



FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**Determinación de la actividad antioxidante de los flavonoides
mediante análisis QSAR**

Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:
INGENIERO EN ALIMENTOS

Autor:
Mauricio José Arteaga Sánchez

Director:
PIERCOSIMO TRIPALDI CAPPELLETTI

CUENCA-ECUADOR

2018

DEDICATORIA

“El presente trabajo dedico a toda mi familia en especial a Ximena y Paúl, mis padres, quienes han sido siempre ejemplo de valores, constancia y perseverancia a lo largo de mi vida ”

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios por darme la oportunidad de culminar mi carrera universitaria

Hacer extensiva mi gratitud a la Universidad del Azuay, por los conocimientos impartidos hacia mí, al laboratorio de Análisis de Química Instrumental y sus profesionales: el Dr. Piercosimo Tripaldi, al Ing. Andrés Pérez y al PhD Cristian Rojas, quienes me colaboraron con su valioso tiempo y a todos los que me han brindado apoyo para la ejecución de este trabajo. Finalmente, a una mujer que admiro y respeto, Paulina Pino, por su apoyo y motivación incondicional en todo momento.

Determinación de la actividad antioxidante de los flavonoides mediante análisis QSAR

RESUMEN

En este estudio se desarrolló un modelo que predice la actividad antioxidante de flavonoides, este análisis es necesario para identificar las capacidades de flavonoides que cumplen con esta característica, así el modelo servirá para futuros análisis. El modelo se desarrolló mediante la metodología de relación cuantitativa actividad/estructura, se seleccionaron las variables mediante la técnica de algoritmos genéticos y en la elaboración del modelo matemático se usó el método de los mínimos cuadrados ordinales. Se elaboró dos modelos y el de mejor calidad es el de cuatro variables que brinda una bondad del 88% y un error relativo del 22%.

PALABRAS CLAVE: QSAR, flavonoides antioxidantes, algoritmos genéticos.



Dr. Piercosimo Tripaldi Cappelletti
Director del Trabajo de Titulación



Ing. Fernanda Rosales
Director de Escuela



Mauricio José Arteaga Sánchez
Autor

Arteaga Sánchez,v

Determination of the antioxidant activity of flavonoids by a QSAR analysis

Abstract

In this study a model was developed to predict the antioxidant activity of flavonoids. This analysis is necessary to identify the flavonoid capacities that fulfill the antioxidant characteristic, so the model becomes useful for future analysis. The model was developed using the quantitative activity / structure ratio methodology. The variables were selected using the genetic algorithm technique and in the elaboration of the mathematical model, the ordinal least squares method was used. Two models were developed. The best model in quality was the four variable model, which shows a validity of 88% and a relative error of 22%.

Key words: QSAR, antioxidant flavonoids, genetic algorithms



Piercosimo Tripaldi Cappelletti, Dr.

Thesis Director



Fernanda Rosal, es, Eng.

School Director



Mauricio José Arteaga Sánchez

Author



Translated by
Magali Arteaga
Mgt. Magali Arteaga

Índice de Contenido

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	vii
INTRODUCCION	1
CAPITULO 1	4
MARCO TEÓRICO	4
Flavonoides antioxidantes.....	4
Efectos de flavonoides en la salud	5
Química Computacional.....	5
Modelado QSAR	6
CAPITULO 2	8
METODOLOGÍA	8
Metodología para la elaboración del modelo	8
Base de datos	8
Digitalización	11
Caracterización	12
Modelo, Training Set, learning.	14
Testing Set (calibración)	14
Validación.....	14
CAPITULO 3	15
RESULTADOS.....	15
Base de datos, preparación	15
Procesamiento de los datos.....	17
Revisión y validación del modelo	18
Revisión y validación del modelo	21
CONCLUSIONES	24
BIBLIOGRAFÍA	25

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: MOLÉCULAS DE FLAVONOIDES CON CARÁCTER ANTIOXIDANTE.....	8
TABLA 2: BASE DE DATOS	15
TABLA 3: PROGRAMACIÓN OLS	17
TABLA 4: PARÁMETROS MODELO 8 VARIABLES.....	17
TABLA 5: COEFICIENTES MODELO #1	18
TABLA 6: DESCRIPTORES MODELO #1	18
TABLA 7: PARÁMETROS MODELO 4 VARIABLES.....	20
TABLA 8: COEFICIENTES MODELO #2	21
TABLA 9: DESCRIPTORES MODELO #2	21
TABLA 10: POTENCIALES FARMACÓFOROS	23

INDICE DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1: SUSTITUCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES EN MOLÉCULAS FLAVONOIDES	4
ILUSTRACIÓN 2: FUNCIONAMIENTO DE UN ALGORITMO GENÉTICO	13

