

О. М. Свечнікова, С. В. Колісник\*, О. Ф. Винник, Т. А. Костіна\*, Т. В. Жукова\*

Харківський національний педагогічний університет імені Г. С. Сковороди  
м. Харків, вул. Алчевських, 29. E-mail: ele-2-na@ukr.net

\* Національний фармацевтичний університет

## Молекулярний дизайн біологічно активних похідних N-фенілантранілової кислоти за моделлю *de nova*

Більшість QSAR-методів базується на встановленні залежності різних видів біологічної активності сполук від їх фізико-хімічних параметрів, визначення яких експериментально досить утруднене, а розраховані вони теоретично і найчастіше мають систематичні відхилення.

**Мета роботи** – емпіричним методом за моделлю «*de nova*» визначити інкременти замісників в ізоструктурних рядах гідразидів та тиосемікарбазидів заміщених N-фенілантранілових кислот до їх проти-запальної активності.

**Результати та їх обговорення.** Дослідження здійснювалось для 18 тиосемікарбазидів (1 серія) та 15 гідразидів (2 серія) заміщених N-фенілантранілової кислоти. Розраховані інкременти показують, що введення замісників до антранілової частини молекули тиосемікарбазидів посилює протизапальну активність. Інкременти замісників у неантраніловому фрагменті молекули мають різні знаки та величини, що залежать від природи та положення радикалу. Введення до антранілового фрагменту молекули гідразиду N-фенілантранілової кислоти у пара-положення замісників (Cl-, NO<sub>2</sub>-) підвищує протизапальну активність, а введення різних замісників у неантраніловий фрагмент молекули викликає як збільшення, так і зменшення Іг П.

**Експериментальна частина.** Вивчення протизапальної активності проводили на моделі «формалінового набряку» у щурів онкометричним методом. Речовини вводили перорально у вигляді тонкодиспергованої суспензії, стабілізованої емульгатором твіном-80 у дозах 50 мг/кг маси тіла тварин. Препарат порівняння індометацин вводився у дозі 50 мг/кг.

**Висновки.** Емпіричним методом визначені інкременти замісників в ізоструктурних рядах тиосемікарбазидів та гідразидів заміщених N-фенілантранілових кислот. Проаналізовано залежність інкрементів від природи та положення замісників у молекулах.

**Ключові слова:** заміщені N-фенілантранілової кислоти; протизапальна активність; молекулярний дизайн

**O. M. Svechnikova, S. V. Kolisnyk, O. F. Vinnyk, T. A. Kostina, T. V. Zhukova**

### The molecular design of biologically active derivatives of N-phenylanthranilic acid

Most QSAR methods are based on determination of dependence of different types of biological activity of compounds on their physicochemical parameters, which determination is experimentally quite difficult, while those compounds that are calculated theoretically often have systematic deviations.

**Aim.** To determine the increments of substituents in isostructural series of hydrazides and thiosemicarbazides of substituted N-phenylanthranilic acids for their anti-inflammatory activity by the empirical method on the *de nova* model.

**Results and discussion.** The study was conducted for 18 thiosemicarbazide (batch 1) and 15 hydrazides (batch 2) of substituted N-phenylanthranilic acid.

The increments calculated show that introduction of substituents in the anthranilic moiety of the thiosemicarbazide molecule increases the anti-inflammatory activity. The increments of substituents in the non-anthranilic fragment of the molecule have different signs and values, depending on the nature and position of the radical. Introduction of substituents (Cl-, NO<sub>2</sub>-) into the *para*-position of the anthranilic fragment of the molecule of N-phenylanthranilic acid hydrazide increases the anti-inflammatory activity, while introduction of various substituents into the non-anthranilic fragment of the molecule causes both an increase and a decrease in Ig P.

**Experimental part.** The study of the anti-inflammatory activity was performed on the "formalin edema" model in rats using the oncometric method. The substances were administered orally in the form of a fine suspension stabilized by the emulsifier Tween-80 in the doses of 50 mg/kg of the animal body weight. The reference drug indomethacin was administered in the dose of 50 mg/kg.

