

СТАТЬЯ

УДК 615.212:577.151.042:547.583.5

ПОИСК ДЕСКРИПТОРА АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В РЯДУ АМИДОВ И ГИДРАЗИДОВ N-ЗАМЕЩЕННЫХ АНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА ПО ИНТЕРЛЕЙКИНУ 2**Андрюков К.В.**

*ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь,
e-mail: k_andrukov@mail.ru*

Цель исследования заключается в проведении поиска описательной числовой структурной характеристики аналгетической активности в ряду амидов и гидразидов N-замещенных антралиловых кислот, исследованием межмолекулярных взаимодействий молекулярной стыковкой по интерлейкину 2. Статистическую обработку, основанную на корреляции, автор проводил с использованием Microsoft Excel 2007 и пакета Statistica 10. Молекулярное моделирование в отношении интерлейкина 2 изучено с использованием Autodock 4 и MGL Tools. Проведен анализ взаимодействия анализируемых веществ с биомолекулой интерлейкин 2. Выполнен корреляционный отбор методом постановки и выравнивания корреляционным анализом зависимости энергии докинга от аналгетической активности. Оценка аналгетической активности проведена по методике горячая пластинка в секундах. Корреляционному анализу подвергались полученные данные из десяти конформаций по каждому соединению. Всего было изучено 24 вещества. В поиске зависимости, основанной на молекулярной стыковке с интерлейкином 2, автор применил результаты моделирования, при связывании лиганда с участком биомолекулы. Проведена оценка взаимодействия веществ с ферментом интерлейкин 2 при помощи изучения корреляционной зависимости энергии взаимодействия с аналгетической активностью. Показана достаточно сильная зависимость, равная 0,720.

Ключевые слова: антралиловая кислота, молекулярный докинг, корреляция, интерлейкин 2, аналгетическая активность

SEARCH FOR A DESCRIPTOR OF ANALGESIC ACTIVITY IN A SERIES OF AMIDES AND HYDRAZIDES OF N-SUBSTITUTED ANTHRANILIC ACIDS BY MOLECULAR DOCKING BY INTERLEUKIN 2**Andryukov K.V.**

*Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Perm, e-mail: k_andrukov@mail.ru*

Purpose of the study is to search for descriptive numerical structural characteristics of analgesic activity in a few amides and hydrazides of N-substituted anthranilic acids, by studying intermolecular interactions by molecular interleukin 2 docking. The author carried out statistical processing based on correlation using Microsoft Excel 2007 and the Statistica 10 package. Molecular modeling with respect to interleukin 2 has been studied using Autodock 4 and MGL Tools. The analysis of the interaction of the analyzed substances with the bio-target interleukin 2 was carried out. Correlation selection was performed by the method of formulation and alignment by correlation analysis of the dependence of docking energy on analgesic activity. Analgesic activity was assessed using the hot plate method in seconds. The data obtained from ten conformations for each compound were subjected to correlation analysis. A total of 24 substances were studied. In the search for a dependence based on molecular docking with interleukin 2, the author applied the simulation results when binding a ligand to a biomolecule site. The interaction of substances with the interleukin 2 enzyme was evaluated by studying the correlation dependence of the interaction energy with analgesic activity. So far, there is a fairly strong dependence, equal to 0,720.

Keywords: anthranilic acid, molecular docking, correlation, interleukin 2, analgesic activity

Введение

Огромные затраты и время, затрачиваемые на разработку новых лекарств, подчеркивают необходимость «кардинального изменения» парадигмы создания лекарств. Необходимость своевременной адаптации и применения подходов компьютерного моделирования (*in silico*) в фармацевтических исследованиях широко признана, и ожидается, что это улучшит общую согласованность процесса разработки лекарств [1].

Использование вычислительных методов при поиске и разработке лекарств в настоящее время регулярно используется в качестве инструмента для определения приоритетов экспериментов на каждом этапе процесса. По истечении времени, при проведении исследования, соединение может выходить из строя в процессе разработки, тем дороже оно обходится, следовательно, крайне желательно предсказать этот сбой на ранней стадии процесса разработки ле-

карственного средства. Количественная оценка характеристики химических структур является основным направлением в изучении взаимосвязей структуры и активности. Информатика и вычислительная химия потенциально могут сыграть важную и разнообразную роль в разработке библиотек, предшествующих синтезу, поскольку невозможно синтезировать каждую молекулу, которая может быть получена. В последние годы изучению взаимосвязи «структура – активность» уделяется значительное внимание, поскольку они могут быть получены непосредственно из молекулярной структуры без особых экспериментальных усилий [2]. Прогнозирование биологической активности лиганда является ключевой проблемой в разработке лекарств. Статистические подходы на основе лигандов часто затрудняются шумом из-за недостаточной выборки: количество молекул, которые, как известно, активны или неактивны, значительно меньше количества возможных химических характеристик, которые могут определять связывание [3].

