

## ANÁLISIS QSAR-2D DE LOS DERIVADOS DE 1,4-DI-N-OXIDOS DE QUINOXALINA CON ACTIVIDAD CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Cristian J. Guerra\*, Jesús M. López, Said F. Figueredo, Adolfo E. Muñoz y Juana R. Robles

Universidad de Córdoba, Departamento de Química, Cra 6 N° 76-103, Montería, Córdoba, Colombia

Recebido em 10/09/2015; aceite em 23/02/2016; publicado na web em 06/05/2016

2D-QSAR ANALYSIS OF DERIVATIVES OF QUINOXALINE 1,4-DI-N-OXIDES WITH ACTIVITY AGAINST CHAGAS' DISEASE. In the present work was performed a quantitative structure-activity relationship (QSAR) for a set of derivatives of 1,4-quinoxaline *N*-oxides with antichagasic activity based on reactivity descriptors from the frame conceptual DFT. QSAR models showed a good statistical quality and capacity internal prediction with  $R^2 > 0.6$  and  $Q^2 > 0.5$  respectively. QSAR model suggest that antichagasic activity of the studied compounds depends largely from the reactive behavior of *N*-oxide group (N-O). Also, reactivity descriptors showed that the *N*-oxide group is a reactive site in these derivatives with nucleophilic characteristics. The results QSAR shed light on the understanding of the mechanism of action and design of new drugs based on derivatives of 1,4-di-*N*-oxides quinoxaline.

Keywords: QSAR; Antichagasic; *N*-oxide group; Nucleophilic.

## INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas fue descubierta en 1909 por el médico brasileño Carlos Chagas mientras diagnosticaba a una joven paciente de dos años que presentaba parásitos en el torrente sanguíneo.<sup>1</sup> Esta enfermedad, producida por el parásito protozooario *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), afecta actualmente entre 6 y 8 millones de personas en el mundo,<sup>2</sup> siendo endémica en América latina. No obstante, su incidencia en el continente europeo y algunos países de Norteamérica ha aumentado en los últimos años debido a los patrones de migración que provocan la diseminación de la enfermedad.<sup>3,4</sup>

Aunque el principal modo de transmisión de *T. cruzi* hacia el ser humano ocurre por contacto con las heces de algunos hematófagos triatomínicos,<sup>5</sup> existen otros modos de infección asociados a transfusiones sanguíneas,<sup>6</sup> trasplantes de órganos,<sup>7,8</sup> contacto entre madre e hijo durante el parto,<sup>9</sup> y por vía oral.<sup>10</sup>

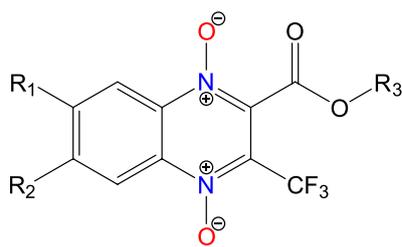
Con respecto a las manifestaciones clínicas, existen dos etapas que caracterizan la enfermedad de Chagas. La primera etapa comienza justo después de la infección (fase aguda), y aunque es asintomática, se han reportado casos con síntomas similares a los de una infección febril, dificultando así su correcto diagnóstico.<sup>11</sup> La segunda etapa (fase crónica), que puede tardar hasta 15 años en aparecer, se caracteriza por cardiomiopatía dilatada<sup>12,13</sup> y afecciones del tracto digestivo<sup>14</sup> que representan un alto riesgo comprometiendo la vida de los pacientes. Desde el punto de vista farmacológico, el tratamiento actual de la enfermedad de Chagas se basa principalmente en dos fármacos nitro-heterocíclicos llamados Nifurtimox (Nfx) y benznidazol (Bz), descubiertos empíricamente entre 1960 y 1970; mostrando una efectividad en casi el 60% de los casos que son tratados durante la fase aguda. Sin embargo, el uso de Nfx y Bz para el tratamiento de la enfermedad durante la fase crónica es controversial debido a que estos nitro-heterociclos solo son eficaces contra la forma extracelular de *T. cruzi* que se desarrolla durante la fase aguda. Por lo tanto, la búsqueda de nuevos fármacos más efectivos contra la enfermedad de Chagas es necesaria. Recientemente, se han sintetizado y evaluado diversos compuestos con actividad antichagásica, incluyendo Benzofuroxanos,<sup>15</sup> *N*-óxidos de benzimidazol,<sup>16</sup> *N*-óxidos

de imidazol<sup>16,17</sup> y *N*-óxidos de quinoxalina.<sup>18,19</sup> Particularmente, los derivados *N*-óxido de quinoxalina han mostrado ser promisorios debido a su excepcional actividad *in vitro* contra *T. cruzi*. Atendiendo a esto, Torres y colaboradores<sup>18</sup> sintetizaron una serie de compuestos 1,4-di-*N*-óxido de quinoxalina y evaluaron su actividad biológica *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi* encontrando que la eficacia de estos compuestos está relacionada con la presencia de grupos extractores de electrones en el anillo de quinoxalina.<sup>18</sup> El mecanismo de acción de este grupo de compuestos no se conoce por completo, sin embargo, estudios realizados por Benítez y colaboradores sugieren un mecanismo basado en la bio-reducción del grupo *N*-óxido (N-O, ver Figura 1) presente en los *N*-óxidos de quinoxalina con participación de la enzima deshidrogenasa mitocondrial. Esta bio-reducción promueve la liberación de radicales  $\cdot\text{OH}$  que afectan el metabolismo redox del parásito.<sup>20</sup>

El conocimiento del mecanismo de acción de un fármaco facilita el diseño de fármacos más efectivos contra determinada enfermedad, asimismo, los modelos de relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés)<sup>21</sup> representan una herramienta útil para elucidar las características estructurales responsables de la actividad biológica de un conjunto de moléculas.<sup>22</sup> Así, en un modelo QSAR estas características estructurales pueden ser descritas mediante descriptores mecano-cuánticos, fisicoquímicos, topológicos, geométricos, entre otros. Ya que la actividad antichagas de los derivados 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina ha sido atribuida a las propiedades químicas de los grupos N-O, en el presente trabajo se utilizaron descriptores electrónicos del marco conceptual de la Teoría del funcional de la densidad (DFT, por sus siglas en inglés)<sup>23</sup> para el modelamiento QSAR-2D de los 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina sintetizados y evaluados *in vitro* por Torres y colaboradores<sup>18</sup> contra la cepa Tulahuen 2 de *T. cruzi* (Tabla 1). Aunque el ajuste de los modelos encontrados resultó ser estadísticamente razonable, estos no podrían ser utilizados para el diseño de nuevos derivados *N*-óxidos de quinoxalina con actividad contra *T. Cruzii* debido a que el reducido número de compuestos limitó la realización de pruebas de validación externa.

En particular, se encontró que la reactividad de los grupos N-O tiene un impacto significativo sobre la actividad biológica de los compuestos estudiados.