**Conclusions.** The increments of substituents in isostructural series of hydrazides and thiosemicarbazides of substituted N-phenylanthranilic acids have been determined by the empirical method. The dependence of the increments on the nature and position of substituents in molecules has been analyzed.

**Key words:** substituted N-phenylanthranilic acids; anti-inflammatory activity

**E. H. Svecnikova, S. V. Kolesnik, A. F. Vinnyk, T. A. Kostina, T. V. Zhukova**

### Молекулярный дизайн биологически активных производных N-фенилантраниловой кислоты по модели *de nova*

Большинство QSAR-методов базируется на установлении зависимости различных видов биологической активности соединений от их физико-химических параметров, определение которых экспериментально довольно затруднительно, а рассчитанные теоретически зачастую имеют систематические отклонения.

**Цель работы** – эмпирическим методом на модели «*de nova*» определить инкременты заместителей в изоструктурных рядах гидразидов и тиосемікарбазидов заміщених N-фенілантранілових кислот к их противовоспалительной активности.

**Результаты и их обсуждение.** Исследование проведено для 18 тиосемикарбазидов (1 серия) и 15 гидразидов (2 серия) замещенных N-фенилантраниловой кислоты. Рассчитанные инкременты показывают, что введение заместителей в антраниловую часть молекулы тиосемикарбазидов усиливает противовоспалительную активность. Инкременты заместителей в неантраниловом фрагменте молекулы имеют различные знаки и величины, зависящие от природы и положения радикала. Введение заместителей (Cl-, NO<sub>2</sub>-) в пара-положение антранилового фрагмента молекулы гидразида N-фенилантраниловой кислоты повышает противовоспалительную активность, а введение различных заместителей в неантраниловый фрагмент молекулы вызывает как увеличение, так и уменьшение lg П.

**Экспериментальная часть.** Исследование противовоспалительной активности проводилось на модели «формалинового отека» у крыс онкометрическим методом. Вещества вводили перорально в виде тонкодисперсной суспензии, стабилизированной эмульгатором твином-80 в дозах 50 мг/кг массы тела животных. Препарат сравнения индометацин вводился в дозе 50 мг/кг.

**Выводы.** Эмпирическим методом определены инкременты заместителей в изоструктурных рядах тиосемикарбазидов и гидразидов замещенных N-фенилантраниловых кислот. Проанализирована зависимость инкрементов от природы и положения заместителей в молекулах.

**Ключевые слова:** замещенные N-фенилантраниловой кислоты; противовоспалительная активность; молекулярный дизайн

Більшість QSAR-методів базується на встановленні залежностей різних видів біологічної активності сполук від їх фізико-хімічних параметрів, визначення яких експериментально досить утруднене, а вони розраховані теоретично і найчастіше мають систематичні відхилення. Тому використання емпіричних методів прогнозування фармакологічної активності є актуальним.

**Мета** даної роботи – емпіричним методом за моделлю «*de nova*» визначити інкременти замісників в изоструктурних рядах гідразидів та тиосемикарбазидів заміщених N-фенілантранилових кислот до їх протизапальної активності.

Емпіричні методи засновані на визначенні інкрементів, що вносять замісники у різних положеннях структури молекули до даного виду активності. Найбільш поширеним є модель *de nova* [1]. Згідно з цим методом біологічний відгук (lg A) сполуки визначається сумою внесків (a<sub>i</sub>), що вносить кожен замісник:

$$\lg A = a_0 + \sum s_i \cdot a_i, \quad (1)$$

де: a<sub>0</sub> – активність незаміщеної структури; s<sub>i</sub> – критерій Кронекера: s<sub>i</sub> = 0, коли замісник у даному положенні відсутній; s<sub>i</sub> = 1 при наявності відповідного замісника; a<sub>i</sub> – інкремент, що вносить замісник.

Тобто приймається адитивність внесків різних замісників даної молекули до її біологічної активності.

Обробка даних методом найменших квадратів дозволяє визначити значення інкрементів a<sub>i</sub>.

