Modelado de las Relaciones Cuantitativas Estructura-Actividad (QSAR) de los Derivados 5-(Nitroheteroaril) -1,3,4-tiadiazol con Actividad Leishmanicida

Adolfo E. Ensuncho, Juana R. Robles y Said F. Figueredo

Universidad de Córdoba, Departamento de Química, Grupo de Química Computacional,
Cra. 6 N° 74-103, Córdoba-Colombia (e-mail: adem9abril@hotmail.com, juanarobles2003@yahoo.com, saifer87@gmail.com)

Recibido Ago. 4, 2016; Aceptado Oct. 11, 2016; Versión final Dic. 9, 2016, Publicado Abr. 2017

Resumen

En este trabajo se analizaron las relaciones de estructura-actividad para un grupo de derivados del compuesto 5-(nitroheteroaril)-1,3,4-tiadiazol con actividad leishmanicida frente a *Leishmania major*. Los descriptores utilizados para construir los modelos de regresión fueron de naturaleza topológica y electrónica, derivados de la teoría del funcional de la densidad. Los modelos QSAR obtenidos presentaron buena calidad estadística ($R^2 > 0,6$ y $Q^2 > 0,5$), y se validaron mediante la técnica de validación cruzada dejando uno fuera. Los modelos se mejoraron utilizando la técnica *jackknife*. La validación externa de los modelos indicó buena capacidad predictiva. Por otra parte, los descriptores usados en los modelos indican que el aumento creciente del momento dipolar y el índice de hidrofobicidad disminuyen la actividad biológica. Además, el poder electrofílico aumenta la actividad de los derivados. El análisis de reactividad mostró que el grupo nitro presente en estos compuestos es la parte más reactiva de los derivados.

Palabras clave: QSAR; leishmaniasis; poder electrófilo; hidrofobicidad; grupo nitro

Modeling Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) of Derivatives 5-(5-Nitroheteroaryl)-1,3,4-thiadiazols with Leishmanicidal Activity

Abstract

In the present work a structure-activity relationship (QSAR) analysis for some derivatives of 5-(5-nitroheteroaryl)-1,3,4-thiadiazols with activity against protozoan *Leishmania major*; the main cause of leishmaniasis disease was performed. The set of descriptors used to build regression models were from electronic and topological nature, and derived from the density functional theory. QSAR models built enjoy a good statistical quality ($R^2 > 0,6$ and $Q^2 > 0,5$) and were validated by cross-validation technique. Moreover, parameters were improved by using the jackknife regression technique. External validation of models showed a good predictive quality. We found that descriptors from the models indicate the increasing of dipole moment and hydrophobicity index tends to worsen the biological activity. Also, electrophilic power improves the effectiveness of 5-(5-nitroheteroaryl)-1,3,4-thiadiazols. The analysis showed that the reactivity nitro group present in these compounds is the most reactive derivative of such part.

Keywords: QSAR; leishmaniasis; electrophilic power; hydrophobicity; nitro group

INTRODUCCIÓN

La Leishmaniasis es una enfermedad transmitida por la picadura de la hembra de *phlebotomine sandfly*, y según datos epidemiológicos, aproximadamente 1.3 millones de nuevos casos y entre 20.000 y 30.000 muertes son reportadas anualmente (Santos et al., 2008). La mayoría de los tratamientos actuales están basados en medicamentos pentavalentes basadas en antimonio (Ali et al., 2013), sin embargo, los parásitos de Leishmaniasis han desarrollado resistencia, por lo cual es necesario el diseño de nuevos medicamentos, más eficientes, efectivos y seguros. En respuesta a esta necesidad, recientemente, varios compuestos con bases azólicas han sido evaluados por su actividad leishmanicida *in-vitro* mostrándose como agentes terapéuticos prometedores. Particularmente, Tahghighi y colaboradores (Tahghighi et al., 2012), reportaron, diecisiete 5-(5-nitrofurán-2-ilos) y treinta y tres 5-(5-nitrotiofen-2-ilo)-1,3,4-tiadiazol-2-aminas con una amina acíclica en la posición C2 del anillo tiadiazólico, estos compuestos fueron sintetizados, y su actividad leishmanicida fue evaluada *in vitro* contra la especie *Leishmania major* (*L. major*) (Tahghighi et al., 2013). La mayoría los compuestos mostraron buena actividad leishmanicida, siendo los derivados oxialquilicos y aminoalquilicos los más activos. En esta investigación, se realizó un análisis de las relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR por sus siglas en Inglés) (Kubinyi, 2004) para determinar las propiedades moleculares relacionadas con la eficiencia de los compuestos reportados por Tahghighi y colaboradores (Tahghighi et al., 2012).

Los modelos QSAR son ecuaciones matemáticas donde se relaciona la actividad biológica con descriptores moleculares o información fisicoquímica de una estructura química (Kubinyi, 2004). El primer paso para construir un modelo QSAR, es seleccionar un número de moléculas con valores conocidos de actividad biológica, a continuación se calculan algunos descriptores moleculares, que pueden ser de tipo fisicoquímico, constitucional, geométrico, topológico y electrónico. Estos descriptores se usan como variables independientes en la ecuación QSAR, considerando la actividad biológica (y , variable dependiente) en función de los descriptores calculados (x_i variable independiente), a través de una relación lineal de la forma $y = b_0 + b_1x_1 + \dots + b_nx_n$, donde b_j son constantes de ajuste. El modelo QSAR obtenido, permite encontrar las propiedades que afectan la actividad biológica y se puede hacer para estimar la actividad de compuestos no probados (Patel et al., 2014).

