

## СТАТЬИ

УДК 615.281.9:615.011.4:547.583.5

**ПОИСК СОЕДИНЕНИЙ С АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА  
В ИССЛЕДОВАНИЯХ «СТРУКТУРА – АКТИВНОСТЬ»  
ПО ФЕРМЕНТАМ ЦИКЛООКСИГЕНАЗА 1 И 2  
В РЯДУ N-ЗАМЕЩЕННЫХ АНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ****Андрюков К.В., Коркодинова Л.М.***ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»**Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, e-mail: k\_andrukov@mail.ru*

Данная статья посвящена использованию молекулярного докинга по ферменту циклооксигеназа 1 и 2 в исследовании связи «структура – активность» в ряду N-замещенных антралиловых кислот. При проведении докинга использовали ферменты циклооксигеназа 1 (PDB ID code: 3N8X) и 2 (PDB ID code: 1PXX), структуры которых были получены из базы данных RCSB Protein Data Bank. Перед проведением молекулярного докинга выполнена оптимизация и квантово-химический расчёт структур исследуемых соединений полумпирическим методом PM3 с использованием программы Gaussian 03. Провели теоретический расчёт физико-химических дескрипторов исследуемых соединений: констант липофильности ( $\log P_{расч}$ ), констант кислотности ( $pK_{расч}$ ) и основности ( $pK_{расч}$ ). Моделирование лиганд-рецепторных взаимодействий осуществляли программой AutoDock 4.0 в составе программного комплекса MGL Tools 1.5.6, с использованием Ламарковского генетического алгоритма. В результате проведенного докинга получены скоринговые функции: энергия связывания (Binding energy ( $Be_{COX1}$ ,  $Be_{COX2}$ )) и межмолекулярная энергия (Intermolecular energy ( $Ime_{COX1}$ ,  $Ime_{COX2}$ )), характеризующие взаимодействие лиганда с рецептором. Выполнены исследования зависимости анальгетической активности от скоринговых функций и физико-химических дескрипторов. Составлены модели «структура – активность» проведением множественного линейного регрессионного анализа с использованием программы Statistica 6. Составлено четыре корреляционных уравнения, связывающих скоринговые функции и физико-химические дескрипторы с анальгетической активностью, проведена проверка на примере трех соединений. Таким образом, полученные модели «структура – активность» могут быть использованы для проведения скрининга на анальгетическую активность соединений в ряду производных антралиловой кислоты, которые планируется синтезировать.

**Ключевые слова:** антралиловая кислота, молекулярный докинг, анальгетическая активность, квантово-химические параметры, структура – активность

**SEARCH FOR COMPOUNDS WITH ANALGESIC ACTIVITY USING MOLECULAR  
DOCKING IN STRUCTURE – ACTIVITY STUDIES ON CYCLOOXYGENASE 1  
AND 2 ENZYMES IN A SERIES OF N-SUBSTITUTED ANTHRANILIC ACIDS****Andryukov K.V., Korkodinova L.M.***Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: k\_andrukov@mail.ru*

This article is devoted to the use of molecular docking for the cyclooxygenase 1 and 2 enzyme in the study of the structure – activity relationship in a series of N-substituted anthranilic acids. When docking, the enzymes cyclooxygenase 1 (PDB ID code: 3N8X) and 2 (PDB ID code: 1PXX) were used, the structures of which were obtained from the RCSB Protein Data Bank database. Before molecular docking, optimization and quantum chemical calculation of the structures of the compounds under study was performed by the semi-empirical PM3 method using the Gaussian 03 program. Ligand – receptor interactions were modeled using the AutoDock 4.0 program as part of the MGL Tools 1.5.6 software package using the Lamarckian genetic algorithm. As a result of docking scoring functions: the binding energy (Binding energy ( $Be_{COX1}$ ,  $Be_{COX2}$ )) and intermolecular energy (Intermolecular energy ( $Ime_{COX1}$ ,  $Ime_{COX2}$ )) characterizing the interaction of the ligand with the receptor. Studies of the dependence of analgesic activity on scoring functions and physico-chemical descriptors have been performed. The structure – activity models were compiled by performing multiple linear regression analysis using the Statistica 6 program. Four correlation equations linking scoring functions and physicochemical descriptors with analgesic activity were compiled. The compiled models were tested using 3 compounds as an example. Thus, the obtained mathematical models can be used for screening for analgesic activity of compounds in a number of derivatives of anthranilic acid, which are planned to be synthesized.