Успех подходов, связанных с количественным моделированием активности от структуры, можно объяснить возможностью определения приоритета будущих виртуальных аналогов перед синтезом. Методы изучения взаимосвязей, основанные на математическом сравнении связи – перспективны [4].

Цель исследования заключается в проведении поиска числовой структурной характеристики анальгетической активности в ряду амидов и гидразидов N-замещенных антралиловых кислот исследованием взаимодействия молекулярной стыковкой по интерлейкину 2.

Материалы и методы исследования

Статистическую обработку, построенную на корреляции, автор проводил с применением Microsoft Excel 2007 и пакета Statistica 10. Молекулярная стыковка в отношении интерлейкина 2 изучена при помощи программ изучения стыковки Autodock 4 и MGL Tools. Модель биомолекулы (PDB ID code: 1m48 [5]). Обезболивающий эффект определен на модели горячей пластинки, в секундах.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе изучения было выяснено, что в качестве участка стыковки и ориентирования изучаемых молекул, декартовых координат точки – кластера, полученный на основе ацетилсалициловой кислоты (АСК), как вещества, обладающего противовоспалитель-

ным и обезболивающим эффектом. Кластер состоит из структур, найденных по результатам стыковки с биомолекулой (интерлейкин 2 (ИЛ-2)), и наименьшим значением потенциальной энергии стыковки ($Be = -5,22$ ккал/моль) (рис. 1).

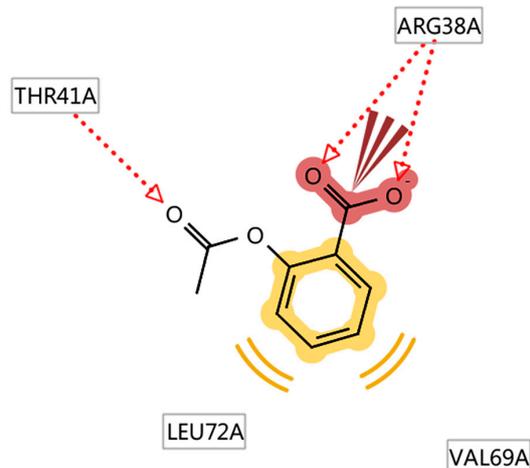


Рис. 1. Область связывания анализируемой АСК с ИЛ-2

Область связывания АСК по биомолекуле интерлейкина 2 включает в себя липофильные области по остаткам аминокислот: лейцин 72 (LEU72A) и валин 69 (VAL62A)). Ионное и водород-связанное взаимодействие с формированием связей кислорода карбонильной группы по остатку аргинина 38, и ацетильного фрагмента по сложной эфирной группе.

При использовании кластера молекулярная стыковка происходит по четырем фрагментам аминокислот: лейцин 72 (LEU72A), валин 69 (VAL62A), треонин 41 (THR41A) и аргинин 38 (ARG38A)).

Изучение молекулярной стыковки по интерлейкину 2 и корреляционное моделирование проведено для выборки из 24 веществ (рис. 3): амиды и гидразиды N-замещенных антралиловых кислот, общая формула которых представлена на рис. 2.

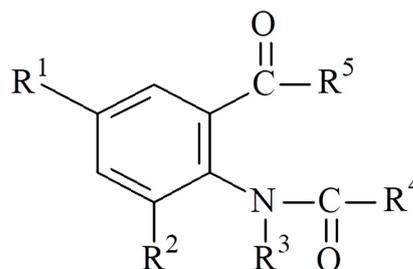
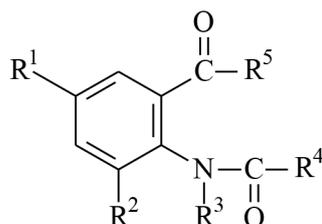


Рис. 2. Строение исследуемых веществ I-XXIV, которые изучены в работе, с радикалами: R^1, R^2, R^3, R^4, R^5