La aplicación de la técnica QSAR para estudiar la actividad leishmanicida de varios compuestos fue revisada por Ponte-Sucre y colaboradores (Ponte-Sucre, 2012). Con respecto a la clase de compuestos nitro-1,3,4-tiadiazoles usados en esta investigación, algunos investigadores como Hemmateenejad y colaboradores (Hemmateenejad et al., 2007a) han realizado análisis QSAR de 21 derivados nitro-1,3,4-tiadiazoles, encontrando una contribución significativa de la energía del orbital molecular desocupado más bajo (LUMO por sus siglas en Inglés) sobre la actividad biológica contra la especie *L. major*, sugiriendo que las moléculas estudiadas dañan los parásitos de leishmaniasis por medio de una reacción de transferencia de electrones. Además, se calcularon descriptores globales y locales de la reactividad química (Parr y Yang, 1984), en el marco conceptual de la DFT, para incluirlos como índices moleculares en el análisis de regresión lineal múltiple. El objetivo del presente estudio fue desarrollar un modelo QSAR capaz de correlacionar las características estructurales de los derivados de 5-(nitroheteroaril)-1,3,4-tiadiazol con su actividad biológica, a fin de obtener un modelo robusto, con buena capacidad predictiva interna y externa que permita diseñar nuevos derivados con actividad leishmanicida.

METODOLOGÍA

El primer paso en el protocolo computacional es realizar cálculos de estructura electrónica, siguiendo el esquema propuesto por Hipler y colaboradores (Hipler et al., 2003), en cuanto a los derivados de tiadiazol, la geometría molecular de cada compuesto fue optimizada a nivel de teoría B3LYP/6-311+G(d,p), y no se obtuvieron frecuencias negativas. Subsecuentemente, las energías de los orbitales moleculares E_{HOMO} y E_{LUMO} , fueron obtenidas a partir de cálculos energéticos en un punto único al nivel de teoría B3LYP/6-311++G(2df,2dp). Los efectos de solvente sobre las estructuras se consideraron en todos los cálculos mediante el modelo de solvente del continuo polarizable, implementados en el paquete computacional GAUSSIAN 03 (Trucks y otros 80 autores). Las propiedades de los fármacos tipo ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) se estimaron con el programa MedChem Designer v. 3.1.0.30 (Kesisoglou et al., 2016). Adicionalmente, los descriptores topológicos y geométricos se generaron mediante MarvinSketch (Evans y Moore, 2011). En la tabla 1, se muestran los compuestos de 5-(nitroheteroaril)-1,3,4-tiadiazoles y sus valores de actividad biológica contra *L. major*.

Los descriptores moleculares mostrados en la tabla 2, se consideraron como variables independientes en el programa *BuildQSAR* (De Oliveira y Gaudio, 2000) para construir los modelos matemáticos QSAR. La metodología de algoritmo genético (AG) implementada en *BuildQSAR* se usó para obtener la mejor

combinación de descriptores moleculares (Sutton, 1994). La selección de variables se realizó sobre un conjunto de 42 descriptores moleculares. Además, el análisis de regresión lineal múltiple (MLR, por sus siglas en inglés) se usó para encontrar los modelos QSAR de la forma $pIC_{50} = b_0 + b_1X_1 + \dots + b_nX_n$.

Tabla 1: Estructura y actividad leishmanicida de los compuestos 5-(nitroheteroaril)-1,3,4-tiadiazoles contra el parásito de *L. major*. Los valores de IC_{50} , (Tahghighi et al., 2013), son medidos en μM .

5-(5-nitrofuran-2-yl)-			5-(5-nitrothiophen-2-yl)-		
Compuesto	R	IC_{50}	Compuesto	R	IC_{50}
3	Me	54±0.17	26	Me	64±0.32
4	Et	50±0.8	27	Et	98,4±0.12
5	c-Pr	55,5±0.66	28	c-Pr	97,3±0.98
6	(CH ₂) ₂ OH	21±0.65	29	(CH ₂) ₃ OH	3±0.41
7	(CH ₂) ₃ OH	18±0.2	30	(CH ₂) ₂ OMe	104±0.7
8	(CH ₂) ₂ OMe	28±0.94	31	CH ₂ CH(OMe) ₂	56±0.74
9	CH ₂ CH(OMe) ₂	13±0.53	32	(CH ₂) ₃ OMe	3±0.5
10	(CH ₂) ₂ N(Et) ₂	44±0.72	33	(CH ₂) ₂ N(Et) ₂	36±0.24
11	(CH ₂) ₃ N(Et) ₂	13±0.43	34	(CH ₂) ₂ N(Me) ₂	25±0.17
12	(CH ₂) ₂ N(<i>i</i> -Pr) ₂	13±0.23	35	(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ OH	42±0.45
13	(CH ₂) ₃ N(<i>n</i> -Bu) ₂	25±0.2	36	CH ₂ CH=CH ₂	34.3±0.5
14	CH(Me)(CH ₂) ₃ N(Et) ₂	33±0.76	37	CH ₂ C≡CH	61,2±0.22
15	CH(Et)(CH ₂ OH)	10±0.66	38		35,8±0.62
16	(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ OH	116±0.76	39		115.6±0.63
17	CH ₂ CH=CH ₂	122±0.25	40		198±0.48
18	CH ₂ C≡CH	40±0.61	41		228±0.9
19		110±0.45	42		156±0.16
20		53±0.32			
21		41±0.82			
22		258±0.45			
23		306±0.65			
24		36±0.87			
25		26±0.6			

Validación interna

La predicción interna de los modelos construidos, se realizó mediante la técnica de validación cruzada dejando uno fuera (LOO-CV, por sus siglas en inglés) (Homrighausen y McDonald, 2014). El valor del coeficiente de correlación de la validación cruzada, Q^2 , se usó como criterio para el refinamiento de los modelos obtenidos. Además, el coeficiente de determinación (R^2) y la desviación estándar (s), se tuvieron en cuenta para evaluar la calidad estadística de los modelos QSAR generados.

