

# RELACION CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD EN UN GRUPO DE QUINOLONAS BASADO EN EL INDICE DEL ESTADO ELECTROTOPOLOGICO MODIFICADO

N. Rivero, B. Llorente y R. Carrasco

Laboratorio de Modelación, Departamento de Síntesis Química, Centro de Química Farmacéutica, Calle 200 y Avenida 21, Atabey, Playa, Apartado Postal 16402, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 10 de noviembre de 1996.

**RESUMEN.** Se define el índice del estado electroespacial (S-estado) basado en una modificación del índice del estado electrotopológico (E-estado) de Kier, Hall y colaboradores. Para esto, en la expresión matemática del E-estado se consideran las distancias finales interatómicas que se obtienen luego de optimizar la geometría de las estructuras químicas de los compuestos por el método semiempírico AM1, en lugar de las distancias topológicas entre los átomos de la estructura. Se emplearon 18 quinolonas en un estudio de relaciones cuantitativas estructura-actividad (RCEA) basado en el S-estado. Los resultados sugieren el posible empleo de este índice como descriptor en los estudios de RCEA.

**ABSTRACT.** A new index, the electrospatial state index (S-state) for atoms, is introduced. The index is based on a modification to the electrotopological state index (E-state) of Kier, Hall and co-workers. For this new definition the final interatomic euclidean distances, which have been calculated by the semiempirical AM1 method, are considered in the mathematical expression for the E-state instead the interatomic topological distances. A serie of 18 quinolone derivatives was considered in a quantitative structure-activity relationships (QSAR) study based on the S-state. Results suggest that it is possible to use the S-state index as a descriptor in the QSAR studies.

## INTRODUCCION

La mayoría de los fármacos ha surgido a partir del aislamiento de productos naturales, de caldos de fermentación, extractos de plantas y fuentes animales. El ensayo por prueba y error, utilizado desde hace mucho tiempo para la modificación y síntesis química total de nuevos compuestos, es muy costoso y no siempre eficiente. La introducción por Hansch a principios de los años sesenta de los estudios de relaciones cuantitativas estructura-actividad (RCEA) ayudó a resolver las limitaciones de fundamentos teóricos previos y dió a su vez lugar a una nueva concepción en el diseño de fármacos.<sup>1</sup>

Los estudios de RCEA en una familia de compuestos permiten obtener modelos cuantitativos que describen cómo su actividad biológica depende de parámetros que codifican ciertos rasgos estructurales y propiedades de los compuestos.<sup>2</sup> Estos parámetros pueden ser:<sup>2</sup> (a) propiedades físicas y químicas de las moléculas como el coeficiente de partición, la refractividad molar; (b) parámetros topológicos y estéricos que describen la estructura molecular, por ejemplo, índices topológicos, topográficos y descriptores de la estructura tridimensional; (c) parámetros electrónicos como las constantes de Hammett, de transferencia de cargas, momentos dipolares, cargas netas y otras propiedades químico-cuánticas. En los estudios de RCEA se han utilizado cientos de diferentes parámetros, sin embargo, algunos de ellos no son de fácil y clara interpretación para el problema biológico que se estudia, otros se obtienen por métodos de cálculo o experimentales muy costosos. Por esto, la búsqueda de nuevos descriptores es un problema constante en este campo.

Las quinolonas son compuestos con propiedades antibacterianas que se obtienen por vía sintética<sup>1</sup> y su efecto fundamental consiste en la inhibición de la ADN girasa, una enzima esencial para las bacterias, necesaria para la iniciación y propagación de la replicación de ADN.<sup>3</sup> Actualmente existen tres modelos estructurales propuestos como mecanismo de acción para las quinolonas. Estos modelos difieren

en la manera en la cual los componentes del complejo (ADN-quinolona-ADN girasa) interactúan entre sí y en cuáles son los grupos funcionales de estas moléculas que participan en las diferentes interacciones. Todos los modelos requieren de la interacción del fármaco con el ADN. El modelo de Shen<sup>4</sup> involucra puentes de hidrógeno entre una simple cadena del ADN y la quinolona. En un modelo más reciente Palumbo y col.<sup>5</sup> propusieron intercalar el fármaco entre nucleótidos en una región de la simple cadena del ADN y estabilizarlo por puentes de magnesio entre la quinolona y un grupo fosfato del ADN. Finalmente, Fan<sup>6</sup> propuso intercalarlo en la doble cadena del ADN con la participación también de iones de magnesio.