INDICE DE FIGURAS

GRÁFICO 1: DIAGRAMA DE ALGORITMOS GENÉTICOS MODELO #1.....	16
GRÁFICO 2: DIAGRAMA DE ALGORITMOS GENÉTICOS MODELO #2.....	20

Mauricio José Arteaga Sánchez

Trabajo de Graduación

PiercosimoTripaldi

Febrero, 2018.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS FLAVONOIDES MEDIANTE ANÁLISIS QSAR

INTRODUCCION

La tendencia durante los últimos años promueve a la industria alimentaria a crear productos que contengan varios componentes naturales, benéficos para la salud, como es el caso de los antioxidantes. También la industria busca formas de aislar estos compuestos para usos de conservación o para ser adicionados en otros alimentos haciéndolos bioactivos. Es necesario identificar y conocer la capacidad antioxidante de estos componentes para que el consumidor esté informado de los nutrientes que ingiere, por esto, tener un modelo QSAR, que pueda predecir la capacidad antioxidante de flavonoides en determinados compuestos permitirá conocer la capacidad antioxidante de los alimentos que contengan dichas moléculas.

En el presente proyecto se hará una investigación del poder antioxidante de las moléculas flavonoides usando la metodología QSAR para desarrollar el modelo que tendrá la capacidad de predecir esta actividad antioxidante en dichas moléculas y moléculas de estructura química similar; obteniendo un modelo idóneo en el campo de los alimentos. Ya que existen pocos estudios predictivos sobre el poder antioxidante de flavonoides con técnicas como el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), un antioxidante específico para radicales u otros métodos para determinar el poder antioxidante como X/XO Xantina Oxidasa, DMSO DimetilSulfóxido, SOD superóxido dismutasa, se considera necesario realizar la investigación ya que los estudios existentes no se han realizado en TEAC (capacidad antioxidante como equivalentes 6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametilchromona-2-ácido carboxílico) (Jeton, 2014).

La forma de vida en la actualidad conduce a la población a tomar rutinas alimentarias erróneas, por esta razón las comidas rápidas con altos índices calóricos llegaron a su auge, dando como resultado que la salud de la población se vea afectada con el incremento de enfermedades cardiovasculares, crónicas degenerativas, entre otras (OMS, 2013).

Las organizaciones internacionales encargadas de velar por el control de la salud y calidad de vida de la población han realizado varias investigaciones enfocadas a la disminución de este tipo de enfermedades y a proponer diversas soluciones para mejorar los sistemas alimentarios existentes en la actualidad. La organización mundial de la salud (OMS) en su informe técnico 916 que habla de la DIETA, NUTRICIÓN Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES CRÓNICAS, en el capítulo 5 "Ingesta de nutrientes por la población: metas para la prevención de las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta" en el apartado #4 nos habla de la importancia de los Antioxidantes, folatos y flavonoides, en el que manifiesta que: *los flavonoides que están presentes en diversos alimentos de origen vegetal, como el té, las cebollas, las manzanas y otros productos vegetales que han dado como resultado de varios estudios prospectivos indican una relación inversa entre los flavonoides de la dieta y la cardiopatía coronaria* (OMS, 2013).

Las investigaciones apuntan a generar productos que mejoren la calidad de vida de la población, considerando tanto su función como su composición, citando una frase ya conocida del médico suizo Paracelso que en el siglo XV decía "Somos lo que comemos".

De acuerdo a la información citada en párrafos anteriores, el presente estudio tiene como objetivo determinar la actividad antioxidante de los flavonoides que son moléculas que actúan como compuestos bioactivos en los alimentos. La caracterización de los compuestos flavonoides con propiedad antioxidante en alimentos tiene dos propósitos de mayor interés: nutricionales y de preservación(Rice Evans, Miller, & Paganga, 1997).

OBJETIVOS:

Objetivo general:

- Desarrollar un modelo QSAR que prediga la actividad antioxidante de flavonoides.

Objetivos específicos:

- Elaborar una base de datos de moléculas de flavonoides que tengan capacidad antioxidante.
- Desarrollar diferentes modelos predictivos QSAR de la actividad antioxidante de flavonoides.

