УДК 547.583.5 : 615.011.4 : 615.272.3

КОРРЕЛЯЦИЯ КОНСТАНТ ИОНИЗАЦИИ С ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ В РЯДУ ЗАМЕЩЕННЫХ АМИДОВ N–АЦИЛ–5–БРОМ(5–ЙОД) АНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

[1]Коркодинова Л.М., [1]Андрюков К.В., [1]Кремлёва О.Б., [2]Котегов В.П.

[1]ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», Пермь, e-mail: k_andrukov@mail.ru;

[2]ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, e-mail: viktor.cotegov@yandex.ru

Определены значения констант ионизации (pKa и pKв) 9 соединений ряда замещенных амидов N–ацил–5–бром (5-йод) антраниловых кислот методом потенциалов полунейтрализации. Исследована гипогликемическая активность 9 веществ. Проведены квантово-химические расчёты зарядов на атомах азота, углерода и кислорода неэмпирическим методом Хартри – Фока. Выполнен регрессионный анализ и получено 16 корреляционных уравнений, связывающих pKa и pKв с экспериментально определенной гипогликемической активностью через 3 и 5 часов ($ГГА_{эксп}$), с использованием программы Statistica 6. Выбраны 4 наиболее значимых уравнения с коэффициентом корреляции от 0,716 до 0,942. С целью проверки пригодности составленных корреляционных уравнений для прогнозирования ГГА получены экспериментальные значения констант ионизации 2 новых соединений и рассчитаны значения прогнозируемой гипогликемической активности. Определены значения $ГГА_{эксп}$ исследуемых 2 соединений. Получены удовлетворительные результаты прогноза, которые позволяют сделать вывод о том, что найденные модели структура – гипогликемическая активность могут быть использованы при конструировании соединений с гипогликемической активностью в ряду амидов N-ацил-5-бром(йод) антраниловых кислот.

Ключевые слова: N-ацилзамещенная антраниловая кислота, амиды, константа ионизации, гипогликемическая активность, структура – активность

THE CORRELATION OF IONIZATION CONSTANTS WITH HYPOGLYCEMIC ACTIVITY IN A SERIES OF SUBSTITUTED AMIDES OF N-ACYL-5-BROMO (5-IODO) ANTHRANILIC ACID

[1]Korkodinova L.M., [1]Andryukov K.V., [1]Kremleva O.B., [2]Kotegov V.P.

[1]Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: k_andrukov@mail.ru;

[2]Perm State National Research University, Perm, e-mail: viktor.cotegov@yandex.ru

The values of ionization constants (pKa and pKв) of 9 substances of substituted amides of N-acyl-5-bromo (5-iodo) anthranilic acid by method of potential semi-neutralization are defined. Studied the hypoglycemic activity of the 9 substances. Carried out quantum-chemical calculations of the charges on the atoms of nitrogen, carbon and oxygen by ab initio method Hartree-Fock. It is transacted the analysis of regression and received 16 correlation equations connecting the pKa and pKв with experimentally defined hypoglycemic activity (HGA_{exp}), with the use by program of Statistica 6. Selected four most significant equations with coefficient of correlation from 0,716 to 0,942. The values pKa and pKв of 2 new substances are experimentally defined. Values of HGA action with use of the made equations are calculated. It is experimentally defined HGA_{exp} of investigated 2 substances. Satisfactory results of the prediction are obtained. Following the results of an estimation of quality of the prediction it is possible to draw a conclusion, that the calculated equations can be used in the further researches for search of active substances with HGA among of amides of N-acyl-5-bromo (5-iodo) anthranilic acid.

Keywords: N-acylsubstituted anthranilic acid, amides, ionization constant, hypoglycemic activity, structure-activity.

Исследования корреляции структура – активность позволяют количественно охарактеризовать биологическую активность, на которую оказывают влияние факторы, связанные с физико-химическими свойствами, например, с константами ионизации [1, 3, 4]. Процессы ионизации веществ в значительной степени определяют особенности их всасывания и транспорта в желудочно-кишечном тракте, влияя на степень выраженности фармакологического действия [5, 6].

