УДК 547.583.5 : 615.011.4 : 615.276

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОСВЯЗИ СТРУКТУРЫ С ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ N– АЛКИЛЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОЭФФИЦИЕНТА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОКТАНОЛ-ВОДА

Коркодинова Л.М., Андрюков К.В., Вейхман Г.А., Ендальцева О.С., Визгунова О.Л.
ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», Пермь, e-mail: k_andrukov@mail.ru

Определены значения коэффициента распределения октанол-вода (logP) 17 соединений ряда N- алкилзамещенных производных антраниловой кислоты спектрофотометрическим методом. Проведен регрессионный анализ и получено 3 корреляционных уравнения, связывающих logP с экспериментально определенной противовоспалительной активностью ($ПВА_{эксп}$). С целью проверки пригодности составленных корреляционных уравнений для прогнозирования ПВА экспериментально определены константы липофильности 7 новых соединений. Рассчитаны значения прогнозируемого противовоспалительного действия с помощью полученных уравнений. Экспериментально определены значения $ПВА_{эксп}$ исследуемых 7 соединений, которые в результате проведенных биологических испытаний являются активными. Для проведения оценки прогнозирования ПВА в сравнении с экспериментально определенными значениями вычислены значения средней квадратичной ошибки прогноза. В результате проверки выявлено, что использование уравнений линейной и логарифмической зависимостей S = 9,90 и S = 9,44 соответственно приводит к более точным результатам прогнозирования $ПВА_{эксп}$. По итогам оценки качества прогноза можно сделать вывод, что рассчитанные уравнения (1) и (2) могут быть использованы в дальнейших исследованиях для целенаправленного синтеза новых активных соединений с противовоспалительным действием в ряду N- алкилзамещенных производных антраниловой кислоты.

Ключевые слова: N-алкилзамещенные производные антраниловой кислоты, константа липофильности (logP), противовоспалительная активность, структура–активность.

THE RESEARCHES OF RELATIONSHIP OF STRUCTURE WITH ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF N– ALKYLSUBSTITUTED DERIVATIVES OF ANTHRANILIC ACID WITH USE THE FACTOR OF DISTRIBUTION OCTANOL-WATER

Korkodinova L.M., Andryukov K.V., Veykhman G.A., Endaltseva O.S., Vizgunova O.L.
Perm state pharmaceutical academy, Perm, e-mail: k_andrukov@mail.ru

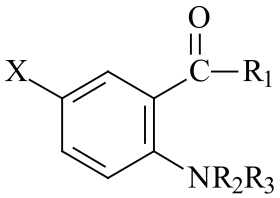
The values of factor of distribution octanol-water (logP) of 17 substances of N–alkylsubstituted derivatives of anthranilic acid by a spectrofotometric method are defined. It is transacted the analysis of regression and received 3 correlation equations connecting the logP with experimentally defined anti-inflammatory activity (AIA_{exp}). For the purpose check of suitability of the made correlation equations for prediction of AIA, the values logP of 7 new substances are experimentally defined. Values of anti-inflammatory action with use of the made equations are calculated. It is experimentally defined AIA_{exp} of investigated 7 substances which by results of biological tests are active. For carrying out of an estimation of prediction AIA in comparison with experimentally certain values of an average square-law error of the prediction are calculated. As a result of check it is revealed, that use of the equations of linear and logarithmic dependences S = 9,90 and S = 9,44, accordingly, leads to more exact results of prediction of AIA. Following the results of an estimation of quality of the prediction it is possible to draw a conclusion, that the calculated equations (1) and (2) can be used in the further researches for search of active substances with anti-inflammatory action among of N– alkylsubstituted derivatives of anthranilic acid.

