

ISSN 1561-8331 (Print)

ISSN 2524-2342 (Online)

УДК 577.1 615.4:616-71/-78

<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-1-88-95>

Поступила в редакцию 28.11.2019

Received 28.11.2019

Е. С. Пустюльга, О. В. Грибовская, Е. М. Ермола, В. П. Голубович*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь***МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ ЛИГАНДОВ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОРБЦИИ IgG ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ**

Аннотация. Гиперпродукция иммуноглобулинов класса G (IgG) является основным патогенным фактором при аутоиммунных заболеваниях. Для устранения высокого уровня иммуноглобулинов класса G применяются специфические сорбенты. В качестве инструмента для теоретического поиска лигандов сорбентов для удаления IgG из биологических жидкостей может применяться молекулярный докинг. С помощью докинга проведено моделирование взаимодействий аминокислот с IgG. Исходя из результатов докинга, были выявлены активные аминокислоты и предложены возможные комбинации из них для создания ди- и трипептидных последовательностей. В результате расчетов было выявлено, что лучшими по энергии взаимодействия в ряду аминокислот обладают ароматические аминокислоты (Tyr, Trp, Phe), созданные на их основе ди- и трипептиды (Trp-DTyr, Phe-DTyr, Trp-Phe-DTyr, Phe-Trp-DTyr) имеют высокую энергию связывания к белкам IgG, а трипептиды (Trp-Phe-DTyr, Phe-Trp-DTyr) не только демонстрируют высокую энергию взаимодействия с общим IgG, но и могут быть разделены в своей активности относительно подклассов иммуноглобулинов класса G.

Ключевые слова: сорбция, сорбенты, иммуноглобулины, подклассы, белки, лиганды, пептиды, молекулярное моделирование, докинг

Для цитирования. Молекулярный докинг лигандов перспективных для сорбции IgG из биологических жидкостей / Е. С. Пустюльга [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2020. – Т. 56, № 1. – С. 88–95. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-1-88-95>

Egor S. Pustsyulga, Olga V. Gribovskaya, Eugeny M. Ermola, Vladimir P. Golubovich*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus***MOLECULAR DOCKING OF LIGANDS PROMISING FOR IgG SORPTION FROM BIOLOGICAL FLUIDS**

Abstract. Hyperproduction of immunoglobulin G (IgG) is a major pathogenic factor in autoimmune diseases. Specific sorbents are used to eliminate the high level of IgG. Molecular docking can be used as a tool for theoretical search for sorbent ligands for the IgG removal from biological fluids. Using docking, modeling of amino acid interactions with IgG ligands was performed. Based on the docking results, active amino acids were identified and possible combinations of them were proposed for the creation of di- and tripeptide sequences. As a result, aromatic amino acids (Tyr, Trp, Phe), di- and tripeptides based on them (Trp-DTyr, Phe-DTyr, Trp-Phe-DTyr, Phe-Trp-DTyr) were found to have high activity for IgG proteins, and three peptides (Trp-Phe-DTyr, Phe-Trp-DTyr) not only show high activity to total IgG, but can also be divided in their activity relative to subclasses of class G immunoglobulins.

Keywords: sorption, sorbents, immunoglobulins, subclasses, proteins, ligands, peptides, molecular modeling, docking

For citation. Pustsyulga Y. S., Gribovskaya O. V., Ermola E. M., Golubovich V. P. Molecular docking of ligands promising for IgG sorption from biological fluids // *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 1, pp. 88–95 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-1-88-95>

Введение. Известно, что именно иммуноглобулины (Ig) класса G и его подклассов могут быть патогенными при ряде аутоиммунных заболеваний, таких как дилатационная кардиомиопатия и пиело- и гломерулонефрит, системная красная волчанка, системный склероз и др. [1, 2]. Для лечения многих аутоиммунных заболеваний успешно применяются сорбенты, связывающие IgG человека [3]. В качестве инструмента для первичных исследований в области создания лигандов сорбентов мы прибегли к такому методу, как компьютерное молекулярное моделирование. В настоящее время методы компьютерного моделирования становятся неотъемлемой частью фундаментальных и прикладных исследований, направленных на изучение межмолекулярных механизмов воздействия, а также прикладных проектов, связанных с дизайном новых лекарственных препаратов [4, 5].