В работе [4] показана зависимость гипогликемической активности изучаемых соединений от констант кислотности и основности, коэффициент корреляции при этом находится в пределах (0,847–0,939) в ряду N'-ацилгидразидов N–ацил–5–бром(5–йод) антраниловых кислот. В продолжение этих исследований проведён корреляционный анализ количественной зависимости величины гипогликемической активности (ГГА) в ряду замещенных амидов N–ацил–5–бром(5–йод) антраниловых кислот (I–IX) от экспериментально определенных констант ионизации.

Гипогликемическую активность (табл. 1) изучали на самках белых нелинейных крыс

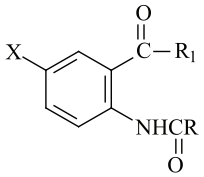
массой 190–220 г. Изучаемые 9 соединений вводили через рот в скрининговой дозе 25 мг/кг. Уровень гликемии характеризовали глюкозооксидазным методом. Содержание глюкозы в крови животных определяли до, а также через 3 и 5 часов после введения исследуемых соединений [2]. Для проведения расчётов использованы уровни ГГА без учета отклонений.

Значения ГГА 3 часа и ГГА 5 часов исследованных амидов лежат в интервале от + 5,30 до –23,91 % и от + 0,70 до –21,30 % соответственно. У соединений I–VII, IX со временем происходит значительное уменьшение ГГА. Исключением является амид VII, у которого через 5 часов наблюдается снижение сахара в крови с – 19,10 до – 21,30 %.

При анализе соединений I–VI, содержащих в NH-ацильном фрагменте 4-нитро (метил)бензоильный радикал, обнаружено, что наибольшую активность проявил амид III с аллильным заместителем в амидной группе (–23,91 и –15,24 %). Замена аллильного заместителя на алкилфенильный (соед. II) приводит к значительному снижению ГГА через 3 часа (ГГА 3 ч) до –11,60 и ГГА через 5 часов (ГГА 5 ч) до –1,61 %. Дальнейшее варьирование заместителями в амидной группе (соед. I, II, V) несколько снижает ГГА 3 ч и ГГА 5 ч по сравнению с амидом III. Среди адамантиламидов VII–IX выраженную гипогликемическую активность проявило соединение VII, содержащее NH-фураноильный фрагмент.

Таблица 1

Гипогликемическая активность соединений
из ряда замещенных амидов N–ацил–5–бром (5–йод) антраниловых кислот (I–IX)



№ п/п	X	R	R_1	Изменение гликемии, %	
				ГГА 3 ч	ГГА 5 ч
I	Br	$C_6H_4(4–NO_2)$	$NHCH_2CH_2OH$	–19,90 ± 4,92*	–0,40 ± 4,08
контроль				–2,70 ± 1,97	–4,90 ± 3,65
II	Br	$C_6H_4(4–NO_2)$	$NHCH_2C_6H_5$	–11,60 ± 5,61	–1,61 ± 4,81
контроль				–2,70 ± 1,97	–4,90 ± 3,65
III	Br	$C_6H_4(4–NO_2)$	$NHCH_2CH = CH_2$	–23,91 ± 4,13*	–15,24 ± 3,84*
контроль				–4,92 ± 2,02	–4,17 ± 1,13
IV	Br	$C_6H_4(4–NO_2)$	морфолил	–16,10 ± 10,11	+ 0,70 ± 5,36
контроль				–4,92 ± 2,02	–4,17 ± 1,13
V	I	$C_6H_4(4–CH_3)$	морфолил	–19,40 ± 5,60*	–4,20 ± 5,28
контроль				–4,92 ± 2,02	–4,17 ± 1,13
VI	I	$C_6H_4(4–CH_3)$	$NHCH_3$	–12,50 ± 4,07	–0,90 ± 2,10
контроль				–4,92 ± 2,02	–4,17 ± 1,13
VII	I	2–фурил	NHАдамантил	–19,10 ± 4,18*	–21,30 ± 4,42*
контроль				–6,50 ± 1,30	–4,40 ± 2,00
VIII	I	$C_6H_4(4–CH_3)$	$CH_2C_6H_5$	–12,00 ± 6,16	–5,30 ± 5,02
контроль				–3,50 ± 2,30	–6,40 ± 2,10
IX	I	C_6H_5	NHАдамантил	+ 5,30 ± 16,80	+ 2,60 ± 10,30
контроль				–6,50 ± 1,30	–4,40 ± 2,00
Метформин				+ 4,30 ± 4,10	+ 5,30 ± 2,80
Карбутамид				–21,20 ± 2,0*	–21,90 ± 2,80**