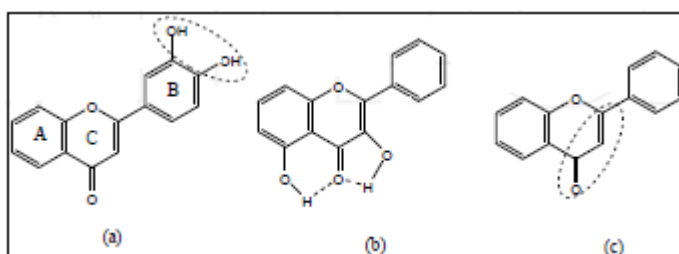
CAPITULO 1

MARCO TEÓRICO

Flavonoides antioxidantes

Los flavonoides, son compuestos presentes en las plantas como fitoquímicos y a veces como glucósidos. El rol que cumplen en la nutrición, su actividad biológica y el metabolismo en la salud humana es un tema de investigación que se viene dando en la última década, por su actividad benéfica para la salud, como su capacidad de metal-quelación y como secuestrantes de radicales libres(Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1996).Otros autores también hacen referencia a la inhibición enzimática como la lipooxigenasa, ciclooxigenasas, mieloperoxidasas(Hodgson & Croft, 2010), evitando las especies reactivas del oxígeno (ROS) formadas en las membranas de interfaz lípido/agua donde se da la biotransformación. Su localización en el organismo define la inhibición y la capacidad antioxidante; como parte de esto ellos pueden secuestrar radicales libres por donación de hidrógenos obteniendo moléculas más estables, estabilizándolas o también generando compuestos que se fijan a otras moléculas obtenidas de la formación de radicales libres (Guardado, Molina, João, & Uriarte, 2012).

Ilustración 1: Sustitución de grupos funcionales en moléculas flavonoides



- (a) Catecol del anillo B, (b) presencia de grupos hidroxilo en la posición 3 y 5,
(c) el doble enlace 2,3 en conjugación con una 4-oxofunción de un grupo carbonilo en la C -anillo.

La caracterización de las propiedades de flavonoides permite un mejor conocimiento de los mismos y su actividad antioxidante. Esta característica antioxidante puede ser utilizada en el campo de la conservación de los alimentos como en la nutrición animal y humana, que son los intereses más comunes en la industria y la salud. Se ha comprobado que la propiedad antioxidante de flavonoides es mayor que la de la vitamina C, la vitamina E y otros micronutrientes (Rice Evans et al., 1997).

Efectos de flavonoides en la salud

La información que proviene de estudios epidemiológicos y ensayos controlados de la dieta humana demuestra que las enfermedades más relevantes son las cardíacas y patologías vasculares, el cáncer, arterioesclerosis, diabetes, hipertensión, enfermedades gastrointestinales entre otras (Hodgson & Croft, 2010). De acuerdo con la OMS estas patologías son responsables de un 20% de las muertes en los últimos cien años; sin embargo, las dietas con abundante consumo de frutas y vegetales demuestran que disminuyen las probabilidades de estas enfermedades. Esto ha ocasionado que los investigadores se centren en estos componentes de la dieta siendo estudiados para descubrir y definir la función de los antioxidantes, por este motivo se propone esta teoría que se basa en el daño oxidativo, que es el resultado de la reacción reactiva del oxígeno (ROS) y los radicales nitrogenados que se forman en los organismos vivos por el metabolismo celular. Numerosas enfermedades y el proceso de destrucción de los patógenos dejan como resultado radicales libres resultantes de la oxidación, cuando los antioxidantes son insuficientes, los lípidos, el ADN, proteínas y otras moléculas se pueden oxidar. Los efectos de la oxidación se reducen con el incremento del consumo de antioxidantes en la dieta, sin embargo, el exceso de antioxidantes en el organismo produce un efecto pro-oxidante (Yordi, Pérez, Matos, & Villares, 2012).

El cuerpo humano mantiene un equilibrio entre agentes oxidantes y antioxidantes, cuando este se ve alterado el estrés oxidativo es el resultado, el equilibrio entre estos es el balance REDOX, por lo tanto, este debe estar estable para gozar de una buena salud (Rice Evans et al., 1997).

Química Computacional

La química computacional hace su aparición con el desarrollo de softwares basados en modelos matemáticos que describen las propiedades químicas a distintos niveles, buscando obtener información para desarrollar nuevos experimentos.

Dependiendo de la materia y el tipo de estudio que se esté efectuando la química computacional puede ser aprovechada teórica o experimentalmente. Su complejidad puede ser alta o baja de acuerdo a los objetivos del análisis, teniendo en cuenta las propiedades químicas moleculares para obtener la predicción del comportamiento de las diferentes reacciones (Hofmann & Schaefer, 2013).

Desde la aparición de las computadoras con sus sistemas informáticos ha revolucionado el campo de la investigación en las diferentes áreas científicas, al conseguir extraer información por medio de modelos matemáticos basados en las propiedades químicas de los diferentes compuestos que permiten predecir las diferentes reacciones que pueden darse (Ramachandran, Deepa, & Namboori, 2008).

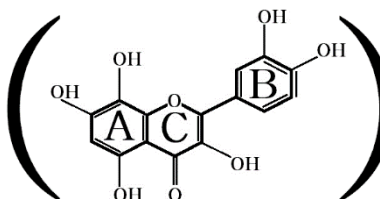
Siendo una herramienta de la química teórica que ha permitido sintetizar de mejor manera los datos y extraer información nueva, basándose en el desarrollo de los modelos matemáticos elaborados a partir de las propiedades químicas de las moléculas que constituyen la materia analizada; consiguiendo así, interpretar lo observado en las fases de experimentación de los diferentes estudios o prediciendo los resultados en base a las diferentes teorías a través de modelos químicos matemáticos resueltos por dichos softwares e interpretados por los profesionales a cargo (Ramachandran et al., 2008).