Молекулярный докинг – это метод, помогающий выявить структурные и энергетические основы взаимодействия макромолекул и субстратов, эндогенных и экзогенных лигандов с белковыми молекулами [6]. Посредством применения молекулярного докинга доступна возможность поиска лигандов для специфических сорбентов, суть которых в связывании определенных биомолекул из биологических жидкостей. Важной характеристикой для сорбентов в нашем случае является способность связывать IgG определенного класса или подклассов. Учитывая вышесказанное, нами была предпринята попытка осуществить теоретический поиск лигандов сорбентов для связывания IgG из биологических жидкостей, а также подтверждение теоретических результатов *in vitro*.

Материалы и методы. В данной работе проведен теоретический поиск аминокислотного состава лигандов сорбентов для удаления IgG из биологических жидкостей. Смоделирован процесс связывания аминокислот с молекулами Fc-фрагмента IgG каждого из подклассов, а также в дальнейшем провели конструирование ди- и трипептидных олигопептидов на основе аминокислот, показавших лучшие результаты взаимодействия с молекулами IgG.

Fc-фрагмент IgG как модель для дальнейших манипуляций был выбран благодаря свойствам константности, т.е. постоянства состава данного белка. Молекула Fc-фрагмента представляет собой гомодимер, который состоит из двух одинаковых симметрично располагающихся тяжелых цепей, имеющих различия не только среди классов Ig, но и среди подклассов одного класса [7].

Для проведения молекулярного докинга молекул белков с аминокислотами олигопептидами применяли программный пакет AutoDock Vina [8]. Молекулярный докинг ранее найденных в базе данных RCSB Protein Data Bank [9] белков IgG (коды: 4HDI, 4I4J, 5JII, 5W5M) и аминокислотных олигопептидов, созданных с помощью программы PyMol в режиме построения белков, выполняли с помощью программы UCSF Chimera через инструмент AutoDock Vina с учетом конформационной подвижности олигопептида, перебирая все возможные их ориентации относительно молекулы белка. Для дальнейших исследований отбирали результаты соединений, показавшие наилучшие показатели энергии связывания.

Найденные в банке данных RCSB PDB [9] молекулы белков IgG и созданные в программе PyMol молекулы олигопептидов проходили подготовку к докингу: минимизация структуры (для оптимизации структуры лиганда), добавление недостающих атомов водорода и удаление несвязанных ионов. В данной работе использовали вариант flex-докинга, при котором поиск оптимального положения осуществляется при подвижном лиганде относительно неподвижной структуры белка. Процесс докинга проводился при настройках и параметрах, задаваемых самой программой (включены условия слияния зарядов атомов и удаление неполярных атомов водорода, игнорирование программой цепей, создаваемых нестандартными остатками аминокислот и проведение моделирования в условиях безводной среды).

В работе использовали аминокислоты (Sigma, США), реагенты (Fluka, Швейцария). Процессы синтеза соединений, удаления защитных групп контролировали методом тонкослойной хроматографии на пластинках с закрепленным слоем силикагеля (Sorbfil, Россия). В качестве матрицы для исследуемых образцов сорбентов использовали полиэтиленовые гранулы с привитой акриловой кислотой. Прививку акриловой кислоты на полиэтиленовые гранулы проводили прямым радиационным методом в Объединенном институте энергетических и ядерных исследований – Сосны.

Функциональную оценку связывания полученных образцов сорбентов с IgG проводили иммуноферментным анализом [10]. Для этого в качестве иммуноферментной тест-системы использовали набор «IgG общий–ИФА–БЕСТ» фирмы «Вектор Бест» (Новосибирск, Россия), предназначенный для иммуноферментного определения концентраций общего IgG в сыворотке крови и в других биологических жидкостях человека.