За допомогою цієї моделі була успішно спрогнозована антималярійна активність фенілхінолінкарбінолів [2]; гіпоглікемічна активність піперидинсульфанілсемікарбазидів [3]; біологічна активність комплексів на основі піридоксину, гліцину та Феруму [4]; похідних естрадіолу [5]; показники токсичності пестицидів ряду фенілсечовини [6]; біологічна активність фосфор-похідних ефедринових алкалоїдів [7]. В обзорі [8] переконливо показані перспективи використання моделі *de nova*

для молекулярного дизайну біологічно активних сполук.

Для прогнозування біологічної активності похідних N-фенілантранилової кислоти модель *de nova* не застосовувалась.

Дослідження здійснювалось для 18 тиосемикарбазидів (1 серия) та 15 гідразидів (2 серия) заміщених N-фенілантранилової кислоти.

Для аналізу використовувались дані з проти-запальної активності цих сполук (модель формалінового набряку). Мірою біологічного відгуку служив lg П, значення якого наведені в табл. 1, 2.

У першій серії оцінювався внесок 2 замісників до антранилового фрагмента молекули та 9 – до неантранилового, тобто була складена вихідна матриця, що містить 12 стовбців та 18 рядків:

$$\lg \Pi = \lg \Pi_0 + \sum_{ik} s_i \cdot a_i, \quad (2)$$

де: k = 1-12; i = 0-18.

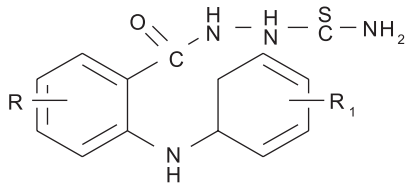
Її розв'язання методом лінійного кореляційного аналізу [9] дозволило розрахувати інкременти замісників, наведені у табл. 3. Одержані дані показують, що введення замісників до антранилової частини молекули тиосемикарбазидів підсилює протизапальну активність, причому інкремент 4-нітрогрупи приблизно в 1,4 рази вище, ніж у 4-хлор-замісника. Інкременти замісників у неантраниловому фрагменті молекули мають різні знаки та величини, що залежать від природи та положення радикалу. Наприклад, введення СН<sub>3</sub>-групи в орто-положення практично не впливає на lg П, а її введення до мета- та пара-положень підвищує протизапальну активність. Додатний інкремент має і 3-Вг-замісник.

Статистичні характеристики одержаного рівняння (табл. 3) надійні, що підтверджено його високою прогнозуючою здатністю (табл. 1).

У другій серії розраховувалися внески до проти-запальної активності 2 замісників в антранилової частині молекули гідразиду N-фенілантранилової

Таблиця 1

Значення протизапальної активності тіосемікарбазидів заміщених N-фенілантранілових кислот: експериментальні ( $\lg \Pi_{\text{експ.}}$ ), розраховані за рівнянням (2) ( $\lg \Pi_{\text{розра.}}$ ), та абсолютна помилка цього розрахунку ( $\Delta \lg \Pi$ )



R	R <sub>1</sub>	$\lg \Pi_{\text{експ.}}$	$\lg \Pi_{\text{розра.}}$	$\Delta \lg \Pi = \lg \Pi_{\text{експ.}} - \lg \Pi_{\text{розра.}}$
4-Cl	H	1,351	1,397	-0,046
4-Cl	2-CH <sub>3</sub>	1,398	1,399	-0,001
4-Cl	3-CH <sub>3</sub>	1,465	1,424	0,041
4-Cl	4-CH <sub>3</sub>	1,451	1,410	0,041
4-Cl	2-OCH <sub>3</sub>	1,332	1,324	0,008
4-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	1,308	1,303	0,005
4-Cl	3,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,407	1,438	-0,031
4-Cl	3,5-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,512	1,507	0,005
4-Cl	4-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1,377	1,400	-0,023
4-NO <sub>2</sub>	H	1,461	1,469	-0,008
4-NO <sub>2</sub>	2-CH <sub>3</sub>	1,472	1,471	0,001
4-NO <sub>2</sub>	4-CH <sub>3</sub>	1,483	1,483	0,000
4-NO <sub>2</sub>	2-OCH <sub>3</sub>	1,388	1,396	0,008
4-NO <sub>2</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	1,371	1,376	-0,005
4-NO <sub>2</sub>	3,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,501	1,511	-0,011
4-NO <sub>2</sub>	3-Br	1,771	1,756	0,015
4-NO <sub>2</sub>	2-Cl	1,617	1,610	0,007
4-NO <sub>2</sub>	4-Cl	1,668	1,660	0,008