Validación externa

La validación externa es una de las etapas más importantes cuando se desarrollan modelos QSAR, ya que esta confirma la fiabilidad y capacidad predictiva del modelo (Veerasamy et al., 2011). En este trabajo, la validación se llevó a cabo sobre un conjunto de prueba mediante el programa *XternalValidationPlus* (Roy et al., 2016). El programa *XternalValidationPlus*, emplea varios estadígrafos de validación entre los cuales cabe destacar: R^2_{prueba} , $Q^2_{\text{ext}_F1}$, $Q^2_{\text{ext}_F2}$, R^2_m , ΔR^2_m y medidas basadas puramente en el error, tales como; el error cuadrático medio (RMSE, por sus siglas en inglés) y el error absoluto medio (MAE, por sus siglas en inglés). Para una revisión más detallada del programa *XternalValidationPlus* y los parámetros estadísticos que calcula, consulte la referencia (Roy et al., 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2, se muestran los índices moleculares para los compuestos usados en la construcción de los modelos QSAR.

Tabla 2: Descriptores moleculares calculados para los compuestos de estudio

Compuesto	TPSA	DM	MWt	Fsp3	ω^+	(MlogP) ²	J
3	96,770	8,470	226,220	0,140	5,520	0,950	1,700
4	96,770	8,810	240,240	0,250	5,520	1,710	1,570
5	87,750	8,180	238,230	0,250	5,510	1,710	1,340
6	117,000	7,540	256,240	0,250	5,500	0,310	1,740
7	117,000	9,110	270,270	0,330	5,510	0,770	1,630
8	106,000	7,730	270,270	0,330	5,500	0,770	1,600
10	100,010	9,230	311,360	0,500	5,710	3,070	1,570
12	100,010	9,260	339,420	0,570	5,960	5,230	1,680
13	100,010	9,160	381,500	0,650	5,920	9,220	1,580
14	100,010	9,270	339,420	0,570	5,920	5,230	1,670
17	96,770	8,210	252,250	0,110	5,500	2,380	1,740
18	96,770	7,270	250,240	0,110	5,470	2,380	1,740
20	106,000	10,900	296,310	0,460	5,510	2,160	1,260
21	109,910	7,460	292,270	0,090	5,540	1,710	1,260
22	96,770	8,510	302,310	0,080	5,510	6,410	1,190
26	86,630	10,700	242,280	0,140	5,810	1,120	1,700
28	74,610	10,340	254,290	0,250	5,800	1,940	1,340
33	86,870	11,540	327,430	0,500	6,000	3,330	1,570
34	86,870	10,870	299,380	0,400	5,930	1,570	1,510
35	113,090	10,510	316,360	0,400	5,790	0,260	1,610
37	83,630	9,300	266,300	0,110	5,740	2,650	1,740
38	92,860	12,620	312,370	0,460	5,800	2,390	1,260
40	92,860	11,570	348,400	0,140	5,810	5,710	1,290
41	96,520	13,760	319,370	0,080	5,820	2,520	1,190
42	96,520	8,150	319,370	0,080	5,780	2,520	1,190

Para evaluar el efecto de la topología sobre la actividad biológica de los grupos nitro-tiadiazoles, se calcularon siete índices topológicos. El modelo 1 (M1), contiene el conjunto de entrenamiento conformado por los compuestos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 17, 20, 21, 22, 26, 33, 34, 38, 40, y 42, respectivamente. La ecuación M1, ajustada por el procedimiento LOO-CV es la siguiente:

$$pIC_{50} = 1,421(\pm 0,370)\omega^+ + 0,026(\pm 0,005)TPSA - 0,070(\pm 0,0013)MWt + 1,326(\pm 0,241)Fsp3 - 10,701(\pm 2,224) \quad (1)$$

$$n=20 \quad R^2=0,862 \quad s=0,144 \quad F=23,340 \quad p<0,0001 \quad Q^2=0,753$$

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% (Tropsha et al., 2003; Veerasamy et al., 2011). El modelo M1 cumple con estos requerimientos por lo que presenta buena calidad estadística.

En la ecuación 1, *TPSA*, es el área de la superficie topológica, la cual está definida por la suma de las áreas de las superficies de los átomos polares en una molécula. Este parámetro ha sido un descriptor útil para la predicción de las propiedades del transporte de fármacos, especialmente en la absorción intestinal y penetración de la barrera hemato-encefálica (Fernandes y Gattass, 2009). Además, valores altos de *TPSA* (mayores que 140 Å²) son típicos de moléculas que poseen una baja capacidad para la penetración de las membranas celulares, mientras que moléculas con valores de *TPSA* pequeños (menores que 60 Å²) son fácilmente transportadas y absorbidas. Sin embargo, es importante delimitar la interpretación del descriptor *TPSA*; ya que un compuesto con un nitrógeno cuaternario, puede tener un valor pequeño de *TPSA*, pero es poco probable que penetre membranas biológicas a través de difusión pasiva. Por otra parte, algunos compuestos con valores altos de *TPSA* podrían atravesar las membranas, si son sustratos de sistemas de transporte activo (Devillers y Balaban, 2000).