Для определения степени связывания исследуемых аминокислот в качестве активных лигандов с Fc-фрагментом общего IgG использовали твердофазный метод иммуноанализа, основанный на принципе «сэндвич». Непосредственно перед проведением анализа изготовленные образцы сорбентов, а также активированные и неактивированные матрицы инкубировали при температуре 37 °С в пробирках эппендорф с 1 мл плазмы крови человека с использованием шейкера. Дальней-

ший анализ проводили в две стадии. На первой калибровочные и анализируемые образцы комплекса сорбент-Fc-фрагмент Ig, а также контрольные образцы (плазма) инкубировали в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (MAb) к IgG. Затем планшет отмывали промывочным буфером. На второй стадии связавшийся в лунках IgG обрабатывали конъюгатом MAb к легким (лямбда и каппа) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой.

После отмывания избытка конъюгата образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные MAb-Ig-конъюгат» выявляли ферментативной реакцией пероксидазы с перекисью водорода в присутствии хромогена (тетраметилбензидина). После остановки пероксидазной реакции стоп-реагентом результаты учитывались фотометрически. Таким образом регистрировали количество несвязавшегося IgG. Количество сорбированного IgG высчитывали с использованием значений контрольной плазмы.

Результаты и их обсуждение. В процессе докинга выявлены аминокислоты, показавшие наибольшее сродство к Fc-фрагментам IgG разных подклассов (табл. 1). Для моделирования связей выбрана вся поверхность гомодимера Fc-фрагмента IgG. Установлено, что аминокислоты ароматической группы (Tyr, Trp, Phe) обладают высоким сродством к Fc-фрагментам IgG (–5,6; –5,3; –5,1 ккал/моль соответственно). Самые низкие показатели сродства показали неполярные (Gly) и полярные (Cys) аминокислоты (–3,1 и –3,4 соответственно). Исходя из данных таблицы, для дальнейшего докинга нами были созданы модели ди- и трипептидов на основе аминокислот ароматической группы (Tyr, Trp, Phe).

Таблица 1. Энергия взаимодействия подклассов IgG и аминокислот (ккал/моль)

Table 1. Energy of interaction between IgG and aminoacids (kcal/mol)

Аминокислота	IgG подклассы				Среднее значение
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	
Ala	–3,5	–3,4	–4,2	–3,4	–3,6
Arg	–3,8	–4,9	–4,4	–4,8	–4,5
Asn	–3,5	–4,2	–4,6	–4,3	–4,2
Asp	–3,6	–4,4	–3,8	–3,7	–3,9
Cys	–3,5	–3,3	–3,5	–3,3	–3,4
Gln	–4,2	–4,4	–5	–4,2	–4,5
Glu	–4,2	–4,2	–4,2	–4,1	–4,2
Gly	–3,3	–3,1	–3	–3	–3,1
His	–4,3	–4,6	–4,3	–4,3	–4,4
Ile	–3,8	–3,8	–4,3	–4,1	–4
Leu	–3,8	–3,9	–4	–4	–3,9
Lys	–3,4	–4,2	–3,9	–3,8	–3,8
Met	–3,4	–3,6	–3,6	–3,5	–3,5
Phe	–4,7	–5,1	–5,7	–4,9	–5,1
Pro	–3,5	–3,2	–4,4	–3,6	–3,7
Ser	–3,7	–3,8	–4,4	–3,6	–3,9
Thr	–3,8	–4,4	–4,5	–3,8	–4,2
Trp	–4,9	–5,4	–5,9	–5,3	–5,4
Tyr	–6	–5,4	–5,8	–5,2	–5,6
Val	–3,7	–3,5	–3,8	–3,9	–3,7

Молекулярное моделирование связывания Fc-фрагментов подклассов IgG с олигопептидами Trp-Tyr, Phe-Tyr, Trp-Phe-Tyr, Phe-Trp-Tyr проводили при описанных условиях. Построение олигопептидов осуществлялось таким образом, чтобы на С-конце, которым олигопептид направлен к белку-мишени, находился тирозин, так как именно эта аминокислота имеет большую энергию связывания с белком. В результате моделирования были получены результаты, описанные в табл. 2.

