

计算方法研究 HIV-1 蛋白酶及其变异与 小分子 GRL-0519 的相互作用 *

李高峰¹⁾ 扈国栋^{1,2)**} 张 晨^{1,2)} 季保华^{1,2)} 王吉华^{1,2)**}

(¹⁾德州学院物理与电子信息学院, 德州 253023; (²⁾德州学院山东省生物物理重点实验室, 德州 253023)

摘要 艾滋病病毒在世界范围内的传播, 严重地威胁到人们的身心健康. HIV-1 蛋白酶的残基变异严重地削弱了药物的治疗效果. 为了研究残基变异 D30N、I54M 和 V82A 对蛋白酶结合抑制剂 GRL-0519 的影响, 本研究进行了 4 个 30 ns 的分子动力学(MD)模拟, 并采用溶解相互自由能(SIE)方法计算了蛋白酶和抑制剂的结合能. 计算结果表明, 极性相互作用不利于变异的蛋白酶结合抑制剂, 而对于野生型的蛋白酶(WT), 极性相互作用有微弱的贡献, 极性相互作用是残基变异抗药性的主要原因, 计算得到的总结合能与实验的数据一致. 为了说明每个残基在抗药性中的贡献, 采用分子力场的方法计算了每一个残基与小分子作用的范德华作用能, 并分析了抑制剂与蛋白酶形成的氢键. 范德华作用分析表明, V82A 残基变异对结合模式的影响较小, 相对于 WT, D30N 有 5 个残基的范德华贡献差异大于 0.4 kcal/mol, I54M 残基变异的蛋白酶有 6 个残基. 氢键的分析说明, D30N 和 I54M 变异丢失了几个氢键; 范德华作用和氢键的分析结果与 SIE 的计算结果一致. 研究结果为设计新的更有效的抗 HIV-1 蛋白酶变异的抑制剂提供了理论指导.

关键词 HIV-1 蛋白酶, 抑制剂, 分子动力学模拟, 结合自由能

学科分类号 Q641.12, Q615

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0053

I 型人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus type I, HIV-1)是艾滋病(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)的病源^[1]. HIV 在世界范围内的传播, 严重地威胁到人们的身心健康. HIV-1 蛋白酶对病毒周期正常运转和病毒毒粒成熟至关重要, 是病毒复制必需的酶, 是抗 HIV-1 病毒药物的重要靶点, 因此抑制 HIV-1 蛋白酶催化机能的发挥就能阻止 HIV-1 病毒的复制^[2]. 许多抗 HIV 的药物就是通过与蛋白酶相互作用发挥药效的, 然而实际研究中经常发现蛋白酶的残基变异, 这限制了抗病毒药物药效的发挥^[3].

HIV-1 蛋白酶是由含 99 个氨基酸的多肽链形成的 C_2 对称的同质二聚体(图 1a), 位于二聚体界面上的天冬氨酸残基(Asp25/Asp25')参与催化分解形成了蛋白酶的活性中心, 开口处的柔性区域由 45~55 和 45'~55' 残基组成. 在蛋白酶残基 Ile50/Ile50' 和抑制剂之间存在一个结晶水分子, 此水分子与蛋白酶和抑制剂分别形成 2 个稳定的氢

键^[4]. 在蛋白酶和抑制剂的作用中, 经常发现 D30N、I54M 和 V82A 残基的变异^[5], 这 3 个变异在蛋白酶中的位置如图 1a 所示. 分析晶体结构发现, D30N 可以和抑制剂间形成氢键^[6], I54M 残基变异可以改变结合区域的构象, V82A 残基变异位于活位点^[7]. 当前, GRL-0519 抑制剂以其较高的亲和性受到了研究者的关注, 其分子结构如图 1b 所示^[5]. 虽然, GRL-0519 抑制剂与野生型的蛋白酶具有较强的亲和力, 但是蛋白酶残基的变异降低了它们的亲和力^[8]. 因此研究 HIV-1 蛋白酶及其变异与小分子 GRL-0519 的相互作用显得尤为重要.

* 国家自然科学基金(11447004, 61671107), 山东省自然科学基金(ZR2014JL006)和山东省泰山学者基金资助项目.

** 通讯联系人. Tel: 0534-8985933

扈国栋. E-mail: xzszhgd@163.com

王吉华. E-mail: jhw25336@126.com

收稿日期: 2017-06-11, 接受日期: 2017-07-27

分子动力学(MD)模拟已经成为研究生物大分子及大分子与小分子间相互作用的重要工具^[9-11], 该方法不仅能给出生物大分子在原子水平上的运动细节, 而且能够在原子层次上理解和解释实验数据. MD 模拟给出的生物大分子的动力学和结构特征是重要的研究依据, 然而, 与生物过程和药物设计更为密切的是蛋白质小分子的结合自由能^[12]. 人们提出了多种自由能的计算方法^[13-15], 如: 热力学积分(thermodynamic integration, TI)^[16-18]、MM-PBSA^[19-22]和溶解相互自由能(solvated interaction energy, SIE)^[23-25]等方法, TI 方法是较为严格的计算方法, 但其计

算资源消耗较多, SIE 方法实现了计算精度和计算资源消耗的合理折中^[26].

在本研究中, 主要采用 MD 模拟的方法研究了 3 个蛋白酶残基变异(D30N、I54M 和 V82A)对野生型蛋白酶(WT)结合小分子 GRL-0519 的影响. 在 MD 模拟轨迹的基础上, 采用 SIE 方法计算了小分子和蛋白酶的结合自由能, 采用分子力场方法计算了每个残基和小分子的范德华作用能, 进而分析了小分子形成的氢键, 最终得出变异抗药性的分子机制.

