

## СТАТЬИ

УДК 615.281.9: 615.011.4: 547.583.5

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ «СТРУКТУРА – АКТИВНОСТЬ» ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПО ОТНОШЕНИЮ К *E. COLI* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОНСТАНТ ЛИПОФИЛЬНОСТИ И ИОНИЗАЦИИ N-ЗАМЕЩЕННЫХ АНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ****Андрюков К.В.***ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»  
Министерства здравоохранения РФ, Пермь, e-mail: k\_andrukov@mail.ru*

Публикация посвящена проведению исследований по влиянию структуры на антимикробную активность в отношении *E. coli* (АМА К.П.). Для описания структуры использовали физико-химические параметры: константы липофильности и ионизации, рассчитанные значения которых получены программой АК\_QSAR (logP, pKa, pK<sub>b</sub>) для веществ ряда N-замещенных антралиловых кислот (18 производных). Моделирование проводили на основе ранее полученных экспериментальных данных АМА К.П. по методике испытания биологической активности методом двукратных серийных разведений, определенные в виде МПК переводили в логарифм МПК (log(1/МПК)) и получали дескриптор биологической активности log АМА К.П.. Исследована количественная зависимость «структура – противомикробная активность», основанная на множественном линейном регрессионном анализе зависимости log АМА К.П. от значений log P<sub>расч</sub>, pKa<sub>расч</sub> и pK<sub>b</sub> расч. Всего с использованием программы Statistica 6 было найдено свыше 25 уравнений регрессии, из которых были отобраны два уравнения. Выполнена проверка на независимой выборке из шести соединений. В результате проведенной проверки получен коэффициент корреляции прогнозируемых значений с экспериментальными, равный 0,758. Таким образом, можно сделать вывод, что найденные уравнения можно использовать для проведения виртуального скрининга в ряду N-замещенных антралиловых кислот на противомикробную активность в отношении *E. coli*.

**Ключевые слова:** антралиловая кислота, константа липофильности, ионизация, противомикробная активность, структура – активность

**QUANTITATIVE MODELING OF THE «STRUCTURE-ACTIVITY» OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN RELATION TO *E. COLI* USING LIPOPHILICITY AND IONIZATION CONSTANTS OF N-SUBSTITUTED ANTHRANILIC ACIDS****Andryukov K.V.***Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: k\_andrukov@mail.ru*

The publication is devoted to research on the effect of structure on antimicrobial activity (PMA) against *E. coli* (AMA K.P.). To describe the structure, physicochemical parameters were used: the lipophilicity and ionization constants, the calculated values of which were obtained by the AK\_QSAR program (logP, pKa, pK<sub>b</sub>) for substances of series N-substituted anthranilic acids (18 derivatives). The simulation was carried out on the basis of previously obtained experimental data of the AMA K.P. the testing of biological activity by the method of twofold serial dilution, defined in the MIC were transferred to the logarithm of the MIC (log(1/MIC)) and received a descriptor of the biological activity log of AMA K.P.. The quantitative dependence of «structure- antimicrobial activity» based on multiple linear regression analysis of the dependence of log AMA K. P. from the values of log P<sub>calc</sub>, pKa<sub>calc</sub>, and pK<sub>b</sub> calc was investigated. In total, over 25 regression equations were found using the Statistica 6 program, from which two equations were selected. The test was performed on an independent sample of 6 substances. As a result of the verification, the correlation coefficient of the predicted values with the experimental values was obtained equal to 0,758. in this way, it can be concluded that the equations found can be used for virtual screening in a series of N-substituted anthranilic acids for antimicrobial activity against *E. coli*.

**Keywords:** anthranilic acid, lipophilicity constant, ionization, antimicrobial activity, structure-activity

Исследование в области виртуально-го скрининга занимает длительное время, что негативно сказывается на проведении поиска новых потенциальных лекарственных средств. Одним из путей реализации цели виртуального скрининга является построение количественной зависимости «структура – активность».