Este trabajo se propuso definir el índice electroespacial (S-estado), que a diferencia del electrotopológico (E-estado) permite considerar información sobre la estructura tridimensional de los compuestos. Con el propósito de validar el empleo de este nuevo índice se aplicó en un estudio de RCEA para un conjunto de quinolonas cuyos resultados se compararon con los obtenidos al emplear el E-estado en el mismo grupo de compuestos.<sup>7</sup>

## MATERIALES Y METODOS

### Actividad biológica

Se estudió un conjunto de 18 quinolonas con diferentes sustituciones en tres tipos de estructuras básicas (Fig. 1). Los valores de actividad biológica considerados fueron la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración necesaria para provocar la inhibición de la ruptura del ADN inducida por la girasa (RG) en la *Escherichia coli*, cepa H560(T tabla I). Los estudios RCEA, basados en el formalismo de relaciones lineales con la energía libre, requieren de datos de actividad biológica que sean proporcionales a los cambios de energía libre que ocurren durante la respuesta biológica. Por esta razón, los valores de CMI y RG fueron transformados a forma logarítmica,  $\log(1/CMI)$  y  $\log(1/RG)$ .

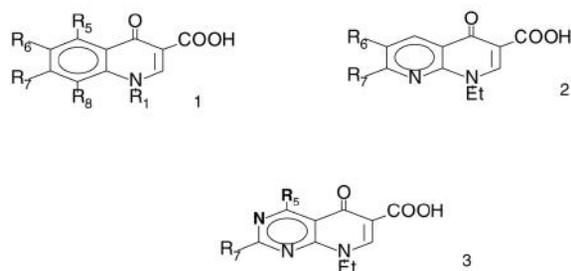


Fig. 1. Estructura general de los derivados de las quinolonas.  
1. De quinolinas. 2. De naptiridina. 3. De piridopirimidina.

**TABLA I**  
**Resultados biológicos<sup>8</sup> del ensayo del rompimiento del ADN inducido por la girasa y prueba CMI para las quinolonas empleadas en la obtención de los modelos de regresión**

Compuesto	R <sub>1</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	RG	CMI
						(µg/mL)	
Norfloxacin (1a)	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -	HH		F		1	0,1
Ciprofloxacina (1b)		H	H	F		0,5	0,025
Amifloxacina (1c)	CH <sub>3</sub> -NH-	H	H	F		2,5	0,025
Fleroxacin (1d)	F-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -F		H	F		2,5	0,1
Pefloxacina (1e)		HH		F		1	0,1
8F-pefloxacina (1f)		F	H	F		2,5	0,1
8F-norfloxacina (1g)		F	H	F		1	0,1
7-piperazinil-1-etil-6-flúor-QUI (1h)	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -	HH		F		18	6,3
7-metil-1-etil-6-flúor-QUI (1i)		HH		F	CH <sub>3</sub> -2	5	0,4
7-aminometil-1-etil-6-flúor-QUI (1j)-		HH		F	CH <sub>3</sub> -NH-	18	3,1
7-pirrolidil-1-etil-6-flúor-QUI (1k)		H	H	F		5	1,6
Ofloxacina (1l)	O-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> )-	—	H	—		5	0,1
Enoxacina (2a)		—H		F		5	0,1
Acido nalidíxico (2b)		—	H	H		50	6,3
7-metil-1-etil-6-flúor-NAF (2c)	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -	—H		F	CH <sub>3</sub> -	25	3,1
7-piperazinil-1-etil-NAF (2d)		—H		H		75	3,1
Acido pipemídico (3a)		—	H	—		503,	1
7-piperazinil-1-etil-5-amino-PIR (3b)		—N	H <sub>2</sub> -	—		100	3,1

QUI 1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolina ácido carboxílico. NAF 1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naptiridina-3-ácido carboxílico.  
PIR 1,4-dihydro-4-oxo-1,8-piridopirimidina-3-ácido carboxílico.

### S-estado

El índice se basa en el efecto electrónico de cada átomo sobre los otros en la molécula, considerando su estructura tridimensional molecular. Cada átomo tiene asignado un valor intrínseco  $I_i$  calculado de la manera siguiente:

$$I_i = [(2/N)^2 \delta^v + 1] / \delta \quad (1)$$

donde:

N número cuántico principal del átomo  $i$ .  
 $\delta^v$  número de electrones de valencia en el esqueleto molecular ( $Z^v - h$ ).

