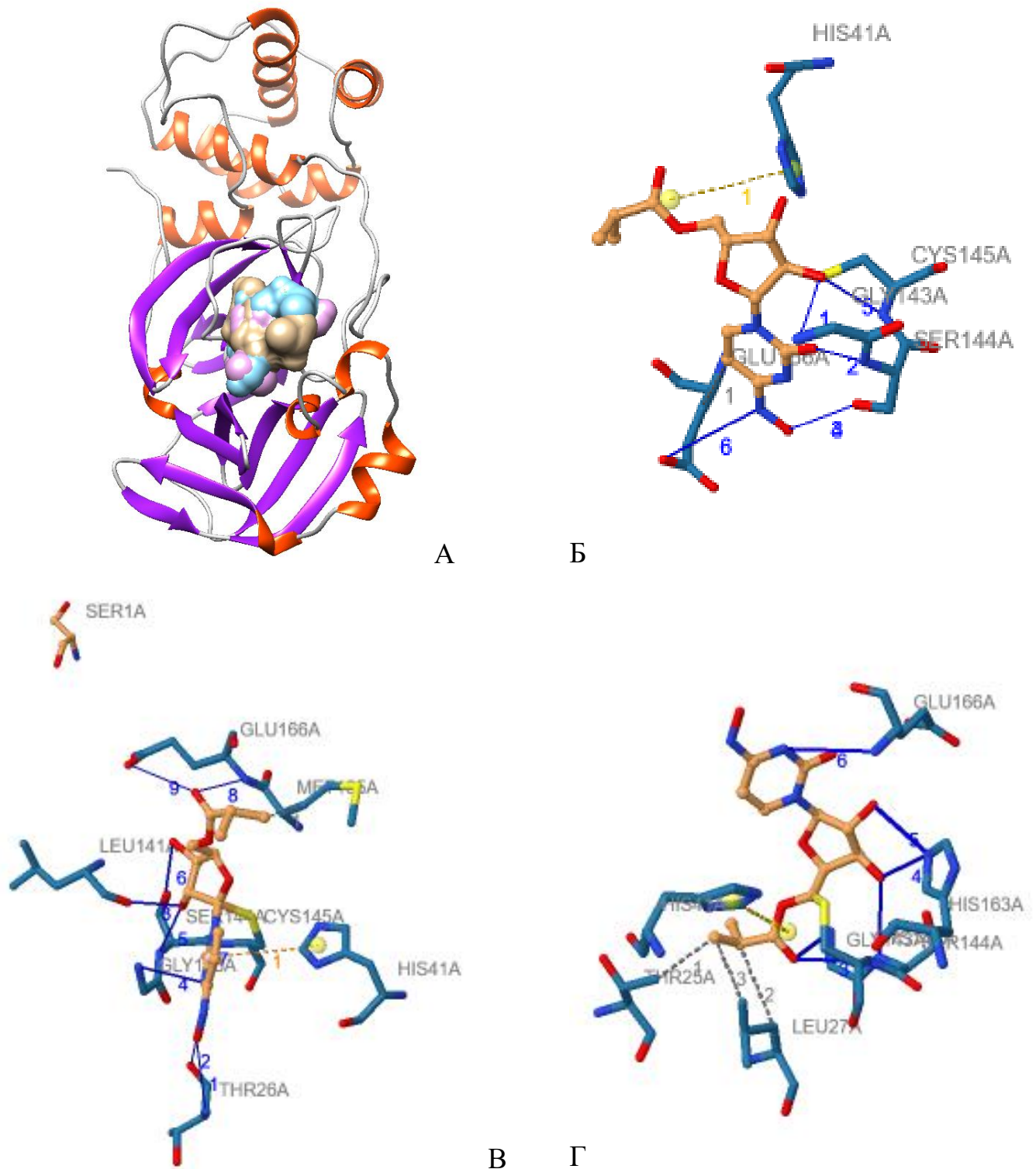


Рис. 3.17 3 моделі молнупіравіру, зв'язаного з головною протеазою SARS-CoV-2, з найменшим значенням оцінки зв'язування, візуалізовані в програмі UCSF Chimera (A), отримані за допомогою серверу HDock. Бежевим позначена модель з номером 1, блакитним – з номером 2, фіолетовим – з номером 3. Взаємодія ліганда з амінокислотними залишками білка після PLIP для моделі з оцінкою стикування -153.25 (Б), -150.03 (В) та -146.65 (Г)