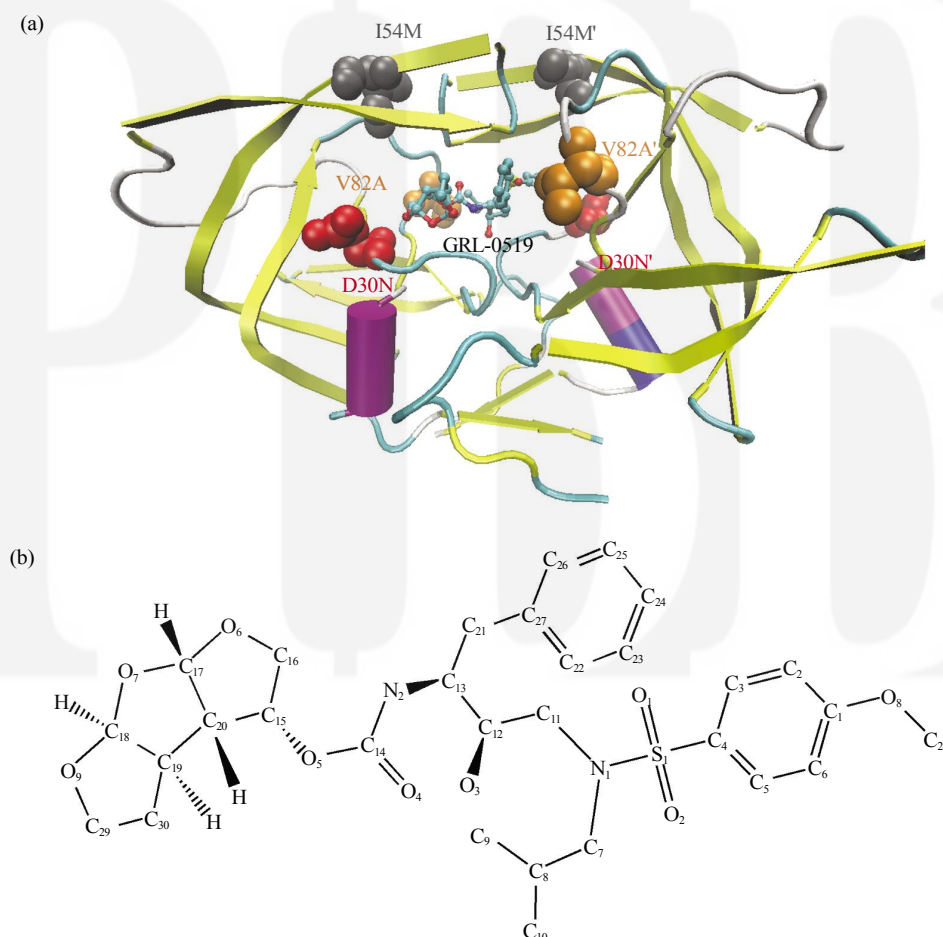


Fig. 1 The locations of the three mutations in WT (a) and molecular structure of HIV-1 protease inhibitor GRL-0519 (b)

The protease is displayed in a new cartoon representation, colored by the second structure, GRL-0519 is displayed in a ball and stick representation, and the mutated residues are displayed in a ball with different colors as well as the labeled marks.

1 材料与方法

1.1 系统搭建

4 个复合物的原子坐标取自蛋白质数据库

(PDB), WT、D30N、I54M 和 V82A 的 PDB 代码分别是 3OK9、4HDB、4HE9 和 4HDF^[5]. 在蛋白酶和抑制剂之间, 一个水分子起到了重要的桥接作用, 这个水分子几乎在所有蛋白酶和抑制剂的复合

物中都有发现^[27-28]. 因此在最初的模型中, 保留了复合物周围 5 Å 之内的结晶水分子. 为了保持 2 个天冬氨酸残基与抑制剂的羟基之间形成氢键的稳定性, 与其他的工作一致, 在 Asp25 的 OD2 原子上添加了 1 个质子^[29-30]. 氨基酸的参数取自 Amber 的 FF12SB^[31]力场. 小分子的力场参数先用 Gaussian 03^[32]在 HF/6-31G* 水平上计算小分子的静电势, 再用 RESP^[33]程序拟合小分子各原子的电荷, 最后采用 GAFF^[34]力场参数和拟合电荷在 Antechamber 程序中得到小分子的力场参数. 采用 TIP3P^[35]水模型构建截去顶角的八面体的水盒子溶解蛋白和小分子, 溶质到盒子边缘的最小距离是 10 Å, 同时为了中和系统电性, 添加了合适数目的氯离子.

1.2 分子动力学模拟

分子动力学模拟采用 Amber12 软件包^[36]来完成. 模拟中采用 SHAKE^[37]算法限制所含氢原子键的伸缩, 模拟步长是 2 fs, 应用 PME^[38]方法来计算长程的静电相互作用, 且使用了周期性边界条件, 非键相互作用的截距(cutoff)为 12 Å. 为了消除最初系统原子间不合理的接触, 对 4 个模拟体系进行了两步能量最小化, 首先是最陡下降法, 然后是共轭梯度法. 能量最小化之后, 采用 2 kcal/(mol·Å²) 的限制常数限制溶质的运动, 并在 70 ps 的模拟时间内把系统从 0 K 加热到 300 K, 随后是 90 ps 的动力学平衡, 最后是 30 ns 的没有限制的常规 MD 模拟. 模拟过程中采用朗之万恒温器限制温度在 300 K, 压力是一个大气压. 采用 AmberTools 的 Ptraj 模块解析了蛋白酶主链原子相对于最初构象的均方根偏差(RMSD)、主链原子的均方根波动(RMSF)、氢键等动力学参数.