Примечание. Достоверность отличий по сравнению с контролем при $p \le 0,05$ – *, $p \le 0,01$ – **.

Амид VIII с заместителем бензиламин в амидной группе проявил слабую активность ГГА 3 ч – 12,00 %, ГГА 5 ч – 5,30 %.

Замещённые амиды N–ацил–5–бром(5–йод) антраниловых кислот (I–IX) содержат две азотсодержащие ионогенные группы: амидная и NH–ацильная, в зависимости от условий среды они проявляют как кислотные, так и основные свойства и характеризуются константами кислотности (рКа) и основности (рКв).

Для изучения количественной зависимости гипогликемической активности от физико-химических свойств соединений (I–IX) экспериментально определены константы кислотности ($рКа_{эксп}$) и основности ($рКв_{эксп}$) методом потенциометрического титрования в среде диметилсульфоксида (ДМСО) с помощью универсального иономера ЭВ–74 по методу потенциалов полунейтрализации [1, 4] (табл. 2). Концентрация определяемых соединений 0,005 М, концентрация титрантов – КОН и $HClO_4$ – 0,05 М.

Схемы ионизации молекул замещённых амидов N–ацил–5–бром(5–йод) антраниловых кислот (I–IX) в щелочной и кислой средах составлены с учётом величины зарядов на атомах азота, кислорода и водорода (в электронных единицах). Заряды (табл. 2) были рассчитаны неэмпирическим методом Хартри – Фока в базисе 3-21G с полной оптимизацией геометрии молекул в среде ДМСО, с использованием программы Gaussian 03. Эффект растворителя учитывали проводя расчёты на модели PCM (Polarizable Continuum Model).

В результате проведенных квантово-химических расчётов обнаружено, что наибольший отрицательный заряд на атоме азота в NH–ацильной группе (от –1,021 до –1,064). Зависимости в виде коэффициента корреляции, констант кислотности $R_{рКа}$ и основности $R_{рКв}$, от зарядов на атомах азота приведены в табл. 2. Наибольшие значения коэффициента корреляции найдены на атоме кислорода в NH–ацильной группе ($R_{рКа}$ = 0,476, $R_{рКв}$ = 0,510). Таким образом, можно сделать вывод об определяющем влиянии NH–ацильной группы и её заместителей на кислотные и основные свойства.

Кислотные свойства соединений (I–IX) обусловлены атомом водорода аминогруппы в NH-ацильном фрагменте, который по результатам расчёта в среде ДМСО связан с наиболее электроотрицательным атомом азота и является наиболее подвижным в сравнении атомом водорода в амидной группе. В процессе ионизации в щелочной среде (КОН) они теряют протон, превращаясь в сопряжённое основание (схема 1).

Таблица 2

Рассчитанные заряды на атомах кислорода, азота и водорода в амидной (CONH) и NH–ацильной (NHCO) группах (I–IX) и константы ионизации

Номер соединения	Амидная (CONH)		NH–ацильная (NHCO)			рКа	рКв
	O	N	N	H	O		
I	–0,666	–0,909	–1,021	0,394	–0,651	10,27	9,66
II	–0,654	–0,906	–1,024	0,399	–0,645	10,95	9,79
III	–0,677	–0,911	–1,047	0,399	–0,648	9,20	8,76
IV	–0,661	–0,883	–1,026	0,399	–0,645	10,40	9,70
V	–0,675	–0,889	–1,054	0,395	–0,666	4,28	5,27
VI	–0,661	–0,905	–1,026	0,391	–0,663	9,24	8,05
VII	–0,697	–0,976	–1,051	0,418	–0,673	8,45	8,82
VIII	–0,704	–0,931	–1,039	0,410	–0,663	10,39	8,84
IX	–0,696	–0,991	–1,064	0,400	–0,663	10,84	9,40
$R_{рКа}$	0,044	0,251	0,400	0,090	0,476		
$R_{рКв}$	0,072	0,262	0,400	0,197	0,510		