\*e-mail: guerracbn@gmail.com

**Tabla 1.** Actividad biológica y estructuras de los 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina

Compuesto	-R <sub>1</sub>	-R <sub>2</sub>	-R <sub>3</sub>	IC <sub>50</sub>
1	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	2.6
2	-OCH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	4.6
3	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	13.7
4	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	5.0
5	-Cl	-H	-CH <sub>3</sub>	1.8
6	-Cl	-Cl	-CH <sub>3</sub>	10.8
7	-F	-H	-CH <sub>3</sub>	3.5
8	-F	-F	-CH <sub>3</sub>	1.5
9	-CF <sub>3</sub>	-F	-CH <sub>3</sub>	5.0
10	-H	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4.0
11	-OCH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4.8
12	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4.8
13	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	7.6
14	-Cl	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.8
15	-Cl	-Cl	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	2.9
16	-F	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	3.3
17	-F	-F	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.4
18	-CF <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.0

IC<sub>50</sub> en μM que inhibe el 50% de la forma epimastigota de *T. cruzi*.

## FUNDAMENTOS TEORICOS

Los descriptores que fueron utilizados como variables independientes para construir el modelo QSAR pertenecen al contexto conceptual de la DFT;<sup>23,24</sup> estos han sido clasificados en descriptores globales y locales. Las cantidades globales dan información inherente al comportamiento reactivo de una molécula, son el potencial químico electrónico ( $\mu$ ), la dureza ( $\eta$ ), la suavidad ( $S$ ) y el índice de electrofilicidad ( $\omega$ ). Estos fueron calculados a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\mu = \frac{-(EI + AE)}{2} \quad (1)$$

$$\eta = \frac{(AE - EI)}{2} \quad (2)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (3)$$

$$S = \frac{1}{2\eta} \quad (4)$$

Las expresiones  $EI$  y  $AE$  representan la energía de ionización y la afinidad electrónica, que fueron calculadas a través del esquema de diferencias verticales de energía. La dureza puede interpretarse como la resistencia de una molécula a ceder su densidad electrónica, mientras que valores altos de suavidad indican una mayor reactividad.<sup>25</sup> Por otro lado, el índice de electrofilicidad  $\omega$  propuesto por

Parr y colaboradores<sup>26</sup> proporciona información sobre el carácter electrofílico de una molécula, en este sentido, los valores más bajos de  $\omega$  son característicos de las especies más nucleofílicas.

Los descriptores locales de reactividad como la función de Fukui (FF),<sup>27,28</sup> son definidos por las variaciones en el potencial externo cuando se mantiene fijo el número de electrones, dando información relacionada con la selectividad de un sitio en una molécula. El descriptor FF predice el poder de un sitio en un sistema molecular para donar o aceptar electrones, y se define como:

$$f(r) = \left( \frac{\delta\mu}{\delta v(r)} \right)_N \quad (5)$$

Donde  $\mu$  es el potencial químico electrónico,  $v(r)$  es el potencial externo debido al núcleo y  $N$  es el número de electrones. La expresión anterior presenta problemas de discontinuidad que se han resuelto utilizando la aproximación de diferencias finitas dando lugar a dos expresiones de FF en función de la densidad electrónica total:<sup>29</sup>

$$f^+(r) = \left( \frac{\delta\rho(r)}{\delta N} \right)_{v(r)}^+ = \rho_{N+1}(r) - \rho_N(r) \quad (6)$$

$$f^-(r) = \left( \frac{\delta\rho(r)}{\delta N} \right)_{v(r)}^- = \rho_N(r) - \rho_{N-1}(r) \quad (7)$$

Aquí,  $\rho_{N+1}(r)$ ,  $\rho_N(r)$  y  $\rho_{N-1}(r)$  representan la densidad electrónica en un punto para un sistema con  $N + 1$ ,  $N$  y  $N - 1$  electrones respectivamente. Por otra parte, Morell y colaboradores<sup>30</sup> propusieron un nuevo índice de reactividad local llamado descriptor dual  $f^{(2)}(r)$ , cuya expresión de trabajo está dada por:

$$f^{(2)}(r) = f^+(r) - f^-(r) \quad (8)$$

Donde  $f^+(r)$  y  $f^-(r)$  son las funciones de Fukui asociadas a un ataque electrofílico y nucleofílico respectivamente. El descriptor dual puede ser condensado para el  $k$ -ésimo átomo de un sistema molecular  $\Omega_k$  según la ecuación:

$$\int_{\Omega} f^{(2)}(r) dr = f_k^{(2)} \quad (9)$$

Cuando  $f_k^{(2)} < 0$ , el átomo  $k$  actúa como una especie nucleofílica, y cuando  $f_k^{(2)} > 0$  este tiende a actuar como un electrófilo.<sup>29,31</sup>

Con el fin de explicar de manera concisa la reactividad y selectividad de un sistema químico, Padmanabhan y colaboradores<sup>32</sup> propusieron el descriptor multifílico (ecuación 10) combinando el concepto de filicidad propuesto Chattaraj y colaboradores<sup>33</sup> con descriptor dual de Morell y colaboradores;<sup>30</sup> este nuevo descriptor puede explicar simultáneamente la electrofilicidad y nucleofilidad de un átomo o región de un sistema químico.

$$\Delta\omega_k = \omega(f_k^+ - f_k^-) = \omega f_k^{(2)} \quad (10)$$

La interpretación del descriptor multifílico es similar a la interpretación que se da al descriptor dual, si  $\Delta\omega_k > 0$  el sitio asociado a este valor se comporta como electrófilo, mientras que si  $\Delta\omega_k < 0$ , el sitio asociado a este valor tiene naturaleza nucleofílica.

## METODOLOGIA

### Metodología computacional

Para obtener los parámetros de reactividad de los compuestos estudiados, estos fueron inicialmente construidos mediante la interfaz

gráfica del programa Avogadro,<sup>34</sup> y posteriormente optimizados utilizando el paquete computacional Gaussian03<sup>35</sup> mediante el modelo químico B3LYP/6-311++G(3df,2p) que ha proporcionado geometrías consistentes para derivados *N*-óxido de quinoxalina.<sup>36,37</sup> Los efectos del solvente fueron incorporados mediante el modelo de solvatación CPCM.<sup>38</sup> Los índices de reactividad se calcularon bajo el esquema de diferencias verticales de energía. Cuando se trabaja con la derivada de una cantidad a potencial externo constante, se considera que las posiciones nucleares permanecen fijas, por lo tanto, las variaciones en dicha cantidad son analizadas bajo la restricción de que la geometría molecular no se relaja durante los procesos de remoción y adición de electrones. Estos tipos de cambios son conocidos como diferencias verticales.<sup>39</sup> En este nivel de aproximación, las energías de ionización y afinidades electrónicas verticales fueron calculados respectivamente como:<sup>40</sup>

$$EI = E_{N-1} - E_N \quad (12)$$

$$AE = E_N - E_{N+1} \quad (13)$$

Donde  $E_{N-1}$ ,  $E_{N+1}$  y  $E_N$ , son las energías electrónicas del catión, del anión y de la molécula neutra respectivamente. Estas energías fueron calculadas a punto simple sobre las geometrías previamente optimizadas, utilizando el funcional híbrido B3LYP en conexión con la base 6-311++G/(3df,2p).