1.3 SIE 方法

SIE 方法结合 MD 模拟的轨迹, 可以快速地预测蛋白质和抑制剂的结合自由能^[39]. 在本研究中, 从 MD 模拟轨迹的最后 20 ns 以 50 ps 为时间间隔取出了 400 个构象用于 SIE 的计算. 计算结合自由能的方程如下:

$$\Delta G_{\text{bind}}(\rho, D_m, \alpha, \gamma, C) = \alpha \times [E_c(D_m) + E_{\text{vdw}} + \Delta G^R + \gamma \cdot \Delta \text{MSA}(\rho)] + C \quad (1)$$

其中 E_c 和 E_{vdw} 分别表示气相中采用分子力场计算的静电相互作用和范德华相互作用, 本计算中采用的力场参数和 MD 模拟的参数一致. ΔG^R 是抑制剂结合导致的反应场能的变化, 使用 BRI BEM 方法^[40]和溶剂探针半径求解泊松方程得到^[41]. $\gamma \cdot \Delta \text{MSA}$ 对应于抑制剂结合诱导的溶剂可及表面积

变化. 参数 α 是与熵变相关的比例系数, D_m 是溶质内部的介电常数, γ 是溶剂可及表面积系数, ρ 是线性标度的范德华半径系数, C 是一个能量常数. 在当前计算中, $\alpha=0.1048$, $D_m=2.25$, $\rho=1.1$, $\gamma=0.0129$ kcal/(mol·Å²), $C=-2.89$ kcal/mol. SIE 计算采用的是 Sietraj 程序^[42].

2 结果与讨论

2.1 MD 模拟系统的动力学特征

为了评价 30 ns 的 MD 模拟的平衡状态, 检测了 MD 模拟过程中系统的结构变化和能量变化等参数. 蛋白酶主链原子的 RMSD 能够反应 MD 模拟的稳定性, 图 2 显示了 4 个系统的 RMSD 随模拟时间的变化情况. 从第 4 ns 开始, 所有的模拟系统达到了平衡状态, 计算了最后 20 ns 模拟 RMSD 的平均值, 对于 WT、D30N、I54M 和 V82A 体系, 平均值分别是 0.94 Å、0.98 Å、0.95 Å 和 1.04 Å. 在 4 个模拟系统中, WT 系统的平均值是最小的, 这表明未变异的系统最稳定. 随后的解析和自由能计算都是基于平衡后最后 20 ns 的 MD 模拟轨迹.

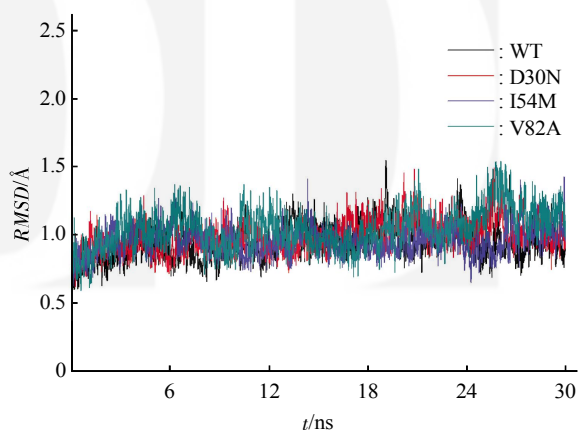


Fig. 2 Root-mean-square deviations (RMSD) of the backbone atoms in MD simulations as a function of MD simulation time

2.2 残基柔性的涨落

主链 C α 原子的均方根涨落(RMSF)能够用于评价蛋白酶结构的柔性. 图 3a 显示了每个复合物中各个残基 C α 原子的 RMSF. 柔性较大的区域是残基 16~19/16'~19', 35~42/35'~42', 52~54/52'~54', 66~69/66'~69' 和 78~81/78'~81'. 对于所有的复合物, Asp25/Asp25' 所在区域的刚性较

强, 这与接触反应点的特点有关, 该结果与其他的
相关研究一致^[21]. 在 D30N 变异中, 残基 52~54/
52'~54' 表现出较大的灵活性.

另外, 对 MD 模拟轨迹最后 20 ns 共 2 000 个
结构进行了主成分分析. 图 3b 显示了对角化后的
原子波动的协方差矩阵的本征值, 相对于对应的本
征矢量以一个下降的顺序. 最初的 5 个主成分占
49.45% (WT)、57.11% (D30N)、53.27% (I54M) 和
50.34% (V82A). 最初的几个本征值在大小上下降
迅速, 很快到达了一个收敛的值, 这说明系统的主
要构象变化是局部变化, 残基变异没有引起系统整
体上的构象变化.