Таблиця 3.15  
Гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та  
молнупіравіром, виявлені за допомогою програм HDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань, Å
Модель 1, оцінка стикування -153.25			
166	GLU	A	3.73
Модель 2, оцінка стикування -150.03			
165	MET	A	3.79
Модель 3, оцінка стикування -146.65			
25	THR	A	3.01
27	LEU	A	4.00
27	LEU	A	3.79

Таблиця 3.15 показує гідрофобні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром. У таблиці вказані номери залишків, амінокислоти та ланцюги, що брали участь у взаємодії, та відстані між ними, які були виявлені за допомогою програм HDock та PLIP. Для кожної моделі зв'язування наведені амінокислоти, які здійснювали гідрофобні взаємодії та відповідні відстані між ними.

Таблиця 3.16  
Водневі зв'язки між головною протеазою SARS-CoV-2 та  
молнупіравіром, виявлені за допомогою програм HDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань Н-А	Відстань D-А	Кут донору	Білок донор?	Бічний ланцюг
Модель 1, оцінка стикування -153.25							
143	GLY	A	2.74	3.50	134.06	Так	Ні
144	SER	A	1.98	2.60	118.99	Так	Ні
144	SER	A	3.51	4.08	119.92	Так	Так
144	SER	A	3.12	4.08	173.81	Ні	Так
145	CYS	A	1.96	2.79	140.55	Так	Ні
166	GLU	A	3.39	4.06	127.60	Ні	Так
Модель 2, оцінка стикування -150.03							
26	THR	A	2.74	3.43	127.41	Так	Ні
26	THR	A	2.36	3.03	125.18	Ні	Ні
141	LEU	A	1.73	2.61	149.49	Ні	Ні
143	GLY	A	2.77	3.54	135.67	Так	Ні

144	SER	A	2.34	2.98	121.85	Так	Ні
144	SER	A	3.13	3.94	142.86	Ні	Так
145	CYS	A	1.70	2.61	153.10	Так	Ні
166	GLU	A	2.87	3.54	125.92	Так	Ні
166	GLU	A	3.24	3.90	128.85	Так	Так
Модель 3, оцінка стикування -146.65							
143	GLY	A	2.84	3.40	116.27	Так	Ні
144	SER	A	3.24	3.85	121.36	Так	Ні
145	CYS	A	2.55	3.31	133.84	Так	Ні
163	HIS	A	2.70	3.36	126.17	Ні	Так
163	HIS	A	2.59	3.53	162.49	Ні	Так
166	GLU	A	2.79	3.77	173.41	Так	Ні

Таблиця 3.16 демонструє водневі зв'язки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром для кожної моделі зв'язування. У таблиці вказані номери залишків, амінокислоти, ланцюг, відстань між воднем та акцептором (H-A та D-A), кути донору, наявність білка-донора та бічного ланцюга для кожного виявленого водневого зв'язку, виявленого за допомогою програм HDock та PLIP для кожної моделі зв'язування.

Таблиця 3.17

Сольові містки між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм HDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань, Å	Білок позитивний?	Група ліганду
Модель 1, оцінка стикування -153.25					
41	HIS	A	4.92	Так	Карбоксилат
Модель 3, оцінка стикування -146.65					
41	HIS	A	5.11	Так	Карбоксилат

Таблиця 3.17 показує сольові містки між основною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром для кожної моделі зв'язування. У таблиці наведені номери залишків, амінокислоти, ланцюг, відстань між атомами для кожної виявленої сольової взаємодії, а також позначення, чи є білок позитивним для кожної моделі та група ліганду, зафіксована в результаті виявлення взаємодії за допомогою програми HDock та PLIP.

Таблиця 3.18

$\pi$ -Катіонні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром, виявлені за допомогою програм HDock та PLIP

Номер залишку	AA	Ланцюг	Відстань	Зсув	Білок позитивний?	Група ліганду
Модель 2, оцінка стикування -150.03						
41	HIS	A	4.81	1.58	Так	Ароматична

Таблиця 3.18 містить інформацію про  $\pi$ -катіонні взаємодії між головною протеазою SARS-CoV-2 та молнупіравіром для однієї з моделей зв'язування. У таблиці вказані номери залишків, амінокислоти, ланцюг, відстань, зсув та позначення, чи є білок позитивним, а також група ліганду, зафіксована в результаті виявлення взаємодії за допомогою програми HDock та PLIP.