Точное предсказание биологической активности больших наборов разнообразных соединений является чрезвычайно сложной задачей. Исследования в моделировании биологической активности помогают сделать вычислительный прогноз, они необхо-

димы для открытия новых лекарств. Каждая функциональная зависимость биологической активности от структуры принимает заранее определенную функциональную форму, основанную на теории, для взаимосвязи между переменными, характеризующими комплекс, которые также включают параметры, соответствующие экспериментальным или имитационным данным, и их прогнозируемое средство к привязке. Неотъемлемая проблема этого функционального подхода заключается в том, что он приводит к плохой предсказуемости для тех соединений, которые не соответствуют допущениям модели-

рования. Более того, стратегии повторной выборки, такие как перекрестная проверка, все еще систематически не используются для защиты от чрезмерного соответствия калибровочных данных при оценке параметров модели «структура – активность» [1].

Проведение компьютерного моделирования в области исследования зависимости «структура – активность» является актуальным, позволяет создавать прогнозные модели молекулярных систем, как, например, прогнозирования биологической активности. При проведении исследований количественной зависимости биологической активности от структуры необходимо учитывать параметры, оказывающие влияние на проникновение веществ в организм. К таким параметрам относятся липофильность, численно обозначается константой липофильности ( $\log P$ ) и ионизация с помощью констант ионизации (кислотности ( $pK_a$ ) и основности ( $pK_b$ )).

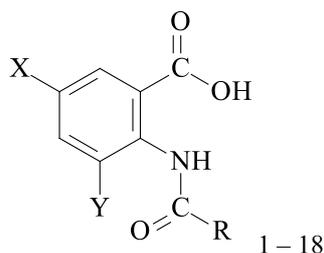
Исследование соединений ряда производных антралиновой кислоты (а. к.) позволяет обнаружить вещества с противомикробной [2, 3], противовоспалительной и анальгетической активностями.

Выделены а. к. из морских грибов *Penicillium paneum* SD-44 с антимикробной активностью [4].

Исследование зависимости «структура – активность» по прогнозированию противомикробной активности по отношению к *E. coli* позволит проводить целенаправленный синтез веществ с выраженной противомикробной активностью. Использование при прогнозировании фармакокинетических параметров:  $\log P$ ,  $pK_a$  и  $pK_b$  – позволяет проводить построение моделей биологической активности с учётом особенностей всасывания и распределения соединений в организме [5].

Цель данной работы связана с количественным моделированием антимикробной активности по отношению к *E. coli* (АМА К.П.) от структуры «структура – активность» с использованием констант липофильности ( $\log P_{\text{рассч}}$ ) и констант ионизации ( $pK_{a \text{ рассч}}$  и  $pK_{b \text{ рассч}}$ ).

Объектом проводимого исследования являются N-замещенные производные антралиновой кислоты (18 соединений).



X = Br, Y = H, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (1); X = Br, Y = H, R = 2-OCH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (2); X = Br, Y = H, R = 3-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (3); X = Br, Y = H, R = 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (4); X = Br, Y = H, R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (5); X = I, Y = H, R = CH=CHCOOH (6); X = I, Y = H, R = C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Cl (7); X = I, Y = H, R = C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>Cl (8); X = I, Y = H, R = 3-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (9); X = I, Y = H, R = 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (10); X = I, Y = H, R = 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (11); X = I, Y = H, R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (12); X = Br, Y = Br, R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (13); X = Br, Y = Br, R = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl (14); X = Br, Y = H, R = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl (15); X = Br, Y = H, R = адамантил (16); X = Br, Y = Br, R = адамантил (17); X = I, Y = H, R = адамантил (18)

### Материалы и методы исследования

Математическое регрессионное моделирование проводили программой Statistica 6.

Теоретические значения  $\log P_{\text{рассч}}$ ,  $pK_{a \text{ рассч}}$  и  $pK_{b \text{ рассч}}$  24 соединений получены с использованием программы АК\_QSAR ( $\log P$ ,  $pK_a$ ,  $pK_b$ ) [6] (табл. 1, 3).

### Результаты исследования и их обсуждение

Определены экспериментальные значения противомикробной активности (*E. coli*) 18 соединений из ряда N-замещенных антралиновых кислот [7]. Для изучаемых произво-

дных определены различные значения МПК, от 2 до 1500 мкг/мл (табл. 1). Полученный результат по противомикробной активности: МПК (мкг/мл) переводили в логарифм:  $\log(1/\text{МПК})$  *E. coli* [8] для выравнивания полученных экспериментальных результатов и получения дескриптора биологической активности – антимикробная активность по кишечной палочке ( $\log$  АМА К.П.).