кислоти та 8 замісників в неантраніловій частині цієї молекули. Складена вихідна матриця, що містить 10 стовпців та 15 рядків:

$$\lg \Pi = \lg \Pi_0 + \sum_{ik} s_i \cdot a_i, \quad (3)$$

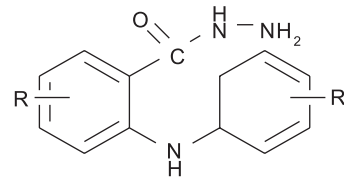
де: k = 1-15; i = 0-9.

Її розв'язання методом лінійного кореляційного аналізу [9] дозволило розрахувати інкременти замісників до протизапальної активності базової сполуки (табл. 4).

Одержані дані свідчать, що введення до антранілового фрагменту молекули гідразиду N-фенілантранілової кислоти у пара-положення замісників (Cl-, NO<sub>2</sub>-) підвищує протизапальну активність, але у різних ступенях: інкремент 4-NO<sub>2</sub>-групи у 7,2 рази перебільшує внесок 4-Cl-радикалу. Введення різних замісників у неантраніловий фрагмент молекули викликає як збільшення, так і змен-

Таблиця 2

Значення протизапальної активності гідразидів заміщених N-фенілантранілових кислот: експериментальні ( $\lg \Pi_{\text{експ.}}$ ), розраховані за рівнянням (3) ( $\lg \Pi_{\text{розра.}}$ ), та абсолютна помилка цього розрахунку ( $\Delta \lg \Pi$ )



R	R <sub>1</sub>	$\lg \Pi_{\text{експ.}}$	$\lg \Pi_{\text{розра.}}$	$\Delta \lg \Pi = \lg \Pi_{\text{експ.}} - \lg \Pi_{\text{розра.}}$
4-Cl	H	1,072	1,067	0,005
4-Cl	2-CH <sub>3</sub>	0,991	0,997	-0,006
4-Cl	3-CH <sub>3</sub>	0,983	0,983	0,000
4-Cl	4-CH <sub>3</sub>	0,964	0,973	-0,009
4-Cl	2-OCH <sub>3</sub>	0,983	1,086	-0,103
4-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	1,035	0,998	0,037
4-Cl	3,5-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,093	1,041	0,052
4-Cl	4-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,996	0,991	0,005
4-Cl	2-Cl	1,176	1,158	0,018
4-NO <sub>2</sub>	H	1,300	1,328	-0,028
4-NO <sub>2</sub>	2-CH <sub>3</sub>	1,264	1,258	0,006
4-NO <sub>2</sub>	4-CH <sub>3</sub>	1,242	1,233	0,009
4-NO <sub>2</sub>	2-OCH <sub>3</sub>	1,449	1,346	0,103
4-NO <sub>2</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	1,221	1,258	-0,037
4-NO <sub>2</sub>	3,5-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,250	1,308	-0,052

шення  $\lg \Pi$ . Введення CH<sub>3</sub>-радикалу до орто- та пара-положень послаблює протизапальну дію, а поява його у мета-положенні підсилює її. Метокси-група в орто-положенні викликає збільшення  $\lg \Pi$ , а у пара-положенні здійснює протилежний вплив. Введення 2'-Cl замісника також підсилює біологічний відгук.

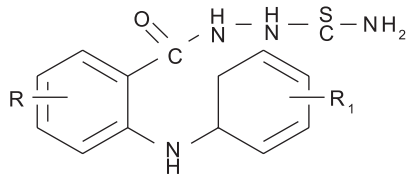
Одержані параметри кореляційного рівняння (3) статистично достовірні (табл. 4) та надійно прогнозують протизапальну дію сполук цього ізоструктурного ряду (табл. 3).