La modelización basada en las propiedades químicas y moleculares para el cálculo o predicción de dichas reacciones o la simulación de sistemas como los biomoleculares, el diseño de fármacos, alimentos, polímeros, moléculas tanto inorgánicas como orgánicas, han dado sus aportes de información para el desarrollo de las ciencias, estos conocimientos son validados y llevados al campo industrial para la optimización y elaboración de nuevos productos (Hofmann & Schaefer, 2013).

Modelado QSAR

Según (Mercader, 2009), "Los estudios QSAR combinan métodos de la mecánica estadística con la química computacional, con el objeto de establecer modelos matemáticos que cuantifiquen las relaciones estructura-actividad QSAR" por sus siglas en inglés (Quantitative Structure-Activity). Expresado de otra forma los métodos computacionales basados en la física, química, fisicoquímica y las propiedades biológicas, de los múltiples compuestos orgánicos, dependen de su estructura (Randić, 1996) y estos modelos tienen como objetivo fundamental desarrollar arreglos matemáticos que se pueden ajustar a los datos obtenidos de las mediciones experimentales u observaciones, a modelos que permitan cuantificar, predecir y evaluar las diferentes propiedades químicas de los nuevos compuestos bioactivos, que han sido predichos en base a los datos experimentales; está es la razón por la que se requiere la existencia o elaboración de bases de datos químicos que incluyan la actividad de dichas moléculas a estudiar, por lo tanto el modelado QSAR se convierte en una herramienta de mucha importancia por su amplia aplicación en las diferentes ciencias químicas, biológicas, toxicológicas, farmacológicas, alimentos, etcétera (Todeschini & Consonni, 2008).

Actividad/Propiedad Biológica = f



El desarrollo de estos modelos matemáticos describe la relación cuantitativa en función de su actividad estructural; las regresiones lineales multivariante usadas mediante la química informática y el análisis linear discriminante, son ventajas que nos ayudan a identificar las estructura óptima que nos dará mejores resultados (Dehmer, Varmuza, Bonchev, & Emmert-streib, 2012).

La información química de cada molécula está codificada por los descriptores moleculares CoMFA (Análisis comparativo de campo molecular) y los descriptores gráficos que dan información relevante para la generación de los modelos QSAR (Todeschini & Consonni, 2008).

CAPITULO 2

METODOLOGÍA

Para la elaboración del siguiente estudio se describirá la metodología, el proceso y trabajo que se siguió para la obtención de los datos, el modelado, la construcción de las estructuras moleculares, digitalización, el cálculo de descriptores moleculares para la base de datos obtenida, como los métodos multivariantes utilizados para el desarrollo de los modelos matemáticos.

Metodología para la elaboración del modelo

Base de datos

En la elaboración de un modelo QSAR es importante la obtención de una cantidad representativa de datos fiables para asegurar la calidad y validez del modelo, así mismo también resulta importante un correcto procesamiento de datos durante la investigación ya que de esta manera se podrá obtener una base sólida, robusta y replicable.

Los datos deben ser ordenados de forma que sean útiles teniendo en cuenta de que los diferentes valores estén completos y en las mismas unidades de medida.

Las moléculas de flavonoides con carácter antioxidante analizadas en este estudio están expresadas en 6-hidroxy2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico (TROLOX); utilizado para reducir el estrés oxidativo, siendo, el equivalente a la fuerza antioxidante. El valor antioxidante de las moléculas analizadas en el presente estudio se obtuvo de varios artículos científicos, en las que fueron expresadas sus capacidades antioxidantes en términos de TROLOX. Para que los datos sean de mejor calidad se determinó la mediana hasta con cinco respuestas de la misma molécula. La base de datos inicial estaba conformada por 73 moléculas, una vez realizada la depuración en la que se eliminó compuestos repetidos, constantes o casi constantes dado que no aportaron información útil.