Las funciones de Fukui fueron calculadas utilizando el programa AOMix,<sup>41</sup> que dispone de las siguientes ecuaciones para las funciones de Fukui condensadas:

$$f_k^+ = \sum_{a \in k} (C_{ai}^2 + C_{ai} \sum_{b \neq a} C_{bi} S_{ab}), \quad i = LUMO \quad (14)$$

$$f_k^- = \sum_{a \in k} (C_{ai}^2 + C_{ai} \sum_{b \neq a} C_{bi} S_{ab}), \quad i = HOMO \quad (15)$$

Donde  $C_{ai}$  son los coeficientes de la combinación lineal de orbitales atómicos (LCAO, por sus siglas en inglés), y  $S_{ab}$  son los elementos de la matriz de solapamiento.

En este estudio se analizó la reactividad y selectividad de los grupos N-O presentes en los 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina utilizando el descriptor multifílico condensado sobre este grupo (ecuación 11), un concepto análogo al descriptor de exceso de nucleofilicidad.<sup>32</sup>

$$\Delta\omega_{NO} = \omega(f_N^+ - f_N^- + f_O^+ - f_O^-) = \omega(f_N^{(2)} + f_O^{(2)}) = \omega f_{NO}^{(2)} \quad (11)$$

$f_N^{(2)}$  y  $f_O^{(2)}$  representan el descriptor dual para los átomos de nitrógeno y oxígeno de los grupos *N*-óxido ( $NO^1$  y  $NO^2$ ). Los descriptores multifílicos utilizados como variables independientes se calcularon sobre los grupos  $NO^1$  ( $\Delta\omega_{NO}^1$ ) y  $NO^2$  ( $\Delta\omega_{NO}^2$ ) (ver Figura 1).

La hidrofobicidad molecular fue incluida en los modelos QSAR mediante el coeficiente de partición n-octanol/agua ( $LogP_{ow}$ ), que

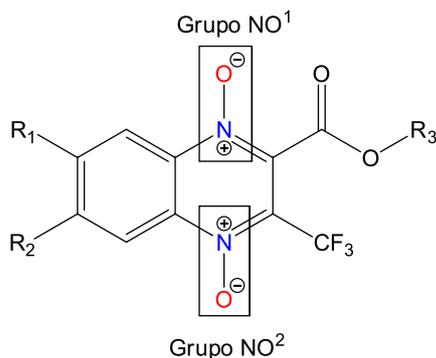


Figura 1. Grupos NO presentes en los di-*N*-óxidos de quinoxalina

mede la permeabilidad de las membranas biológicas hacia una molécula en particular.<sup>42,43</sup> Los  $LogP_{ow}$  fueron calculados utilizando la versión online del programa ALOGPS 2.1 siguiendo el esquema propuesto por Tetko y colaboradores.<sup>44,45</sup>

## Metodología QSAR

La construcción de los modelos QSAR se llevó a cabo mediante el análisis de regresión lineal múltiple (MLR, por sus siglas en inglés) implementado en el software BuildQSAR.<sup>46</sup> Inicialmente, se construyó la matriz de correlación para el conjunto de variables independientes con el fin de determinar la correlación cruzada entre las mismas, la cual debe ser mínima en lo posible (ortogonalidad de la serie). La selección de variables se realizó utilizando el algoritmo genético<sup>47</sup> implementado en BuilQSAR, de esta forma se obtienen modelos consistentes mediante un proceso de optimización que tiene en cuenta el valor de los parámetros estadísticos tales como el coeficiente de correlación y la desviación estándar.<sup>17</sup>

La validación de los modelos estadísticos es una etapa importante en el diseño de fármacos basado en técnicas QSAR debido a que se garantiza que las ecuaciones obtenidas tengan poder predictivo y sean lo suficientemente confiables para poder describir los cambios estructurales asociados a la actividad biológica.<sup>48</sup> Atendiendo a esto, la capacidad de predicción interna de los modelos se determinó mediante el método de validación cruzada dejando uno fuera (LOO-CV, por sus siglas en inglés),<sup>49</sup> ya que ha mostrado ser un procedimiento adecuado para esta línea de trabajo.<sup>50,51</sup>

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 2 se muestra la matriz de correlación de los descriptores calculados para los 18 compuestos de estudio en términos del cuadrado de los coeficientes de correlación ( $R^2$ ), si existe correlación entre las variables independientes de un modelo QSAR resulta difícil saber si los cambios en la actividad biológica son debidos a un descriptor en específico, por lo tanto es necesario analizar el grado de correlación entre estos.

Tabla 2. Matriz de correlación de los índices moleculares calculados

	$\mu$	$\eta$	$\omega$	$\Delta\omega_{NO(R)}^1$	$\Delta\omega_{NO(R)}^2$	$LogP_{ow}$	$S$
$\mu$	1						
$\eta$	0,594	1					
$\omega$	0,963	0,771	1				
$\Delta\omega_{NO(R)}^1$	<b>0,658</b>	0,321	<b>0,604</b>	1			
$\Delta\omega_{NO(R)}^2$	0,197	0,077	0,172	0	1		
$LogP_{ow}$	0,423	<b>0,702</b>	0,552	0,322	0,036	1	
$S$	0,588	1	0,766	0,313	0,077	<b>0,705</b>	1

Los mayores grados de correlación se producen entre los índices globales de reactividad debido a que estos se encuentran íntimamente relacionados por sus expresiones matemáticas, sin embargo existe correlación entre descriptores de diferente naturaleza, el descriptor multifílico  $\Delta\omega_{NO}^1$  correlaciona considerablemente con los descriptores globales  $\omega$  y  $\mu$  debido a esto la incorporación simultánea de estas variables en un modelo QSAR resulta inapropiado, de forma similar ocurre con los descriptores  $LogP_{ow}$ ,  $\eta$  y  $IS$ .

Las ecuaciones 16 y 17 corresponden a los modelos QSAR obtenidos (M1 y M2) utilizando los datos mostrados en la Tabla 3 como conjunto de entrenamiento, la actividad biológica se expresó como

$\text{Log}(IC_{50}^{-1})$  dada su conveniencia en el análisis de regresión lineal.

M1

$$\text{Log}(IC_{50}^{-1}) = -0,0107\Delta\omega_{NO}^2 - 0,0166\Delta\omega_{NO}^1 - 0,4471\text{Log}P_{o/w} - 1,9576 \quad (16)$$

$$n = 18 \quad R^2 = 0,5672 \quad F = 6,116$$

$$p = 0,007 \quad Q^2 = 0,331 \quad s = 0,267$$

M2

$$\text{Log}(IC_{50}^{-1}) = -33,1782S - 0,0122\Delta\omega_{NO}^2 - 0,0185\Delta\omega_{NO}^1 + 7,3359 \quad (17)$$

$$n = 18 \quad R^2 = 0,6383 \quad F = 8,298$$

$$p = 0,002 \quad Q^2 = 0,44 \quad s = 0,243$$

**Tabla 3.** Valores de los índices moleculares y actividad biológica empleados en los modelos

Compuesto	$\text{Log}(IC_{50}^{-1})$	$\Delta\omega_{NO(R)}^1$	$\Delta\omega_{NO(R)}^2$	$\text{Log}P_{o/w}$	$S$
1	-0,4150	-135,3668	-47,6530	2,85	0,3325
2	-0,6628	-150,6909	-1,6727	2,89	0,3286
3	-1,1367	-135,2886	-34,3095	2,97	0,3299
4	-0,6990	-119,2590	-38,6601	3,09	0,3296
5	-0,2553	-158,9598	-47,3822	3,26	0,3379
6	-1,0334	-139,3592	-45,1759	3,62	0,3448
7	-0,5441	-157,4242	-41,4405	2,97	0,3322
8	-0,1761	-150,9680	-63,8938	3,09	0,3319
9	-0,6990	-125,9202	-84,3756	3,42	0,3367
10	-0,6021	-136,3203	-47,3982	3,04	0,3328
11	-0,6812	-151,2707	-2,0432	3,07	0,3287
12	-0,6812	-136,1851	-33,8522	3,17	0,3297
13	-0,8808	-120,3154	-38,2062	3,28	0,3298
14	-0,2553	-159,9290	-47,2517	3,43	0,3381
15	-0,4624	-158,7691	-67,0418	3,79	0,3451
16	-0,4914	-156,7511	-40,3051	3,15	0,3285
17	0,3979	-152,1662	-63,3186	3,26	0,3321
18	0,0000	-155,0030	-73,8276	3,57	0,3384