### 3.4.2 Дослідження електростатичного потенціалу поверхні головної протеази SARS-CoV-2 та трьох комплексів білка з молнупіравіром з найменшим значенням оцінки стикування за результатами HDock

Рис. 3.18 показує електростатичний потенціал поверхні основної протеази SARS-CoV-2 для моделі 1, отриманої за допомогою серверу HDock. У ньому представлено загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом (панель А), відображення сайту зв'язування (панель Б) та розподіл електростатичного потенціалу поверхні кристалічної структури білка з PDB кодом: 6Y84 (панель В).

Як можна бачити з рисунку, сайт зв'язування молнупіравіру для моделі з найменшим значенням оцінки зв'язування, що відповідає найменшій енергії зв'язування, містить амінокислотні залишки як з негативним (червоні), так і з слабо позитивним (сині) електростатичним потенціалом. Нейтрально заряджені залишки (білі) також присутні. Із таблиць 3.15 – 3.18 можна бачити, що даний сайт зв'язування складають від'ємно заряджені (глутамінова кислота 166), неполярні (гліцин 143) полярні незаряджені (серин 144, цистеїн 145), позитивно заряджені (гістидин 41) амінокислотні залишки. Присутність

молнупіравіру не впливає на розподіл електростатичного потенціалу. Варто зазначити, що даний сайт зв'язування є активним центром основної протеази SARS-CoV-2, тому зв'язування молнупіравіру з такими залишками як гістидин 41, цистеїн 145, глютамінова кислота 166, гліцин 143 вказують на його інгібіторну дію та мають важливе значення для блокування реплікації вірусу.