Таблица 2. Энергия взаимодействия подклассов IgG и полипептидов (ккал/моль)

Table 2. Energy of interaction between IgG and polypeptides (kcal/mol)

Иммуноглобулины	Аминокислотная последовательность			
	Trp-Tyr	Phe-Tyr	Trp-Phe-Tyr	Phe-Trp-Tyr
IgG1	-6,9	-6,4	-8,1	-7,7
IgG2	-6,7	-6,3	-6,4	-7,5
IgG3	-6,8	-6,7	-7,6	-8,6
IgG4	-7,0	-5,8	-7,1	-6,8
Среднее значение	-6,9	-6,3	-7,3	-7,7

Из табл. 2 следует, что олигопептиды Trp-Phe-Tyr и Phe-Trp-Tyr показывают лучшие результаты связывания, исходя из средних значений, а также при оценке значений относительно подклассов IgG, с которыми проводилось моделирование. В частности, Trp-Phe-Tyr показал высокие результаты при связывании с IgG1 и IgG4, а Phe-Trp-Tyr при связывании с IgG2 и IgG3. Предполагается, что данные олигопептиды могут быть использованы при создании биоспецифических сорбентов в отношении IgG и его подклассов.

На последнем этапе теоретического поиска мы предприняли попытку модификации полученных нами ранее ди- и трипептидных лигандов. *L*-форма тирозина была заменена на *D*-форму. Подобная модификация должна увеличить защищенность лигандов от активного расщепления протеазами, содержащимися в крови и плазме. В результате модификации мы получили пептиды Trp-*D*Tyr, Phe-*D*Tyr, Trp-Phe-*D*Tyr, Phe-Trp-*D*Tyr и провели гибкий докинг со всеми молекулами IgG и условиями, описанными выше (табл. 3).

Таблица 3. Энергия взаимодействия подклассов IgG и полипептидов содержащих *D*-формы аминокислот (ккал/моль)Table 3. Energy of interaction between IgG and polypeptides including *D*-forms of aminoacids (kcal/mol)

Иммуноглобулины	Аминокислотная последовательность			
	Trp- <i>D</i> Tyr	Phe- <i>D</i> Tyr	Trp-Phe- <i>D</i> Tyr	Phe-Trp- <i>D</i> Tyr
IgG1	-5,9	-6,2	-8	-7,3
IgG2	-7	-6	-7,2	-7,8
IgG3	-7,2	-7	-8,1	-8,9
IgG4	-6,5	-6,4	-7,3	-7,2
Среднее значение	-6,65	-6,4	-7,65	-7,8

Из табл. 3 видно, что общая закономерность во взаимодействиях между трипептидами и белковыми молекулами IgG не нарушена, что дает повод для утверждения целесообразности модификаций олигопептидов путем введения *D*-форм аминокислот с целью защиты от протеолитической активности ферментов.

Синтез пептидов осуществляли с использованием классических методов пептидного синтеза в растворе. Основным методом образования пептидной связи был выбран метод активированных эфиров. Важным моментом, который должен быть учтен при синтезе пептидов Trp-Phe-*D*Tyr (II), Trp-*D*Tyr (III), Phe-Trp-*D*Tyr (IV), это возможность протекания побочных реакций при участии индольного кольца триптофана. Поэтому для удаления трет-бутилоксикарбонильной защиты с α -аминогрупп применяли 3,3 М HCl в уксусной кислоте, поскольку этот реагент, согласно литературным данным, в наибольшей степени подавляет побочную реакцию трет-бутирования индольного кольца триптофана.

Синтез дипептида Phe-*D*Tyr (I), согласно схеме (рис. 1), осуществляли с применением сукцинимидного эфира Вос-Phe-OH, который вводили в реакции с *D*Tyr без выделения. В случае дипептида Trp-*D*Tyr (III) использовали пентафторфениловый эфир Вос-Trp-OH, полученный по методу Кишфалуди [11].