#### Експериментальна частина

Вивчення протизапальної активності проводили на моделі «формалінового набряку» у щурів онкометричним методом з використанням ртутного онкометра [10]. Речовини вводили перорально у вигляді тонкодиспергованої суспензії, стабілізованої емульгатором твін-80 у дозах 50 мг/кг

Таблиця 3

Коефіцієнти кореляційного рівняння для тіосемікарбазидів заміщених N-фенілантранілових кислот



Замісник R	Коефіцієнт	Значення коефіцієнта	Замісник R <sub>1</sub>	Коефіцієнт	Значення коефіцієнта
H	a <sub>0</sub>	1,197	2-CH <sub>3</sub>	a <sub>3</sub>	0,002
4-Cl	a <sub>1</sub>	0,199	2-OCH <sub>3</sub>	a <sub>4</sub>	-0,073
4-NO <sub>2</sub>	a <sub>2</sub>	0,272	2-Cl	a <sub>5</sub>	0,140
n = 18 S = 0,032 R = 0,976			3-CH <sub>3</sub>	a <sub>6</sub>	0,028
			3-Br	a <sub>7</sub>	0,286
			4-CH <sub>3</sub>	a <sub>8</sub>	0,014
			4-OCH <sub>3</sub>	a <sub>9</sub>	0,093
			4-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	a <sub>10</sub>	0,003
			4-Cl	a <sub>11</sub>	0,190

маси тіла тварин. Препарат порівняння індометацин вводився у дозі 50 мг/кг.

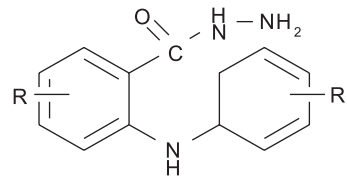
Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-250 г. Запалення викликали 2,5 % розчином формаліну, 0,1 мл якого вводили субплантарно у праву задню лапу щура. До провокації набряку вимірювали вихідний об'єм лапи в умовних одиницях, після введення формаліну виміри проводилися кожну годину впродовж 6 годин. Паралельно ставився контрольний дослід – у тварин викликали запалення, але перорально вводили дистильовану воду. Протизапальну активність речовин, що вивчалися, виражали у відсотках по відношенню до контролю для кожної го-

#### Перелік використаних джерел інформації

- Free, S. M. A mathematical contribution to structure – activity studies / S. M. Free, J. M. Wilson // J. Med. Chem. – 1964. – Vol. 7, Issue 4. – P. 395–399. doi: 10.1021/jm00334a001
- Craig, R. H. Structure–antibacterial activity relationships of 2–phenyl–quinoline–4–carbynols / R. H. Craig // J. Pharm. Sci. – 1972. – Vol. 61, Issue 4. – P. 423–428.
- Smithfield, W. R. Relation between chemical structure and pharmaceutical activity of piperidinsulfamoi substituted thiosemicarbazide / W. R. Smithfield, W. D. Purcell // J. Pharm. Sci. – 1967. – Vol. 56, Issue 6. – P. 557–579.
- Компьютерный прогноз биологической активности комплекса на основе пиридоксина, глицина и железа / З. М. Булатова, П. С. Лымаев, Т. Т. Осмоналиева и др. // Вестник КазНУ. Серия Биология. – 2012. – № 1 (53). – С. 27–29.
- Иванов, В. В. Дискриминантный анализ биологически активных производных эстрадиола / В. В. Иванов, Л. А. Слета, А. А. Толстая // Журн. орг. та фарм. хімії. – 2003. – Т. 2, Вып. 4 (8). – С. 66–68.
- Дрожжина, Н. А. Математическое прогнозирование показателей токсичности и гигиенических нормативов пестицидов ряда фенолмочевин для оценки их экологической безопасности / Н. А. Дрожжина // Вестник Рос. университета дружбы народов. Серия : Медицина. – 2004. – № 2 (26). – С. 96–101.
- Газалиев, А. М. Новые фосфорпроизводные эфедриновых алкалоидов / А. М. Газалиев, М. Ж. Журигенов, С. Д. Фазылов. – Алматы : Гылым, 1992. – 176 с.