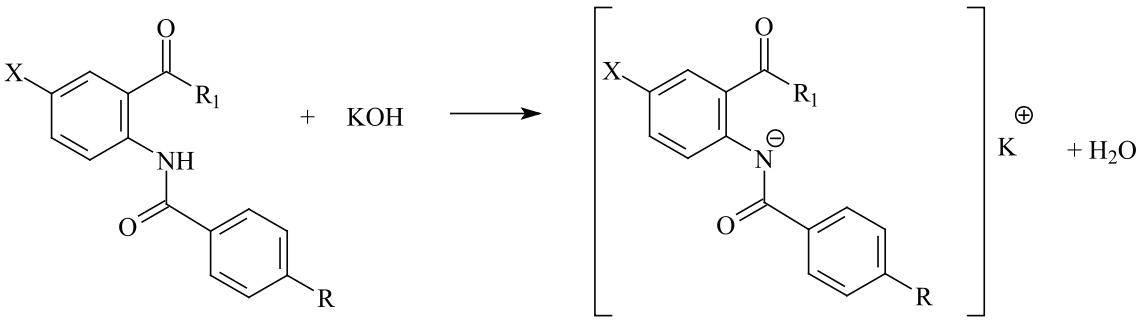


Схема 1

В кислой среде протонирование амидов (I–IX), содержащих две карбонильные группы, происходит по атому азота NH–ацильной группы, вследствие чего в кислой среде следует ожидать образование аммониевого катиона (схема 2).

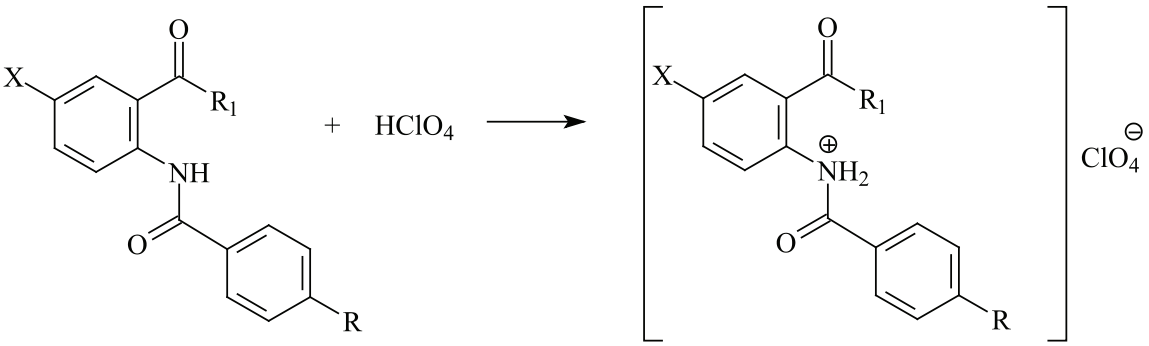


Схема 2

Соединения I–IV, содержащие в NH-ацильном фрагменте 4-нитробензоильный радикал, обладают слабыми кислотными свойствами, значения pKa от 9,20 до 10,95. Замена в 4-м положении ароильного фрагмента нитрогруппы на метильную (соед. V и VI) вызывает усиление кислотных свойств амидов (до pKa 4,28). Для соединения IX наблюдается некоторое ослабление кислотных свойств ((pKa 10,39). Основные свойства соединений I–IV выражены в большей степени, чем в соединениях V и VI.