Tabla 1. Moléculas de flavonoides con carácter antioxidante

No	Nombre de la Molécula	CAS	Respuesta 1	Respuesta 2	Respuesta 3	Respuesta 4	Respuesta 5
1	gallicacid		1.98				
2	caffeicacid		1.01				
3	ferulicacid		0.23				

4	Catechin	0.57	3.04	2.4	3.16	3.42
5	Epicatechin	0.99				
6	Quercetin	1.14	4.42	4.7	3.68	4.84
7	morin	0.83	2.68	2.55		2.6
8	kaempferol	0.79	1.59	1.34	1.03	1.45
9	myricetin	1.02	1.31	3.1	3.07	3.08
10	resveratrol	0.4				
11	apigenin		0.086	1.45	2.01	2.8
12	glycitein		0.097			
13	naringin		0.098			
14	astralagin		0.138			
15	vitexin		0.216			
16	flavonol		0.707			1.06
17	Hesperidin		0.104	1.08		
18	daidzin		0.072	1.15		
19	genistin		0.077	1.24		
20	daidzein		0.101	1.25		
21	hesperetin		0.403	1.37		
22	Chrysin		0.081	1.43		2.52
23	Luteolin		2.18	2.1	2.23	2.48
24	Galangin		1.12	1.49		2.08
25	Naringenin		0.217	1.53	0.13	2.48
26	Baicalin		1.55			
27	Phloretin		1.79			
28	Sappanchalcone		1.93			
29	Quercitrin		2.18		1.75	
30	Rutin		2.02	2.4		2.67
31	Butein		2.42			
32	Epicatechin		3.08	2.5	2.58	3.16
33	Baicalein		2.56			1.22
34	Genistein		0.123	2.9	0.32	2.96
35	Epigallocatechin		3.71	3.8	3.86	4.84
36	Quercetin					

37	epigallocatechingallate		5.95	4.8	4.39
38	epicatechingallate		5.29	4.9	4.23
39	catechin-3-gallate		5.25		5.12
40	procyanidin B-1		6.14		6.55
41	procyanidin C-1		8.29		
42	procyanidin B-2 digallate		9.18		
43	Formononetin			0.11	
44	Narirutin			0.76	
45	luteolin-3',7-diglucoside			0.76	
46	biochanin A			1.16	
47	Pelargonidin			1.3	
48	dihydrokaempferol			1.39	
49	3,6-dihydroxyflavone			1.65	
50	luteolin-4'glucoside			1.78	
51	Eriodictyol			1.8	
52	Taxifolin			1.9	3.09
53	Malvidin	iónicos		2.06	
54	Peonidin	iónicos		2.22	
55	Apigenidin	iónicos		2.35	
56	Fistein			2.8	
57	Cyanidin	iónicos		4.4	0.96 3.63
58	Delphinidin	iónicos		4.44	
59	Isovitexin				0.15
60	Myricitrin				0.89
61	Orientin				1.05
62	Rhamnetin				1.27
63	Hyperoside				2.33
64	Isorhamnetin				2.69
65	procyanidin B-2				7.58
66	6-hydroxyflavone				0.95
67	6-hydroxyflavanone				1.47
68	3,7-dihydroxyflavone				1.65
69	3,6-dihydroxyflavone				2.06

70	Fisetin		2.8
71	Oenin	iónicos	1.79
72	Ideain	iónicos	2.9
73	Kerayacyanin	iónicos	3.25

Respuesta 1:(Rastija, Srečnik, & Marica-Medić-Šarić, 2009), **Respuesta 2:**(Cai, Mei Sun, Jie Xing, Luo, & Corke, 2006), **Respuesta 3:**(Rice-Evans et al., 1996), **Respuesta 4:**(Soobrattee, Neergheen, Luximon-Ramma, Aruoma, & Bahorun, 2005), **Respuesta 5:**(Ishige, Schubert, & Sagara, 2001).

Digitalización

Luego de obtener la base de datos de flavonoides antioxidantes de la cual se va a partir para el desarrollo del modelo, el objetivo principal de la digitalización es diagramar cada molécula de acuerdo a su estructura espacial respetando todas las propiedades tanto físicas como químicas, así los científicos han desarrollado los diferentes descriptores moleculares que traducen y relacionan cuantitativamente con las actividades/propiedades biológicas u otras propiedades experimentales de interés (Gasteiger, 2006). Estos descriptores son un conjunto de parámetros capaces de describir una estructura molecular de forma cuantitativa, este parámetro se puede obtener de diferentes formas y se pueden dividir en dos tipos de descriptores moleculares: experimentales y teóricos (Todeschini & Consonni, 2008). Los principios enumerados son la base para relacionar las diferentes actividades químicas, al mismo tiempo que nos permite experimentar y relacionar las mismas.

Las moléculas se diagramaron con ayuda de un software especializado "HyperChem 8.0.6 " las cuales se construyen en base a su estructura molecular, obtenida de las bases de datos informáticas de flavonoides, después de elaborado sus tres anillos principales se van sustituyendo con los diferentes átomos y grupos funcionales según sea el caso del flavonoide; se debe tener en cuenta que todos los átomos de la molécula estén saturados. Para equilibrar electromagnéticamente la molécula de flavonoide se la optimiza de acuerdo al algoritmo de Polak-Ribiere de Gradiente conjugada, estableciendo como condición que la gradiente sea inferior a 0.0001 kcal/(Åmol) con un máximo de 90 ciclos, parámetros que se establecen en el software. Para la optimización, toda molécula de la base de datos debe cumplir con los parámetros de optimización para poder ser guardada con el nombre correspondiente.(Ramachandran et al., 2008).