Donde  $R^2$  es el coeficiente de regresión múltiple,  $F$  es la prueba de Fischer,  $Q^2$  es el coeficiente de correlación de la validación cruzada (LOO-CV),  $p$  es la probabilidad del estadístico calculado y  $S$  es la desviación estándar de los datos. Un modelo de regresión es aceptable si  $R^2 > 0.6$ , también se requiere que valor de la desviación estándar sea próximo a cero, debido a que esto implica mayor confianza en la predicción y finalmente que la probabilidad sea menor al 5%.<sup>48</sup> Los modelos anteriormente mencionados (ecuaciones 16 y 17) cumplen con la mayoría de estos parámetros estadísticos. Para M1 se requiere de tres variables independientes para predecir la actividad biológica, entre ellas, dos descriptores multifílicos condensados sobre los grupos N-O y un descriptor de tipo hidrofóbico; sin embargo, el coeficiente de correlación indica que la variabilidad de la actividad biológica es explicada solo en un 56,72% por estos descriptores, lo que no es suficiente, ya que, para que el modelo sea estadísticamente válido  $R^2 > 0.6$ . Por otra parte, M2 presenta un  $R^2 > 0.6$  que lo hace estadísticamente aceptable. De forma similar que M1, se encuentra explicado por los descriptores multifílicos condensados sobre los grupos N-O, sugiriendo que la presencia de estos índices moleculares mejora la significación estadística de los modelos reportados.

La validación de los modelos QSAR es de gran importancia ya que de esta forma se garantiza su habilidad predictiva. En general M1 y M2 presentan baja predictividad interna debido a que los coeficientes

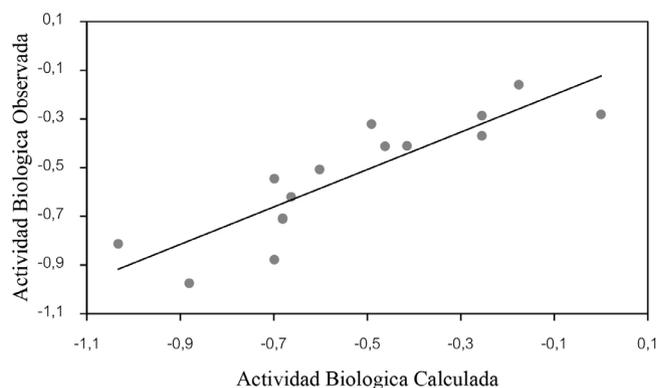
de correlación de la validación cruzada dejando uno fuera (LOO-CV) son inferiores a 0.5. En consecuencia, la calidad estadística de estos modelos fue mejorada utilizando la ecuación 18 para excluir compuestos que al ser retenidos en los modelos disminuían su calidad estadística (outliers).<sup>52</sup>

$$|Y_{Obs} - Y_{Calc}| \geq 2s \quad (18)$$

Donde  $Y_{Obs}$  corresponde a la actividad biológica observada para cada compuesto (Tabla 1),  $Y_{Calc}$  es la actividad biológica calculada utilizando las ecuaciones 16 y 17, y  $s$  es la desviación estándar de los datos tabulados en la Tabla 3.

Tres compuestos fueron excluidos en cada modelo aumentando su calidad estadística y su capacidad de predicción (Ver Figura 2 y 3). Las ecuaciones 19a y 19b muestran los modelos QSAR obtenidos al eliminar los outliers.

M3, Compuestos excluidos del modelo (3,7,17)



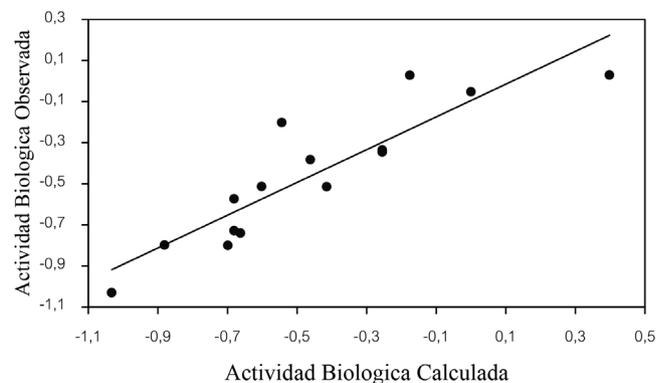
**Figura 2.** Valores de actividad biológica observados en comparación con los valores calculados (M3)

$$\text{Log}(IC_{50}^{-1}) = -0,0092\Delta\omega_{NO}^2 - 0,0154\Delta\omega_{NO}^1 - 0,5736\text{Log}P_{o/w} - 1,2908 \quad (19a)$$

$$n = 15 \quad R^2 = 0,7679 \quad F = 12,1344$$

$$p = 0,0008 \quad Q^2 = 0,5613 \quad s = 0,1508$$

M4, Compuestos excluidos del modelo (3,9,16)



**Figura 3.** Valores de actividad biológica observados en comparación con los valores calculados (M4)

$$\text{Log}(IC_{50}^{-1}) = -44,9105S - 0,0146\Delta\omega_{NO}^2 - 0,0176\Delta\omega_{NO}^1 + 11,3357 \quad (19b)$$

$$n = 15 \quad R^2 = 0,7975 \quad F = 14,442$$

$$p = 0,0004 \quad Q^2 = 0,6557 \quad s = 0,1846$$

Los modelos M3 y M4 presentan mayor calidad estadística que M1 y M2, puesto que para estos modelos los valores de  $p$  y  $S$  disminuyen significativamente, adicionalmente el valor de  $F$  para los

modelos M3 y M4 excede el valor tabulado de  $F_t = 8.683$  ( $\alpha = 0,01$ ; grados de libertad 1 y 15)<sup>53</sup> lo que indica una mayor significancia estadística en comparación con M1 y M2 ( $F < F_t$ ), también la capacidad predictiva de M3 y M4 mejora sustancialmente debido a que los valores de  $R^2$  y  $Q^2$  son superiores a 0.6 y 0.5, respectivamente, cabe resaltar que la exclusión excesiva de los compuestos catalogados como outliers resta valor predictivo a los modelos QSAR ya que puede violarse la regla práctica QSAR, en donde debe haber por lo menos cinco datos experimentales por descriptor usado.<sup>54</sup> Sin embargo los modelos aquí reportados cumplen con esta regla práctica del QSAR.

