

УДК 004.94:547.583.5

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕГРЕССИОННЫХ МОДЕЛЕЙ В МОЛЕКУЛЯРНОМ ДИЗАЙНЕ СОЕДИНЕНИЙ С ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ, АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ И ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРОИЗВОДНЫХ АНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ**Андрюков К.В., Коркодинова Л.М.***ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»**Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, e-mail: k_andrukov@mail.ru*

Статья посвящена математическому моделированию с использованием регрессионных моделей, в молекулярном дизайне соединений с противовоспалительной, анальгетической и противомикробной активностью производных антралиловой кислоты. Для математического моделирования при проведении молекулярного дизайна соединений с противовоспалительной, анальгетической и противомикробной активностями предложен подход, основанный на использовании составленных ранее регрессионных моделей. С целью увеличения производительности проводимого моделирования при его практической реализации, составлен прогнозный комплекс на основе таблиц, с использованием средств Microsoft Excel 2007, состоящий из четырех модулей: модуль 1 «Физико-химические свойства (константы липофильности (logP), константы ионизации (константы кислотности (pKa) и основности (pKb))»); модуль 2 «противовоспалительная активность (ПВА)»; модуль 3 «анальгетическая активность (АА)»; модуль 4 «противомикробная активность (ПМА)». Прогнозный комплекс использован для проведения высокопроизводительного скрининга 203 соединений производных 5-бром(5-йод), 3,5-дихлор(3,5-дибром) антралиловой кислоты на ПВА, АА и ПМА. Результаты моделирования методом молекулярного дизайна, с использованием прогнозного комплекса, показаны на выборке, состоящей из десяти соединений, обладающих по результатам проведенного скрининга выраженными ПВА и АА. Экспериментальное исследование биологической активности подтвердило теоретический результат, получен патент на соединение 1, обладающее выраженной ПВА. Проведенные исследования показали возможность молекулярного дизайна путем изменения структуры, с использованием полученной математической модели, для получения соединений с заданными свойствами и уровнем биологической активности.

Ключевые слова: моделирование, дизайн, регрессия, квантово-химический, докинг, скрининг**MATHEMATICAL MODELING USING REGRESSION MODELS IN THE MOLECULAR DESIGN OF COMPOUNDS WITH ANTI-INFLAMMATORY, ANALGESIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ANTHRANILIC ACID DERIVATIVES****Andryukov K.V., Korkodinova L.M.***Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: k_andrukov@mail.ru*

This article is devoted to mathematical modeling using regression models in the molecular design of compounds with anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial activity of anthranilic acid derivatives. For mathematical modeling during the molecular design of compounds with anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial activities, an approach based on the use of previously developed regression models is proposed. In order to increase the productivity of the modeling performed in its practical implementation, a forecasting complex based on tables using Microsoft Excel 2007 tools has been compiled, consisting of 4 modules: module 1 «Physico-chemical properties (lipophilicity constants (logP), ionization constants (acidity (pKa) and basicity (pKb) constants))»; module 2 «anti-inflammatory activity (AIA)»; module 3 «analgesic activity (AA)»; module 4 «antimicrobial activity (AMA)». The predictive complex was used for high-throughput screening of 203 compounds of derivatives of 5-bromo (5-iodo), 3,5-dichloro (3,5-dibromo) anthranilic acid for AIA, AA and AMA. The results of modeling by the molecular design method, using the predictive complex, are shown in a sample consisting of ten compounds possessing pronounced PVA and AA according to the results of the screening. An experimental study of biological activity confirmed the theoretical result; a patent was obtained for compound 1 with pronounced AIA. Studies have shown the possibility of molecular design by changing structures using the obtained mathematical model to obtain compounds with desired properties and level of biological activity.

Keywords: modeling, design, regression, quantum-chemical, docking, screening

Молекулярный дизайн – это конструирование новых химических соединений с заданными свойствами, с использованием компьютерных методов моделирования. При проведении моделирования используют различные методы и подходы, одним из которых является использование множественного линейного регрессион-

ного анализа. Математическое моделирование с использованием регрессионных моделей представляет собой построение зависимостей прогнозируемого параметра от структуры.