Проведен линейный регрессионный анализ с использованием программы Statistica 6. Составлены однопараметровые уравнения зависимости ГГА от pKa и pKв (табл. 3): № 1 и 2 (ГГА 3 ч) и 9, 10 (ГГА 5 ч), коэффициент корреляции (R) при использовании констант кислотности выше (R = 0,428 и 0,289), чем констант основности (R = 0,261 и 0,123). Возведение в квадрат констант кислотности приводит к увеличению величины R для ГГА 3 ч и ГГА 5 ч и находится в интервале 0,3–0,5.

С целью увеличения качественной оценки тесноты связи мы составили два полиномиальных уравнения второй степени, содержащие pKa и pKв (уравнения (7) и (15)). В результате коэффициент множественной корреляции увеличился до 0,813 и 0,947 для ГГА 3 ч и ГГА 5 ч соответственно. Для снижения количества переменных, с использованием опции пошагового включения параметров в программе Statistica 6, мы сократили число независимых переменных с четырех до двух. Оценка тесноты связи при этом уменьшилась до 0,716 (уравнение (8)) и 0,737 (уравнение (16)).

Проведена проверка наиболее значимых уравнений (7), (8), (15), (16) на прогнозирующую способность с использованием экспериментально определенных значений констант ионизации соединений X и XI (табл. 4).

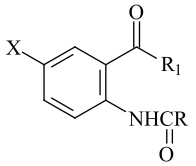
Таблица 3

Корреляционные уравнения связи значений ГГА с константами ионизации замещенных амидов N–ацил–5–бром(5–йод) антраниловых кислот (I–IX)

№ п/п	Корреляционное уравнение	R	S	N
1	ГГА 3 ч = –30,737 + 1,754×рКа	0,428	8,19	9
2	ГГА 3 ч = –28,087 + 1,578×рКв	0,261	8,75	9
3	ГГА 3 ч = –26,086 + 0,128×рКа^2	0,482	7,94	9
4	ГГА 3 ч = –22,540 + 0,105×рКв^2	0,264	8,74	9
5	ГГА 3 ч = –5,331 + 7,919×рКа – 9,536×рКв	0,644	7,49	9
6	ГГА 3 ч = –14,637 + 0,472×рКа^2 – 0,552×рКв^2	0,698	7,01	9
7	ГГА 3 ч = – 254,554 – 71,556×рКа + 128,854×рКв + 4,271×рКа^2 – 7,764×рКв^2	0,813	6,98	9
8	ГГА 3 ч = 17,977 – 8,926×рКв + 0,498×рКа^2	0,716	6,83	9
9	ГГА 5 ч = –15,490 + 1,116×рКа	0,289	8,17	9
10	ГГА 5 ч = –11,178 + 0,702×рКв	0,123	8,47	9
11	ГГА 5 ч = –13,665 + 0,094×рКа^2	0,375	7,91	9
12	ГГА 5 ч = –9,848 + 0,061×рКв^2	0,164	8,42	9
13	ГГА 5 ч = – 9,342 + 7,141×рКа – 9,321×рКв	0,577	7,53	9
14	ГГА 5 ч = –2,830 + 0,419×рКа^2 – 0,522×рКв^2	0,631	7,15	9
15	ГГА 5 ч = 401,996 + 66,141×рКа – 169,512×рКв – 2,981×рКа^2 + 9,314×рКв^2	0,947	3,62	9
16	ГГА 5 ч = 36,161 – 10,094×рКв + 0,512×рКа^2	0,737	6,23	9

Таблица 4

Экспериментальные значения констант ионизации соединений (X–XI)



Номер соединения	X	R	R_1	рКа	рКв
X	Br	$C_6H_4(4\text{-}NO_2)$	$NHCH_2CH_2CH(CH_3)_2$	10,70	9,77
XI	I	C_6H_4 (4–CH_3)	$NHCH_2CH_2CH(CH_3)_2$	9,71	9,04

Таблица 5

Результат прогноза ГГА, доверительный интервал среднего предсказанного значения ($\Delta_{инд}$, при p = 0,1), среднеквадратичная ошибка прогноза и экспериментальные значения ГГА