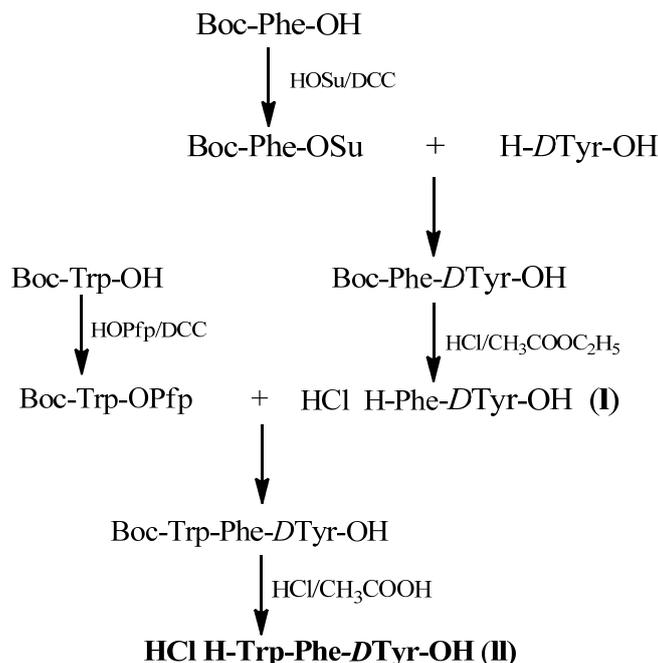


Рис. 1. Схема синтеза Phe-DTyr (I) и Trp-Phe-DTyr (II)

Fig. 1. Synthesis scheme of Phe-DTyr (I) and Trp-Phe-DTyr (II)

Гидрохлориды пептидов после отщепления Boc-защитной группы, которое протекало с выходами, близкими к количественным (93–98 %), использовали в синтезе после определения их однородности хроматографическими методами (тонкослойной хроматографией или высокоэффективной жидкостной). Полной их характеристики в качестве индивидуальных соединений не проводилось, так как кислотный гидролиз Boc-группы протекает, как правило, без рацемизации и изменения структуры пептидной цепи.

Трипептиды Trp-Phe-DTyr (II) и Phe-Trp-DTyr (IV) (схема, рис. 2) также были получены с использованием пентафторфениловых эфиров триптофана (Trp) и фенилаланина (Phe) соответственно.

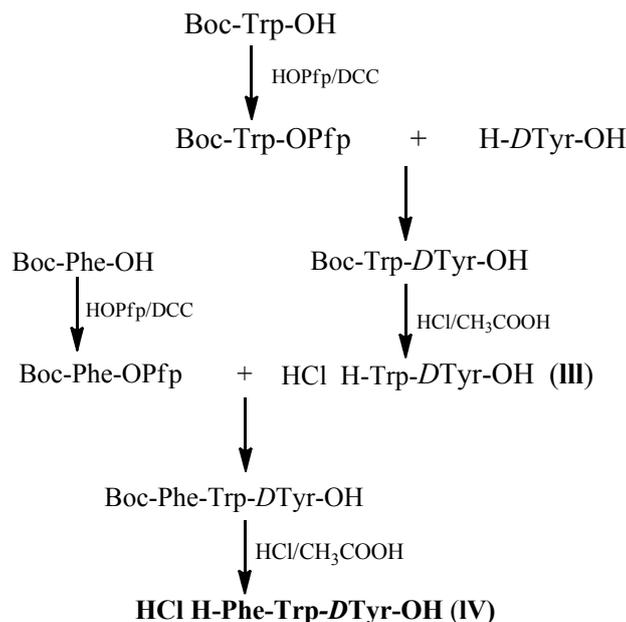


Рис. 2. Схема синтеза Trp-DTyr (III) и Phe-Trp-DTyr (IV)

Fig. 2. Synthesis scheme of Trp-DTyr (III) and Phe-Trp-DTyr (IV)

Идентификацию целевых соединений выполняли методом масс-спектрометрии, гомогенность подтверждали хроматографическими методами. Выход продуктов синтеза для Phe-Trp-DТyr составил 64 %, для Trp-Phe-DТyr, Phe-DТyr, Trp-DТyr – 65, 77, 84 % соответственно.