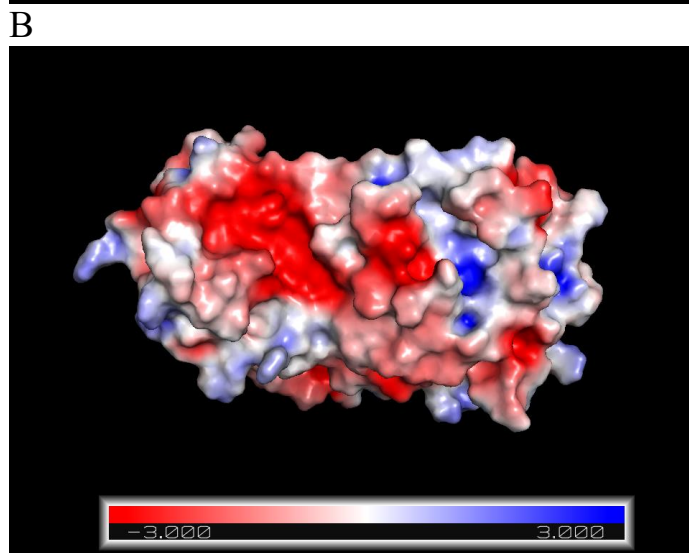
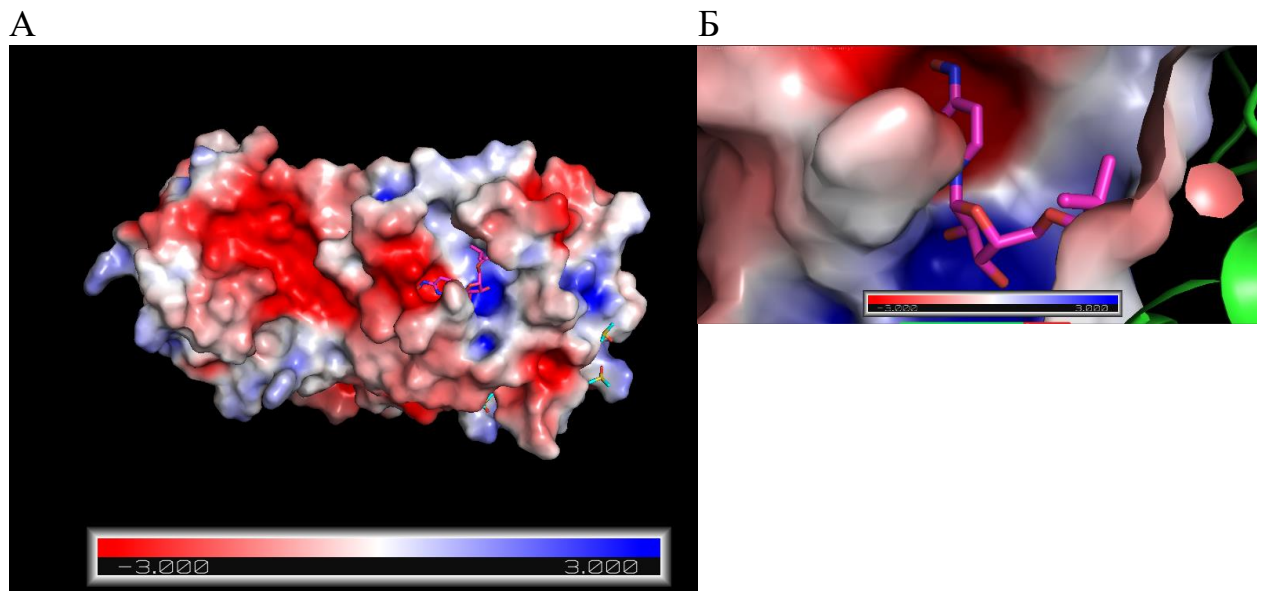
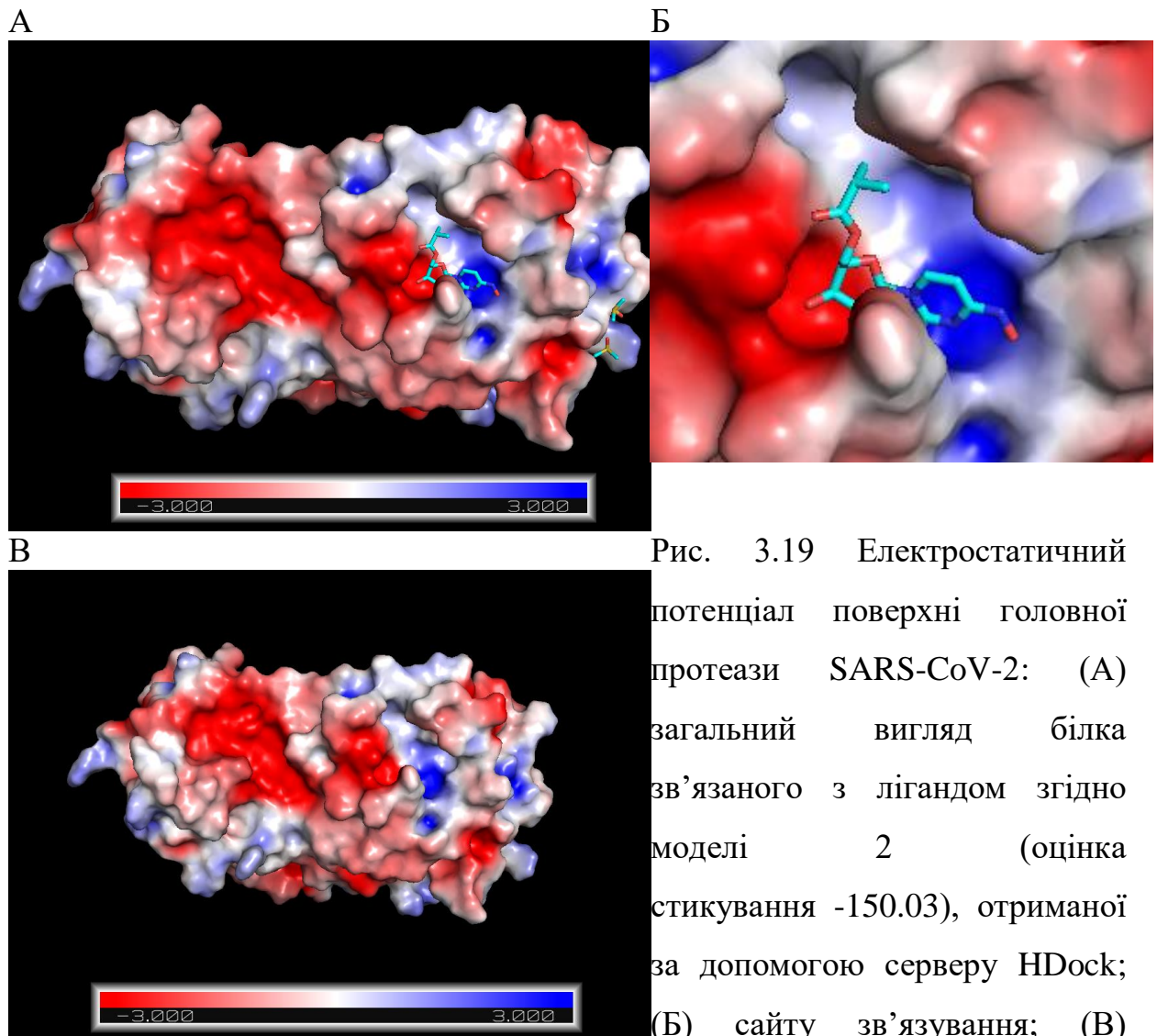