- $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = 4\text{-BrC}_6\text{H}_4, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ (I);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = 2\text{-furyl}, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ (II);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ (III);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = 3,4,5\text{-(OCH}_3)_3\text{C}_6\text{H}_2, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ (IV);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{COOC}_2\text{H}_5, R^5 = \text{NH NHCOCOC}_2\text{H}_5$ (V);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{CONHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^5 = \text{NH NH}_2$ (VI);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{CONHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ (VII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{CONHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^5 = \text{NH (CH}_2)_2\text{N(C}_2\text{H}_5)_2$ (VIII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{CONHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH(CH}_3)_2$ (IX);
 $R^1 = \text{Br}, R^2 = \text{Br}, R^3 = H, R^4 = \text{CH}_3, R^5 = \text{NH CH}_3$ (X);
 $R^1 = \text{Br}, R^2 = \text{Br}, R^3 = H, R^4 = \text{CH}_3, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (XI);
 $R^1 = \text{Br}, R^2 = \text{Br}, R^3 = H, R^4 = \text{CH}_3, R^5 = \text{NH CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (XII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{adamantyl}, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ (XIII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{COOC}_2\text{H}_5, R^5 = \text{NH C}_6\text{H}_{11}$ (cyclohexyl) (XIV);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{COOC}_2\text{H}_5, R^5 = 4\text{-morpholinyl}$ (XV);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{CONHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^5 = \text{NH (CH}_2)_2\text{CH(CH}_3)_2$ (XVI);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = \text{CONHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^5 = \text{NH CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (XVII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CClCH}_3, R^4 = \text{adamantyl}, R^5 = \text{NH 4-BrC}_6\text{H}_4$ (XVIII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^4 = \text{CH}_3, R^5 = \text{NH 4-ClC}_6\text{H}_4$ (XIX);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^4 = \text{CH}_3, R^5 = \text{NH 4-BrC}_6\text{H}_4$ (XX);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CClCH}_3, R^4 = \text{CH}_3, R^5 = \text{NH 5-bromopyridine-2-yl}$ (XXI);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2, R^4 = \text{C}_6\text{H}_5, R^5 = \text{NH 3-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (XXII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CClCH}_3, R^4 = \text{CH}_3, R^5 = \text{NH 4-BrC}_6\text{H}_4$ (XXIII);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CClCH}_3, R^4 = \text{CH}_2\text{Cl}, R^5 = \text{NH 4-BrC}_6\text{H}_4$ (XXIV).

Рис. 3. Структура изучаемых соединений I–XXIV

Для класса веществ, которые исследуются, характерен широкий спектр биологической активности [6, 7].

В результате проведенного молекулярного докинга, основанного на кластере с координатами ($x = -4,560, y = 11,693, z = -11,274$), автором получены результаты, которые описаны в табл. 1. По каждому производному (I–XXIV) представлены данные: 10 результатов молекулярной стыковки в виде значений энергий по ИЛ 2 (binding energy ($Be_{ил2}$)).

Выполнен корреляционный отбор методом подстановки и выравнивания по коэффициенту корреляции результатов молекулярного докинга по связи с анальгетической активностью.

Для определения АА использована методика горячая пластинка, данные приведены в секундах (с). Данные, полученные из десяти конформаций по каждому соединению, были подвергнуты статистическому анализу.

Таблица 1

Анальгетическая активность и энергии стыковки анализируемых соединений (I–XXIV) по ИЛ 2