Для иммобилизации аминокислот и полученных олигопептидов на гранулы последние предварительно модифицировали N-гидроксисукцинимидом с помощью N,N'- диизопропилкарбодимида. Таким образом исследуемые образцы сорбентов представляли собой матрицы с иммобилизованными на них аминокислотными и пептидными лигандами. Количество иммобилизованного на матрице лиганда составило 15 ± 5 мкмоль на 1 мл сорбента.

Подтверждение теоретических данных моделирования осуществляли посредством статического эксперимента. Нами получены результаты функциональной оценки экспериментальных образцов сорбентов на основе аминокислотных лигандов (рис. 3). Установлено, что количество общего IgG в контрольной плазме составило $13,93 \pm 0,5$ мг.

Из данных диаграммы можно заключить, что аминокислоты тирозин, триптофан и фенилаланин проявили наибольшую активность, связав $9,13 \pm 0,5$, $8,01 \pm 0,5$ и $7,24 \pm 0,5$ мг IgG из плазмы соответственно. Результаты оценки сорбционных качеств образцов на основе созданных олигопептидов представлены на рис. 4. Количество общего IgG в контрольной плазме составляло 17,2 мг. Согласно полученным данным, образец на основе Phe-Trp-DТyr показал наибольшую сорбционную емкость, которая составила $10,13 \pm 0,6$ мг сорбированного IgG (рис. 4).

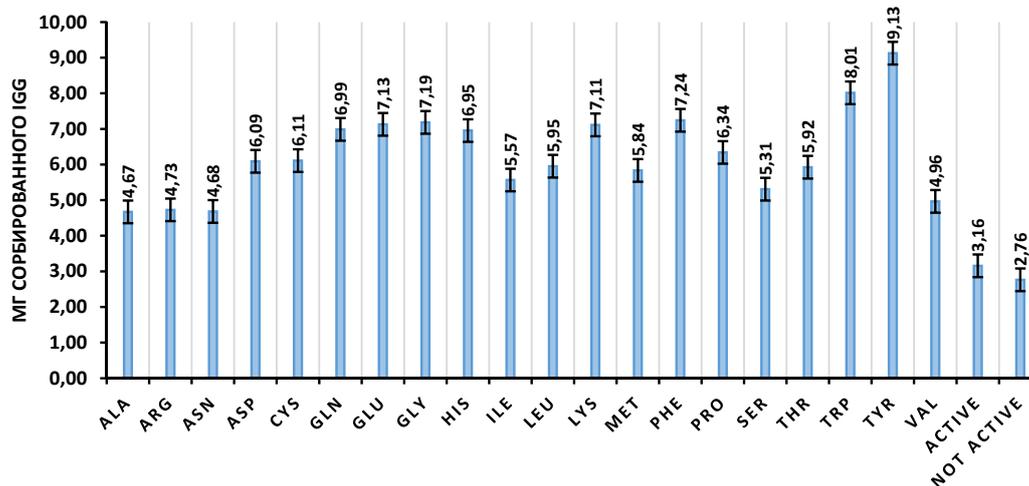


Рис 3. Диаграмма количества сорбированного IgG (мг IgG/мл сорбента)

Fig. 3. Diagram of the amount of sorbed IgG (mg IgG/ml sorbent)