Рис. 3.18 Електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2: (А) загальний вигляд білка зв'язаного з лігандом згідно моделі 1 (оцінка стикування -153.25), отриманої за допомогою серверу HDock; (Б) сайту зв'язування; (В) кристалічної структури (PDB ID: 6Y84)

Рис. 3.19 демонструє електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2 за моделлю 2, отриманою через сервер HDock. Тут

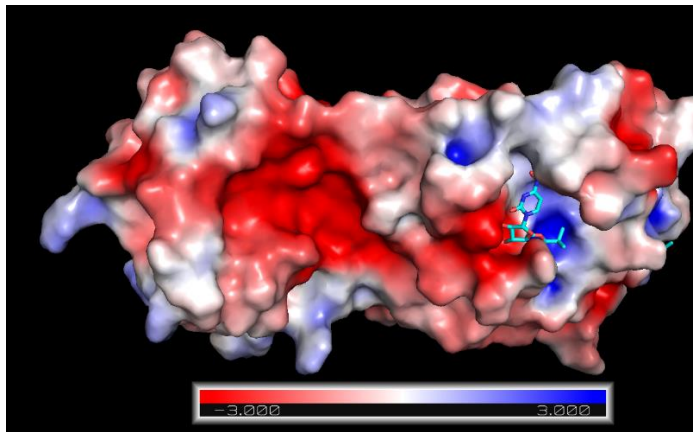
представлено загальний вигляд білка, який зв'язаний з лігандом (панель А),



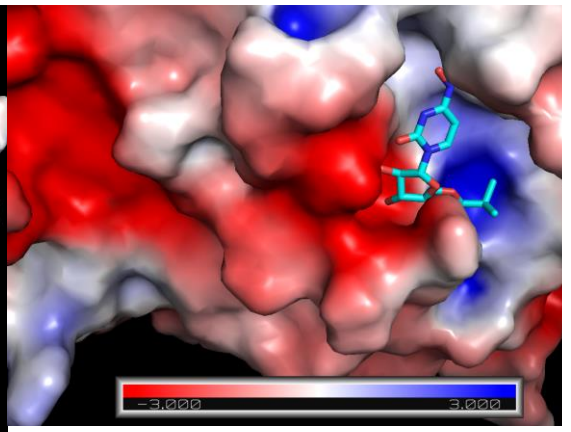
відображення сайту зв'язування (панель Б) та розподіл електростатичного потенціалу поверхні кристалічної структури білка з PDB кодом: 6Y84 (панель В). пов'язаного з лігандом (частина А), відображення сайту зв'язування (частина Б) та кристалічної структури білка з вказівкою PDB ID: 6Y84 (частина В). Як можна бачити з Рис. 3.17 А всі три моделі з найменшою енергією зв'язування знаходяться в одному сайті зв'язування основної протеази SARS-CoV-2, а саме в активному центрі білка, тому сказане для моделі 1

справджується і для моделі 2 та 3 (див. рис. 3.20). Окрім перерахованих залишків, що взаємодіють з молнупіравіром згідно моделі 1, із таблиць 3.15 – 3.18 можна бачити, що для моделі 2 додатково існують взаємодії також із полярними незарядженими (метіонін 165, треонін 26) та неполярними (лейцин 141) амінокислотними залишками, в той час як для моделі 3 – з полярними незарядженими (треонін 25) та неполярними (лейцин 27) та позитивно зарядженими (гістидин 163) амінокислотними залишками.