El término *MWt* en el modelo M1 es el peso molecular, mientras que *Fsp³* y ω^+ son la fracción de carbonos *sp³* y el poder electroceptor, respectivamente. Específicamente, *Fsp³* es el número de átomos de carbono híbridos *sp³*, dividido por el número total de átomos de carbono y ω^+ es el índice global de electrofilicidad derivado por Gazquez y colaboradores (Gázquez et al., 2007).

$$\omega^+ = \frac{(I + 3A)^2}{16(I - A)} \quad (2)$$

donde, ω^+ , representa la energía de estabilización de los sistemas cuando están saturados con electrones de los ambientes químicos que los rodean. El descriptor es equivalente a la disminución de la energía cuando un sistema molecular acepta una pequeña cantidad de carga. De esta forma, valores altos de ω^+ indican una mayor capacidad de la molécula para aceptar electrones.

La presencia de ω^+ en la ecuación 2, confirma el efecto significativo del poder electrofílico de los compuestos tiadiazol en la actividad leishmanicida. En el modelo M1, solo el peso molecular parece disminuir la actividad biológica, mientras que, los otros tres parámetros tienden a favorecer la eficacia de los compuestos nitro-tiadiazoles contra los parásitos de *Leishmania*. El segundo modelo obtenido M2, es representado por la siguiente ecuación:

$$pIC_{50} = -0,041(\pm 0,0151)(MLogP)^2 - 0,051(\pm 0,020)DM + 0,732(\pm 0,179)J + 1,357(\pm 0,193)Fsp3 - 2,615(\pm 0,398) \quad (3)$$

$$n=20 \quad R^2=0,890 \quad s=0,124 \quad F=30,400 \quad p<0,0001 \quad Q^2=0,829$$

Los compuestos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 14, 18, 20, 26, 28, 33, 34, 35, 37, 40, 41 y 42, corresponden al conjunto de entrenamiento. El valor de $R^2 = 0,890$, sugiere una buena correlación entre la actividad leishmanicida y los descriptores moleculares. El valor de Q^2 indica que el modelo reproduce alrededor del 83% de las varianzas en la actividad biológica, confirmando la capacidad predictiva y estabilidad del modelo.

En la ecuación 3, el término *DM* corresponde al momento dipolar, *MlogP* y *J* son los coeficientes de partición propuestos por Moriguchi y colaboradores (Moriguchi et al., 1996) y Devillers y Balaban (Devillers y Balaban, 2000). El coeficiente *logP* es el logaritmo del coeficiente de partición n-octanol/agua, y es una medida de la hidrofobicidad, la cual permanece como una propiedad importante, debido a su relación con la distribución en los tejidos, solubilidad en lípidos, metabolismos y bioactividad (Botté et al., 2012). El índice *J*, propuesto por Balaban (Devillers y Balaban, 2000) es un descriptor molecular ampliamente usado en estudios QSAR/QSPR.

En la ecuación 3, se observa que las interacciones dipolo-dipolo y el carácter hidrofóbico disminuyen la actividad leishmanicida, ya que los coeficientes en *DM* y *MlogP* tienen signo negativo. Por otro lado, el incremento en los valores de *J* y *Fsp³*, favorecen la actividad biológica. En otros trabajos reportados en la literatura científica (Hemmateenejad et al., 2007b), también se encontró que el momento dipolar disminuye la actividad biológica, lo cual está en buen acuerdo con el modelo M2. Asimismo, M2 es estadísticamente aceptable. Si bien, los modelos M1 y M2 son estadísticamente aceptables, las ecuaciones QSAR pueden mejorarse y obtener mayor calidad estadística. A este propósito, se implementó la técnica *jackknife* (Dietrich et al., 1980; López y Ensuncho, 2014), en la cual un compuesto es considerado como un valor atípico (del anglicismo *outlier*), si el valor de R^2 que se obtiene a partir del análisis de regresión después de eliminar dicho compuesto, es comparativamente más alto que otros valores de R^2 . Los valores de R^2 y Q^2 asociados a la implementación de la técnica *jackknife* en los modelos M1 y M2 se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Parámetros estadísticos calculados utilizando la técnica *jackknife*

M1			M2		
Compuesto	$r^2_{jackknife}$	Q^2	Compuesto	$r^2_{jackknife}$	Q^2
3	0,861	0,745	3	0,894	0,833
4	0,861	0,746	4	0,891	0,829
5	0,879	0,809	5	0,890	0,829
6	0,854	0,723	6	0,886	0,822
7	0,849	0,718	7	0,904	0,844
8	0,864	0,749	8	0,887	0,820
10	0,872	0,765	12	0,892	0,805
12	0,843	0,721	13	0,886	0,779
13	0,862	0,741	14	0,917	0,853
14	0,887	0,786	18	0,891	0,831
17	0,857	0,735	20	0,890	0,822
20	0,876	0,782	26	0,890	0,827
21	0,905	0,834	28	0,889	0,824
22	0,817	0,659	33	0,890	0,823
26	0,870	0,762	34	0,905	0,842
33	0,860	0,741	35	0,910	0,855
34	0,873	0,768	37	0,883	0,827
38	0,862	0,748	40	0,864	0,774
40	0,832	0,680	41	0,863	0,787
42	0,849	0,707	42	0,875	0,806

De la tabla 4, se puede observar que para M1 los compuestos 14 y 21 presentan los mayores valores de $r^2_{jackknife}$ por lo que son considerados *outliers*. Por otro lado, en M2, los compuestos 14 y 35 presentan los valores más altos de $r^2_{jackknife}$ por lo que al ser excluidos de los modelos mejora su calidad y significancia estadística. Atendiendo las observaciones anteriores, los compuestos 14, 21 y 35 se excluyeron de los modelos QSAR M1 y M2, respectivamente. Las ecuaciones 4 y 5 corresponden a los modelos obtenidos luego de aplicar *jackknife*, los cuales se designaron como M1* y M2* respectivamente.