Keywords: N-alkylsubstituted derivatives of anthranilic acid, a lipophilicity constant (logP), anti-inflammatory activity, structure-activity

Липофильность – физико-химический параметр, вызывающий большой интерес в QSAR исследованиях благодаря значительной роли в описании динамических и фармакокинетических аспектов действия биологически активных соединений [5]. Многие из процессов распределения веществ зависят от способности их пересечь мембраны, которая измеряется количественно константой распределения в системе 1 – октанол-вода (logP) [7]. Вещества с большим значением logP высоколипофильны и легко проникают через клеточную мембрану, а с низкой – не способны к проникновению в клетку [2, 3].

Цель данной работы заключается в установлении количественной зависимости между экспериментально определенными значениями коэффициента распределения октанол – вода ($logP_{эксп}$) и величиной противовоспалительной активности (ПВА). Объектом исследования являются производные антраниловой кислоты, при атоме азота которых содержатся ацильные, аллильный или 3-хлорбутен-

2-ильный заместители, под общим названием N–алкилзамещенные производные антраниловой кислоты (17 соединений).



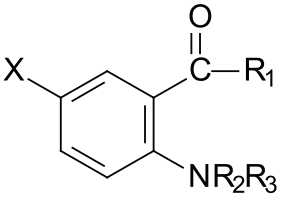
$X = H, R_1 = NHCH_2CH = CH_2, R_2 = H, R_3 = COCH_2Cl$ (I);
$X = H, R_1 = NHCH_2CH = CH_2, R_2 = H, R_3 = COCH_2CH_2CH_3$ (II);
$X = H, R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = COCH_2Cl$ (III);
$X = Br, R_1 = NH_2, R_2 = H, R_3 = COCH_2Cl$ (IV);
$X = Br, R_1 = NH_2, R_2 = H, R_3 = COCH_2CH_2CH_2Cl$ (V);
$X = Br, R_1 = NHCH_2CH = CH_2, R_2 = H, R_3 = COCH_2CH_2Cl$ (VI);
$X = H, R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = COCONHCH_2CH = CH_2$ (VII);
$X = H, R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = COCH_3$ (VIII);
$X = H, R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = CH_2CH = CH_2$ (IX);
$X = H, R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (X);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(4\text{-}Br), R_2 = H, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XI);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(2\text{-}CH_3), R_2 = H, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XII);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(4\text{-}Br), R_2 = COCH_3, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XIII);
$X = H, R_1 = NHC_6H_5, R_2 = H, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XIV);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(2\text{-}CH_3), R_2 = COCH_3, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XV);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(4\text{-}OCH_3), R_2 = COCH_3, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XVI);
$X = H, R_1 = NHCH_2CH_2OH, R_2 = H, R_3 = COCONHCH_2CH = CH_2$ (XVII).

Для изучения количественной зависимости фармакологического действия от физико-химических свойств соединений экспериментально определены величины коэффициента распределения октанол–вода ($\log P_{эксп}$) спектрофотометрическим методом [6, 8]. Полученные результаты и их метрологические характеристики (S – стандартное отклонение среднего результата, $\pm\Delta\log P$ средний и – значение относительной погрешности среднего результата при уровне значимости ($\alpha = 0{,}05$)) для 17 соединений этого ряда (I–XVII), приведены в табл. 1. Значения $\log P_{эксп}$ лежат в интервале от 0,56 до 3,20.

Для исследования связи структура – противовоспалительная активность использовали значения $ПВА_{эксп}$ (%), определенные через 4 часа, а для соединений $ПВА_{эксп}$, которых определено через 3 и 5 часов, среднее значение (табл. 1).

С целью установления корреляционной зависимости между константой липофильности и $ПВА_{эксп}$ был проведен регрессионный анализ с использованием программы Statistica 6. В результате составлены три однопараметровых уравнения линейной, логарифмической и квадратичной регрессии (табл. 2), значимость которых была доказана с помощью вычисленного значения p, при $\alpha = 0{,}05$, критериев Фишера и Стьюдента.

Для того чтобы проверить прогнозирующую способность составленных регрессионных уравнений, определены значения $\log P_{эксп}$ семи новых соединений из ряда N-алкилзамещенных производных антраниловой кислоты (XVIII–XXIV) (табл. 3).