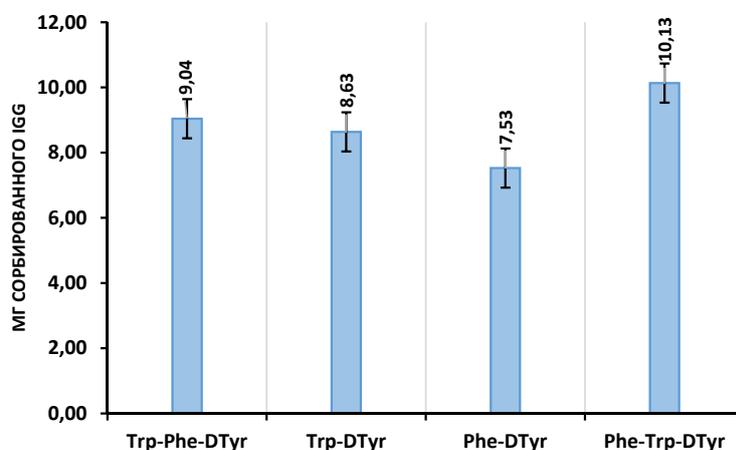


Рис. 4. Диаграмма количества сорбированного ди- и трипептидами общего IgG(мг IgG/мл сорбента)

Fig. 4. Diagram of the amount of IgG sorbed by di- and tripeptides (mg IgG/ml sorbent)

Полученные показатели связывания исследуемых образцов сорбентов с олигопептидами в качестве лигандов с Fc-фрагментом IgG полностью соотносятся с данными результатами молекулярного докинга, выявляя при этом прямую корреляцию. Пептид Phe-Trp-DТур имеет лучшие показатели связывания – $10,13 \pm 0,6$ мг сорбированного IgG ($-7,8$ Ккал/моль), Trp-Phe-DТур – $9,04 \pm 0,6$ мг сорбированного IgG ($-7,65$ Ккал/моль),

Заключение и выводы. В результате моделирования посредством докинга взаимодействий моделей аминокислот с моделями Fc-фрагментов IgG получены данные, свидетельствующие о том, что аминокислоты ароматической группы проявляют высокую активность к иммуноглобулинам класса G. Выявлено, что аминокислоты ароматической группы (Тур, Trp, Phe) обладают высоким сродством с Fc-фрагментами IgG ($-5,6$; $-5,3$; $-5,1$ ккал/моль соответственно).

Показано, что Trp-DТур, Phe-DТур, Trp-Phe-DТур, Phe-Trp-DТур имеют высокую энергию связывания к белкам IgG, а трипептиды (Trp-Phe-DТур, Phe-Trp-DТур) демонстрируют высокую активность в ряду и могут быть дифференцированы в своей активности относительно подклассов иммуноглобулинов класса G.

Экспериментально посредством иммуноферментного анализа нами подтверждены данные молекулярного моделирования. Предложенные пептидные соединения могут быть перспективны в качестве лигандов медицинского назначения (гемосорбентов).

Список использованных источников

1. Иммуносорбция в лечении дилатационной кардиомиопатии / К. И. Бардахивская [и др.] // Эфферентная и физ.-хим. терапия. – 2012. – № 3. – С. 7–10.
2. Витковский, Ю. А. Состояние гуморального Иммуитета у детей при пиело- и гломерулонефрите / Ю.А. Витковский, Е. П. Батаева // Забайкал. мед. вестн. – 2010. – № 1. – С. 30–33.
3. Bosch, T. Therapeutic Apheresis—State of the Art in the Year 2005 / T. Bosch // Therapeutic Apheresis and Dialysis, 2005. – Vol. 9, N 6. – P. 459–468. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2005.00306.x>
4. Computational Methods in Drug Discovery / G. Sliwoski [et al.] // Pharmacol Rev. – 2014. – Vol. 66, N 1. – P. 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
5. Recent advances in computer-aided drug design as applied to anti-influenza drug discovery / P. L. Mallipeddi [et al.] // Curr. Top. Med. Chem. – 2014. – Vol. 14, N 16. – P. 1875–1889. <https://doi.org/10.2174/15680266140929153812>
6. Di Muzio, E. DockingApp: a user-friendly interface for facilitated docking simulations with AutoDock Vina. / E. Di Muzio, D. Toti, F. Polticelli // J. of Computer-aided Mol. Design. – 2017. – Vol. 31, N 2. – P. 213–218. <https://doi.org/10.1007/S10822-016-0006-1>
7. Ройт, А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – М.: Мир, 2000. – 561 с.
8. Trott, O. Autodock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading / O. Trott, A. J. Olson // J. of Comp. Chem. – 2010. – Vol. 31, N 2. – P. 455–461.
9. RCSB PDB [Electronic resource]: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank. – Mode of access: <https://www.rcsb.org>. – Date of access: 24.11.2019.
10. Теория и практика иммуноферментного анализа / А. М. Егоров [и др.] – М.: Высш. шк., 1991. – 288 с.
11. Kisfaludy, L. Preparation and applications of pentafluorophenyl esters of fluorenylmethyloxycarbonyl amino acids for peptide synthesis / L. Kisfaludy, I. Schon // Synthesis. – 1983. – N 4. – P. 325–327. <https://doi.org/10.1055/s-1983-30327>