**Keywords:** anthranilic acid, molecular docking, analgesic activity, quantum chemical parameters, structure – activity

Моделирование взаимодействия с организмом с целью проведения скрининга с использованием молекулярного докинга, и полученных на его основе соотношений «структура – активность» позволяет про-

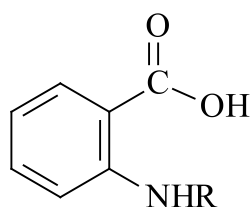
водить целенаправленный поиск соединений с выбранным видом фармакологической активности. Использование молекулярного докинга возможно в том случае если известна мишень, с которой взаимодействует исследу-

емый лиганд. Перед проведением скрининга методом молекулярного докинга важно узнать фермент, воздействие на который приводит к появлению у исследуемого лиганда анализируемой биологической активности.

Антралиловая кислота принимает участие в широком спектре биохимических реакций, используется в качестве одного из ключевых реагентов в полусинтетическом методе получения ряда антибиотиков, как, например, кальцимицина, проявляющего противомикробную активность [1]. Производные антралиловой кислоты относятся к классу биологически активных соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности: анальгетической [2], противовоспалительной и противомикробной [3–6].

Проведение моделирования по анальгетической активности является актуальным при проведении целенаправленного поиска веществ с выраженной анальгетической активностью. Сочетание молекулярного докинга с физико-химическими дескрипторами позволяет учитывать в проводимых исследованиях физико-химические свойства веществ, увеличивая качество модели, как, например, модель «структура – противовоспалительная активность» [7].

Цель исследования: исследование связи «структура – анальгетическая активность» с использованием молекулярного докинга по ферментам циклооксигеназа (ЦОГ) 1 и 2 в ряду N-замещенных антралиловых кислот (10 соединений)



- R = CH<sub>2</sub>CH=C(Cl)CH<sub>3</sub> (1);
- R = CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> (2);
- R = COC<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(2,4-Cl<sub>2</sub>) (3);
- R = COCONHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> (4);
- R = COCOOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (5);
- R = CO(2-фурил) (6);
- R = CO Ad (7);
- R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (8);
- R = COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(2-OCH<sub>3</sub>) (9);
- R = COCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (10)

#### Материалы и методы исследования

Структуры всех лигандов были построены и оптимизированы с использованием программы Gaussian 03 полуэмпирическим

методом PM3 с полной оптимизацией геометрии молекул, и затем были конвертированы в 3D-формат (.pdb) с помощью программы ChemBio3D Ultra 12,0.

Определение анальгетической активности (АА) проводили на беспородных белых мышах массой 18–23 г на модели «горячей пластинки». Исследуемые соединения вводили внутрь в дозе 50 мг/кг за 0,5 ч до помещения животных на металлическую пластинку, нагретую до 53,5 °С. Каждое соединение испытывали на пяти животных. Показателем изменения болевой чувствительности служила измеряемая в секундах длительность пребывания животных на горячей пластине до момента облизывания ими задних лапок [8].

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. При проведении молекулярного докинга мы использовали трёхмерные модели молекул фермента, информация о которых получена из базы данных RCSB Protein Data Bank ЦОГ 1 (PDB ID code: 3N8X [9]) и 2 (PDB ID code: 1PXX [10]). Изначально, все молекулы воды были удалены из структуры белка. Файлы рецептора и лигандов были конвертированы в формат PDBQT-файла, с добавлением недостающих атомов водорода и частичных атомных зарядов по методу Гастейгера.

В процедуре докинга, с координатами точек (60×60×60) вокруг каждого моделируемого участка, по ферменту ЦОГ 1 при построении Grid-карт за центр были взяты координаты лиганда (x = -19,44, y = -54,38, z = 6,07), а для фермента ЦОГ 2 координаты лиганда (x = 26,25, y = 25,04, z = 14,66). В результате получено 10 Grid-карт по параметрам для исследуемых соединений по ЦОГ 1 и 2. Оценку качества позиционирования характеризовали величиной RMSD, представляющей собой среднеквадратичное отклонение положения лиганда после докинга от его начального положения в белке.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Структуры всех лигандов были построены и оптимизированы с использованием программы Gaussian 03 полуэмпирическим методом PM3 с полной оптимизацией геометрии молекул. В результате получены квантово-химические дескрипторы: суммарные значения напряженности электрического поля Σ(E), потенциала Σ(φ) и заряда Σ(|q|)