Известно много программ прогнозирования констант липофильности, например программа Ligand Scout, которую использовали для изучения структуры производных N-замещенных антралиновых кислот (рис. 1).

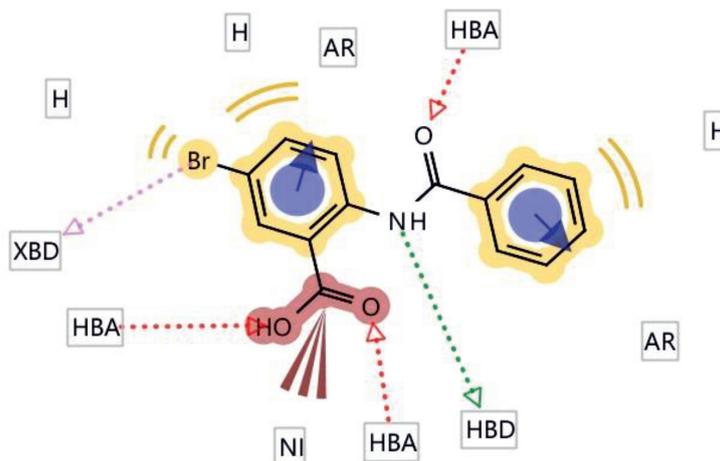


Рис. 1. Диаграмма соединения 1, гидрофобные области показаны жёлтым цветом

В результате изучения структуры N-замещённого производного антралиловой кислоты определены гидрофобные фрагменты: атом галогена (бром) и два ароматических кольца. Далее проводили квантово-химические расчёты и полученные результаты использовали при проведении прогноза свойств программой AK\_QSAR (logP, pKa, pKв).

Таблица 1

МПК<sub>эксп. (E. coli)?</sub> log AMA К.П. эксп.,  
log P<sub>рассч?</sub> pKa<sub>рассч?</sub> pKв<sub>рассч?</sub> N-замещённых  
антралиловых кислот (18 соединений)

№	МПК <sub>эксп. (E. coli)?</sub> МКГ/МЛ	log AMA К.П. эксп.	logP <sub>рассч</sub>	pKa <sub>рассч</sub>	pKв <sub>рассч</sub>
1	62	-1,792	2,57	5,84	13,51
2	2	-0,301	3,06	6,42	12,98
3	250	-2,398	1,70	7,18	12,89
4	500	-2,699	2,58	5,51	13,75
5	250	-2,398	1,31	5,11	14,33
6	500	-2,699	0,25	6,91	12,43
7	500	-2,699	1,07	6,76	12,68
8	250	-2,398	1,04	6,25	13,14
9	250	-2,398	1,66	7,33	12,81
10	250	-2,398	2,63	5,52	13,60
11	62	-1,792	2,60	6,59	12,99
12	250	-2,398	1,31	5,18	14,28
13	1500	-3,176	1,55	5,16	13,78
14	1000	-3,000	1,13	6,16	13,06
15	1000	-3,000	1,04	6,18	13,19
16	1000	-3,000	2,02	3,51	14,47
17	1500	-3,176	1,99	3,26	14,63
18	1500	-3,176	2,02	3,58	14,42

С помощью программного комплекса AK\_QSAR (logP, pKa, pKв) рассчитаны значения log P<sub>рассч?</sub>, pKa<sub>рассч?</sub> и pKв<sub>рассч?</sub> 18 соединений (табл. 1).

Рассчитанные значения log P<sub>рассч?</sub> находятся в интервале от 0,25 у соединения 6 до 3,06 (соединение 2). Значения pKa<sub>рассч?</sub> (констант кислотности) находятся в пределах от 3,26 (соединение 17) до 7,33, для соединения 9. Константы основности (pKв<sub>рассч?</sub>) в интервале от 12,43 у соединения 6 до 14,63, для соединения 17.