$X = H, R_1 = NH_2, R_2 = H, R_3 = CH_2CH = CH_2$ (XVIII);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(3\text{-}CH_3), R_2 = H, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XIX);

$X = H, R_1 = NHC_6H_4(4\text{-}CH_3), R_2 = H, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XX);
$X = H, R_1 = NHC_6H_5, R_2 = COCH_3, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XXI);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(3\text{-}CH_3), R_2 = COCH_3, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XXII);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(4\text{-}CH_3), R_2 = COCH_3, R_3 = CH_2CH = C(Cl)CH_3$ (XXIII);
$X = H, R_1 = NHC_6H_4(4\text{-}Cl), R_2 = COCH_3, R_3 = CH_2CH = CH_2$ (XXIV).

Таблица 1

Противовоспалительная активность и константы липофильности N–алкилзамещенных производных антраниловой кислоты (I–XVII)

Соединение	Метрологические характеристики log $P_{эксп}$				ПВА$_{эксп}$, %
	log $P_{эксп}$ средний	S	±Δlog $P_{эксп}$ средний	$\bar{\varepsilon}$	
I	1,48	0,0176	0,08	2,97	39,85
II	1,82	0,0167	0,07	2,27	25,00
III	0,78	0,0120	0,05	3,84	33,50
IV	2,05	0,0120	0,05	1,45	44,95
V	2,08	0,0176	0,08	2,11	38,75
VI	2,73	0,0153	0,07	1,39	47,50
VII	0,99	0,0120	0,05	3,03	14,50
VIII	0,56	0,0100	0,04	4,44	24,90
IX	1,87	0,0176	0,08	2,35	37,00
X	1,47	0,0153	0,07	2,58	48,50
XI	1,47	0,0219	0,09	3,70	18,90
XII	3,20	0,0120	0,05	0,93	59,00
XIII	2,35	0,0153	0,07	1,61	40,40
XIV	2,70	0,0186	0,08	1,71	62,00
XV	2,70	0,0318	0,14	2,92	50,10
XVI	2,27	0,0233	0,10	2,56	42,40
XVII	1,14	0,0176	0,08	3,85	39,00

Таблица 2

Корреляционные уравнения взаимосвязи значений констант липофильности с ПВА$_{эксп}$

№ п/п	Корреляционное уравнение	*N*	*R*	*F*	*t*	*p*
1	ПВА$_{эксп}$ = 15,305 + 12,825·log *P*	17	0,742	18,42	2,56	0,00064
2	ПВА$_{эксп}$ = 29,402 + 42,773·log (log *P*)	17	0,686	13,37	8,23	0,00234
3	ПВА$_{эксп}$ = 25,293 + 3,474·log P^2	17	0,758	20,33	6,76	0,00042

Таблица 3

Константы липофильности N–алкилзамещенных производных антраниловой кислоты (XVIII–XXIV)

Соединение	Метрологические характеристики log $P_{эксп}$			
	log $P_{эксп}$ средний	S	±Δlog $P_{эксп}$ средний	$\bar{\varepsilon}$
XVIII	1,73	0,0186	0,08	2,66
XIX	2,82	0,0203	0,09	1,79
XX	2,71	0,0203	0,09	1,85
XXI	2,30	0,0219	0,09	2,36
XXII	2,80	0,0208	0,09	1,85
XXIII	2,62	0,0120	0,05	1,14
XXIV	2,84	0,0145	0,06	1,27

Полученные результаты $ПВА_{рассч}$ и доверительные интервалы индивидуального предсказанного значения ($ΔПВА_{рассч}$) приведены в табл. 4. Доверительный интервал индивидуального предсказанного значения рассчитывали по формуле (1) [1]:

$$ΔПВА_{рассч} = t_{0,05}(n-k)\cdot S\cdot\sqrt{1+\frac{1}{n}+\sum_m\frac{\left(x_0^m-\overline{x^m}\right)^2}{Q_x^m}}, \quad (1)$$