Caracterización

Esta etapa se trabajó con el programa Dragon v.7.0.4 2016 desarrollado por Todeschini y colaboradores, que permite el cálculo de descriptores, siendo un programa de común uso en los análisis QSAR.

Un descriptor es una entidad matemática que se define como una regla, los diferentes aspectos de la estructura molecular, que han sido desarrollados en base a las teorías: de grafos, aproximaciones geométricas, de la información y aproximaciones de la química cuántica. (Todeschini, 2003).

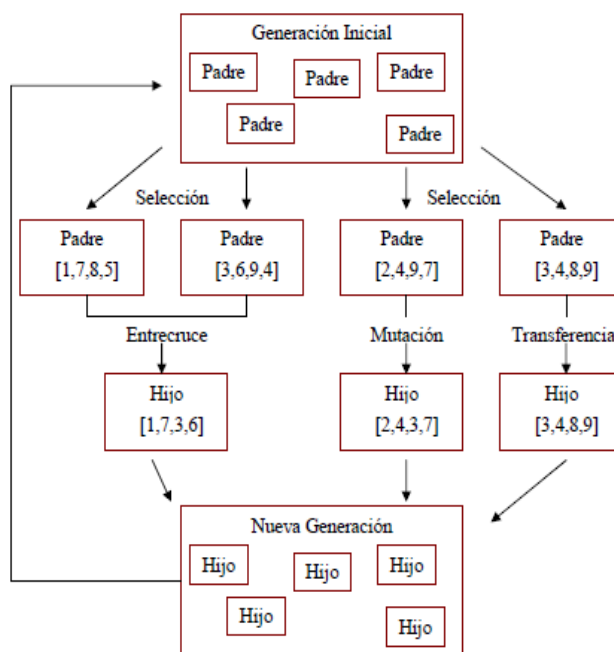
Actualmente el programa decodifica las diferentes moléculas de acuerdo a su base de datos de 5270 descriptores, una vez definida la base de datos o matriz (X) de este estudio se obtuvieron un total de 346 descriptores, que definen a los flavonoides antioxidantes de esta tesis.

De la base de datos de descriptores de flavonoides antioxidantes deben utilizarse los que mejor describen a la matriz, para esto se utilizó el método de algoritmos genéticos. Este, selecciona las variables de la población que darán la mejor respuesta.

Los algoritmos genéticos (GAs), se aplica para buscar las variables que generan una respuesta máxima o mínima, como es el caso del coeficiente de determinación (R^2_{cv}) en regresión o la tasa de aciertos (NER_{cv}) en clasificación.

Este método parte de una población de "cromosomas". Un cromosoma es un vector binario de p bits (número total de variables), que se asocia a un modelo con variables; bits con valor 1 indican que los descriptores correspondientes están presentes en el modelo y viceversa para los bits 0 o nulos. Los nuevos cromosomas se generan por dos vías reproducción o crossover y mutación. (Niazi & Leardi, 2012).

Ilustración 2: Funcionamiento de un algoritmo Genético



(Duchowicz, 2005)

Mínimos cuadrados ordinarios (OLS)

Es un método de regresión lineal con sus siglas en inglés OLS u (Ordinal Linear Squares), que consiste en establecer relaciones lineales entre las variables independientes y una variable dependiente o respuesta cuantitativa quedando expresada por el siguiente modelo según (Todeschini, 2003):

$$y = X\beta + e$$

Y = Vector respuesta

X = matriz modelo

β = Vector de coeficientes de regresión

e = Vector de errores

siendo n el número de moléculas y p el número de variables el análisis dimensional queda así:

$$(n, 1) = (n, p')(p', 1) + (n, 1)$$

Con $p' = p + 1$.

En términos no matriciales la relación entre la respuesta y el objeto i-esimo y su descripción con las variables independientes con la combinación lineal se expresa así:

$$y_i = b_0 + b_1x_{i1} + b_2x_{i2} + \dots + b_px_{ip}$$

La solución consiste en determinar el vector del coeficiente **b**, operando algebraicamente quedaría así:

$$y = xb$$

$$X^T y = X^T X b$$

$$(X^T X)^{-1} X^T y = (X^T X)^{-1} X^T X b$$

Desde $(X^T X)^{-1} X^T X = I$, la solución OLS es:

$$b_{OLS} = (X^T X)^{-1} X^T y$$

Modelo, Training Set, learning.

En la elaboración del modelo se utilizó algoritmos matemáticos para el desarrollo de la regresión y clasificación de la base de datos. Se operó con el software Matlab R2013, mediante la programación "gatoolbox" que fue desarrollado por el área de QSAR y Quimiometría de la Universidad Milano Biccioca Italia.