Молекулярный дизайн биологически активных соединений с использованием математических моделей позволяет произ-

вести скрининг (поиск) на определенный вид биологической активности, например противовоспалительную, анальгетическую и противомикробную. Современные методы проведения скрининга основаны на использовании моделей поиска и разработанных на их основе компьютерных программ. Проведением скрининга изучают спектр биологической активности анализируемого ряда соединений и проводят отбор потенциально активных, до проведения их синтеза и биологических испытаний.

Производные антралиновой кислоты или 2-аминобензойной кислоты проявляют различные виды биологической активности, например противовоспалительную [1, 2], анальгетическую [3] и противомикробную [4–6].

Цель исследования: математическое моделирование с использованием регрессионных моделей в молекулярном дизайне соединений с противовоспалительной (ПВА), анальгетической (АА) и противомикробной активностью (ПМА) в ряду производных антралиновой кислоты.

Материалы и методы исследования

Оптимизацию структуры и расчёт квантово-химических дескрипторов исследуемых производных антралиновой кислоты, проводили с использованием программы Gaussian 03 полуэмпирическим методом PM3, с полной оптимизацией геометрии молекул. Моделирование лиганд-рецепторных взаимодействий осуществляли программой AutoDock 4.0 в составе программного комплекса MGL Tools 1.5.6, с использованием Ламарковского генетического алгоритма, который позволяет воспроизводить строение комплексов более точно. Для составления прогнозного комплекса на основе регрессионных моделей использовали Microsoft Excel 2007.

Результаты исследования и их обсуждение

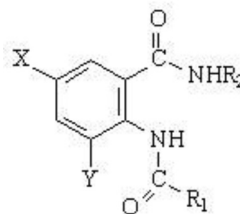
Для математического моделирования при проведении молекулярного дизайна соединений с противовоспалительной, анальгетической и противомикробной активностями, предложен подход, основанный на использовании ранее составленных регрессионных моделей. С целью увеличения производительности проводимого моделирования при его практической реализации, составлен прогнозный комплекс на основе таблиц с использованием средств Microsoft Excel 2007.

В результате получили прогнозный комплекс, состоящий из четырех модулей: модуль 1 «Физико-химические свойства (константы липофильности (logP), константы ионизации (константы кислотности (pKa) и основности (pKb))»); модуль 2 «противовоспалительная актив-

ность (ПВА)»; модуль 3 «анальгетическая активность (АА)»; модуль 4 «противомикробная активность (ПМА)».

Каждый из полученных модулей разделен на модели для соответствующих рядов производных антралиновой кислоты. Валидация использованных уравнений множественной регрессии для составления моделей, приведена по следующим критериям: коэффициент корреляции (R), критерий Фишера (F), критерий оценки методом перекрестного контроля исключением по одному (Q^2_{LOO}) и среднеквадратичная ошибка (S).

Полученный прогнозный комплекс использован для проведения высокопроизводительного скрининга 203 соединений производных 5-бром(5-йод), 3,5-дихлор(3,5-дибром) антралиновой кислоты на ПВА, АА и ПМА. Результаты моделирования методом молекулярного дизайна, с использованием прогнозного комплекса, показаны на выборке, состоящей из десяти соединений, обладающих по результатам проведенного скрининга, выраженными ПВА и АА.



X = Br, Y = H, R₁ = C₆H₅, R₂ = C₆H₄(4-CH₃) (1); X = I, Y = H, R₁ = C₆H₅, R₂ = C₆H₄(4-CH₃) (2); X = Br, Y = Br, R₁ = C₆H₅, R₂ = C₆H₄(4-CH₃) (3); X = Cl, Y = Cl, R₁ = C₆H₄(4-CH₃), R₂ = C₆H₄(4-CH₃) (4); X = Cl, Y = Cl, R₁ = C₆H₅, R₂ = C₆H₄(4-CH₃) (5); X = Br, Y = H, R₁ = 2-фурил, R₂ = C₆H₄(4-CH₃) (6); X = Cl, Y = Cl, R₁ = C₆H₄(4-CH₃), R₂ = CH₂CH₂CH₂CH₃ (7); X = Cl, Y = Cl, R₁ = C₆H₅, R₂ = CH₂C₆H₅ (8); X = Br, Y = Br, R₁ = C₆H₅, R₂ = CH₂C₆H₅ (9); X = Cl, Y = Cl, R₁ = C₆H₄(4-CH₃), R₂ = CH₂C₆H₅ (10).