на атомах углерода, кислорода, азота и водорода (табл. 1). Рассчитанные квантово-химические дескрипторы использовали для теоретического расчёта физико-химических дескрипторов исследуемых соединений с помощью зависимостей «структура – свойство»: констант липофильности ( $\log P_{\text{расч}}$ ) [11], констант кислотности ( $\text{pKa}_{\text{расч}}$ ) и основности ( $\text{pKb}_{\text{расч}}$ ) [12] (табл. 1).

водородных связей с аминокислотами активного участка ферментов ЦОГ 1 и 2.

Результат проведенного молекулярного докинга по ферментам ЦОГ 1 и 2 представлен в табл. 2 виде скоринговых функций: энергия связывания (Binding energy ( $\text{Be}_{\text{ЦОГ1}}$  и  $\text{Be}_{\text{ЦОГ2}}$ )) и межмолекулярная энергия (Intermolecular energy ( $\text{Ime}_{\text{ЦОГ1}}$  и  $\text{Ime}_{\text{ЦОГ2}}$ )), характеризующие взаимодействие лиганда с рецептором.

Таблица 1

Квантово-химические дескрипторы N-замещенных антралиловых кислот

№	C(E)	N(E)	C( $\phi$ )	O( $\phi$ )	N( $\phi$ )	O( q )	$\log P_{\text{расч}}$	$\text{pKa}_{\text{расч}}$	$\text{pKb}_{\text{расч}}$
1	5,43	0,40	125,71	27,07	13,18	0,70	1,74	6,74	12,40
2	4,97	0,40	110,98	25,96	12,79	0,69	1,66	6,43	12,60
3	8,47	0,52	171,22	41,01	13,83	1,02	2,48	5,10	13,42
4	6,18	0,95	143,04	54,51	26,62	1,32	1,06	7,89	12,03
5	5,32	0,49	126,17	67,55	13,07	1,61	0,44	7,17	11,91
6	5,87	0,22	135,61	54,03	13,27	1,11	2,92	6,34	13,03
7	13,31	0,67	264,12	46,25	15,79	1,03	2,04	3,93	14,14
8	7,51	0,24	169,77	27,40	14,15	0,70	1,95	6,11	13,22
9	7,76	0,23	185,36	58,14	14,42	1,23	2,89	6,82	12,74
10	8,41	0,10	186,32	42,85	14,53	0,97	1,33	5,47	13,99

Значения констант липофильности лежат в интервале от 0,44 (у соединения 5) до 2,92 (соединение 6). Константы кислотности, характеризующие ионизацию, рассчитанные значения которых находятся в пределах от 5,10 (соединение 3) до 7,89 (для соединения 4). Значения констант основности, в интервале от 11,91 у соединения 5 до 13,42, для соединения 3.

Для 10 соединений из ряда N-замещенных антралиловых кислот была экспериментально определена АА. Установлено, что большинство изучаемых амидов обладает различным уровнем АА от 13,5 до 27 с (табл. 2).

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.

В качестве активного сайта фермента ЦОГ 1 был принят участок макромолекулы, содержащий аминокислоты (SER530, TYR385, ARG120, TYR355, ALA527, MET113, LEU531, VAL116, VAL349, ILE523, PHE518, LEU352, PHE381, TRP387, LEU359, ALA527, ILE517, LEU384) [9] и ЦОГ 2 (VAL349, ALA527, TYR355, VAL523, LEU352, TRP387, PHE518, LEU384, TYR385, ARG120, SER530) [10]. Значимыми считали гидрофобные взаимодействия и образование межмолекулярных

Таблица 2

АА<sub>эксп.</sub> и скоринговые функции по ЦОГ 1 и 2 N-замещенных антралиловых кислот