- **Training Set.**-La base de datos fue dividida en dos grupos de manera aleatoria en proporción del 70% para el testing set o learning y la otra parte que corresponde al 30% de los datos utilizaron en la calibración.
- Durante el proceso de "**Learning**" se usaron los diferentes métodos y modelos de regresión, linealización y clasificación por análisis multivariante, para la construcción del modelo que describe de manera empírica la relación entre la estructura y las propiedades de interés (TROLOX).(Balaban, 2012)

Testing Set (calibración)

El modelo de regresión utilizado fue el de los mínimos cuadrados ordinales (OLS) por sus siglas en ingles Ordinal Linear Squares.

Se realizó una validación interna de los datos del testing set, así se controló la capacidad predictiva mediante validación cruzada (CV).

Validación

En la validación externa trabajamos con el 30% de los datos, al realizar esta regresión se validó los resultados obtenidos en el training set.

CAPITULO 3

RESULTADOS

Una vez terminada la preparación, procesamiento y validación de los datos se debe interpretarlo. En base a los datos obtenidos por el producto de la investigación y la aplicación del modelado QSAR en el siguiente capítulo se procede a la síntesis de los resultados, siendo específico en los parámetros usados para la elaboración de cada modelo incluyendo la validación de los resultados, así se facilitará la interpretación de dicho modelo y la capacidad predictiva para la actividad antioxidante de flavonoides.

Base de datos, preparación

La base de datos para el modelo consta de sesenta y un moléculas de flavonoides antioxidantes con sus respectivas lecturas en TROLOX que fueron extraídas de cinco trabajos según consta en la *Tabla 1: Moléculas de flavonoides con carácter antioxidante*.

Tabla 2. Base de datos

Base de Datos Para Modelo QSAR De Flavonoides Antioxidantes			Base de Datos Para Modelo QSAR De Flavonoides Antioxidantes		
No	F. Antioxidante	mM	No	F. Antioxidante	mM
1	Gallicacid	1.490	32	Baicalein	1.555
2	Caffeicacid	1.505	33	Genistein	2.285
3	Ferulicacid	1.615	34	Epigallocatechin	3.658
4	Catechin	3.420	35	Epigallocatechingallate	4.800
5	Epicatechin	3.160	36	Epicatechingallate	4.900
6	Quercetin	4.840	37	Catechin-3-gallate	5.153
7	Morin	2.600	38	Procyanidin B-1	6.345
8	Kaempferol	1.320	39	Procyanidin C-1	8.290
9	Myricetin	3.080	40	Procyanidin B-2 digallate	9.180
10	Resveratrol	5.200	41	Formononetin	0.110
11	Apigenin	2.800	42	Narirutin	0.760
12	Glycitein	6.049	43	Luteolin-3,7-diglucoside	0.760
13	Naringin	6.549	44	Biochanin A	1.160
14	Astralagin	7.069	45	Dihydrokaempferol	1.390
15	Vitexin	7.608	46	3,6-Dihydroxyflavone	2.060
16	Flavonol	2.060	47	Luteolin-4-glucoside	1.740

17	Hesperidin	8.796
18	Daidzin	9.306
19	Genistin	9.829
20	Daidzein	10.338
21	Hesperetin	10.943
22	Chrysin	11.378
23	Luteolin	2.480
24	Galangin	2.080
25	Naringenin	2.480
26	Baicalin	13.775
27	Phloretin	14.395
28	Sappanchalcone	14.965
29	Quercitrin	15.483
30	Rutin	2.670
31	Butein	16.710

48	Eriodictyol	1.800
49	Taxifolin	2.793
50	Fisetin	2.800
51	Isovitexin	0.150
52	Myricitrin	0.890
53	Orientin	1.050
54	Rhamnetin	1.270
55	Hyperoside	2.330
56	Isorhamnetin	2.690
57	Procyanidin B-2	7.580
58	6-Hydroxyflavone	0.950
59	6-Hydroxyflavanone	1.470
60	3,7-Dihydroxyflavone	1.650
61	Apigetrin	0.083

MODELO 1

Resultado de los Algoritmos Genéticos.