2.3 结合自由能分析

我们采用 SIE 方法计算了 GRL-0519 与 HIV-1
蛋白酶野生型以及 3 个残基变异的结合自由能, 相
应的结合自由能和各个能量项如表 1 所示. 由表中
数据可以看出, 虽然计算的结果稍小于实验的结合
自由能, 但其大小顺序完全一致. 在所有的能量项
中, ΔE_{vdw} , ΔE_c 和 $\gamma \cdot \Delta MSA$ 有利于抑制剂和蛋白酶
结合, 而 ΔG^R 削弱了抑制剂和 HIV-1 蛋白酶的结
合, 在考虑了熵的影响之后, 结合强度变弱. 其中
 ΔE_{vdw} 和 $\gamma \cdot \Delta MSA$ 是非极性相互作用, ΔE_c 和 ΔG^R
是极性相互作用. 综合极性相互作用的两项可以发
现: 极性相互作用不利于变异的 HIV-1 蛋白酶结
合抑制剂, 而轻微有利于 WT 结合抑制剂. 对比
WT 与变异的各个能量项可以发现: 变异对 $\gamma \cdot$
 ΔMSA 的影响较小; ΔE_{vdw} 在 I54M 中得到加强, 而
在 D30N 中减弱. 因此, 变异导致的药效降低主要
是极性相互作用导致的结果.

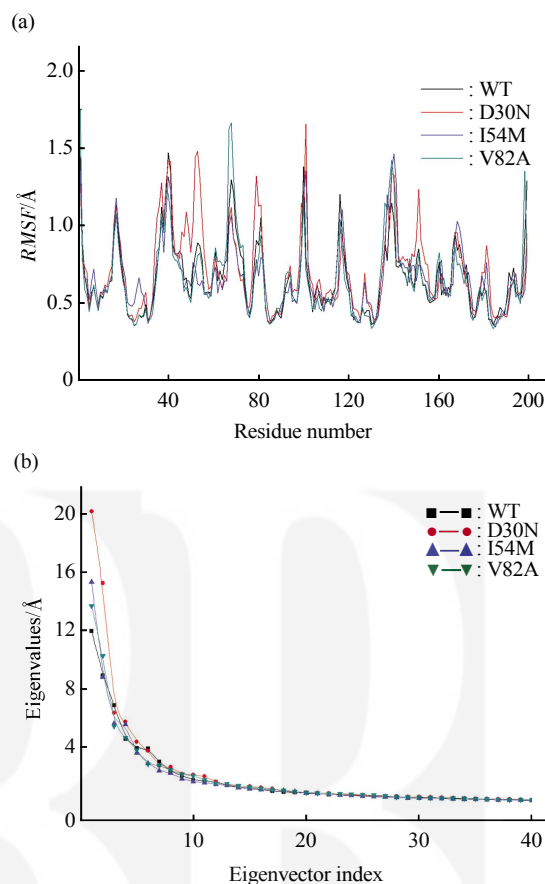


Fig. 3 The root mean square fluctuations (RMSFs) and the principal component analysis (PCA) for the four systems

(a) The root mean square fluctuations (RMSFs) of C α atoms versus residue number. (b) Comparison of the eigenvalues plotted against the corresponding eigenvector indices obtained from the C α covariance matrix conducted from the equilibrium phase of MD simulations.

Table 1 Binding free energies and energy components calculated by SIE method

Item	WT		D30N		I54M		V82A	
	Mean	Std	Mean	Std	Mean	Std	Mean	Std
ΔE_{vdw}	-69.47	3.39	-67.53	3.42	-72.96	3.45	-69.75	3.23
ΔE_c	-25.74	2.21	-18.33	2.32	-18.24	2.44	-25.78	2.61
ΔG^R	25.32	1.84	21.15	1.98	23.34	1.77	27.04	1.76
$\gamma \cdot \Delta MSA$	-12.26	0.29	-12.06	0.3	-12.26	0.24	-12.47	0.28
ΔC_{bind}	-11.5	0.34	-10.93	0.35	-11.28	0.37	-11.37	0.32
ΔC^{exp}	-12.77		-11.05		-11.61		-11.66	

All values of energies are given in kcal/mol. $\Delta \text{Energy} = \text{Energy}_{\text{complex}} - \text{Energy}_{\text{HIV-IPR}} - \text{Energy}_{\text{GRL-0519}}$. The experimental binding free energies are calculated by the equation $\Delta C^{\text{exp}} = -RT \ln K_i$, where R is ideal gas constant, T is temperature in 300K, K_i is the inhibition constants^[43].

2.4 范德华作用分析

为了从原子层次上分析变异对结合模式的影

响, 采用公式(2)计算了小分子和单个残基的范德
华作用能. 这样的方法研究蛋白质和小分子的相互

作用已经应用到其他的研究工作^[25, 44].

$$\Delta E_{\text{vdw}} = \sum \left(\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} \right) \quad (2)$$

公式中的参数 A_{ij} 和 B_{ij} 取自 Amber 的 FF12SB 力场, R 是 2 个原子 i 和 j 的距离. 共有 15 个残基的范德华作用能大于 1.0 kcal/mol. 图 4 显示了范德华作用能较大的 15 个残基在 WT 系统中的位置及其能量大小. 从图 4 中可以看出, 范德华作用较强的残基主要是和小分子的 2 个基团(基团一: methoxyphenyl 和基团二: (3R、3aS、3bR、6aS、7aS)-octahydrodifuro[2, 3-b:3', 2'-d]furan)相互作用. 从和这 2 个基团相互作用残基的范德华自由能的强度来看, 基团二更有利于小分子和蛋白质的范德华作用.