Модуль 1 «Физико-химические свойства (константы липофильности (logP), константы ионизации (константы кислотности (pKa) и основности (pKb))».

Для прогнозирования физико-химических свойств провели расчёт квантово-химических дескрипторов: суммарные значения напряженности электрического поля $\Sigma(E)$, потенциала $\Sigma(\varphi)$ и абсолютной величины заряда $\Sigma(|q|)$ на атомах кислорода, азота, углерода и водорода $\Sigma(H)$. Квантово-химические параметры рассчитаны полуэмпирическим методом PM3 с полной оптимизацией геометрии молекул с использованием программы Gaussian 03.

Расчёт констант липофильности ($\log P$) в модуле 1 представлен по двум моделям:

Модель 1. Производные N-арилзамещенных антраниловых кислот [7]. Модель описывает зависимость $\log P$ от дескрипторов $\Sigma O(\varphi)$, $\Sigma O(|q|)$, $\Sigma H(\varphi)$ ($R = 0,709$, $F = 4,06$, $N = 16$).

Модель 2. Производные N-алкилзамещенных антраниловых кислот. Модель описывает зависимость $\log P$ от дескрипторов $\Sigma O(E)$, $\Sigma N(E)$, $\Sigma C(\varphi)$, $\Sigma O(\varphi)$ ($R = 0,896$, $F = 17,31$, $N = 22$).

Для исследуемого ряда химических соединений содержащего при атоме азота NH-ацильной группы заместители ароматической природы: фенил, 4-метилфенил, 2-фурил – использовали модель 1. Результаты прогноза $\log P$ приведены в таблице.

Модель расчёта констант ионизации (констант кислотности (pK_a) и основности (pK_b)) сплошная, не разделяет производные антраниловой кислоты по представителям в ряды: модель описывает зависимость pK_a от дескрипторов $\Sigma C(E)$, $\Sigma N(E)$, $\Sigma C(\varphi)$ ($R = 0,817$, $F = 13,38$, $Q^2_{LOO} = 0,52$, $N = 24$) и pK_b от $\Sigma C(E)$, $\Sigma N(E)$, $\Sigma C(\varphi)$, $\Sigma N(\varphi)$ ($R = 0,844$; $F = 11,78$, $Q^2_{LOO} = 0,55$, $N = 24$) [8]. Результаты расчёта pK_a и pK_b представлены в таблице.

Модуль 2 «противовоспалительная активность (ПВА)». Основан на использовании скоринговых функций, полученных в результате молекулярного докинга производных антраниловой кислоты с ферментами циклооксигеназа (ЦОГ) 1 и 2, в качестве мишеней использовали кристаллографические копии ферментов, полученные рентгеноструктурным анализом и представленные в виде pdb-файлов, взятых из базы данных Brookhaven Protein Data Bank: ЦОГ 1 (PDB ID code: 3N8X [9]) и ЦОГ 2: (PDB ID code: 1PXX [10]). При проведении скрининга были использованы скоринговые функции: энергия связывания Be ($Be_{\text{ЦОГ1}}$ и $Be_{\text{ЦОГ2}}$), межмолекулярная энергия I_{me} ($I_{me_{\text{ЦОГ1}}}$ и $I_{me_{\text{ЦОГ2}}}$), константа ингибирования K_i ($K_{i_{\text{ЦОГ1}}}$ и $K_{i_{\text{ЦОГ2}}}$), и рассчитанные значения физико-химических свойств ($\log P$, pK_a , pK_b).