Los valores de  $Q^2$  obtenidos para M3 y M4 (Figura 2 y 3), a través del método de validación cruzada dejando uno fuera (LOO-CV, por sus siglas en inglés) fueron estadísticamente aceptables indicando la capacidad predictiva interna de los modelos, por lo que permiten analizar la relación entre el comportamiento reactivo del grupo *N*-O-óxido y la actividad biológica de las moléculas investigadas. Por tanto, los resultados obtenidos en este trabajo constituyen un punto de partida a estudios posteriores centrados en el diseño de moléculas derivadas con actividad biológica frente a la enfermedad de Chagas a partir de 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina. Por otra parte, como se mencionó previamente no se llevaron a cabo pruebas de validación externa para los modelos presentados, ya que, la investigación se enfocó principalmente en explicar el comportamiento reactivo y mecanístico de los compuestos estudiados y no en predecir la actividad biológica de nuevos derivados quinoxalínicos.

Ahora bien, como se mencionó en la introducción, se cree que el mecanismo de acción asociado al efecto biológico de los 1,4-*N*-óxidos de quinoxalina frente a *T. cruzi*, involucra reacciones de bio-reducción (Figura 4) donde el grupo *N*-O es hidrogenado con la subsecuente liberación de especies oxi-radicales ( $\cdot\text{OH}$ ) que podrían causar daño a *T. cruzi*. No obstante, la naturaleza del proceso de bio-reducción ha sido tema de controversia. En este contexto, Benítez y colaboradores<sup>20</sup> realizaron un estudio sobre el mecanismo de acción de los *N*-óxidos de quinoxalina, según el cual, estos compuestos ejercen su efecto sobre el parásito afectando la actividad bio-catalítica de la enzima deshidrogenasa mitocondrial durante el metabolismo de *T. cruzi*.

En este sentido, para dar soporte al mecanismo de acción propuesto por Benítez y colaboradores, los índices de la reactividad usados en la construcción de los modelos 2D-QSAR, se enfocaron en la descripción de la reactividad del grupo *N*-O. Así por ejemplo, en M3 y M4 la presencia de los descriptores permite cuantificar el carácter nucleofílico de estos grupos; donde el signo negativo de los coeficientes de sugiere que el aumento en el poder nucleofílico de estos sitios reactivos, tiene un efecto favorable sobre la actividad biológica contra *T. cruzi*. En consecuencia, se hace factible proponer que el carácter nucleofílico de los grupos *N*-O facilita su hidrogenación al reaccionar con la deshidrogenasa mitocondrial presente en el medio celular de *T. cruzi*. Esto se explica a la luz del modelo 2D-QSAR,

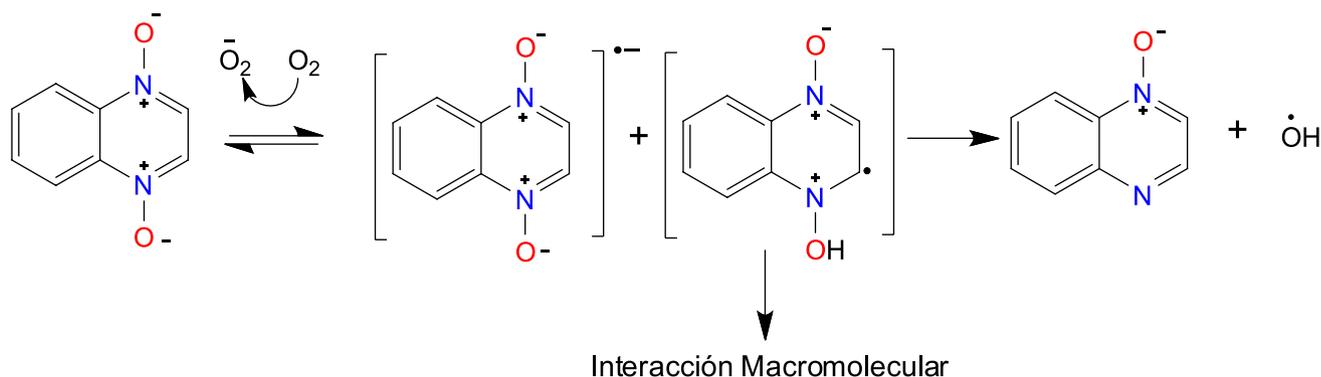


Figura 4. Reducción del grupo *N*-óxido a causa de una reacción macromolecular

debido a la buena correlación obtenida entre la actividad biológica de las moléculas investigadas y la reactividad del grupo *N*-O representada por su carácter nucleofílico.

Ahora bien, la suavidad y el coeficiente de hidrofobicidad ( $\text{Log}P_{ow}$ ) también son índices moleculares importantes que permiten explicar la actividad biológica de los di-*N*-óxidos de quinoxalina. Los compuestos con valores bajos de suavidad presentan valores promisorios de actividad biológica contra *T. cruzi* (ecuación 19). Por otra parte, los valores negativos del coeficiente de partición octanol/agua, indican un carácter hidrofílico de la molécula, lo cual dificulta su paso a través de la membrana celular. En cambio valores positivos de indican un carácter hidrofóbico y por lo tanto alta capacidad de atravesar la membrana.<sup>49</sup> Como se observa en la ecuación 18 el signo negativo en la variable  $\text{Log}P_{ow}$ , sugiere que el aumento en el carácter lipofílico disminuye la actividad biológica de los *N*-óxidos de quinoxalina, las moléculas con valores muy altos del coeficiente de partición octanol/agua ( $\text{Log}P_{ow} > 5$ ) tienden a ser poco solubles en la membrana debido a que exceden la regla de lipinsky,<sup>55</sup> lo anterior podría explicar la relación inversa entre el carácter lipofílico y la actividad biológica de los compuestos estudiados.

### Análisis de la reactividad química

Las ecuaciones QSAR mostraron que la actividad biológica de los *N*-óxidos de quinoxalina, se puede predecir con base en los descriptores mecano-cuánticos de la reactividad química. En razón a lo anterior se llevó a cabo un análisis de la reactividad química de las moléculas investigadas. En aras de hacer claridad en el análisis de la reactividad química, las moléculas de *N*-óxidos de quinoxalina, se clasificaron teniendo en cuenta la naturaleza del sustituyente  $-R_3$ . Así por ejemplo, para las moléculas donde  $R_3 = \text{CH}_3$  se considera perteneciente a la serie de los metoxilos, y si  $R_3 = \text{CH}_2\text{CH}_3$  corresponde a la serie de los etoxilos. Esta clasificación permite calcular los descriptores de la reactividad de forma relativa:

$$\varphi_R = \frac{\varphi_{met}}{\varphi_{et}} \quad (20)$$

En donde  $\varphi_R$  es denominado descriptor de reactividad relativa,  $\varphi_{met}$  y  $\varphi_{et}$  representa cualquier global o local que describa el comportamiento reactivo de la serie metoxilo y etoxilo respectivamente, si  $\varphi_R > 1$  el análogo metoxilo presenta valores mayores de la propiedad  $\varphi$  en comparación con su análogo etoxilo, si  $\varphi_R < 1$  implica que el análogo etoxilo exhibe un mayor valor de la propiedad  $\varphi$  respecto al análogo metoxilo. La Tabla 4 muestra los descriptores de reactividad relativa calculados para cada par de análogos.