$$pIC_{50} = 1,469(\pm 0,283)\omega^+ + 0,024(\pm 0,004)TPSA - \quad (4)$$

$$0,007(\pm 0,001)MWt + 1,592(\pm 0,196)Fsp3 - 10,710(\pm 1,723)$$

$$n = 20 \quad R^2 = 0,931 \quad s = 0,108 \quad F = 44,120 \quad p < 0,0001 \quad Q^2 = 0,871 \quad M1^*$$

$$pIC_{50} = -0,046(\pm 0,013)(MLogP)^2 - 0,044(\pm 0,016)DM + 0,802(\pm 0,142)J + \quad (5)$$

$$1,545(\pm 0,161)Fsp3 - 2,800(\pm 0,318)$$

$$n = 20 \quad R^2 = 0,940 \quad s = 0,097 \quad F = 15,350 \quad p < 0,0001 \quad Q^2 = 0,894 \quad M2^*$$

Como se observa en las ecuaciones 4 y 5, la calidad estadística de los modelos aumentó sustancialmente, en particular, los valores de R^2 y Q^2 fueron más altos con respecto a los modelos M1 y M2, lo que indica que la exclusión de los compuestos 14, 21 y 35 del análisis de regresión es determinante en la calidad estadística y la capacidad predictiva de los modelos QSAR reportados. Adicionalmente, se observa que los parámetros estadísticos F y s, mejoran considerablemente, mientras que el valor p, indica que los modelos son estadísticamente aceptables (figura 1).

Validación externa

El objetivo principal de la validación externa consiste en emitir un juicio con un alto grado de confianza sobre los errores encontrados durante la predicción del conjunto de prueba dentro del dominio del modelo (Roy et al., 2016). Para llevar a cabo la validación externa de los modelos construidos, se tomó como conjunto de entrenamiento al grupo de moléculas presentadas en la tabla 3, y como conjunto de prueba los compuestos 9, 11, 14, 15, 21, 23, 27, 30 y 35, respectivamente. Los resultados extraídos del archivo de salida del programa *XternalValidationPlus*, se muestran en la tabla 4. Para el conjunto de prueba se calcularon los siguientes parámetros estadísticos: R^2_{prueba} , R^2_m promedio escalado y ΔR^2_m escalado. El promedio de cada parámetro calculado debe estar dentro del rango de lo reportado en la literatura científica, es decir, $R^2_{prueba} > 0,6$; R^2_m promedio escalado $> 0,5$ y ΔR^2_m escalado $> 0,2$ (Roy et al., 2016).

De acuerdo con los parámetros estadísticos mostrados en la tabla 3, el modelo QSAR construido cumple con los requisitos mínimos de calidad estadística para predecir la actividad biológica de nuevos derivados. Además, la calidad de la predicción teniendo en cuenta el estadígrafo MAE es moderado, lo cual confirma lo anteriormente mencionado.

Fig. 1: Actividad biológica observada versus actividad biológica calculada

Diseño de nuevos compuestos con actividad leishmanicida

Una vez establecida la robustez y calidad predictiva externa de los modelos QSAR construidos, se usó la ecuación 5 para predecir la actividad biológica de un grupo de compuestos derivados que aún no han sido sintetizados, y sus estructuras bidimensionales se presentan en la figura 2. La mayoría de los derivados conservan el esqueleto estructural de los compuestos patrón a excepción del compuesto U, donde se ha sustituido el grupo nitro por un átomo de flúor. La mayoría de los derivados propuestos exhiben actividad en buen acuerdo con la actividad biológica de los compuestos de referencia. Ahora bien, los valores de IC₅₀ en la tabla 5, muestran que la introducción de grupos electronegativos y de tamaño moderado sobre la posición NH, favorece la actividad biológica de los derivados propuestos, siendo un resultado consistente con los reportes de Tahghighi y colaboradores (Tahghighi et al., 2013), donde se encontró que la introducción de sustituyentes con las características anteriores favorecen la actividad biológica de los compuestos de 1,3,4-tiadiazoles. El valor de IC₅₀ para U, es promisorio dentro de esta serie de derivados.

Tabla 4: Archivo de salida del programa *XternalValidationPlus*

RESULTADO DE LOS ERRORES SISTEMÁTICOS		
Métrica clásica (para 100% de los datos)	R^2_{prueba} (100% de los datos)	0,691
	$R^2_{0\text{prueba}}$ (100% de los datos)	0,679
	Q^2_{F1} (100% de los datos)	0,679
	Q^2_{F2} (100% de los datos)	0,679
	R^2_m (100% de los datos) promedio escalado	0,578
	ΔR^2_m (100% de los datos) escalado	0,073
Métrica clásica (después de remover 5% de los datos con valores residuales altos)	R^2_{prueba} (95% de los datos)	0,756
	$R^2_{0\text{prueba}}$ (95% de los datos)	0,745
	Q^2_{F1} (95% de los datos)	0,745
	Q^2_{F2} (95% de los datos)	0,745
	Promedio R^2_m (95% de los datos)	0,660
	ΔR^2_m (95% de los datos)	0,036
Errores con base en la métrica (para 100% de los datos)	RM SEP (100% de los datos)	0,712
	SD (desviación estándar) para 100% de los datos	0,443
	SE (error estándar) para 100% de los datos	0,043
	MAE (error absoluto medio) para 100% de los datos	0,559
Errores con base en la métrica (después de remover 5% de los Datos con valores residuales altos)	RMSEP (error cuadrático medio de la predicción) del 95% de los datos	0,612
	SD (95% de los datos)	0,363
	SE (95% de los datos)	0,036
	MAE (95% de los datos)	0,494
	MAE+3*SD (95% de los datos)	1,585
RESULTADOS (Criterio MAE aplicado sobre 95% de los datos)	Calidad de la predicción	MODERADO