№	Энергия связывания (Be) по конформациям (Be _{ил 2})										AA _{экср.} , с
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
I	-6,47	-4,53	-5,19	-5,35	-4,9	-5,52	-5,45	-5,54	-7,00	-4,75	17,4
II	-4,80	-4,45	-4,19	-5,23	-5,3	-4,48	-4,55	-4,37	-4,74	-4,80	31,8
III	-5,75	-5,30	-4,82	-6,01	-5,88	-5,08	-5,6	-4,71	-5,17	-4,72	23,0
IV	-3,96	-3,43	-4,37	-5,22	-3,12	-3,76	-2,88	-3,44	-4,30	-3,34	24,4
V	-5,36	-3,53	-4,01	-3,44	-4,60	-3,12	-3,27	-3,39	-3,23	-3,86	26,0
VI	-4,39	-5,42	-5,22	-4,62	-4,77	-4,03	-3,33	-3,52	-3,92	-5,13	36,6
VII	-5,01	-5,26	-5,63	-4,38	-4,74	-3,17	-3,88	-4,26	-4,47	-3,89	31,6
VIII	-3,18	-3,12	-3,10	-3,49	-2,17	-2,08	-3,01	-4,6	-3,69	-3,33	31,3
IX	-3,94	-4,06	-3,82	-3,25	-4,21	-3,89	-3,74	-4,54	-4,67	-3,24	27,0
X	-4,86	-5,03	-5,08	-4,72	-4,34	-5,29	-5,06	-5,23	-5,17	-5,15	21,4
XI	-4,29	-4,72	-3,97	-3,82	-4,52	-4,07	-4,15	-4,45	-4,22	-3,56	19,0
XII	-6,16	-6,37	-5,73	-5,53	-5,67	-5,46	-5,43	-5,00	-4,85	-5,57	27,4
XIII	-4,05	-4,53	-6,14	-4,88	-4,63	-4,41	-4,13	-4,77	-4,35	-4,83	27,0
XIV	-4,11	-4,33	-5,37	-5,2	-4,76	-4,94	-3,93	-4,72	-4,67	-4,74	31,0
XV	-4,28	-4,49	-3,88	-4,28	-3,78	-3,90	-4,32	-3,98	-4,21	-4,47	25,0
XVI	-4,53	-4,28	-3,18	-3,72	-4,53	-4,76	-3,38	-3,24	-4,36	-4,76	28,0
XVII	-4,00	-4,53	-3,27	-2,76	-4,14	-3,20	-4,14	-4,73	-2,59	-3,70	41,3
XVIII	-3,68	-4,89	-4,83	-4,98	-5,14	-5,39	-5,09	-4,88	-4,38	-3,89	11,0
XIX	-5,25	-5,28	-4,54	-4,81	-5,25	-5,17	-5,04	-4,90	-5,35	-4,50	29,0
XX	-5,04	-5,62	-5,63	-5,23	-5,42	-5,21	-5,48	-4,64	-5,40	-5,01	17,0
XXI	-5,10	-5,2	-4,88	-5,17	-5,74	-5,71	-4,90	-5,27	-5,35	-5,28	27,0
XXII	-5,23	-4,64	-5,35	-4,77	-5,51	-4,11	-5,40	-4,88	-4,61	-5,05	13,6
XXIII	-5,63	-5,47	-5,36	-5,20	-5,18	-5,66	-5,23	-6,02	-5,72	-5,43	21,2
XXIV	-5,57	-5,19	-4,78	-4,57	-5,07	-4,36	-5,47	-5,01	-5,56	-5,26	15,2

Всего изучено 24 соединения (I–XXIV). Проведена оценка взаимодействия исследуемых веществ с активным участком ИЛ-2 по энергии связывания. Вещества с AA: 25 с и более, энергетически взаимодействуют с участком мишени при Be_{ил-2} в диапазоне от -4,49 до -5,42 ккал/моль.

Энергетически коррелируемое взаимодействие позволяет предположить наличие пространственной области биомишени, обеспечивающей контакт с ИЛ-2. Наличие области взаимодействия подтверждается проведением исследования с использованием трехмерного моделирования AA, осуществлен поиск дескриптора AA на основе энергии докинга, выраженной в ккал/моль. Поиск дескриптора осуществлялся методом линейаризации, выравнивая выборку относительно прямой линии, достигая максимальной линейности, что является следствием

проводимого изучения, проведением обучения дескриптора на количественную связанность с AA (Be_{ил-2 AA}).

Выбор конформаций представлен в табл. 2. В ходе изучения было выявлено, что все соединения имеют высокие показатели стыковки при взаимодействии с различными аминокислотными остатками: аргинин (ARG38), треонин (THR41) и лизин (LYS43). Анализ результатов молекулярного докинга показал, что корреляционный анализ в области поиска дескриптора AA позволяет проводить отбор конформаций вне зависимости от одного пространственного кластера.

По данным, приведенным в табл. 2, обнаружено наличие нескольких кластеров, поэтому обработка выборки только по одному кластеру не приведет к получению целевого результата.

Таблица 2

Результаты взаимодействия анализируемого ряда лигандов с ИЛ-2 по зависимости с $AA_{\text{эксп.}}$