Выполнены исследования зависимости биологической активности от структуры «структура – активность», в качестве изучаемой активности использовали log AMA К.П. эксп. Взаимосвязь структурных дескрипторов (log P<sub>рассч?</sub>, pKa<sub>рассч?</sub>, pKв<sub>рассч?</sub>) с log AMA К.П. эксп. изучали множественным линейным регрессионным анализом программой Statistica 6.

По результатам проведённого анализа было получено свыше 25 уравнений, из которых выбрали два наиболее значимых для прогнозирования log AMA К.П. эксп. (табл. 2).

Значимость полученных уравнений регрессии проверяли значениями коэффициента множественной регрессии (R), среднеквадратической ошибки (S), критерия Фишера (F) и Q<sup>2</sup><sub>LOO</sub>.

Коэффициент множественной регрессии зависимости структурных параметров от log AMA К.П. эксп. лежит в диапазоне 0,766–0,769. Критерий Фишера составляет от 6,76 до 10,70. Ошибка прогнозирования находится в диапазоне 0,47–0,48. Оценка с использованием программы Statographics, по значению коэффициента детерминации предсказаний Q<sup>2</sup><sub>LOO</sub> по уравнению 2, выше и равна 0,33.

Таблица 2

Уравнения множественной линейной регрессии зависимости  $\log$  АМА К.П. от  $\log P_{\text{расч.}}$ ,  $pK_{a, \text{расч.}}$ ,  $pK_{b, \text{расч.}}$

№	Уравнение регрессии	R	F	S	Q <sup>2</sup> <sub>LOO</sub>
1	$\log \text{АМА К.П. расч.} = -8,197 + 0,600 \times \log P_{\text{расч.}} + 0,411 \times pK_{a, \text{расч.}} + 0,171 \times pK_{b, \text{расч.}}$	0,769	6,76	0,48	0,30
2	$\log \text{АМА К.П. расч.} = -5,397 + 0,608 \times \log P_{\text{расч.}} + 0,322 \times pK_{a, \text{расч.}}$	0,766	10,70	0,47	0,33

Таблица 3

$\log P_{\text{расч.}}$ ,  $pK_{a, \text{расч.}}$ ,  $pK_{b, \text{расч.}}$ ,  $\log$  АМА К.П. расч.,  $\log$  АМА К.П. эксп.  
N-замещенных антралиловых кислот (6 соединений)

№	$\log P_{\text{расч.}}$	$pK_{a, \text{расч.}}$	$pK_{b, \text{расч.}}$	$\log$ АМА К.П. расч.	МПК <sub>расч.</sub> ( <i>E. coli</i> ) <sup>?</sup> МКГ/МЛ	$\log$ АМА К.П. эксп.	МПК <sub>эксп.</sub> ( <i>E. coli</i> ) <sup>?</sup> МКГ/МЛ
19	2,55	5,58	13,68	-2,05	111	-2,39	250
20	1,02	6,53	13,01	-2,67	464	-2,09	125
21	0,66	6,64	11,30	-2,85	713	-2,09	125
22	2,57	5,68	13,62	-2,00	100	-1,19	15,6
23	1,05	5,51	13,30	-2,98	953	-3,00	1000
24	1,00	5,90	13,07	-2,89	768	-2,39	250

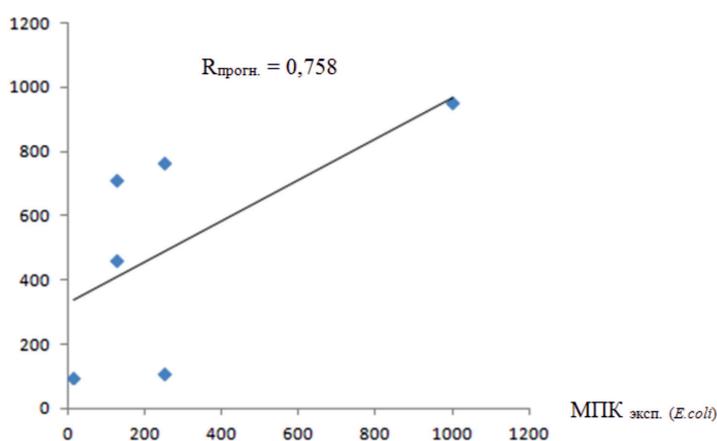
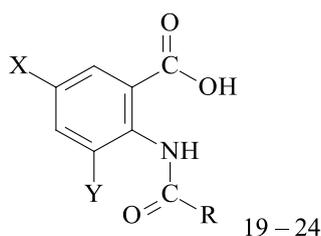
МПК<sub>расч.</sub> (*E. coli*)

Рис. 2. Линейная диаграмма зависимости коэффициента корреляции прогнозируемых значений с экспериментальными ( $R_{\text{прогн.}}$ )

Проведена валидация уравнения 2, для расчёта АМА К.П. на примерах шести соединений 19–24 из ряда N-замещенных антралиловых кислот (табл. 3).