En virtud del potencial farmacológico del derivado U, se evaluaron sus propiedades ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) mediante la herramienta AdmetSAR (Cheng et al., 2012). Se encontró mediante la predicción del programa AdmetSAR, que el nuevo derivado, es no carcinogénico, por lo que se espera que su uso sea seguro. Además, no es inhibidor de la glicoproteína P, de tal manera que no bloquearía la adsorción, permeabilidad y retención de los fármacos (Sanguinetti y Tristani-Firouzi, 2006). De igual manera, muestra una respuesta positiva frente a la barrera hematoencefálica (BHE), y por ende, se predice que la puede atravesar. Se concluye entonces que el nuevo derivado es un potencial candidato como fármaco leishmanicida.

Tabla 5: Valores de IC_{50} predichos con las ecuaciones de M2*

Compuesto	TPSA	Mwt	Fsp3	DM	J	MogP	$IC_{50}(M2^*)$
K	96,770	282,323	0,450	6,786	1,560	2,219	24,0485
L	96,770	300,313	0,450	4,927	1,730	2,361	15,596
M	100,010	287,274	0,330	6,329	1,530	1,435	27,404
N	100,010	269,283	0,330	6,364	1,630	1,282	21,872
O	100,010	283,31	0,400	6,392	1,530	1,586	22,570
P	120,240	313,337	0,450	7,637	1,620	1,138	15,936
Q	108,800	323,375	0,540	6,678	1,320	2,43	29,863
R	129,030	353,402	0,570	6,325	1,220	1,954	24,936
S	108,800	367,404	0,600	5,090	0,960	3,075	58,304
U	62,980	340,397	0,600	1,485	1,500	2,974	13,986

Fig. 2: Estructuras de las moléculas propuestas

Reactividad química y otras propiedades

De acuerdo con los resultados obtenidos por Hemmateenejad y colaboradores (Hemmateenejad et al., 2007b) la reactividad de los compuestos nitro-tiadiazoles, principalmente, la reactividad del grupo nitro es un factor determinante en el modo de acción de estos compuestos, por lo que el análisis de la reactividad química y los modelos QSAR desarrollados, podrían arrojar luces sobre el mecanismo de acción de estos compuestos y el origen de su actividad farmacológica. Puesto que en los últimos años los descriptores de reactividad basados en la DFT han atraído considerable interés para predecir la actividad/toxicidad de diferentes sistemas orgánicos (Chattaraj et al., 2003; Martínez-Araya et al., 2013; Parr y Yang, 1984), estos índices fueron usados para estudiar la reactividad química de los compuestos nitro-tiadiazoles.

El índice $\Delta\rho^{\text{elec}}_{\text{NO}_2}$ reportado por Morell y colaboradores (Morell et al., 2014; Padmanabhan et al., 2007; Domingo et al., 2009;) condensado sobre el grupo nitro está descrito por la ecuación 6.

$$\Delta\rho^{\text{Elec}}_{\text{NO}_2} = \frac{1}{4} \left(\frac{1+3A}{1-A} \right) f_{\text{NO}_2}^+ + \frac{1}{32} \left(\frac{1+3A}{1-A} \right)^2 (f_{\text{NO}_2}^+ - f_{\text{NO}_2}^-) \quad (6)$$

donde $f^+_{\text{NO}_2}$ dado por la ecuación 8, y la función electrofílica de Fukui (Li y Evans, 1995) f_{NO_2} que condensa los grupos nitro, fue calculada como sigue:

$$f_{\text{NO}_2}^- = \sum_{a \in \text{NO}_2} (c_{ai}^2 + c_{ai} \sum_{b \in a} c_{bi} S_{ab}), \quad i = \text{HOMO} \quad (7)$$

La definición general dada por Morell y colaboradores (Morell et al., 2014) para $\Delta\rho^{\text{elec}}_k$ está relacionada con el proceso de aceptación de carga del sistema, donde las regiones que exhiben valores positivos y grandes de $\Delta\rho^{\text{elec}}_k$ corresponderán a los sitios donde la aceptación de carga electrónica se acumulará, indicando que esas son las regiones más electrofílicas, dónde un nucleófilo atacaría (Morell et al., 2014).

Para comprar la reactividad global de los análogos Furanilos (F) y Tiofenilos (T) se utilizó la suavidad global (s), calculada mediante la ecuación:

$$s = \frac{1}{I - A} \quad (8)$$

Es bien sabido que valores altos de la suavidad global son típicos en moléculas que pueden intercambiar electrones con facilidad, y por lo tanto, son más reactivos. La reactividad relativa de pares de análogos tiadiazol F/T, puede ser establecida por los valores relativos de la suavidad:

$$s_{\text{rel}} = \frac{s_F}{s_T} \quad (9)$$

De forma similar, otras propiedades fueron calculadas teniendo en cuenta la ecuación 9 y se muestran en la tabla 6.