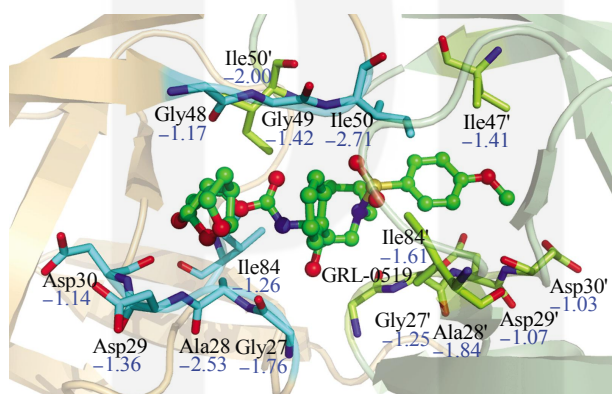


Fig. 4 The position of residues with van de Waals energies larger than 1.0 kcal/mol

The inhibitor GRL-0519 is shown in stick and ball representation. The key residues are shown in stick representation. The van der Waals energies of residues are labeled with blue color with unit kcal/mol.

为了分析 3 个残基变异对 HIV-1 蛋白酶结合小分子的影响, 我们计算了变异复合物中每个残基的范德华贡献相对于未变异复合物贡献的差异, 如图 5 所示. 通过对比发现, V82A 变异导致的范德华作用的变化小于其他两个变异, 且没有发现能量差大于 0.4 kcal/mol 的残基, 而在 D30N 中有 5 个残基(Asp25、Gly27、Ile50、Asp25' 和 Gly27')差异较大, 在 I54M 变异中有 6 个残基(Asp25、Gly27、Asp29、Arg8'、Asp25' 和 Gly27')的差异较大.

2.5 氢键分析

为了进一步研究 3 个变异残基对 HIV-1 蛋白酶结合 GRL-0519 的影响, 我们计算了小分子、蛋白酶和桥接水分子的氢键, 计算结果如表 2 和图 6a 所示. 结果表明, 4 个复合物中均发现了水分子和

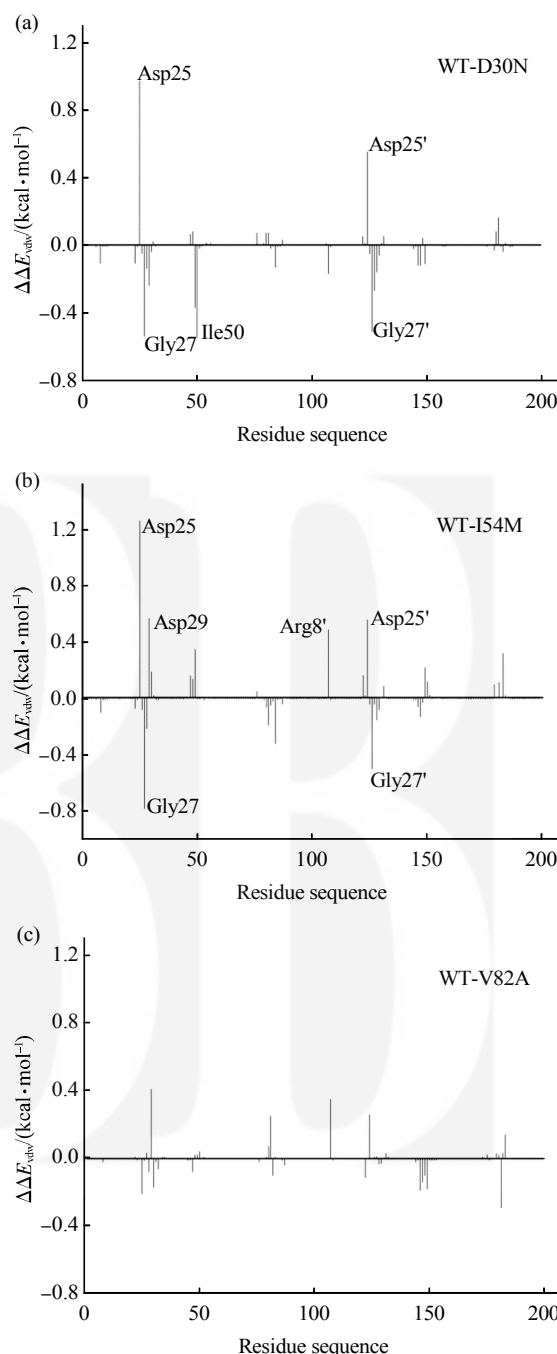


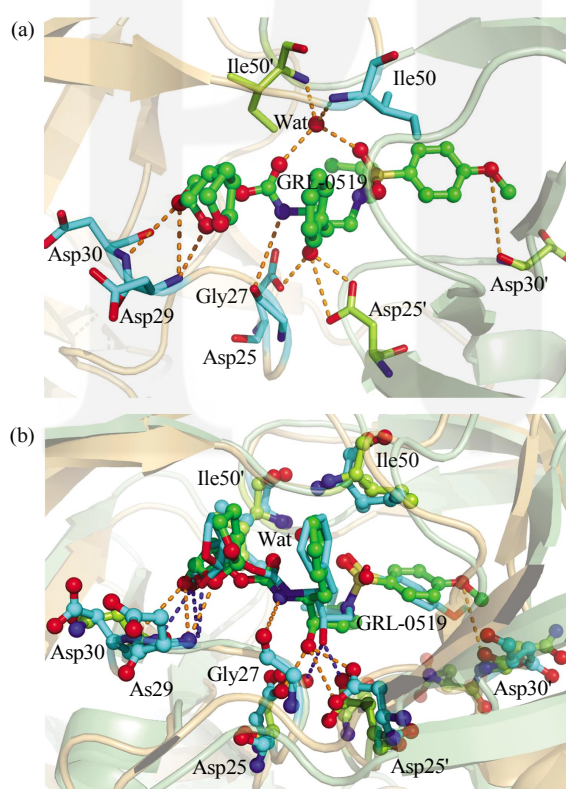
Fig. 5 Difference of each residue of the van der Waals energy in mutated complex relative to that in WT complex