где $t_{0,05}$ – коэффициент Стьюдента при уровне значимости (α = 0,05); n – число наблюдений в уравнении (n = 17); k – число оцениваемых параметров регрессионной модели (k = 2); m – независимая переменная, используемая в уравнении регрессии (log P); S – среднее квадратичное отклонение ошибок наблюдений; x_0^m – значение независимой переменной (log P), используемой в расчётах; $\overline{x^m}$ – среднее значение независимой переменной (log P), входящей в расчётную модель; Q_x^m – сумма квадратов отклонений независимой переменной (log P), используемой в расчётной модели.

Теоретически рассчитанные величины ПВА соединений (XVIII–XXIV) подтверждены экспериментальными данными, которые представлены в табл. 4.

Таблица 4

Теоретически рассчитанные и экспериментальные значения ПВА N-алкилзамещенных производных антраниловой кислоты (XVIII–XXIV)

Соединение	$ПВА_{рассч}$, %						$ПВА_{эксп}$, %
	уравнение (1)		уравнение (2)		уравнение (3)		
	$ПВА_{рассч}$	$ΔПВА_{рассч}$	$ПВА_{рассч}$	$ΔПВА_{рассч}$	$ПВА_{рассч}$	$ΔПВА_{рассч}$	
XVIII	37,49	17,01–57,98	39,58	17,35–61,82	35,69	15,77–55,62	51,6
XIX	51,47	30,11–72,83	48,66	25,48–71,84	52,92	32,15–73,69	53,6
XX	50,06	28,89–71,23	47,92	24,95–70,90	50,81	30,22–71,40	40,6
XXI	44,80	24,15–65,46	44,87	22,45–67,30	43,67	23,58–63,76	57,3
XXII	51,22	29,89–72,54	48,53	25,39–71,67	52,53	31,79–73,27	49,7
XXIII	48,91	27,88–69,94	47,29	24,47–70,12	49,14	28,69–69,59	45,4
XXIV	51,73	30,33–73,12	48,79	25,57–72,01	53,31	32,50–74,12	56,8

При сопоставлении значений противовоспалительной активности $ПВА_{рассч}$ с $ПВА_{эксп}$, выявлено, что все значения $ПВА_{эксп}$ входят в доверительный интервал индивидуального предсказанного значения.

Для проведения сравнительной оценки качества прогнозирования $ПВА_{рассч}$, с помощью полученных уравнений (1)–(3) (табл. 2) вычислены значения средней квадратичной ошибки прогноза: S_1 = 9,90, S_2 = 9,44 и S_3 = 10,75. Величина средней квадратичной ошибки свидетельствует о том, что использование уравнений (1) и (2) (S_1 = 9,90 и S_2 = 9,44) приводит к более точным результатам прогнозирования $ПВА_{эксп}$ в сравнении с уравнением (3).

По расчётам процент торможения каррегинового отёка составил свыше 30%. Экспериментально определенные значения ПВА для соединений XVIII–XXIV находятся в интервале 40,60–57,30%.

Таким образом, можно сделать вывод, что составленные уравнения (1) и (2) могут быть использованы в дальнейших исследованиях для целенаправленного синтеза новых активных соединений с противовоспалительным действием в ряду N-алкилзамещенных производных антраниловой кислоты.

Экспериментальная часть

Экспериментальное определение величин коэффициента распределения октанол – вода N-алкилзамещенных производных антраниловой кислоты проводилось спектрофотометрическим методом в системе «октанол – вода» [6, 8]. Полученные результаты и их метрологические характеристики (S – стандартное отклонение среднего результата, ±Δlog P средний и – значение относительной погрешности среднего результата при уровне значимости (α = 0,05)) для 24 соединений этого ряда (I–XXIV), приведены в табл. 1 и 3.