А



Б



В

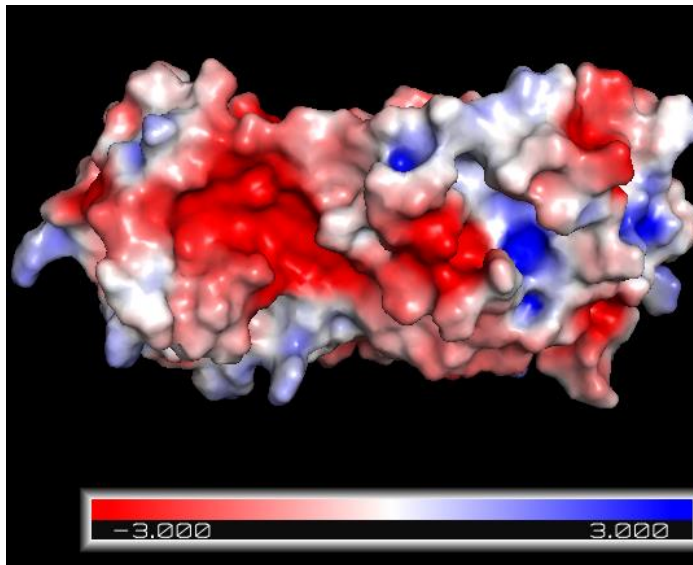


Рис. 3.20 Електростатичний потенціал поверхні головної протеази SARS-CoV-2: (А) загальний вигляд білка зв'язаного з лігандом згідно моделі 3 (оцінка стикування -146.65), отриманої за допомогою серверу HDock; (Б) сайту зв'язування; (В) кристалічної структури (PDB ID: 6Y84)

## ВИСНОВКИ

У цій роботі проводилось дослідження взаємодії молнупіравіру з основною протеазою SARS-CoV-2 за допомогою методу молекулярного докінгу з використанням низки програм, таких як Patchdock, SeamDock, SwissDock та HDock, а також досліджувався розподіл електростатичного потенціалу поверхні білка з використанням таких інструментів як PDB2PQR та APBS.

1. За результатами докінгу в Patchdock визначено, що у комплексі з найвищою оцінкою геометричної комплементарності (score 4370) молнупіравір зв'язується з активним центром головної протеази SARS-CoV-2, що містить гістидин 41 та цистеїн 145 як найважливіші каталітичні залишки та Мет 49, Глі 143, Гіс 163, Гіс 164, Глу 166, Про 168 і Глн 189. За допомогою сервісу PLIP виявлено, що комплекс стабілізується гідрофобними (фенілаланін 140) та водневими зв'язками (Глі 143, Глу 166, Тре 190), а також водяними містками (Цис 145, Тре 190).
2. Результати молекулярного докінгу в SeamDock підтверджують зв'язування досліджуваного фармакологічного агенту з активним центром білка. Встановлено, що молнупіравір (згідно з моделями 1 та 3 з найвищою афінністю -7 та -6.8 ккал/моль, відповідно) взаємодіє з такими амінокислотними залишками активного центру, як цистеїн 145 (модель 1), гліцин 143 (модель 1), глутамінова кислота 166 (модель 3), пролін 168 (модель 1), глутамін 189 (модель 1 та 3) за рахунок гідрофобних взаємодій та водневих зв'язків.
3. Дослідження взаємодії лікарського препарату з білком з використанням серверу SwissDock виявило найбільш енергетично вигідний сайт зв'язування ( $\Delta G = -7.29$  ккал/моль) поза межами активного центру SARS-CoV-2 М-рго, що стабілізувався за рахунок гідрофобних (Глу 270), водневих (Глу 270, Асн 274) взаємодій та водяних (Глу 270) і сольових містків (Арг 222).

4. Встановлено, що три найбільш енергетично вигідні комплекси (з оцінкою зв'язування від -153.25 до -146.65), отримані за допомогою серверу HDock, підтверджують розташування лікарського препарату в активному центрі білка за участі гідрофобних, водневих,  $\pi$ -катионних взаємодій та сольових містків.
5. З використанням таких інструментів як PDB2PQR та APBS виявлено, що молнупіравір не впливає на розподіл електростатичного потенціалу поверхні білка, окрім моделей 1 та 3, отриманих за допомогою серверу SeamDock, для яких присутність молнупіравіру розширювала область позитивного електростатичного потенціалу, та моделі 1, отриманої після SwissDock, для якої збільшувалась область, навпаки, негативного електростатичного потенціалу, поблизу сайту зв'язування.
6. Загалом, аналіз найбільш енергетично вигідних моделей та/або комплексів з найкращою геометричною комплементарністю показав, що всі застосовані алгоритми докінгу, крім SwissDock, підтверджують гіпотезу про те, що молнупіравір може бути інгібітором головної протеази SARS-CoV-2 та сприяти блокуванню реплікації вірусу. Отримані методом молекулярного докінгу результати створюють підґрунтя для подальших експериментів та клінічних випробувань.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