蛋白质以及小分子形成的 4 个氢键. 虽然这 4 个氢键的强度有所不同, 但是变异并未导致水分子的桥连作用发生明显的变化. 从整体上来看, D30N 和 I54M 变异对氢键的影响大于 V82A 变异对氢键的影响; Asp25 和 Asp25' 在 WT 和 V82A 变异中的差异不大, 但是在 D30N 中小分子与 Asp25 形成的氢键只有 38.10% 的占有率, 在 I54M 中只有 1 个稳

Table 2 Main hydrogen bonds involved in GRL-0519 binding pocket

Hydrogen bond	WT		D30N		I54M		V82A	
	Occ/%	Dist/Å	Occ/%	Dist/Å	Occ/%	Dist/Å	Occ/%	Dist/Å
GRL@O3...Asp25@HD2-OD2	100.00	2.64	38.10	2.74			100.00	2.64
Asp25'@OD1...GRL@H17-O3	100.00	2.62			96.80	2.64	100.00	2.63
Asp25'@OD2...GRL@H17-O3	50.75	3.10	97.75	2.66			49.65	3.07
Gly27@O...GRL@H19-N2	48.00	3.17					78.30	3.04
GRL@O7...Asp29@H-N	98.75	2.97	98.85	2.95	50.20	3.00	96.90	3.03
GRL@O6...Asp29@H-N	70.90	3.11	56.30	3.11			73.85	3.09
GRL@O6...Asp30@H-N	74.70	3.20	82.50	3.12	66.60	3.17	47.10	3.27
GRL@O8...Asp30'@H-N	30.00	3.24						
Wat@O...Ile50@H-N	85.25	3.08	63.60	3.04	98.75	2.99	98.45	2.98
Wat@O...Ile50'@H-N	98.75	2.98	65.55	3.04	77.40	3.00	88.85	3.10
GRL@O4...Wat@H1-O	99.95	2.75	70.40	2.83	100.00	2.72	100.00	2.76
GRL@O2...Wat@H2-O	98.05	2.81	62.55	2.84	99.25	2.74	89.50	2.83

The hydrogen bonds are determined by an acceptor...donor distance (Dist) < 3.5 Å and a donor-H...acceptor angle > 120°. Occupancy (Occ) is defined as the percentage of simulation time that a specific hydrogen bond exists.

**Fig. 6** The hydrogen bonds formed among the inhibitor GRL-0519, water molecule and the protease

(a) All the hydrogen bonds in WT complexes. GRL-0519 is shown in stick and ball representation. The key residues are shown in stick representation. The hydrogen bonds are shown in dash lines. (b) The superimposition of binding pocket of WT and D30N. The GRL-0519 and key residues in WT are shown in stick and ball representation, as well as stick representation in D30N. The hydrogen bonds are in orange dash lines in WT and blue dash lines in D30N.

定的氢键(图 6b); D30N 和 I54M 中, 小分子和基团一没有形成氢键, 与基团二形成的氢键也比 WT 系统中分别少 1 个(D30N)和 2 个(I54M)。氢键的分析结果表明, D30N 和 I54M 系统的静电作用能小于 WT 和 V82A 系统的静电作用能, 其结果与 SIE 的计算一致。

3 结 论

为了研究 D30N、I54M 和 V82A 3 个变异对 HIV-1 蛋白酶的野生型和 GRL-0519 复合物动力学的影响, 本文采用 MD 模拟的方法对 4 个系统分别进行了 30 ns 的模拟。对 MD 模拟轨迹的分析表明, 变异并没有显著改变蛋白酶的整体结构。采用 SIE 的方法计算了 4 个系统的结合自由能, 计算结果和实验数据一致。分解总的结合自由能到不同的能量项表明, 造成变异亲和性降低的主要能量项是极性相互作用; 进一步采用分子力场方法计算了单个残基在总结合自由能中的范德华贡献, 计算结果表明 D30N 和 I54M 变异造成各个残基的范德华作用与未变异的差异较大。最后, 对氢键分析表明, WT 系统中形成的氢键与 V82A 变异的差异较小, 而与 D30N 和 I54M 变异的差异较大。

参 考 文 献

- [1] Hu G, Zhang S L, Zhang Q. Molecular dynamics simulations and free energy calculation of FKBP12 protein and its inhibitors. Acta Chimica Sinica, 2009, 67(9): 1019-1025