№	АА <sub>эксп.</sub> , сек	$\text{Be}_{\text{ЦОГ1}}$	$\text{Ime}_{\text{ЦОГ1}}$	$\text{Be}_{\text{ЦОГ2}}$	$\text{Ime}_{\text{ЦОГ2}}$
1	27,0	-6,12	-7,61	-4,87	-6,36
2	23,0	-4,15	-6,44	-4,62	-6,11
3	17,3	-6,91	-8,10	-6,24	-7,43
4	16,2	-5,99	-7,78	-5,06	-6,85
5	13,5	-5,42	-7,21	-4,69	-6,48
6	17,0	-6,18	-7,38	-5,27	-6,46
7	17,1	-6,71	-7,91	-7,14	-8,33
8	14,6	-7,39	-8,89	-6,20	-7,69
9	17,6	-6,35	-7,85	-6,42	-7,74
10	22,8	-6,35	-7,84	-6,68	-8,17

С целью составления модели «структура – аналгетическая активность» проведен множественный линейный регрессионный анализ с использованием программы Statistica 6, зависимости АА<sub>эксп.</sub> от констант липофильности ( $\log P_{\text{расч}}$ ), ионизации ( $\text{pKa}_{\text{расч}}$  и  $\text{pKb}_{\text{расч}}$ ) и скоринговых функций по ферментам ЦОГ 1 и 2 ( $\text{Be}_{\text{ЦОГ1}}$ ,  $\text{Be}_{\text{ЦОГ2}}$ ,  $\text{Ime}_{\text{ЦОГ1}}$ ,  $\text{Ime}_{\text{ЦОГ2}}$ ).

Всего было сгенерировано свыше 23 уравнений регрессии методом пошагового включения параметров с использованием программы Statistica 6, из которых были отобраны четыре уравнения 1–4 (табл. 3).

Таблица 3

Уравнения множественной регрессии зависимости  $AA_{\text{эксп.}}$  от  $\log P_{\text{расч.}}$ ,  $pK_{\text{в, расч.}}$ ,  $Ve_{\text{цог1}}$ ,  $Ime_{\text{цог1}}$ ,  $Ve_{\text{цог2}}$ ,  $Ime_{\text{цог2}}$ .

№	Уравнение регрессии	R	F	S	$Q^2_{\text{LOO}}$
1	$AA_{\text{расч.1}} = 43,689 - 3,519 \times Ve_{\text{цог1}} + 6,107 \times Ime_{\text{цог1}}$	0,398	0,66	4,42	0
2	$AA_{\text{расч.2}} = -5,451 + 4,089 \times pK_{\text{в, расч.}} + 4,784 \times Ve_{\text{цог1}}$	0,880	7,09	2,69	0,40
3	$AA_{\text{расч.3}} = 21,906 + 2,649 \times pK_{\text{в, расч.}} + 4,946 \times Ime_{\text{COX1}}$	0,745	4,36	3,21	0,04
4	$AA_{\text{расч.4}} = -20,489 + 4,501 \times pK_{\text{в, расч.}} + 7,190 \times Ve_{\text{цог1}} - 3,187 \times Ime_{\text{цог1}}$	0,899	8,46	2,27	0,51

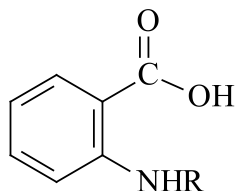
Таблица 4

$\log P_{\text{расч.}}$ ,  $pKa_{\text{расч.}}$ ,  $pK_{\text{в, расч.}}$  скоринговые функции по ЦОГ 1 и 2,  $AA_{\text{расч.4}}$ ,  $AA_{\text{эксп.}}$  N-замещенных антралиловых кислот (10 соединений)

№	$\log P_{\text{расч.}}$	$pKa_{\text{расч.}}$	$pK_{\text{в, расч.}}$	$Ve_{\text{цог1}}$	$Ime_{\text{цог1}}$	$Ve_{\text{цог2}}$	$Ime_{\text{цог2}}$	$AA_{\text{расч.4}}$	$AA_{\text{эксп.}}$ , сек
1	2,50	6,00	12,72	-6,95	-8,12	-6,54	-7,74	13,6	11,7
2	1,57	7,11	11,86	-5,10	-8,12	-6,15	-7,39	11,1	13,8
3	1,02	6,23	12,86	-5,63	-6,82	-4,99	-6,18	18,7	21,3

Установлено, что полученное уравнение 4 имеет наибольшие значения коэффициента корреляции (R), критерия Фишера (F) и минимальное значение среднеквадратичной ошибки (S). Проведена оценка составленных уравнений методом перекрестного контроля с выбором по одному (Leave-one-out Cross-validation, LOO) ( $Q^2_{\text{LOO}}$ ), с использованием программы Statographic. Определен коэффициент детерминации предсказаний  $Q^2_{\text{LOO}}$ , показывающий значимость составленных уравнений. К наиболее значимым по рассчитанным критериям R, F,  $Q^2_{\text{LOO}}$  относится модель в виде уравнений 4.