References

1. Bardahivskaya K. I., Nikolaev V. G., Uvarov V. Y., Tsimbalyuk R. S., Ivanyuk A. A. Immunosorption in the treatment of dilated cardiomyopathy. *Efferentnaya i fiziko-khimicheskaya meditsina* [Efferent and physicochemical medicine], 2012, no. 3, pp. 7–10 (in Russian).
2. Vitkovskii, Yu. A., Bataeva E. P. The state of humoral immunity in children with pyelo- and glomerulonephritis. *Zabaikal'skii meditsinskii vestnik = Transbaikalian Medical Bulletin*, 2010, no. 1, pp. 30–33 (in Russian).
3. Bosch, T. Therapeutic Apheresis—State of the Art in the Year 2005. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 2005, vol. 9, no. 6, pp. 459–468. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2005.00306.x>
4. Sliwoski G., Kothiwale S., Meiler J., Lowe E. W. Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacological reviews*, 2014, vol. 66, no. 1, pp. 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
5. Mallipeddi P. L., Kumar G., White S. W., Webb T. R. Recent advances in computer-aided drug design as applied to anti-influenza drug discovery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2014, vol. 14, no. 16, pp. 1875–1889. <https://doi.org/10.2174/15680266140929153812>

6. Di Muzio E., Toti D., Polticelli F. J. Docking App: a user-friendly interface for facilitated docking simulations with AutoDock Vina. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 2017, vol. 31, no. 2, pp. 213–218. <https://doi.org/10.1007/S10822-016-0006-1>
7. Roitt I., Brostoff J., Male D. *Immunology*. St. Louis, Mosby, 1998. 459 p.
8. Trott O., Olson A. J. Autodock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 2010, vol. 31, iss. 2, pp. 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
9. RCSB PDB. *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank*. Available at: <https://www.rcsb.org> (accessed 24 November 2019).
10. Egorov A. M., Osipov A. P., Dzantiev B. B., Gavrilov E. M. *Theory and practice of enzyme immunoassay*. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1991. 288 p. (in Russian).
11. Kisfaludy L., Schon I. Preparation and applications of pentafluorophenyl esters of fluorenylmethoxycarbonyl amino acids for peptide synthesis. *Synthesis*, 1983, no. 4, pp. 325–327. <https://doi.org/10.1055/s-1983-30327>

Информация об авторах

Пустульга Егор Сергеевич – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: zeroed.inside@gmail.com

Грибовская Ольга Викторовна – ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: olymelnik@yandex.ru

Ермола Евгений Михайлович – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ermola.e@tut.by

Голубович Владимир Петрович – д-р биол. наук, профессор, зав. лаб. Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: golubovich@iboch.by

Information about the authors

Egor S. Pustylulga – Researcher, Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (5/2, acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zeroed.inside@gmail.com

Olga V. Gribovskaya – Senior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (5/2, acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olymelnik@yandex.ru

Eugeny M. Ermola – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (5/2, acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ermola.e@tut.by

Vladimir P. Golubovich – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory, Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (5/2, acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: golubovich@iboch.by