$\delta$  número de electrones  $\sigma$  en el esqueleto ( $\sigma$ -h).

Para cada átomo en el esqueleto molecular:

$Z^v$  número de electrones de valencia.

$\sigma$  número de electrones en orbitales  $\sigma$ .

h número de átomos de hidrógeno enlazados a este.

El S-estado se calcula según la expresión:

$$S_i = I_i + \Delta I_i \quad (2)$$

donde:

$S_i$  valor del S-estado para el átomo  $i$ .

$I_i$  valor intrínseco asociado al átomo  $i$ .

$\Delta I_i$  expresa el efecto perturbador de los restantes átomos  $j$  en la molécula sobre el átomo  $i$  y se calcula según:

$$\Delta I_i = \sum (I_j - I_i) / r_{ij}^2 \quad (3)$$

donde:

$r_{ij}$  distancia euclidiana espacial entre los átomos  $i$  y  $j$  tomada de la matriz de distancias, correspondiente a la configuración de mínimo energético y calculada por el método semiempírico AM1, implementado en el programa HAVPAC.<sup>9</sup>

El E-estado definido por Kier, Hall y col.<sup>10-12</sup> se calcula empleando las expresiones anteriores, pero en (3) el valor  $r_{ij}$  se toma como la cantidad de enlaces que separan los átomos  $i$  y  $j$  en el grafo asociado a la estructura química.

### Métodos estadísticos

Para obtener los modelos de correlación entre los índices S-estado y la actividad biológica, se empleó el análisis de regresión múltiple implementado en el paquete profesional estadístico CSS.<sup>13</sup> Se utilizó el método de validación cruzada<sup>14</sup> para evaluar el carácter predictivo de las ecuaciones de regresión, el cual consiste en extraer la información correspondiente a un compuesto del conjunto de datos, construir el mismo modelo de regresión en el conjunto restante y predecir la actividad del compuesto extraído. El proceso se repite hasta que la actividad de todos los compuestos ha sido predicha por este método.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el estudio fueron calculados los índices para 16 posiciones en la estructura de los compuestos del tipo quinolona (Fig. 2).

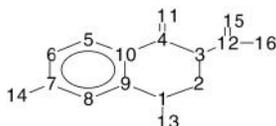


Fig. 2. Estructura general de los compuestos del tipo quinolona con las posiciones marcadas donde fue calculado el S-estado.

El análisis de regresión mostró que hay una buena correlación entre la actividad biológica y el S-estado para dos posiciones en las moléculas como se muestra en las ecuaciones (4)-(7):

$$\log(1/CMI) = 2,29(0,001)S(A_{11}) - 0,23(0,0001)S(A_6) - 31,7 \quad (4)$$

$$n=18 \quad r=0,86 \quad F=2,139 \quad s=0,24 \quad r_{2\text{ cruz.}}=0,62 \\ s_{\text{cruz.}}=0,59$$

$$\log(1/CMI) = 3,08(0,003)S(A_{15}) - 0,21(0,0004)S(A_6) - 38,6 \quad (5)$$

$$n=18 \quad r=0,82 \quad F=1,612 \quad s=0,29 \quad r_{2\text{ cruz.}}^2=0,54 \\ s_{\text{cruz.}}=0,65$$

$$\log(1/RG) = 1,71(0,0012)S(A_{11}) - 0,21(0,00002)S(A_6) - 23,6 \quad (6)$$

$$n=18 \quad r=0,87 \quad F=2,369 \quad s=0,16 \quad r_{2\text{ cruz.}}=0,60 \\ s_{\text{cruz.}}=0,26$$

$$\log(1/RG) = 2,37(0,003)S(A_{15}) - 0,19(0,0001)S(A_6) - 29,64 \quad (7)$$

$$n=18 \quad r=0,85 \quad F=1,982 \quad s=0,18 \quad r_{2\text{ cruz.}}=0,54 \\ s_{\text{cruz.}}=0,54$$

donde:

$S(A_i)$  valor del índice S-estado para el átomo  $i$ .

$n$  número de compuestos.

$r$  coeficiente de correlación de la regresión.

$s$  error estándar de la estimación.