Уравнение 4, апробировано для теоретического расчёта AA на трех примерах соединений 11 – 13 из ряда N-замещенных антралиловых кислот (табл. 4).



- R =  $\text{CO}C_6H_3(3-CH_3)$  (11);  
 R =  $\text{CO}C_6H_4(4-NO_2)$  (12);  
 R =  $\text{COCH}_2\text{Cl}$  (13)

Для проверки проведенного прогноза по соединениям 11–13, была экспериментально определена AA ( $AA_{\text{эксп.}}$ ) (табл. 4).

Оценку точности прогнозирования AA по полученному уравнению 2 проводи-

ли с использованием среднеквадратичной ошибки прогноза ( $S_{\text{прогн.}}$ ).

#### Заключение

Проведен теоретический расчёт физико-химических дескрипторов исследуемых соединений с использованием зависимостей «структура – свойство». Для 13 соединений из ряда N-замещенных антралиловых кислот была экспериментально определена AA.

Выполнены исследования взаимодействия анализируемых производных с ЦОГ 1 и 2 методом молекулярного докинга, в результате получены скоринговые функции  $Ve_{\text{цог1}}$ ,  $Ve_{\text{цог2}}$ ,  $Ime_{\text{цог1}}$ ,  $Ime_{\text{цог2}}$ . Составлена модель «структура – аналгетическая активность». Проведена проверка полученной модели на трех соединениях. Для оценки качества прогноза рассчитано значение  $S_{\text{прогн.}}$  которое равно 2,43. Полученный результат сопоставим со значением S по уравнению 4.

Таким образом, можно сделать вывод, что полученную модель в виде уравнения 4 можно использовать для прогнозирования AA N-замещенных производных антралиловых кислот.

#### Список литературы

1. Prudhomme M., Dauphin G., Guyot J., Jeminet G. Semi-synthesis of A23187 (Calcimycin) analogs II. Introduction of a methyl group on the benzoxazole ring. The Journal of antibiotics. 1984. Vol. 37. No. 6. P. 627–634.
2. Svehnikova O.M., Kolisnyk S.V., Vinnyk O.F., Kostina T.A., Zhukova T.V. The molecular design of biologically active derivatives of N-phenylanthranilic acid. Zurnal organičnoi ta farmacevtičnoi himii. 2018. Vol. 16. No. 1(61). P. 49–53.

3. 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.
4. Alferova D.A., Svechnikova E.N., Suleiman M.M., Gritsenko I.S., Kazakov G.P., Popova N.V. Reationary ability of 3,5-Dibromo-N-Phenylanthranilic acids Derivatives. *Research J. Pharm. and Tech*. 2018. № 11 (9). P. 1–3.
5. Kuldeep Mahiwal, Pradeep Kumar, Balasubramanian Narasimhan. Synthesis, antimicrobial evaluation, ot-QSAR and mt-QSAR studies of 2-amino benzoic acid derivatives. *Medicinal Chemistry Research*. 2012. Vol. 21. No. 3. P. 293–307.
6. Shahzad M., Jamshaid A.. Synthesis, Antioxidant and Antimicrobial activity of 4-aminophenol and 2-aminobenzoic acid based novel azo compounds. *Asian J. Chem*. 2015. Vol. 27. No. 10. P. 3551–3554.
7. 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.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.И. Миронова. М.: Гриф и К°, 2012. 944 с.
9. Sidhu R.S., Lee J.Y., Yuan C., Smith W.L. Comparison of cyclooxygenase-1 crystal structures: cross-talk between monomers comprising cyclooxygenase-1 homodimers. *Journal Biochemistry*. 2010. Vol. 49. P. 7069–7079.
10. Rowlinson W.S., Kiefer J.R., Prusakiewicz J.J., Pawlitz J.L., Kozak K.R., Kalgutkar A.S. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *J. Biol. Chem*. 2003. Vol. 278. P. 45763–45769.
11. 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.
12. 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.