Таблиця 4

Коефіцієнти кореляційного рівняння для гідразидів заміщених N-фенілантранілових кислот



Замісник R	Коефіцієнт	Значення коефіцієнта	Замісник R <sub>1</sub>	Коефіцієнт	Значення коефіцієнта
H	a <sub>0</sub>	1,024	2-CH <sub>3</sub>	a <sub>3</sub>	-0,070
4-Cl	a <sub>1</sub>	0,042	2-OCH <sub>3</sub>	a <sub>4</sub>	0,019
4-NO <sub>2</sub>	a <sub>2</sub>	0,302	2-Cl	a <sub>5</sub>	0,092
n = 15 S = 0,032 R = 0,831			3-CH <sub>3</sub>	a <sub>6</sub>	0,058
			4-CH <sub>3</sub>	a <sub>7</sub>	-0,094
			4-OCH <sub>3</sub>	a <sub>8</sub>	-0,069
			4-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	a <sub>9</sub>	-0,075

дини досліді і в середньому за 6 годин. Статистичну обробку одержаних даних проводили за ДФУ [11].

#### Висновки

1. Емпіричним методом визначені інкременти замісників в ізоструктурних рядах тіосемікарбазидів та гідразидів заміщених N-фенілантранілових кислот.

2. Проаналізовано залежність інкрементів від природи та положення замісників у молекулах.

3. Одержані дані будуть використані для молекулярного дизайну активних фармакофорів в цих ізоструктурних рядах.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

8. Navdeep, S. S. A Review on Computational Methods in Developing Quantitative Structure–Activity Relationships (QSAR) / S. S. Navdeep // J. of Drug Design and Discovery. – 2012. – Vol. 3, Issue 3. – P. 815–836.
9. Руденко, В. М. Математична статистика : навч. посіб. / В. М. Руденко. – К. : Центр учбової літератури, 2012. – 304 с.
10. Мохорт, Н. А. Новый метод измерения объема лапы крыс / Н. А. Мохорт, Т. К. Рябуха // Патол. физиол. и эксперимент. терапия. – 1971. – Т. 15, № 2. – С. 100–102.
11. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : PIPEГ, 2001. – 556 с.

## References

1. Free, S. M., Wilson, J. W. (1964). A Mathematical Contribution to Structure–Activity Studies. *Journal of Medicinal Chemistry*, 7 (4), 395–399. doi: 10.1021/jm00334a001
2. Craig, R. H. (1972). Structure–antibacterial activity relationships of 2–phenyl–quinoline–4–carbynols. *J. Pharm. Sci.*, 61 (4), 423–428.
3. Smithfield, W. R., Purcell, W. D. (1967). Relation between chemical structure and pharmaceutical activity of piperidinsulfamoil substituted thiosemicarbazide. *J. Pharm. Sci.*, 56 (6), 557–579.
4. Bulatova, Z. M., Lymarev, P. S., Osmonalieva, T. T. et al. (2012). *Vestnik KazNU. Seriya Biologicheskaya*, 1(53), 27–29.
5. Ivanov, V. V., Sleta, L. A., Tolstaia, A. A. (2003). *Zhurnal organicheskoi i farmatsevticheskoi khimii*, 2, (4 (8)), 66–68.
6. Drozhzhyna, N. A. (2004). *Vestnik Rossiiskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina*, 2 (26), 96–101.
7. Gazaliev, A. M., Zhurigenov, M. Zh., Fazylov, S. D. (1992) *Novye fosforproizvodnye efedrinovykh alkaloidov*. Almaty: Gylym, 176.
8. Navdeep, S. S. (2012). Review on Computational Methods in Developing Quantitative Structure–Activity Relationships (QSAR). *Journal of Drug Design and Discovery*, 3 (3), 815–836.
9. Rudenko, V. M. (2012). *Matematychna statystyka*. Kyiv: Tsentr uchbovoi literatury, 304.
10. Mokhort, N. A., Riabukha, T. K. (1971). *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaia terapiia*, 15 (2), 100–102.
11. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy*. (2001). Kharkiv: RIREH, 1, 556.

Надійшла до редакції 13.11.2017 р.