$F$  prueba de significación para la regresión.

$r_{\text{cruz.}}$  coeficiente de la validación cruzada.

$s_{\text{cruz.}}$  error estándar correspondiente a la validación cruzada.

Los valores de probabilidad de los intervalos de confianza para los coeficientes de la regresión se dan entre paréntesis.

A pesar de que los coeficientes de correlación de las ecuaciones de regresión (4)-(7) no son mayores que 0,9, al considerar la complejidad del fenómeno biológico estudiado y el número de compuestos seleccionados ( $n = 18$ ) para obtener dichas ecuaciones, se puede afirmar que la actividad biológica está relacionada con las variables  $S(A_6)$ ,  $S(A_{11})$  y  $S(A_{15})$ .

Los coeficientes de correlación entre la actividad observada de los compuestos en estudio y la predicha por las ecuaciones (4)-(7) ( $r = 0,86$ ,  $r = 0,83$ ,  $r = 0,87$ ;  $r = 0,85$ , respectivamente) son estadísticamente significativos con probabilidad 0,999 de que son diferentes de cero.

Los valores del estado electroespacial para el átomo 6 son muy sensibles a la presencia o no del sustituyente flúor en esa posición (Tabla II).

En presencia de flúor, el  $S(A_6)$  es negativo, mientras que en su ausencia (compuestos 1h, 2b y 2d) o en presencia de un átomo de nitrógeno en lugar del carbono en posición 6 (compuestos 3a y 3b), el índice  $S(A_6)$  toma valores positivos. La presencia de un descriptor como  $S(A_6)$ , que contiene información importante sobre el sustituyente de la posición 6, en los modelos obtenidos está en correspondencia con resultados alcanzados por otros autores sobre el papel del flúor en la actividad biológica de estos compuestos.<sup>7,15,16</sup>

Se propuso recientemente la participación del átomo de flúor en interacciones electrostáticas con el residuo Serina en posición 83 de la región determinada de resistencia a quinolonas en la ADN girasa.<sup>16</sup> Los valores de  $S$  para el átomo en posición 6 también reflejan el efecto de diferentes sustituyentes en el anillo de las quinolonas sobre éste. Se puede observar que mientras más aceptores de electrones son los sustituyentes presentes en el anillo, más negativos son los valores que toma el índice  $S(A_6)$  (Tablas I y II).

La presencia de los índices  $S(A_{11})$  y  $S(A_{15})$  en las ecuaciones (4)-(7) sugieren la participación de los oxígenos  $sp^2$  de los grupos carboxilo y carbonilo en interacciones con iones magnesio que estabilizan el complejo quinolona-ADN.<sup>16</sup> Los valores de estos índices contienen además, información topológica o electrónica sobre el sustituyente  $R_7$ . En ambas se puede observar que los valores más bajos de  $S(A_{11})$  y  $S(A_{15})$  corresponden a compuestos de baja actividad biológica con sustituyentes metilo o aminometilo, dividiendo la muestra en dos clases estructurales  $R_7 =$  heterociclo y  $R_7 =$

alifático. El papel del sustituyente R<sub>7</sub> en interacciones hidrofóbicas, electrostáticas y en la formación de puentes de

hidrógeno con átomos del ADN y la girasa ha sido establecido en estudios anteriores.<sup>14,16</sup>

**TABLA II**  
Valores del S-estado y de carga neta para los átomos de las posiciones 6, 11 y 15 incluidos en las ecuaciones de regresión