Модуль 2 предназначен для количественного прогнозирования величины ПВА в процентах (%), процент торможения каргенинового отёка) четырёх рядов производных антраниловой кислоты с использованием четырёх моделей:

Модель 1. N-Замещенные антраниловые кислоты ($R = 0,843$, $F = 23,49$, $S = 6,97$, $Q^2_{LOO} = 0,61$, $N = 22$);

Модель 2. Замещенные амиды и гидразиды N-ароилантраниловых кислот ($R = 0,902$, $F = 26,32$, $S = 8,14$, $Q^2_{LOO} = 0,73$, $N = 22$) [11];

Модель 3. Гидразиды и амиды N-ацилантраниловых кислот ($R = 0,859$, $F = 29,61$, $S = 9,84$, $Q^2_{LOO} = 0,61$, $N = 24$);

Модель 4. Ариламида N-ацил-N-алкенилантраниловых кислот ($R = 0,920$, $F = 18,01$, $S = 8,14$, $Q^2_{LOO} = 0,74$, $N = 18$).

Исследуемые производные в своей структуре при атоме азота NH-ацильной группы содержат заместители ароматической природы (фенил, 4-метилфенил, 2-фурил) и относятся к замещенным амидам и гидразидам N-ароилантраниловых кислот. Поэтому для проведения скрининга использовали модель 2, результаты расчёта ПВА приведены в таблице.

Модуль 3 «анальгетическая активность (АА)». Модуль основан на использовании скоринговых функций, полученных в результате молекулярного докинга по ферментам ЦОГ 1 и 2: энергия связывания Be ($Be_{\text{ЦОГ1}}$ и $Be_{\text{ЦОГ2}}$), межмолекулярная энергия I_{me} ($I_{me_{\text{ЦОГ1}}}$ и $I_{me_{\text{ЦОГ2}}}$), константа ингибирования K_i ($K_{i_{\text{ЦОГ1}}}$ и $K_{i_{\text{ЦОГ2}}}$), и прогнозируемые значения $\log P$, pK_a и pK_b .

Модуль 3 предназначен для количественного прогнозирования величины АА (сек), двух рядов производных антраниловой кислоты, в виде моделей 1 и 2:

Модель 1. N-замещенные антраниловые кислоты ($R = 0,899$, $F = 8,46$, $S = 2,27$, $Q^2_{LOO} = 0,51$, $N = 10$);

Модель 2. Амиды и гидразиды N-замещенные 3,5-дибром(Н)антраниловой кислоты ($R = 0,800$, $F = 11,85$, $S = 4,68$, $Q^2_{LOO} = 0,53$, $N = 24$).

При прогнозировании АА исследуемых 10 соединений использовали модель 2, предназначенную для прогнозирования АА амидов N-замещенных. Результаты прогноза АА приведены в таблице.

Модуль 4 «противомикробная активность (ПМА)». Модуль основан на использовании результатов молекулярного докинга по ферменту пептид деформилаза (гидролаза) *E. coli* и *S. aureus*. При проведении докинга в качестве мишеней использовали кристаллографические копии ферментов, полученные рентгеноструктурным анализом и представленные в виде pdb-файлов, взятых из базы данных Brookhaven Protein Data Bank: гидролаза *E. coli* (PDB ID code: 1LRU [12]) и гидролаза *S. aureus* (PDB ID code: 1Q1Y [13]). При проведении скрининга были использованы скоринговые функции: энергия связывания Be ($Be_{E.coli}$ и $Be_{S.aureus}$), межмолекулярная энергия I_{me} ($I_{me_{E.coli}}$ и $I_{me_{S.aureus}}$), константа ингибирования K_i ($K_{i_{E.coli}}$ и $K_{i_{S.aureus}}$), и прогнозируемые значения физико-химических свойств ($\log P$, pK_a и pK_b).