X = Br, Y = H, R = 2-фурил (19); X = I, Y = H, R = C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> (20); X = I, Y = H, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (21);

X = I, Y = H, R = 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (22); X = Br, Y = Br, R = CH<sub>2</sub>Cl (23); X = Br, Y = H, R = CH<sub>2</sub>Cl (24)

Результаты определения АМА К.П. эксп. соединений 19–24 приведены в табл. 3.

Оценку точности прогнозирования МПК<sub>*E. coli*</sub> по полученному уравнению 2, проводили с использованием коэффициента корреляции ( $R_{\text{прогн.}}$ ) прогнозируемых значений ( $\log$  АМА К.П. расч.) с экспериментальными ( $\log$  АМА К.П. эксп.) (табл. 3), при этом  $\log$  АМА К.П. переводили в МПК ( $10^{\log \text{АМА К.П.}}$ ).

На рис. 2 приведена линейная диаграмма с  $R_{\text{прогн.}} = 0,758$ .

## Заключение

Проведены математические исследования в области количественного моделирования антимикробной активности с использованием зависимости предложенного дескриптора биологической активности  $\log \text{АМА К.П.}$  от  $\log P_{\text{расч}}$ ,  $pK_{\text{расч}}$ ,  $pK_{\text{в расч}}$  N-замещенных производных антралиловой кислоты.

Из найденных двух уравнений регрессионного моделирования  $\log \text{АМА К.П.}$  выделено уравнение 2 с наибольшими значениями статистических параметров, характеризующих значимость модели.

Проверка на выборке из шести соединений показала хорошие результаты с коэффициентом корреляции экспериментальных данных с рассчитанными, равным 0,758.

Высокие результаты проверки позволяют предложить использование найденной количественной модели «структура – активность» для математического моделирования противомикробной активности при поиске соединений лидеров с антимикробной активностью в отношении *E. coli* производных антралиловой кислоты.

## Список литературы

1. Pedro J.B., John B.O. Mitchell. A machine learning approach to predicting protein–ligand binding affinity with applications to molecular docking. *Structural bioinformatics*. 2010. Vol. 26. No. 9. P. 1169–1175.
2. Qingyao S., Linda K. Banbury, Alan T. Maccarone, Dane E. Renshaw. Antibacterial anthranilic acid derivatives from *Geijera parviflora*. *Fitoterapia*. 2014. Vol. 93. P. 62–66.
3. Shahzad M. Synthesis, antioxidant and antimicrobial activity of 4-aminophenol and 2-aminobenzoic acid based novel azo compounds. *Asian Journal Chem*. 2015. Vol. 27, issue10. P. 3551–3554.
4. Chun-Shun Li, Shu-Shan Gao, Xiao-Ming Li. Cytotoxic anthranilic acid derivatives from deep sea sediment-derived fungus *Penicillium paneum* SD-44. *Marine drugs*. 2013. Vol. 11. No. 8. P. 3068–3076.
5. Meenu B., Viney L., Vikramjeet J., Neelam J., Amit B. 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. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М. Компьютерная программа «АК QSAR (logP, pKa, pKb)» № ОФЭРНЮ: 24143; ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» // Хроники объединенного фонда электронных ресурсов наука и образование. 2019. № 07 (122). С. 26–27.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. Миронова А.И. М.: Гриф и К°, 2012. 944 с.
8. Meryem P., Agirbas H., Budak F., Ilter M. Synthesis, characterization, antimicrobial activity, and QSAR studies on substituted oxadiazaboroles. *Medicinal Chemistry Research*. 2016. Vol. 25. P. 1794–1812.