Los valores de la Tabla 4 sugieren que la serie metoxilo exhibe un comportamiento electrofílico mayor en comparación con la serie etoxilo (a excepción de 18 y 9), sin embargo la reactividad de la

**Tabla 4.** Descriptores de reactividad relativa

Análogos	$S_R$	$\omega_R$
1 y 10	0,9992	1,0037
2 y 11	0,9997	1,0047
3 y 12	1,0007	1,0043
4 y 13	0,9993	1,0039
5 y 14	0,9996	1,0046
6 y 15	0,9991	1,0035
7 y 16	1,0112	1,0159
8 y 17	0,9992	1,0038
9 y 18	0,9949	0,9944

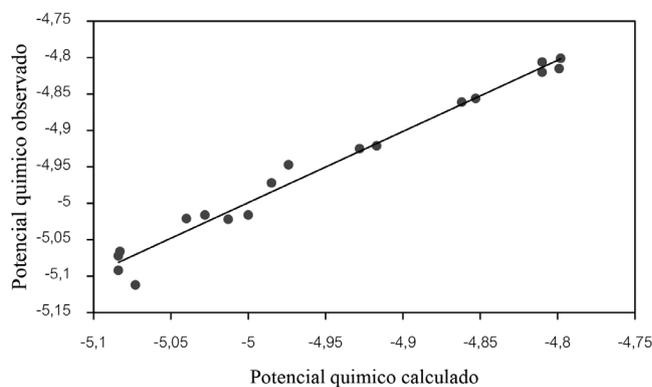
serie metoxilo es menor, puesto que los valores de  $S_R$  son mayores a la unidad, a excepción de los compuestos 3, 12, 7, 16 que no siguen estas tendencias debido a que la reactividad de los análogos metoxilos es mayor.

La presencia de los grupos metoxilo en los 1,4 di-*N*-óxidos de quinoxalina, proporciona mayor estabilidad a estos sistemas químicos y también aumenta su afinidad por moléculas de carácter nucleofílico. Por otra parte, los grupos etoxilo aumentan el carácter nucleofílico y la reactividad de los 1,4 di-*N*-óxidos de quinoxalina. El carácter nucleofílico podría explicar por qué los análogos etoxilo tienden a ser más activos en comparación con sus respectivos análogos metoxilo.

El carácter nucleofílico global de los 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina puede interpretarse utilizando el potencial químico electrónico, en la Figura 5 se muestra el grafico del potencial químico versus el potencial químico calculado en función descriptor multifilic de los grupos N-O y el índice de electrofilicidad global (Figura 5).

$$\mu = -0,1745\omega + 0,0011\Delta\omega_{NO}^2 + 0,0010\Delta\omega_{NO}^1 - 3,3224 \quad (21)$$

$$R^2 = 0,978 \quad Q^2 = 0,943$$

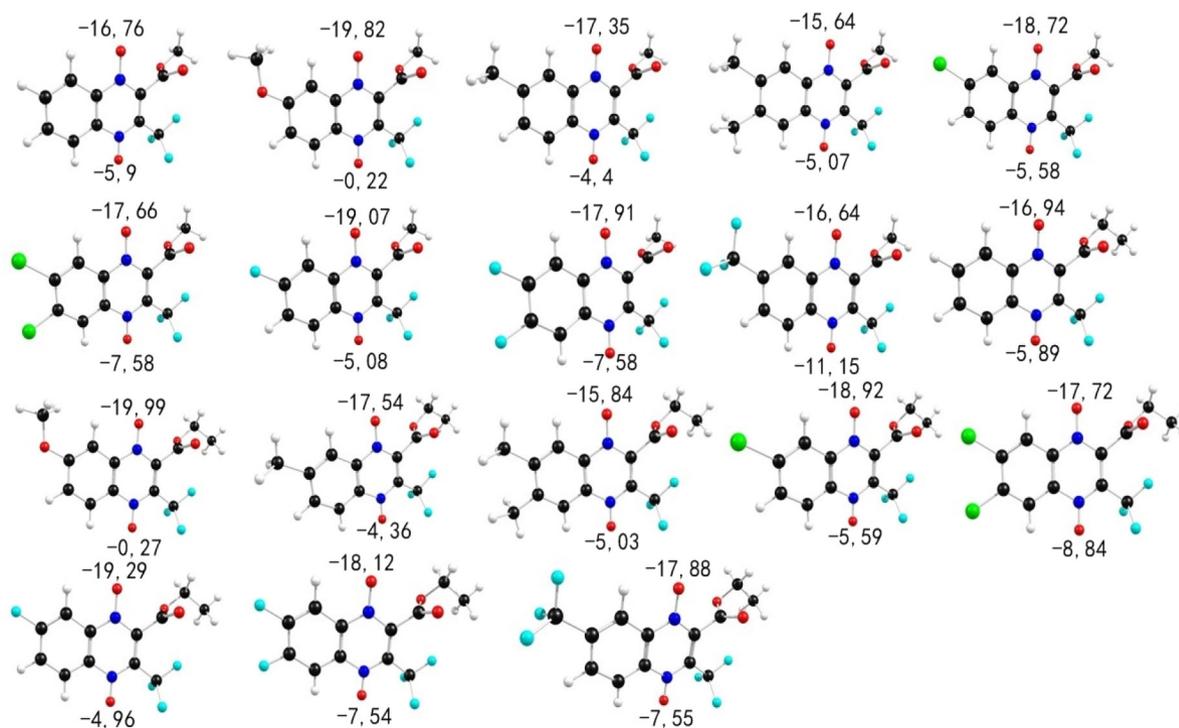
**Figura 5.** Grafico del potencial químico observado versus potencial químico calculado

El potencial químico electrónico mide la tendencia que tienen los electrones a escapar de la nube electrónica, de modo que el carácter nucleofílico puede cuantificarse teniendo en cuenta esta propiedad global. La ecuación 22 tiene un significado interesante, puesto que muestra que el poder nucleofílico global depende unívocamente del comportamiento nucleofílico del grupo N-O. La ecuación de regresión 21 presenta una excelente capacidad de predicción interna y también una buena correlación.

#### Análisis de la reactividad local

La reactividad a nivel local se abordó utilizando el descriptor dual de reactividad que permite determinar sin ambigüedad el sitio reactivo de una molécula, la Figura 6 muestra el descriptor dual (ecuación 9) calculado para cada grupo N-O.