Противовоспалительное действие соединений (I–XXIV) (табл. 1 и 4) исследовали на белых нелинейных крысах массой 200–220 г на модели каррагенинового отёка.

Изучаемые вещества вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг в виде водной суспензии, стабилизированной твином–80, за 1 ч до инъекции флогогена. Крысам контрольной серии вводили эквивалентное количество раствора твина. В качестве препарата сравнения использовали ортофен, который вводили из расчёта 10 мг/кг в условиях, аналогичных описанным для тестируемых соединений. Объем лап животных измеряли онкометрически до и через 3, 4 и 5 ч после инициации воспаления [4]. Эффект оценивали по уменьшению прироста отека лап в сравнении с контрольной группой крыс.

Список литературы

1. Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов STATISTICA и EXCEL: учебное пособие. – 2-е изд., испр. и доп. – М., 2008. – С. 161–189.

2. Ландау М.А. Молекулярный механизм действия физиологически активных соединений. – М., 1981. – С. 153–158.

3. Матюшин А.А. Оценка липофильности некоторых антиоксидантов нового поколения / А.А. Матюшин, Д.А. Царев, М.А. Григоренко // Фармация. – 2008. – № 5. – С. 23–29.

4. Марданова Л.Г. Биологическая активность и взаимосвязь «структура – действие» некоторых метаболитов триптофана и их производных: дис. … д-ра фармац. наук. – Пермь: Пермск. гос. фармац. академия, 2003. – 338 с.

5. Раевский О.А. Дескрипторы молекулярной структуры в компьютерном дизайне биологически активных веществ // Успехи химии. – 1999. – Т. 68. – № 6. – С. 555–575.

6. Avdeef A. Absorption and Drug Development, Wiley-Interscience, Hobroken, NJ. – 2003. – 287 p.

7. Kubinyi. H. QSAR: Hansch Analisys and Related Approaches // Wiley-VCH, Weinheim. – 1993. pp. 21–56.

8. Leo A. Some advantages of calculating octanol-water partition coefficients // J. Pharm. Sci. – 1987. – Vol. 76. – P. 166–168.

References

1. Vukolov E.A. Osnovy statisticheskogo analiza. Praktikum po statisticheskim metodam i issledovaniyu operatsij s ispolzovaniem paketov statistica i excel: uchebnoe posobie. 2-e izd., ispr. i dop., Moskva. 2008. pp. 161–189.

2. Landau M.A. Molekulyarnyj mekhanizm dejstviya fiziologicheski aktivnykh soedinenij. M., 1981. pp. 153–158.

3. Matyushin A.A. Otsenka lipofilnosti nekotorykh antioksidantov novogo pokoleniya, *Farmatsiya*, 2008. no. 5. pp. 23–29.

4. Mardanova, L.G. Biologicheskaya aktivnost i vzaimosvyaz «struktura – dejstvie» nekotorykh metabolitov triptofana i ikh proizvodnykh: dis. …doktora farmats. nauk. Perm, Permsk. gos. farmats. akademiya, 2003. 338 p.

5. Raevskij, O.A. Deskriptory molekulyarnoj struktury v kompyuternom dizajne biologicheski aktivnykh veschestv, *Uspekhi khimii,* 1999. vol. 68. no. 6. pp. 555–575.

6. Avdeef, A. Absorption and Drug Development, Wiley-Interscience, Hobroken, NJ. 2003. 287 p.

7. Kubinyi. H. QSAR: Hansch Analisys and Related Approaches. Wiley-VCH, Weinheim. 1993. pp. 21–56.

8. Leo A. Some advantages of calculating octanol-water partition coefficients, *J. Pharm. Sci.*, 1987. Vol. 76.pp. 166–168.

Рецензенты:

Игидов Н.М., д.фарм.н., профессор кафедры органической химии, ГБОУ ВПО ПГФА Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь;

Вихарева Е.В., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой аналитической химии, ГБОУ ВПО ПГФА Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 03.06.2013.