Результаты скрининга 10 соединений на ПВА, АА, ПМА_(E. coli) и ПМА_(S. aureus) и физико-химические свойства (logP, pKa, pKb)

№	logP	pKa	pKb	ПВА, %	АА, сек	ПМА _(E. coli) (мкг/мл)	ПМА _(S. aureus) (мкг/мл)
1	2,74	7,05	13,18	38,85	20	1783	1481
2	2,74	7,05	13,18	51,04	19	1186	1630
3	2,72	6,93	13,10	44,08	13	635	2241
4	2,64	7,47	13,05	45,16	19	380	616
5	2,72	6,93	13,10	42,33	26	559	833
6	2,99	7,02	13,42	50,45	16	1189	1779
7	2,68	8,79	12,30	56,30	20	920	283
8	2,75	7,14	12,96	48,90	20	862	1474
9	2,75	7,14	12,96	45,00	15	663	1525
10	2,67	7,69	12,91	43,00	17	1168	1058

Полученный модуль 4 предназначен для количественного прогнозирования величины ПМА по *E. coli* (ПМА_(E. coli)) и *S. aureus* (ПМА_(S. aureus)) (мкг/мл), трёх рядов производных антралиновой кислоты в виде трёх моделей:

Модель 1. N-Ацилзамещенные антралиновые кислоты: скрининг на ПМА_(E. coli) ($R = 0,915$, $F = 19,43$, $S = 0,30$, $Q^2_{LOO} = 0,72$, $N = 20$) и ПМА_(S. aureus) ($R = 0,944$, $F = 31,03$, $S = 0,25$, $Q^2_{LOO} = 0,81$, $N = 20$).

Модель 2. Замещенные амиды и гидразиды N-ароилантралиновых кислот: скрининг на ПМА_(E. coli) ($R = 0,944$, $F = 31,20$, $S = 0,15$, $Q^2_{LOO} = 0,71$, $N = 20$) и ПМА_(S. aureus) ($R = 0,907$, $F = 17,46$, $S = 0,21$, $Q^2_{LOO} = 0,68$, $N = 20$).

Модель 3. Гидразиды и амиды N-ацилантралиновых кислот: скрининг на ПМА_(E. coli) ($R = 0,901$, $F = 16,25$, $S = 0,43$, $Q^2_{LOO} = 0,68$, $N = 20$) и ПМА_(S. aureus) ($R = 0,883$, $F = 18,94$, $S = 0,42$, $Q^2_{LOO} = 0,69$, $N = 20$).

При проведении скрининга ПМА исследуемых 10 соединений использовали модель 2, предназначенную для прогнозирования ПМА амидов N-ароилзамещенных антралиновой кислоты. Результаты прогноза ПМА приведены в таблице.

Таким образом, проведено моделирование исследуемого ряда на три вида биологической активности (ПВА, АА и ПМА) и выполнен расчёт физико-химических свойств, результат представлен в таблице.

Рассчитаны физико-химические свойства (константы липофильности и ионизации). Максимальное значение липофильности рассчитано для соединения 6 ($\log P = 2,99$), минимальное – у соединения 4 (2,64). Наибольшее значение констант кислотности спрогнозировано для соединений 3 и 5 ($pK_a = 6,93$). Прогнозируемые значения констант основности лежат в интервале 12,30–13,42.

В результате проведенного скрининга обнаружено, что все проанализированные соединения будут обладать выраженной ПВА (свыше 30%), по АА (свыше 19 с), только соединения под номерами 1, 2, 4, 5, 7 и 8. По ПМА прогнозный уровень слабый (от 250 до 1000 мкг/мл) или неактивный (свыше 1000 мкг/мл), перспективных, с ПМА менее 2 мкг/мл не обнаружено. По результатам экспериментального исследования на прогнозируемые активности, получен патент на структуру 1, как соединение обладающее выраженной ПВА [14].

Заключение

Проведенные исследования показали возможность молекулярного дизайна путем изменения структуры, с использованием полученной математической модели, с целью получения соединений с заданными свойствами и уровнем биологической активности.

Таким образом, можно сделать вывод, что составленный прогнозный комплекс, полученный в результате математического моделирования, на основе регрессионных уравнений и Microsoft Excel 2007, может быть использован в молекулярном дизайне соединений с противовоспалительной, анальгетической и противомикробной активностью производных антралиновой кислоты.