Compuestos	S(A <sub>6</sub> )S	(A <sub>11</sub> )	S(A <sub>15</sub> )q	q <sub>6</sub>	q <sub>11</sub>	q <sub>15</sub>	D <sub>7</sub> +q <sub>11</sub>	D <sub>7</sub> +q <sub>15</sub>
Norfloxacin 1a	-2,57	16,38	14,37	0,008	-0,295	-0,407	0,705	0,593
Ciprofloxacina 1b	-2,55	16,53	14,57	-0,003	-0,299	-0,408	0,701	0,592
Amifloxacina 1c	-2,60	16,38	14,40	0,006	-0,289	-0,403	0,711	0,597
Fleroxacin 1d	-3,09	16,44	14,39	0,042	-0,285	-0,399	0,715	0,601
Pefloxacina 1e	-2,57	16,41	14,43	0,012	-0,288	-0,407	0,712	0,593
8F-pefloxacina 1f	-2,98	16,40	14,42	0,030	-0,284	-0,405	0,716	0,595
8F-norfloxacina 1g	-2,98	16,36	14,36	0,026	-0,291	-0,404	0,709	0,596
" 1h	1,98	16,41	14,45	-0,175	-0,293	-0,408	0,707	0,592
" 1i	-2,60	15,96	14,12	0,057	-0,288	-0,405	-0,288	-0,510
" 1j	-2,70	16,02	14,19	-0,013	-0,295	-0,408	-0,295	-0,408
" 1k	-2,54	16,29	14,36	0,012	-0,295	-0,410	0,705	0,590
Ofloxacina 1l	-2,62	16,66	14,70	0,039	-0,279	-0,403	0,721	0,597
Enoxacin 2a	-2,76	16,30	14,37	-0,050	-0,294	-0,406	0,706	0,594
Acido nalidíxico 2b	1,69	15,94	14,12	-0,219	-0,296	-0,404	-0,296	-0,404
" 2c	-2,78	15,0	14,2	0,01	-0,82	-0,03	0,82	-0,03
" 2d	1,81	16,37	14,42	-0,237	-0,296	-0,406	0,704	0,594
Acido pipemídico 3a	5,30	16,32	14,38	-0,224	-0,297	-0,402	0,703	0,598
" 3b	5,30	16,69	14,44	-0,319	-0,339	-0,403	0,661	0,597

Coeficientes de correlación								
S(A <sub>6</sub> )	1,000							
S(A <sub>11</sub> )	0,173	1,000						
S(A <sub>15</sub> )	0,036	0,93	1,00					
q <sub>6</sub>	-0,95	-0,13	0,008	1,00				
q <sub>11</sub>	-0,67	-0,032	-0,058	0,708	1,00			
q <sub>15</sub>	0,18	0,09	-0,248	-0,058	0,056	1,00		
D <sub>7</sub> +q <sub>11</sub>	0,08	0,873	0,836	-0,051	-0,116	-0,010	1,00	
D <sub>7</sub> +q <sub>15</sub>	0,106	0,882	0,835	-0,084	-0,148	-0,051	0,998	1,00

Los valores de carga neta en estos átomos se representan por: q<sub>6</sub>, q<sub>11</sub> y q<sub>15</sub>. D<sub>7</sub>=1 si R<sub>7</sub>=heterocíclico y D<sub>7</sub>=0 si R<sub>7</sub>=alifático. Los coeficientes de correlación entre los descriptores se muestran al final.

La influencia de aspectos electrónicos y topológicos sobre el índice S-estado como consecuencia de cambios estructurales en los compuestos estudiados sugiere la posibilidad de que este índice pueda ser empleado en estudios de estructura-actividad donde la respuesta biológica depende fuertemente de este tipo de propiedades. Con el objetivo de profundizar en la naturaleza de la información estructural codificada por el índice electroespacial para átomos, sustituimos los valores de S(A<sub>6</sub>), S(A<sub>11</sub>) y S(A<sub>15</sub>) por las cargas netas de los átomos correspondientes. Las nuevas ecuaciones obtenidas disminuyeron sus coeficientes de correlación a un intervalo de 0,70 a 0,75. Este resultado y los bajos coeficientes de

correlación entre los valores del S-estado y las cargas netas en los átomos A<sub>11</sub> y A<sub>15</sub> (Tabla II) hicieron evidente que hay cierto tipo de información adicional contenida en el índice electroespacial.

Considerando la influencia del sustituyente R<sub>7</sub> en los valores S(A<sub>11</sub>) y S(A<sub>15</sub>) los autores se propusieron incluir una nueva variable D<sub>7</sub> que tomara el valor 1 si R<sub>7</sub> era un heterociclo y 0 en otro caso. El objetivo fue encontrar modelos que describieran efectos tanto topológicos como de carga neta y que pudieran ser comparables con los obtenidos en las ecuaciones (4)-(7). Las ecuaciones obtenidas fueron las siguientes:

$$\log(1/CMI) = 1,12(0,001)(q_{11} + D_7) + 5,32(0,0001)q_6 + 5,60(8)$$

$$n=18 \quad r=0,86 \quad F=20,94 \quad s=0,24$$

$$\log(1/CMI) = 1,09(0,001)(q_{15} + D_7) + 5,45(0,0004)q_6 + 5,75 \quad (9)$$

$$n=18 \quad r=0,86 \quad F=20,96 \quad s=0,24$$

$$\log(1/RG) = 0,95(0,003)(q_{11} + D_7) + 4,80(0,00001)q_6 + 4,44 \quad (10)$$

$$n=18 \quad r=0,90 \quad F=30,43 \quad s=0,13$$

$$\log(1/RG) = 0,94(0,0002)(q_{15} + D_7) + 4,92(0,0001)q_6 + 4,56 \quad (11)$$

$$n=18 \quad r=0,90 \quad F=32,42 \quad s=0,12$$

Los modelos obtenidos en las ecuaciones (4)-(7) y (8)-(11) basados en descriptores calculados por métodos completamente diferentes evidencian que tanto factores electrónicos como topológicos influyen en la actividad antibacteriana de estos compuestos.

Modelos de regresión similares a las ecuaciones (4)-(7) fueron obtenidos empleando el índice del estado electrotopológico E-estado.<sup>7</sup> Los coeficientes de correlación calculados entre ambos índices para las posiciones 6, 11 y 15 (0,997, 0,969 y 0,979 respectivamente) en los 18 compuestos analizados mostraron una alta colinealidad. A pesar de ser índices que se calculan empleando distancias diferentes definidas en el plano molecular y en tres dimensiones, la colinealidad es consecuencia de los pocos grados de libertad rotacional en la estructura básica de los compuestos estudiados.

## CONCLUSIONES

Basado en el estado electrotopológico para átomos, se definió un nuevo índice que incorpora información sobre la estructura tridimensional de las moléculas y que es posible aplicarlo en los estudios de relación cuantitativa estructura-actividad. La colinealidad encontrada entre el E-estado y el S-estado permite validar el S-estado en estructuras con pocos

grados de libertad rotacional en el grupo farmacofórico. Su introducción en la lista de descriptores que ya se conocen, aporta uno adicional que resulta simple y de fácil cálculo e interpretación, aprovechando la información que brindan los métodos semiempíricos de optimización de geometría, como herramienta útil en los estudios de RCEA.

## BIBLIOGRAFIA

1. Di Angelo Carotti e Cosino Altomare **La Chimica & L'Industria**, 77, 13, 1995.
2. Kubinyi H. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches, Ed. Mannhold R., Krogsgaard-Larsen P. and Timmerman H., VCH, Germany, 21-55, 1993.
3. Wolfson J.S and Hooper D.C. **Clin Microb. Rev.**, 2, 378, 1989.
4. Shen L.L., Baranowski J. and Pernet A.G. **Biochemistry**, 28, 3879, 1989.
5. Palumbo M., Gatto B., Zagotto G. and Pald G. **Trends Microbiology**, 1, 232, 1993.
6. Fan J., Sun D., Yu H., Kerwin S.M. and Hurley L.H. **J. Med. Chem.**, 38, 408, 1995.
7. Llorente B., Rivero N., Carrasco R., Martínez R. and Estrada E., **Quant. Struct.-Act. Relat.**, 13, 419, 1994.
8. Domagala J.M., Heifetz C.L., Hutt M.P., Mich T.F., Nichols J.B., Solomon M. and Worth D.F. **J. Med. Chem.**, 31, 991, 1988.
9. Montero L. HAVPAC, Grupo de Química Teórica y Computacional, Universidad de la Habana, 1993.
10. Hall L.H, Mohny B. and Kier L.B. **J. Chem. Inf. Comput. Sci.**, 31, 76, 1991.
11. Kier L.B and Hall L.H. **Pharmaceutical Research**, 7, 801, 1990.
12. Hall L.H, Mohny B. and Kier L.B. **Quant. Struct.-Act. Relat.**, 10, 43, 1991.
13. New England, Software Inc., Complete Statistical System with Graphics and Management, 1988.
14. Cramer III R.D., Bunce J.D., Patterson D.E. and Frank I.E. **Quant. Struct.-Act. Relat.**, 7, 18, 1988.
15. Domagala J.M., Hanna L.D., Heifetz C.L., Hutt M.P., Mich T.F., Sanchez J.P. and Solomon M. **J. Med. Chem.**, 29, 394, 1986.
16. Llorente B., Leclerc F. and Cedergren R. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 4, 61, 1996.