Tabla 6: Propiedades relativas de los análogos 5-(nitrofuranyl)- and 5-(nitrotiofenil)-1,3,4-tiadiazoles. Las propiedades relativas fueron tomadas como x_F/x_T

Análogos		Propiedades relativas F/T						
Furanil	Tiofenil	s	ω^+	$\omega^+_{\text{NO}_2}$	$\Delta\rho^{\text{elec}}_{\text{NO}_2}$	$MlogP$	DM	$TPSA$
3	26	0,971	0,950	1,085	1,066	0,846	0,792	1,157
4	27	0,974	0,951	1,084	1,069	0,882	0,808	1,157
5	28	0,973	0,951	1,085	1,068	0,902	0,791	1,157
7	29	0,972	0,951	1,084	1,066	0,850	0,857	1,127
8	30	0,971	0,950	1,084	1,066	0,850	0,777	1,142
9	31	0,988	0,955	1,085	1,082	0,861	0,918	1,129
10	33	0,974	0,951	1,084	1,068	0,921	0,799	1,151
16	35	0,971	0,950	1,082	1,064	0,756	0,800	1,116
17	36	0,970	0,951	1,084	1,066	0,898	0,792	1,157
18	37	0,974	0,953	1,085	1,068	0,898	0,782	1,157
20	38	0,972	0,950	1,082	1,066	0,907	0,864	1,142
22	39	0,972	0,950	1,084	1,066	0,936	0,796	1,157
23	40	0,970	0,950	1,084	1,066	0,734	0,842	1,142
24	41	0,948	0,943	1,082	1,043	0,909	0,696	1,136
25	42	0,972	0,951	1,085	1,068	0,909	0,765	1,136

Los valores relativos de suavidad muestran que los compuestos T son más reactivos que análogos F, además, los valores de ω^+ sugieren que los análogos T son especies más electrófilas, si se compara con sus análogos F, Sin embargo, de acuerdo con ambos índices electrofílicos locales ($\omega^+_{\text{NO}_2}$, $\Delta\rho^{\text{elec}}_{\text{NO}_2}$), el grupo nitro de los furanilos es más electrofílico que el de los análogos de tiofenilo, Lo anterior se puede explicar por el hecho de que los átomos S (azufre) adicionales de los compuestos T tienen una contribución significativa al orbital LUMO de estos haciendo las moléculas más electrofílicas; mientras que los átomos de O de los análogos F no participan en la formación del orbital LUMO y por ende, son menos electrofílicos, Por lo tanto, los furanilos concentran su carácter electrofílico sobre los grupos nitro que demuestran ser más reactivos en comparación a los que pertenece al anillo tiofenilo. Por otro lado, los valores relativos observados de $MlogP$ y DM , implica que los análogos de T son más hidrófobos y que además, tienen

mayor capacidad para participar en interacciones dipolo-dipolo, Si se compara con los compuestos T, los compuestos F son menos hidrofóbicos y tienen valores más altos del parámetro *TPSA*, lo que sugiere que los análogos tiofenilos tienen mayor capacidad para la penetración de las membranas celulares.

CONCLUSIONES

En general, se puede concluir que la actividad leishmanicida de los compuestos 5-(nitroheteroaril)-1,3,4-tiadiazoles está afectada por varias propiedades moleculares, tales como; hidrofobicidad, interacciones dipolo-dipolo y el carácter electrofílico, En particular, el aumento creciente del momento dipolar y el índice de hidrofobicidad tiende a disminuir la actividad biológica, mientras que el poder electrófilo mejora la eficacia de los derivados de 5-(nitroheteroaril)-1,3,4-tiadiazoles contra *L. major*. Además, los descriptores geométricos y topológicos también fueron útiles para predecir la actividad biológica de los compuestos estudiados, Se observó que los análogos tiofenilo son más reactivos (electrofílicos) que los análogos furanilo, a pesar que este último, posee un grupo nitro más reactivo. En cuanto a los modelos QSAR desarrollados, se determinó que cumplen con los criterios mínimos de calidad estadística establecida en la literatura científica, y que además tienen capacidad predictiva interna y externa. Los nuevos derivados propuestos mostraron potencialidad farmacológica, particularmente, el compuesto U, con un valor de IC_{50} de 13,986 μ M.

AGRADECIMIENTOS

Los autores muestran su agradecimiento al Centro de Investigaciones Universitarias (CIUC), de la Universidad de Córdoba, por el soporte financiero durante la ejecución de este trabajo (proyecto de investigación código10401, numeral FCB-03-09).

REFERENCIAS

- Ali, M.I., y otros seis autores, Anti-leishmanial activity of heteroleptic organometallic Sb(V) compounds, *Dalt. Trans*, 42(48), 16733–16741 (2013)
- Botté, C., Y. Dubar, G.I. McFadden, E. Maréchal y C. Biot, Plasmodium falciparum apicoplast drugs: targets or off-targets?, *Chem. Rev*, 112(3), 1269–83 (2012)
- Chattaraj, P., B. Maiti y U. Sarkar, Philicity: a unified treatment of chemical reactivity and selectivity, *J. Phys. Chem., A*, 107, 4973 (2003)
- Cheng, F., y otros cinco autores, AdmetSAR: A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties, *J. Chem. Inf. Model*, 52(11), 3099–3105 (2012)
- De Oliveira, D.B. y A.C. Gaudio, BuildQSAR: A New Computer Program for QSAR Analysis, *Quant. Struct. Relationships*, 19(6), 599–601 (2000)
- Devillers, J. y A., Balaban, Topological indices and related descriptors in QSAR and QSPAR, 811, Gordon and Breach, Amsterdam (2000)
- Dietrich, S.W., J.M. Blaney, M.A. Reynolds, P.Y.C. Jow y C. Hansch, Quantitative structure-selectivity relationships, Comparison of the inhibition of Escherichia coli and bovine liver dihydrofolate reductase by 5-(substituted benzyl)-2,4-diaminopyrimidines, *J. Med. Chem.*, 23(11), 1205–1212 (1980)
- Domingo, L.R., M.T. Picher and J.A. Sáez, Toward an Understanding of the Unexpected Regioselective Hetero-Diels–Alder Reactions of Asymmetric Tetrazines with Electron-Rich Ethylenes: A DFT Study, *J. Org. Chem.*, 74(7), 2726–2735 (2009)
- Evans, M.J. y J.A. Moore, A Collaborative, Wiki-Based Organic Chemistry Project Incorporating Free Chemistry Software on the Web, *J. Chem. Educ.*, 88(6), 764–768 (2011)
- Fernandes, J., and C.R. Gattass, Topological Polar Surface Area Defines Substrate Transport by Multidrug Resistance Associated Protein 1 (MRP1/ABCC1), *J. Med. Chem.*, 52(4), 1214–1218 (2009)
- Gázquez, J., A. Cedillo, A. Vela, Electrodonating and electroaccepting powers, *J. Phys. Chem.*, 111 (10), 1966–1970 (2007)
- Hemmateenejad, B., R. Miri, U. Niroomand, A. Foroumadi and A., Shafiee, A Mechanistic QSAR Study on the Leishmanicidal Activity of Some 5-Substituted-1, 3, 4-Thiadiazole Derivatives, *Chem. Biol. Drug. Des.*, 69(6), 435–443 (2007a)