Список литературы

1. Amal Abdel Haleem Mohamed Eissa, Gamal El-Hakeem Soliman. Design, Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Structurally Simple Anthranilic Acid Congeners Devoid of Ulcerogenic Side Effects. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2012. vol. 60. no. 10. P. 1290–1300.
2. Maher Abd El-Aziz El-Hashash, Mohammad E.A., Rasha Abd El-Aziz Faty. Synthesis, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Some New Benzoxazinone and Quinazolinone Candidates. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2016. vol. 64. no. 3. P. 263–271.
3. Khaled A.M., Nadia A.K., Eman M.A., Sawsan Abo-Bakr Z. Synthesis and Biological Evaluation of New Heteroaryl

Carboxylic Acid Derivatives as Anti-inflammatory-Analgesic Agents. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2013. vol. 61. no. 2. P. 222–228.

4. Khaldoon AL-Rahawi, Ali AL-Kaf, Shada Y., Sameh EL-Nabtity. Synthesis and biological activities of 2-carboxyphenyloxamoylamino acids, their salts with 2-ethoxy-6,9-Diaminoacridine and D-glucosamine. *Adv. Pharmacoevidem. Drug Safety*. 2013. vol. 2. no. 2. P. 2–6.

5. Meenu Beniwal, Viney Lather, Vikramjeet Judge, Neelam Jain, Amit Beniwal. Anti-inflammatory, antimicrobial activity and qsar studies of anthranilic acid derivatives. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2015. vol. 4. no. 09. P. 1443–1451.

6. Rama Rao Nadendla, Mukkanti K., Sudhakar G. Rao. Microwave Synthesis of some new Quinazolinone Formazans for their Antimicrobial and Anthelmintic Activities. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. 2010. vol. 4. no. 1. P. 545–550.

7. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М. Прогнозирование коэффициента распределения октанол – вода производных N-арилзамещенных антралиловых кислот // *Химико-фармацевтический журнал*. 2013. Т. 47. № 12. С. 38–41.

8. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М. Квантово-химические параметры в исследовании зависимости структура – ионизация N-замещенных моно(ди)галоген(Н) антралиловых кислот, их амидов и гидразидов // *Химико-фармацевтический журнал*. 2016. Т. 50. № 3. С. 23–27.

9. Sidhu R.S., Lee, J.Y., Yuan C.. Comparison of Cyclooxygenase-1 Crystal Structures: Cross-Talk between Monomers Comprising Cyclooxygenase-1 Homodimers. *Journal Biochemistry*. 2010. no. 49. P. 7069–7079.

10. Rowlinson S.W., Kiefer J.R. A Novel Mechanism of Cyclooxygenase-2 Inhibition Involving Interactions with Ser-530 and Tyr-385. *Journal Biol. Chem*. 2003. no. 278. P. 45763–45769.

11. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М. Молекулярный докинг в изучении взаимодействия амидов и гидразидов N-арилзамещенных галоген(Н)антралиловых кислот с циклооксигеназой 1, проявляющих противовоспалительную активность // *Химико-фармацевтический журнал*. 2018. Т. 52. № 5. С. 29–32.

12. Guilloteau J.P., Mathieu M., Giglione C. The crystal structures of four peptide deformylases bound to the antibiotic actinonin reveal two distinct types: a platform for the structure-based design of antibacterial agents. *J. Mol. Biol*. 2002. no. 320. P. 951–962.

13. Yoon H.J., Kim H.L., Lee S.K., Kim H.W. Crystal structure of peptide deformylase from *Staphylococcus aureus* in complex with actinonin, a naturally occurring antibacterial agent. *Proteins*. 2004. no. 57. P. 639–642.

14. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М., Гольдштейн А.Г. 4-Метилфениламид N-бензоил-5-бромантралиловой кислоты, проявляющий противовоспалительную активность // Патент РФ 79892. Патентообладатель ФГБОУ ВО «ПГФА». 2019. Бюл. № 5.