№ соединения	Конформация №	Н-связь (ИЛ-2)	$Ve_{\text{ИЛ-2}}$	$Ki_{\text{ИЛ-2}}, \text{мкмоль}$	$Ime_{\text{ИЛ-2}}$	RMSD ref	$AA_{\text{эксп.}}, \text{с}$
I	2	THR41	-4,53	479,03	-6,02	8,13	17,4
II	5	ARG38, THR41	-5,3	129,92	-6,79	3,76	31,8
III	8	нет	-4,71	350,25	-6,50	5,03	23,0
IV	3	ARG38, THR41	-4,37	628,22	-6,75	3,80	24,4
V	5	ARG38, THR41	-4,60	422,17	-7,29	6,06	26,0
VI	2	ARG38, THR41	-5,42	106,39	-7,21	3,08	36,6
VII	2	ARG38, THR41	-5,26	140,59	-7,34	3,18	31,6
VIII	8	ARG38, THR41	-4,6	421,83	-7,59	5,08	31,3
IX	9	ARG38, THR41	-4,67	374,69	-6,76	4,07	27,0
X	5	ARG38	-4,34	655,09	-4,94	4,28	21,4
XI	7	нет	-4,15	913,47	-5,64	5,31	19,0
XII	9	нет	-4,85	278,05	-6,04	5,77	27,4
XIII	10	LYS43, THR41	-4,83	286,09	-6,33	2,01	27,0
XIV	4	ARG38, THR41	-5,2	154,39	-6,99	3,34	31,0
XV	2	ARG38	-4,49	509,07	-5,98	3,69	25,0
XVI	10	ARG38	-4,76	326,03	-7,14	3,76	28,0
XVII	8	ARG38, THR41	-4,73	343,64	-7,11	2,95	41,3
XVIII	1	LYS43	-3,68	2,0	-5,47	7,89	11,0
XIX	8	ARG38	-4,9	256,59	-6,39	4,95	29,0
XX	8	THR41	-4,64	400,25	-6,13	6,09	17,0
XXI	3	THR41	-4,88	262,63	-6,38	6,85	27,0
XXII	6	ARG38, THR41	-4,11	976,66	-5,90	3,60	13,6
XXIII	5	THR41	-5,18	159,23	-6,67	5,92	21,2
XXIV	6	THR41	-4,36	632,42	-6,15	5,84	15,2

Проведено описание коррелируемого кластера поиска анализируемого ряда лигандов по результатам анализа Statistica 10 и простого регрессионного анализа. Результаты отбора докинг-конформаций описаны значимым уравнением линейной регрессии ($p < 0,05$), с коэффициентом корреляции равным 0,720:

$$Ve_{\text{ИЛ-2 AA}} = -3,6629 - 0,0408 \times AA$$

$$(R = 0,720; F = 23,71;$$

$$p = 0,00007; S = 0,29; N = 24).$$

Заключение

Проведена оценка взаимодействия исследуемых соединений с интерлейкином 2, с использованием корреляционного анализа с анальгетической активностью. В ходе проведенного исследования обнаружен коэффициент корреляции R, равный 0,720. Предложенная автором методика, получения направленного дескриптора биоактивности, дает возможность объединить несколько пространственных кластеров в один, связанный с биоактивностью. Параллельно с продолжением расчета взаимосвязи

«структура – аналгетическая активность» в ряду анализируемых лигандов ряда, показана возможность анализа биомишени, для выявления биоактивных соединений.

Список литературы

1. Dutt R., Madan A.K. Development and application of novel molecular descriptors for predicting biological activity // *Medicinal Chemistry Research*. 2017. Vol. 26. P. 1988–2006. DOI: 10.1007/s00044-017-1906-x
2. Sahoo S., Adhikari C., Kuanar M., Mishra B. A short review of the generation of molecular descriptors and their applications in quantitative structure property/activity relationships // *Current computer-aided drug design*. 2016. Vol. 12, Is. 3. P. 181–205.
3. Lee A.A., Yang Q., Bassyouni A., Butler C.R., Hou X., Jenkinson S., Price D.A. Ligand biological activity predicted by cleaning positive and negative chemical correlations // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019. Vol. 116, Is. 9. P. 3373–3378.
4. Toropov A.A., Toropova A.P., Leszczynska D., Leszczynski J. “Ideal correlations” for biological activity of peptides // *BioSystems*. 2019. Vol. 181. P. 51–57.
5. Arkin M.R., Randal M., DeLano W.L., Hyde J., Luong T.N., Oslob J.D., Raphael D.R., Taylor L., Wang J., McDowell R.S., Wells J.A., Braisted A.C. Binding of small molecules to an adaptive protein-protein interface // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. Vol. 100 (4). P. 1603–1608.
6. Niu C., Zong Z., Zhang X., Wu R., Li N., Wang H., Caifeng B., Fan Y. Synthesis, structures and biological activity of novel complexes with trifluorinated anthranilic acid derivatives // *Journal of Molecular Structure*. 2019. Vol. 1194. P. 42–47.
7. Ragipindi A.R., Vanka K.R., Bhavani R., Bhavani B. Synthesis and antibacterial activity of some novel hydrazone derivatives of anthranilic acid // *World J. Pharm. Res*. 2015. Vol. 4, Is. 11. P. 1219–1229.