- Hipler, F., M. Winter, y R.A. Fischer, N-H...S hydrogen bonding in 2-mercapto-5-methyl-1,3,4-thiadiazole, *Synthesis and crystal structures of mercapto functionalised 1,3,4-thiadiazoles*, *J. Mol. Struct.*, 658(3), 179–191 (2003)
- Homrighausen, D., y D.J. McDonald, Leave-one-out cross-validation is risk consistent for lasso, *Mach. Learn.*, 97(1-2), 65–78 (2014)
- Kesisoglou, F., J. Chung y otros 40 autores, Physiologically Based Absorption Modeling to Impact Biopharmaceutics and Formulation Strategies in Drug Development—Industry Case Studies, *J. Pharm. Sci.*, 0(0), 342–366 (2016)
- Kubinyi, H., 2D QSAR models: Hansch and Free-Wilson analyses, *Comput. Med. Chem. Drug. Discov.*, 5, 539–570 (2004)
- Li, Y. y J., Evans, The Fukui function: A key concept linking frontier molecular orbital theory and the hard-soft-acid-base principle, *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 7756–7759 (1995)
- López, J. M., y A.E. Ensuncho, Design of Anticancer Drugs of cis-Platinum (II) Derivatives by QSAR Technique based on Density Functional Theory, *Inf., Tecnol.*, 25(2), 161–172 (2014)
- Martínez-Araya, J., G. Salgado-Morán y D. Glossman-Mitnik, Computational Nutraceuticals: Chemical Reactivity Properties of the Flavonoid Naringin by Means of Conceptual DFT, *J. Chem.*, 2013, 1–8 (2013)
- Morell, C., J.L. Gázquez, A. Vela, F. Guégan, y H. Chermette, Revisiting electroaccepting and electrodonating powers: proposals for local electrophilicity and local nucleophilicity descriptors, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 16(48), 26832–26842 (2014)
- Moriguchi, I., H. Hirano y S. Hirono, Prediction of the rodent carcinogenicity of organic compounds from their chemical structures using the FALS method, *Environ. Heal.*, 104, 1051–1058 (1996)
- Padmanabhan, J.R., y otros ocho autores, Multiphilic descriptor for chemical reactivity and selectivity, *J. Phys. Chem., A*, 111(37), 9130–9138 (2007)
- Ponte-Sucré, A., E. Díaz y M. Padrón-Nieves, Quantitative Structure Activity Analysis of Leishmanicidal Compounds, in *Chemoinformatics, Directions Toward Combating Neglected Diseases*, 33–48, Bentham science publishers (2012)
- Parr, R. y W. Yang, Density functional approach to the frontier-electron theory of chemical reactivity, *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 4049 (1984)
- Patel, H. M., y otros ocho autores, Quantitative structure–activity relationship (QSAR) studies as strategic approach in drug discovery, *Med. Chem. Res.*, 23(12), 4991–5007 (2014)
- Roy, K., R.N. Das, P. Ambure y R.B. Aher, Be aware of error measures, Further studies on validation of predictive QSAR models, *Chemometr. Intell. Lab.*, 152, 18–33 (2016)
- Santos, D., y otros once autores, Leishmaniasis treatment—a challenge that remains: a review, *Parasitol. Res.*, 103(1), 1–10 (2008)
- Sanguinetti, M., y M. Tristani-Firouzi, hERG potassium channels and cardiac arrhythmia, *Nature*, 440, 463–469 (2006)
- Sutton, P., Genetic algorithms: A general search procedure, *Am. J. Phys.*, 62(6), 549 (1994)
- Tahghighi, A., y otros ocho autores, Synthesis and anti-leishmanial activity of 5-(5-nitrofuran-2-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-amines containing N-[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl] moieties, *Eur. J. Med. Chem.*, 50, 124–128 (2012)
- Tahghighi, A., y otros ocho autores, New 5-(nitroheteroaryl)-1,3,4-thiadiazols containing acyclic amines at C-2: synthesis and SAR study for their antileishmanial activity, *J. Enzyme. Inhib. Med. Chem.*, 28(4), 843–852 (2013)
- Trucks, G.W. y otros 80 autores: Gaussian03, Revision E, 01, Gaussian, Inc, Wallingford CT, Pittsburgh, USA (2004)
- Tropsha, A., P. Gramatica y V. Gombar, The Importance of Being Earnest: Validation is the Absolute Essential for Successful Application and Interpretation of QSPR Models, *QSAR Comb. Sci.*, 22(1), 69–77 (2003)
- Veerasamy, R., y otros cinco autores, Validation of QSAR Models Strategies and Importance, *Int. J. Drug Des. Discov.*, 2(3), 511–519 (2011)