- 1- Hu Q., Xiong Y., Zhu G.-H., Zhang Y.-N., Zhang Y.-W., Huang P., Ge G.-B. The SARS-CoV-2 main protease (M<sub>pro</sub>): Structure, function, and emerging therapies for COVID-19 // *MedComm*. 2022. Vol. 3. P. e151.
- 2- Edouard Mathieu, Hannah Ritchie, Lucas Rodés-Guirao, Cameron Appel, Charlie Giattino, Joe Hasell, Bobbie Macdonald, Saloni Dattani, Diana Beltekian, Esteban Ortiz-Ospina and Max Roser - Coronavirus Pandemic (COVID-19) // *Our World in Data* 2020.
- 3- Murata, S., Nagata, T., Ogata, S., Nishimura, K., & Hagihara, A. Electoral processes and COVID-19 infections in Japan // *MedRxiv* 2021 21258864
- 4- Grubaugh ND, Hodcroft EB, Fauver JR, Phelan AL, Cevik M. Public health actions to control new SARS-CoV-2 variants. // 2021 Mar 4 Vol. 184 P.1127–1132.
- 5- Toots M, Yoon J-J, Cox RM, Hart M, Sticher ZM, Makhsous N, et al. Characterization of orally efficacious influenza drug with high resistance barrier in ferrets and human airway epithelia. // *Sci Transl Med*. 2019 Vol. 11. P.515.
- 6- Toots M, Yoon J-J, Hart M, Natchus MG, Painter GR, Plemper RK. Quantitative efficacy paradigms of the influenza clinical drug candidate EIDD-2801 in the ferret model. // *Transl Res*. 2020 Vol.218 P.16–28.
- 7- Cross R. Merck & Co. joins race for COVID-19 vaccines and therapies. // *Chemical & Engineering News*. 2020 Vol.98 P.12.
- 8- Sheahan TP, Sims AC, Zhou S, Graham RL, Pruijssers AJ, Agostini ML et al. An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 in human airway epithelial cell cultures and multiple coronaviruses in mice. // *Sci Transl Med*. 2020 Vol.12 P.eabb5883.
- 9- Hernandez-Santiago BI, Beltran T, Stuyver L, Chu CK, Schinazi RF. Metabolism of the anti-hepatitis C virus nucleoside  $\beta$ -d-N 4-hydroxycytidine in different liver cells.// *Antimicrob Agents Chemotherapy*. 2004 Vol.48 P.4636–4642.

- 10- Painter GR, Bowen RA, Bluemling GR, DeBergh J, Edpuganti V, Gruddanti PR. et al. The prophylactic and therapeutic activity of a broadly active ribonucleoside analog in a murine model of intranasal venezuelan equine encephalitis virus infection. // *Antiviral Research*. 2019 Vol.171 P.104597.
- 11- Painter WP, Holman W, Bush JA, Almazedi F, Malik H, Eraut NC. et al. Human safety, tolerability, and pharmacokinetics of molnupiravir, a novel broad-spectrum oral antiviral agent with activity against SARS-CoV-2. // *Antimicrob Agents Chemother*. 2021 Vol.65 P.10-1128.
- 12- Fischer WA, Eron JJ, Holman W, Cohen MS, Fang L, Szewczyk LJ, et al. Molnupiravir an Oral Antiviral Treatment for COVID // *medRxiv*. 2021 P.21258639.
- 13- Zarenezhad E, Behrouz S, Farjam M, Rad MS. A mini review on discovery and synthesis of remdesivir as an effective and promising drug against COVID-19. // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. // 2021 Vol.47 P.609-621.
- 14- Extance A. Covid-19: What is the evidence for the antiviral molnupiravir?. // *BMJ*, 2022, vol. 377.
- 15- Zarenezhad E., Marzi M. Review on molnupiravir as a promising oral drug for the treatment of COVID-19. // *Medicinal Chemistry Research* 2022 P. 1-12.
- 16- Singh AK, Singh A, Singh R, Misra A. Molnupiravir in COVID-19: a systematic review of literature. // *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2021 Vol. 15 No 6 P. 102329.
- 17- Khoo SH, Fitzgerald R, Fletcher T, Ewings S, Jaki T, Lyon R, et al. Optimal dose and safety of molnupiravir in patients with early SARS-CoV-2: a Phase I, open-label, dose-escalating, randomized controlled study. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2021 Vol. 76 No 12 P. 3286-3295