- [2] Oroszlan S, Luftig R B. Retroviral proteinases. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 1990, **157**: 153–185
- [3] Richman D D, Morton S C, Wrin T, *et al.* The prevalence of antiretroviral drug resistance in the United States. *Aids*, 2004, **18**(10): 1393–1401
- [4] Li Z, Lazaridis T. The effect of water displacement on binding thermodynamics: concanavalin A. *J Phys Chem B*, 2005, **109**(1): 662–670
- [5] Zhang H, Wang Y F, Shen C H, *et al.* Novel P2 tris-tetrahydrofuran group in antiviral compound 1 (GRL-0519) fills the S2 binding pocket of selected mutants of HIV-1 protease. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, **56**(3): 1074–1083
- [6] Liu F, Kovalevsky A Y, Tie Y, *et al.* Effect of flap mutations on structure of HIV-1 protease and inhibition by saquinavir and darunavir. *J Mol Biol*, 2008, **381**(1): 102–115
- [7] Tie Y, Kovalevsky A Y, Boross P, *et al.* Atomic resolution crystal structures of HIV-1 protease and mutants V82A and I84V with saquinavir. *Proteins*, 2007, **67**(1): 232–242
- [8] Ghosh A K, Xu C X, Rao K V, *et al.* Probing multidrug-resistance and protein-ligand interactions with oxatricyclic designed ligands in HIV-1 protease inhibitors. *ChemMedChem*, 2010, **5**(11): 1850–1854
- [9] Sharma M, Bulusu G, Mitra A. MD simulations of ligand-bound and ligand-free aptamer: molecular level insights into the binding and switching mechanism of the add A-riboswitch. *RNA*, 2009, **15**(9): 1673–1692
- [10] Villa A, Wohnert J, Stock G. Molecular dynamics simulation study of the binding of purine bases to the aptamer domain of the guanine sensing riboswitch. *Nucleic Acids Res*, 2009, **37**(14): 4774–4786
- [11] Ogrizek M, Konc J, Bren U, *et al.* Role of magnesium ions in the reaction mechanism at the interface between Tm1631 protein and its DNA ligand. *Chem Cent J*, 2016, **10**: 41
- [12] Fulle S, Gohlke H. Molecular recognition of RNA: challenges for modelling interactions and plasticity. *J Mol Recognit*, 2010, **23**(2): 220–231
- [13] Li W, Wang W, Takada S. Energy landscape views for interplays among folding, binding, and allostery of calmodulin domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(29): 10550–10555
- [14] Shen J, Tan C, Zhang Y, *et al.* Discovery of potent ligands for estrogen receptor beta by structure-based virtual screening. *J Med Chem*, 2010, **53**(14): 5361–5365
- [15] Hu G, Wang J. Ligand selectivity of estrogen receptors by a molecular dynamics study. *Eur J Med Chem*, 2014, **74**: 726–735
- [16] Deng Y, Roux B. Computations of standard binding free energies with molecular dynamics simulations. *J Phys Chem B*, 2009, **113**(8): 2234–2246
- [17] Roux B, Nina M, Pomès R, *et al.* Thermodynamic stability of water molecules in the bacteriorhodopsin proton channel: a molecular dynamics free energy perturbation study. *Biophys J*, 1996, **71**(2): 670–681
- [18] Hu G, Ma A, Wang J. Ligand selectivity mechanism and conformational changes in guanine riboswitch by molecular dynamics simulations and free energy calculations. *J Chem Inf Model*, 2017, **57**(4): 918–928
- [19] Yang Y, Shen Y, Liu H, *et al.* Molecular dynamics simulation and free energy calculation studies of the binding mechanism of allosteric inhibitors with p38alpha MAP kinase. *J Chem Inf Model*, 2011, **51**(12): 3235–3246
- [20] Gohlke H, Kiel C, Case D A. Insights into protein-protein binding by binding free energy calculation and free energy decomposition for the Ras-Raf and Ras-RalGDS complexes. *J Mol Biol*, 2003, **330**(4): 891–913
- [21] Chen J, Wang X, Zhu T, *et al.* A Comparative insight into amprenavir resistance of mutations V32I, G48V, I50V, I54V, and I84V in HIV-1 protease based on thermodynamic integration and MM-PBSA methods. *J Chem Inf Model*, 2015, **55**(9): 1903–1913
- [22] Hu G, Zhu T, Zhang S L, *et al.* Some insights into mechanism for binding and drug resistance of wild type and I50V V82A and I84V mutations in HIV-1 protease with GRL-98065 inhibitor from molecular dynamic simulations. *Eur J Med Chem*, 2010, **45**(1): 227–235
- [23] Sund J, Lind C, Aqvist J. Binding site preorganization and ligand discrimination in the purine riboswitch. *J Phys Chem B*, 2015, **119**(3): 773–782
- [24] 吴世亮, 梁志强, 王伟, 等. I50V 变异对 HIV-1 蛋白酶抑制剂 Amprenavir 抗药机制的分子动力学研究. *原子与分子物理学报*, 2017, **34**(1): 130–135
Wu S L, Liang Z Q, Wang W, *et al.* *J At Mol Phys*, 2017, **34**(1): 130–135
- [25] Chen J, Liang Z, Wang W, *et al.* Revealing origin of decrease in potency of darunavir and amprenavir against HIV-2 relative to HIV-1 protease by molecular dynamics simulations. *Sci Rep*, 2014, **4**: 6872
- [26] Sulea T, Cui Q, Purisima E O. Solvated interaction energy (SIE) for scoring protein-ligand binding affinities. 2. Benchmark in the CSAR-2010 scoring exercise. *J Chem Inf Model*, 2011, **51**(9): 2066–2081
- [27] Wang Y X, Freedberg D I, Wingfield P T, *et al.* Bound water molecules at the interface between the HIV-1 protease and a potent inhibitor, KNI-272, determined by NMR. *J Am Chem Soc*, 1996, **118**(49): 12287–12290
- [28] Lu Y, Yang C-Y, Wang S. Binding free energy contributions of interfacial waters in HIV-1 protease/inhibitor complexes. *J Am Chem Soc*, 2006, **128**(36): 11830–11839
- [29] Hu G, Chen J, Shi S, *et al.* Molecular dynamics study of the effects of V82A and L90M on PR-IDV complex. *Acta Chimica Sinica*, 2010, **68**(7): 603–610
- [30] Hu G, Ma A, Dou X, *et al.* Computational studies of a mechanism for binding and drug resistance in the wild type and four mutations of HIV-1 protease with a GRL-0519 inhibitor. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, **17**(6): 819
- [31] Wang W, Kollman P A. Free energy calculations on dimer stability of the HIV protease using molecular dynamics and a continuum solvent model. *J Mol Biol*, 2000, **303**(4): 567–582