Se observa que para todos los compuestos  $f_{NO}^{(2)} < 0$ , esto sugiere que el grupo N-O posee un carácter nucleofílico. Con el propósito de estudiar el efecto que produce el cambio en los sustituyentes  $R_1$  y  $R_2$

**Figura 6.** Descriptor dual condensado sobre los grupos NO

sobre el poder nucleofílico del grupo N-O, el descriptor multifilico fue normalizado tomando como criterio el compuesto de cada serie de análogos que no presenta sustitución ( $R_1=H$ ,  $R_2=H$ ), en este caso para la serie metoxilo corresponde al compuesto 1, y para la serie etoxilo es el compuesto 10.

$$\Delta\omega_{NO(R)}^n = \frac{\Delta\omega_{NO}^n}{\Delta\omega_{NO(1,10)}^n} \quad (22)$$

En donde  $\Delta\omega_{NO}^n$  corresponde al descriptor multifilico de los grupos N-O para cada especie sustituida ( $n=1$ ,  $n=2$ ) y  $\Delta\omega_{NO(1,10)}^n$  es el descriptor multifilico del grupo N-O para las especies químicas sin sustitución (1 y 10) dependiendo de la serie de análogos en la que se encuentren. Si  $\Delta\omega_{NO(R)}^n > 1$ , entonces la sustitución aumenta el poder nucleofílico del grupo N-O, o en el caso que  $\Delta\omega_{NO(R)}^n < 1$  la sustitución disminuye el poder nucleofílico de dicho grupo. En la Tabla 5 se muestran los valores de  $\Delta\omega_{NO(R)}^n$  para cada compuesto.

**Tabla 5.** Descriptor multifilico relativo a los sustituyentes  $R_1$  y  $R_2$

Compuesto	$\Delta\omega_{NO(R)}^1$	$\Delta\omega_{NO(R)}^2$
2	1,1132	0,0351
3	0,9994	0,7200
4	0,8810	0,8113
5	1,1743	0,9943
6	1,0295	0,9480
7	1,1629	0,8746
8	1,1153	1,3408
9	0,9302	1,7706
11	1,1097	0,0431
12	0,9990	0,7142
13	0,8826	0,8061
14	1,1732	0,9969
15	1,1647	1,4188
16	1,1499	0,8530
17	1,1162	1,3400
18	1,1371	1,5624

Los valores mostrados en la Tabla 5 sugieren que el poder nucleofílico del grupo N-O<sup>1</sup> aumenta cuando al menos uno de los sustituyentes  $R_1$  y  $R_2$  es un halógeno (extractor de electrones); sin embargo, para el compuesto 9 ( $R_1 = CF_3$ ,  $R_2 = H$ ) disminuye el carácter nucleofílico del grupo N-O<sup>1</sup> a pesar de que  $R_1$  se comporta como un fuerte extractor de electrones. Por otra parte, los sustituyentes donadores de electrones disminuyen la nucleofilicidad del grupo N-O<sup>1</sup>, no obstante los compuestos 2 y 11 donde  $R_1 = OCH_3$  (donador de electrones) presentan aumento en el poder nucleofílico del grupo N-O<sup>1</sup>, esta tendencia se cumple para ambas series de análogos a excepción del compuesto 18 de la serie etoxilo el cual tiene un valor de  $\Delta\omega_{NO(R)}^1 < 0$ .

El grado de sustitución tiene un efecto considerable en el aumento del carácter nucleofílico del grupo N-O<sup>1</sup> puesto que las especies disustituidas poseen menores valores de  $\Delta\omega_{NO(R)}^1$  en comparación con los compuestos que presentan monosustitución.

El grupo N-O<sup>2</sup> posee un comportamiento distinto en comparación con las tendencias observadas para el grupo N-O<sup>1</sup>, El efecto de la sustitución en  $R_1$  y  $R_2$  sobre el grupo N-O<sup>2</sup>, no son distinguibles respecto a su naturaleza debido a que no se producen aumentos en

$\Delta\omega_{NO(R)}^2$  para todos los compuestos que poseen sustituyentes extractores de electrones, sin embargo los valores de  $\Delta\omega_{NO(R)}^2$  son menores en los compuestos sustituidos con grupos donadores de electrones.

La actividad biológica de los 1,4 di-*N*-óxidos de quinoxalina está relacionada con la naturaleza de los sustituyentes  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$ , cuando estos grupos se comportan como extractores de electrones la actividad biológica de estos compuestos aumenta. Asimismo el poder nucleofílico del grupo N-O se encuentra relacionado con la sustitución en  $R_1$  y  $R_2$ . Los compuestos que presentan  $\Delta\omega_{NO(R)}^1 > 1$  y  $\Delta\omega_{NO(R)}^2 > 1$  tienden a ser los más activos contra *T. cruzi*. Lo anterior indica que el aumento en la reactividad del grupo N-O debido a la naturaleza de los sustituyentes  $R_1$  y  $R_2$  refuerza la idea de que la actividad biológica de los 1,4-*N*-óxidos de quinoxalina depende significativamente del comportamiento reactivo de estos grupos.

## CONCLUSIONES

Se reportaron 2 modelos QSAR con capacidad de relacionar la actividad biológica de una serie de derivados 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina frente a *T. cruzi* con propiedades derivadas de la estructura electrónica, asimismo se obtuvo que estos modelos gozan de buena calidad estadística ( $R^2 > 0,6$ ) y de buena predicción interna ( $Q^2 > 0,5$ ), sin embargo estos modelos no pueden utilizarse para predecir la actividad biológica de nuevos derivados quinoxalínicos debido a que no fueron validados externamente. Por otro lado con los descriptores de reactividad condensados sobre los grupos N-O fueron de gran utilidad para construir los modelos QSAR, se encontró que el aumento poder nucleofílico de los grupos N-O favorece la actividad biológica de los 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina, los efectos de hidrofobicidad y reactividad global también fueron útiles para explicar los cambios en la actividad biológica.

La reactividad de los compuestos antichagásicos fue analizada mediante los descriptores electrónicos calculados al nivel B3LYP/6-311++G (3df, 2p). Se encontró que la reactividad global de los análogos etoxilo es mayor en comparación con la de la serie metoxilo, sin embargo esta serie presenta un carácter electrofílico mayor. Se observó que el poder nucleofílico de los grupos N-O aumenta cuando el anillo de quinoxalina se encuentra sustituido con grupos extractores de electrones, los grupos donadores de electrones tienden a reducir este carácter nucleofílico, también es importante mencionar que el poder nucleofílico global de los 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina depende considerablemente del carácter nucleofílico de los grupos N-O.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan la idea de que los grupos N-O participan en el mecanismo de acción de los *N*-óxidos de quinoxalina, puesto que el comportamiento reactivo de estos grupos determina en gran medida su actividad frente a *T. cruzi*, lo anterior conduce a una mejor criterio químico al momento de diseñar nuevos análogos con actividad antichagásica.

## REFERENCIAS

- Reyes López, P. A.; *Arch. Cardiol. Mex.* **2007**, *79*, 237.
- Rassi, A.; de Rezende, J. M.; *Infect. Dis. Clin. North Am.* **2012**, *26*, 275.
- Schmunis, G. A.; Yadon, Z. E.; *Acta Trop.* **2010**, *115*, 14.
- Schmunis, G. A.; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2007**, *102*, 75.
- Ibarra-Cerdeña, C. N.; Zaldívar-Riverón, A.; Peterson, A. T.; Sánchez-Cordero, V.; Ramsey, J. M.; *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2014**, *8*, e3266.
- Fong, D. L.; Torrence, A. E.; Vogel, K. W.; Stockinger, D. E.; Nelson, V.; Murnane, R. D.; Baldessari, A.; Kuller, L.; Agy, M.; Kiem, H.-P.; Hotchkiss, C. E.; *Comp. Med.* **2014**, *64*, 63.
- Benítez, R.; Noemí, I.; Tassara, R.; Catalán, P.; Avilés, C. L.; *Revista chilena de infectología* **2012**, *29*, S41.