- 18- Grobler J, Strizki J, Murgolo N, et al. Molnupiravir maintains antiviral activity against SARS-CoV-2 variants in vitro and in early clinical studies. // Oxford University Press 2021. P. S373.
- 19- Gopalsamuthiram V, Kadam AL, Noble J, Snead D, Williams C, Jamison TF, Towards a practical, non-enzymatic process for molnupiravir from cytidine. // ChemRxiv 2021.
- 20- Tian, L., Pang, Z., Li, M., Lou, F., An, X et al. Molnupiravir and Its Antiviral Activity Against COVID-19. // Frontiers in Immunology 2022 Vol.13 P.855496.
- 21- Donovan-Banfield, I., Penrice-Randal, R., Goldswain, H. et al. Characterisation of SARS-CoV-2 genomic variation in response to molnupiravir treatment in the AGILE Phase IIa clinical trial. // Nature communications 2022 Vol. 13 No 1 P. 7284
- 22- European Medicines Agency. Lagevrio (also known as Molnupiravir, MK-4482) (COVID-19: Article 53 procedure: Assessment report. 2023).
- 23- P. Csizmadia, MarvinSketch and MarvinView: molecule applets for the WorldWide Web, Proceedings of ECSOC-3 // the third international electronic conference on synthetic organic chemistry 1999 P. 367–369.
- 24- M.D. Hanwell, D.E. Curtis, D.C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek, G.R. Hutchison, Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform // Journal of cheminformatics 2012 Vol. 4 No 1 P. 1-17.
- 25- Grosdidier A, Zoete V, Michielin O. SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock // Nucleic acids research, 2011 Vol. 39 No. 2 P. W270-W277.
- 26- Grosdidier A, Zoete V, Michielin O. Fast docking using the CHARMM force field with EADock // Journal of computational chemistry 2011 Vol. 32 No 10 P. 2149-2159.

- 27- Owen, C.D. et al. (2020). Structure of SARS-CoV-2 main protease (PDB ID: 6Y84) with unliganded active site. Protein Data Bank. DOI: 10.2210/pdb6Y84/pdb.
- 28- Murail, S., de Vries, S. J., Rey, J., Moroy, G., & Tufféry, P. (2021). SeamDock: An Interactive and Collaborative Online Docking Resource to Assist Small Compound Molecular Docking. // *Frontiers in Molecular Biosciences* 2021 Vol. 8 P. 716466
- 29- Yan Y, Tao H, He J, Huang S-Y.\* The HDOCK server for integrated protein-protein docking. // *Nature protocols* 2020 Vol. 15 No 5 P. 1829-1852.
- 30- Yan Y, Zhang D, Zhou P, Li B, Huang S-Y. HDOCK: a web server for protein-protein and protein-DNA/RNA docking based on a hybrid strategy. // *Nucleic acids research* 2017 Vol. 45 No W1 P. W365-W373.
- 31- Yan Y, Wen Z, Wang X, Huang S-Y. Addressing recent docking challenges: A hybrid strategy to integrate template-based and free protein-protein docking. // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 2017 Vol. 85 No 3 P. 497-512.
- 32- Huang S-Y, Zou X. A knowledge-based scoring function for protein-RNA interactions derived from a statistical mechanics-based iterative method. // *Nucleic acids research* 2014 Vol. 42 No 7 P. e55-e55.
- 33- Huang S-Y, Zou X. An iterative knowledge-based scoring function for protein-protein recognition. // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 2008 Vol. 72 No 2 P. 557-579.
- 34- Schneidman-Duhovny D, Inbar Y, Nussinov R, Wolfson HJ. PatchDock and SymmDock: servers for rigid and symmetric docking. // *Nucleic acids research* 2005 Vol. 33, No 2, P. W363-W367.
- 35- Humphrey, W., Dalke, A. and Schulten, K., "VMD - Visual Molecular Dynamics" // *Journal of molecular graphics* 1996 Vol. 14 No 1 P. 33-38.
- 36- Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory

- research and analysis. // *Journal of computational chemistry* 2004 Vol. 25 No 13 P. 1605-1612.
- 37- Adasme, M. F., Linnemann, K. L., Bolz, S. N., Kaiser, F., Salentin, S., Haupt, V. J., Schroeder, M. (2021). PLIP 2021: Expanding protein–ligand interaction profiler to include DNA and RNA. // *Nucleic acids research*, 2021, Vol. 49, No W1, P. W530-W534
- 38- Unni S, Huang Y, Hanson RM, Tobias M, Krishnan S, Li WW, Nielsen JE, Baker NA. Web servers and services for electrostatics calculations with APBS and PDB2PQR. // *Journal of computational chemistry* 2011 Vol. 32 No 7 P. 1488-1491
- 39- Sourav Das, Sharat Sarmah, Sona Lyndem & Atanu Singha Roy (2021) An investigation into the identification of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease using molecular docking study // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 2021 Vol. 39 No 9 P. 3347-3357.