- [32] Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B, *et al.* Gaussian 03, Revision C. 02., Gaussian, Inc, Wallingford CT, 2004
- [33] Cieplak P, Cornell W D, Bayly C, *et al.* Application of the multimolecule and multiconformational RESP methodology to biopolymers: Charge derivation for DNA, RNA, and proteins. *J Comput Chem*, 1995, **16**(11): 1357–1377
- [34] Wang J M, Wolf R M, Caldwell J W, *et al.* Development and testing of a general amber force field. *J Comput Chem*, 2004, **25**(9): 1157–1174
- [35] Jorgensen W L, Chandrasekhar J, Madura J D, *et al.* Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys*, 1983, **79**: 926–935
- [36] Case D A, Darden T A, TE. Cheatham I, *et al.* AMBER 12 [M]. San Francisco; University of California. 2012
- [37] Ryckaert J P, Ciccotti G, Berendsen H J C. Numerical-integration of cartesian equations of motion of a system with constraints-molecular-dynamics of N-alkanes. *J Comput Phys*, 1977, **23** (3): 327–341
- [38] Darden T, York D, Pedersen L. Particle mesh ewald -andLog(N) method for ewald sums in large systems. *J Chem Phys*, 1993, **98**(12): 10089–10092
- [39] Naim M, Bhat S, Rankin K N, *et al.* Solvated interaction energy (SIE) for scoring protein-ligand binding affinities. 1. Exploring the parameter space. *J Chem Inf Model*, 2007, **47**(1): 122–133
- [40] Eo P. Fast summation boundary element method for calculating solvation free energies of macromolecules. *J Comput Chem*, 1998, **19**(13): 1494–1504
- [41] Bhat S, Purisima E O. Molecular surface generation using a variable-radius solvent probe. *Proteins*, 2006, **62**(1): 244–261
- [42] Cui Q, Sulea T, Schrag J D, *et al.* Molecular dynamics-solvated interaction energy studies of protein-protein interactions: the MP1-p14 scaffolding complex. *J Mol Biol*, 2008, **379**(4): 787–802
- [43] Wang J, Morin P, Wang W, *et al.* Use of MM-PBSA in reproducing the binding free energies to HIV-1 RT of TIBO derivatives and predicting the binding mode to HIV-1 RT of efavirenz by docking and MM-PBSA. *Journal of the American Chemical Society*, 2001, **123**(22): 5221–5230
- [44] Ding Y, Mei Y, Zhang J Z. Quantum mechanical studies of residue-specific hydrophobic interactions in p53-MDM2 binding. *J Phys Chem B*, 2008, **112**(36): 11396–11401

Study The Interaction Between The HIV-1 Protease and Its Mutations With Inhibitor GRL-0519 by The Computational Method*

LI Gao-Feng¹⁾, HU Guo-Dong^{1,2)**}, ZHANG Chen^{1,2)}, JI Bao-Hua^{1,2)}, WANG Ji-Hua^{1,2)**}

¹⁾ College of Physics and Electronic Information, Dezhou University, Dezhou 253023, China;

²⁾ Shandong Provincial Key Laboratory of Biophysics, Dezhou University, Dezhou 253023, China)

Abstract The spread of HIV-1 in the world is a serious threat to people's physical and mental health. Residue mutation of HIV-1 protease seriously weakened the effect of drug treatment. In order to study the effects of mutations D30N, I54M and V82A on the interaction between protease and the inhibitor GRL-0519, we carried out four 30 ns molecular dynamics (MD) simulations combined with the solvated interaction energy (SIE) method to calculate the binding free energies of protease and inhibitor. The results show that polar interactions are unfavorable for the mutated protease bonding to the inhibitor, and slightly favorable for WT, the polar interactions are the main driven force for the drug resistance. The calculated total free energies are consistent with the experimental data. In order to show the contribution of each residue to drug resistance, the van der Waals energies of each residue were calculated by the molecular force field method, the hydrogen bonds between inhibitor and protease were also analyzed. The van der Waals analysis implies that the V82A has smaller influence on the binding model. There are five residues with van der Waals contribution larger than 0.4 kcal/mol for D30N, and six residues for I54M. The hydrogen bond analysis suggests that D30N and I54M lost several hydrogen bonds relative to in WT. The result was in accordance with the SIE results. Our study provides theoretical guidance for the design of new and more potent inhibitors against HIV-1 protease variants.

Key words HIV-1 protease, inhibitor, MD simulation, binding free energy

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0053

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (11447004, 61671107), The Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2014JL006) and the Taishan Scholars Program of Shandong province of China.

**Corresponding author.

HU Guo-Dong. Tel: 86-534-8985933, E-mail: xzszhgd@163.com

WANG Ji-Hua. Tel: 86-534-8985933, E-mail: jhw25336@126.com

Received: June 11, 2017 Accepted: July 27, 2017