№ п/п	ГГА 3 ч, % (уравнение (7))			ГГА 5 ч, % (уравнение (15))		
	ГГА 3 ч$_{рассч}$ ($\Delta_{инд}$)	ГГА 3 ч$_{эксп}$	$S_{1прогн}$ (ур-е (7))	ГГА 5 ч$_{рассч}$ ($\Delta_{инд}$)	ГГА 5 ч$_{эксп}$	$S_{3прогн}$ (ур-е (15))
X	–13,47 (–22,21...–4,72)	–17,50 ± 1,19	5,39	+1,38 (–3,16...+5,92)	–6,70 ± 5,58	4,47
XI	–16,37 (–22,34...–10,39)	–9,90 ± 3,75		–8,02 (–11,13...–4,92)	–4,60 ± 3,94	
	ГГА 3 ч, % (уравнение № 8)			ГГА 5 ч, % (уравнение № 16)		
	ГГА 3 ч$_{рассч}$ ($\Delta_{инд}$)	ГГА 3 ч$_{эксп}$	$S_{2прогн}$ (ур-е (8))	ГГА 5 ч$_{рассч}$ ($\Delta_{инд}$)	ГГА 5 ч$_{эксп}$	$S_{4прогн}$ (ур-е (16))
X	–12,20 (–17,90...–6,49)	–17,50 ± 1,19	5,58	–3,84 (–9,04...+1,35)	–6,70 ± 5,58	2,56
XI	–15,75 (–20,59...–10,90)	–9,90 ± 3,75		–6,81 (–11,23...–2,40)	–4,60 ± 3,94	

Доверительный интервал прогноза ΔГГА 3 $ч_{рассч}$ (уравнения (7) и (8)) ΔГГА 5 $ч_{рассч}$ (уравнения (15) и (16)) по соединениям X и XI полностью включает в себя экспериментально определенные значения ГГА с учетом их отклонений (табл. 5).

Для проведения сравнительной оценки прогнозирования $ГГА_{рассч}$, с помощью полученных уравнений (7), (8), (15) и (16) и рассчитанных квантово-химических параметров вычислены значения средней квадратичной ошибки прогноза ($S_{прогн}$): $S_{1прогн} = 5{,}39$, $S_{2прогн} = 5{,}58$, $S_{3прогн} = 4{,}47$ и $S_{4прогн} = 2{,}56$ (табл. 5). Величина средней квадратичной ошибки свидетельствует о том, что использование уравнения (16) ($S_{4прогн.} = 2{,}56$) приводит к более точным результатам прогнозирования ГГА 5 ч. Сравнительная оценка найденных уравнений (7) и (8) при прогнозировании ГГА выявила, что меньшую ошибку прогноза дает уравнение (7) ($S_{1прогн} = 5{,}39$).

Приведенные в работе результаты позволяют сделать вывод о том, что найденные модели структура – гипогликемическая активность (уравнения (7) и (16)) могут быть использованы при конструировании соединений с гипогликемической активностью в ряду амидов N-ацил-5-бром(йод) антраниловых кислот.

Список литературы

1. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М., Кремлёва О.Б. Прогнозирование значений констант ионизации в ряду замещённых амидов и гидразидов N–ацил–5–бром(3,5– дибром) антраниловых кислот с использованием квантово-химических параметров // Хим.-фарм. журнал. – 2009. – Т. 43, № 4. – С. 3 – 6.

2. Курбатов Е.Р., Чупина Т.А., Коркодинова Л.М., Котегов В.П.. Гипогликемическая активность замещенных амидов галогенантраниловых кислот // Хим.-фарм. журнал. – 2014. – Т. 48, № 10. – С. 37–38.

3. Коркодинова Л.М., Кремлева О.Б., Ендальцева О.С. и др. Константы ионизации амидов N–замещенных антраниловых кислот в изучении связи структура-активность // Хим.– фарм. журнал. – 2005. – Т. 39, № 1. – С. 45–47.

4. Коркодинова Л.М., Андрюков К.В., Курбатов Е.Р., и др. Поиск зависимости гипогликемической активности от констант ионизации в ряду N'-ацилгидразидов N–ацил–5–бром(5–йод)антраниловых кислот // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – № 5 (47). –Часть 5. – С. 177–180.

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

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