8. Márquez, E.; Crespo, M.; Mir, M.; Pérez-Sáez, M. J.; Quintana, S.; Barbosa, F.; Pascual, J.; *Nefrologia* **2013**, *33*, 128.
9. Murcia, L.; Carrilero, B.; Muñoz-Davila, M. J.; Thomas, M. C.; López, M. C.; Segovia, M.; *Clin. Infect. Dis.* **2013**, *56*, 496.
10. Rueda, K.; Trujillo, J. E.; Carranza, J. C.; Vallejo, G. A.; *Biomédica* **2014**, *34*, 631.
11. Castro, J. A.; de Mecca, M. M.; Bartel, L. C.; *Hum. Exp. Toxicol.* **2006**, *25*, 471.
12. Nunes, M. C. P.; Dones, W.; Morillo, C. A.; Encina, J. J.; Ribeiro, A. L.; *J. Am. Coll. Cardiol.* **2013**, *62*, 767.
13. Ribeiro, A. L.; Nunes, M. P.; Teixeira, M. M.; Rocha, M. O. C.; *Nat. Rev. Cardiol.* **2012**, *9*, 576.
14. Molina, I.; Salvador, F.; Sánchez-Montalvá, A.; Treviño, B.; Serre, N.; Sao Avilés, A.; Almirante, B.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, AAC.04660.
15. Aguirre, G.; Boiani, L.; Boiani, M.; Cerecetto, H.; Di Maio, R.; González, M.; Porcal, W.; Denicola, A.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Sant'Anna, C. M. R.; Barreiro, E. J.; *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6336.
16. Aguirre, G.; Boiani, M.; Cerecetto, H.; Gerpe, A.; González, M.; Sainz, Y. F.; Denicola, A.; De Ocariz, C. O.; Nogal, J. J.; Montero, D.; Escario, J. A.; *Arch. Pharm.* **2004**, *337*, 259.
17. Boiani, M.; Cerecetto, H.; Gonzalez, M.; Gasteiger, J.; *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, *48*, 213.
18. Torres, E.; Moreno-Viguri, E.; Galiano, S.; Devarapally, G.; Crawford, P. W.; Azqueta, A.; Arbillaga, L.; Varela, J.; Birriel, E.; Di Maio, R.; Cerecetto, H.; González, M.; Aldana, I.; Monge, A.; Pérez-Silanes, S.; *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *66*, 324.
19. Boiani, M.; Piacenza, L.; Hernández, P.; Boiani, L.; Cerecetto, H.; González, M.; Denicola, A.; *Biochem. Pharmacol.* **2010**, *79*, 1736.
20. Benitez, D.; Cabrera, M.; Hernández, P.; Boiani, L.; Lavaggi, M. L.; Di-Maio, R.; Yaluff, G.; Serna, E.; Torres, E.; Ferreira, M. E.; Vera-De-Bilbao, N.; Perez-Silanes, S.; Solano, B.; Moreno-Viguri, E.; Aldana, I.; Lopez-de-Cerain, A.; Cerecetto, H.; Gonzalez, M.; Monge, A.; *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3624.
21. Giaginis, C.; Tsantili-kakoulidou, A.; Theocharis, S.; *Forensic Int. Sci.* **2009**, *190*, 9.
22. Patel, H. M.; Noolvi, M. N.; Sharma, P.; Jaiswal, V.; Bansal, S.; Lohan, S.; Kumar, S. S.; Abbot, V.; Dhiman, S.; Bhardwaj, V.; *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 4991.
23. Parr, R.; Yang, W.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4049.
24. Liu, S.-B.; *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2009**, *25*, 590.
25. Pearson, R.; *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 250.
26. Parr, R.; Szentpály, L.; Liu, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1922.
27. Li, Y.; Evans, J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7756.
28. Cárdenas, C.; Tiznado, W.; *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 2325.
29. Martínez-Araya, J. I.; Salgado-Morán, G.; Glossman-Mitnik, D.; *J. Chem.* **2013**, *2013*, 1.
30. Morell, C.; Grand, A.; Toro-Labbé, A.; *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 205.
31. Cárdenas, C.; Rabi, N.; Ayers, P.; *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 8660.
32. Padmanabhan, J.; Parthasarathi, R.; Elango, M.; Subramanian, V.; Krishnamoorthy, B. S.; Gutierrez-Oliva, S.; Toro-Labbé, A.; Roy, D. R.; Chattaraj, P. K.; *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 9130.
33. Chattaraj, P.; Maiti, B.; Sarkar, U.; *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 4973.
34. Hanwell, M. D.; Curtis, D. E.; Lonie, D. C.; Vandermeersch, T.; Zurek, E.; Hutchison, G. R.; *J. Cheminform.* **2012**, *4*, 1.
35. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, Jr., J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A.; *Gaussian 03, Revision E.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
36. Gomes, R. B.; Sousa, E. A.; Gomes, P.; Vale, N.; Gonçalves, J. M.; Pandey, S.; Acree, W. E.; Ribeiro, M. D. M. C.; *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 2075.
37. Viveiros, M. L. F.; Freitas, V. L. S.; Vale, N.; Gomes, J. R. B.; Gomes, P.; Silva, M. D. M. C. R.; *J. Phys. Org. Chem.* **2012**, *25*, 420.
38. Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R.; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2999.
39. Glossman-Mitnik, D.; *Procedia Computer Science* **2013**, *18*, 816.
40. Zhan, C.-G.; Nichols, J. A.; Dixon, D. A.; *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 4184.
41. Gorelsky, S. I.; *AOMix: Program for Molecular Orbital Analysis*, 2014.
42. Sarmah, P.; Deka, R. C.; *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2009**, *23*, 343.
43. Liu, X.; Testa, B.; Fahr, A.; *Pharm. Res.* **2011**, *28*, 962.
44. Tetko, I. V.; Bruneau, P.; *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 3103.
45. Tetko, I. V.; *J. Chem.* **2002**, *42*, 1136.
46. de Oliveira, D. B.; Gaudio, A. C.; *Mol. Inf.* **2001**, *19*, 599.
47. Sutton, P.; *Am. J. Phys.* **1994**, *62*, 549.
48. Veerasamy, R.; Rajak, H.; Jain, A.; Sivadasan, S.; Varghese, C. P.; Agrawal, R. K.; *Int. J. Drug Des. Discov.* **2011**, *2*, 511.
49. Tropsha, A.; Gramatica, P.; Gombar, V.; *QSAR Comb. Sci.* **2003**, *22*, 69.
50. López, J. M.; Ensuncho, A. E.; *Inf. Tecnol.* **2014**, *25*, 161.
51. Liton, M. A. K.; Salma, U.; Bhowmick, A. C.; *Arab. J. Chem.* **2014**, *7*, 639.
52. Ju, D. C.; Shi, S. K.; Kulkarni, V. M.; *Indian J. Chem.* **2006**, *45*, 194.
53. Tiku, M. L.; *J. Am. Stat. Assoc.* **1967**, *62*, 525.
54. Kubinyi, H.; *Comput. Med. Chem. Drug Discov.* **2004**, *5*, 539.
55. Botté, C. Y.; Dubar, F.; McFadden, G. I.; Maréchal, E.; Biot, C.; *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 1269.