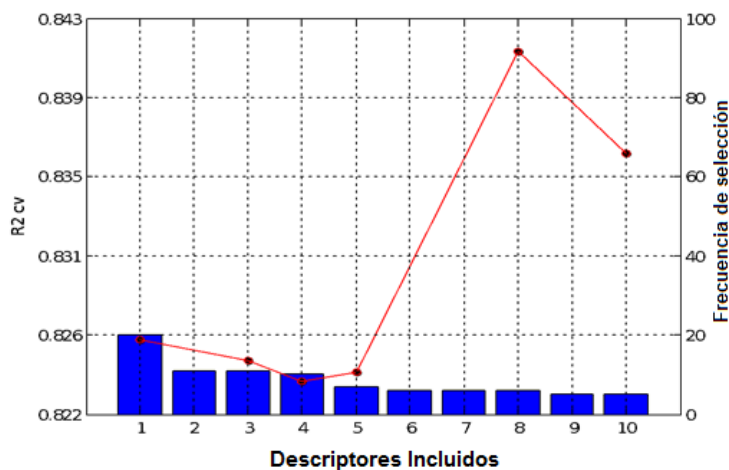


Gráfico 1. Diagrama de algoritmos genéticos modelo #1

Los algoritmos genéticos dieron como resultado el modelo de 8 variables, en el gráfico se puede observar, en el eje de las ordenadas a las variables numeradas y en las ordenadas al lado izquierdo los valores de R^2 CV, demostrando el punto de inflexión más prominente y el mejor valor

de R^2 CV siendo el resultado más próximo a la unidad nos ofrece los mejores valores de predicción para el modelo de ocho variables.

Procesamiento de los datos

Aplicando a este primer modelo el método OLS, con la programación gatoolbox con el software Matlab R2013 el que fue programado con las opciones: en la validación cruzada se usó la de tipo ventana veneciana manteniendo grupos de 5 probabilidades con un máximo de treinta cromosomas con una probabilidad de mutación del 1% y con un cruzamiento del 50%, se realizaron cien corridas con cien evaluaciones.

Programación:

Tabla 3. Programación OLS

Programación	
Método	OLS
Grupos de Cross Validación	5
Tipo de Cross Validación	Veneciana
Número de Cromosomas	30
Probabilidad de Mutación	0.01
Probabilidad de Cruzamiento	0.5
Repeticiones	100
Evaluaciones	100

Parámetros del método OLS

Tabla 4. Parámetros Modelo 8 variables

Modelo 8 variables OLS	
R2CV	0.81
R2 predext	0.85

Los parámetros que se obtuvieron son promisorios al obtener un valor de $R^2CV=0.81$ y un $R^2predicho=0.85$ esto quiere decir que el modelo va a gozar de una predicción del 81% con un error del 19% y se comprobó con el cálculo de $R^2predicho$ que el modelo nos da una bondad del 85% con un error del 15%.

Revisión y validación del modelo

Al finalizar el corrido de los datos con el método OLS en el modelo de ocho variables en las que analizamos sus coeficientes y estandarizamos cada uno de ellos para determinar la validez de los mismos, al ser los ocho parámetros inferiores a la unidad nos indica su validez; a pesar de que todos son válidos existen coeficientes más representativos, respectivamente estos son: (b5) 0.106; (b7) 0.161; (b4) -0.190; (b1) 0.260 al estar más próximos al cero absoluto. Indicándonos que su desviación es mínima. Al corresponder cada coeficiente a un descriptor específico podemos interpretar los marcadores, siendo los dos primeros más relevantes para así demostrar que comportamiento molecular da mayor relevancia en la estabilidad del modelo: **CATS2D_05_DA y P_VSA_LogP_4**

Coeficientes del modelo #1 (8 variables)

Tabla 5. Coeficientes Modelo #1

Coeficientes de cada variable		
	coef	stdcof
b0	2.109	
b1	0.652	0.260
b2	0.668	0.263
b3	0.794	0.346
b4	-0.402	-0.190
b5	0.228	0.106
b6	0.743	0.368
b7	0.326	0.161
b8	-0.621	-0.304

Los descriptores correspondientes a las variables con mejor puntuación fueron las siguientes:

Tabla 6. Descriptores modelo #1

Modelo 1	
No	Descriptores
1	CATS2D_03_DL
2	CATS2D_04_DL
3	CATS2D_03_AL

4	nCb-
5	CATS2D_05_DA
6	VE1_B(m)
7	P_VSA_LogP_4
8	Eta_F_A

Matemáticamente la ecuación del modelo se expresa así:

$$y_i = b_0 + b_1x_{i1} + b_2x_{i2} + \dots + b_px_{ip}$$

$$y_i = 2.109 + 0.652(CATS2D_03_DL) + 0.668(CATS2D_04_DL) + 0.794(CATS2D_03_AL) \\ - 0.402(nCb -) + 0.228(CATS2D_05_DA) + 0.743(VE1_B(m)) \\ + 0.326(P_VSA_LogP_4) - 0.621(Eta:F_A)$$

Al analizar los resultados de los algoritmos genéticos y evidenciar la estabilidad que existe entre las variables seleccionadas, se corrió nuevamente sobre la misma base de datos los algoritmos genéticos y se propuso un segundo modelo buscando que este sea más sencillo de interpretar y capaz de definir con la misma o mejor precisión la relación actividad-estructura, manteniendo el método OLS para el corrido de los datos. El resultado fue un modelo de cuatro variables en el que de igual manera se analizaron los valores de R^2_{CV} , el $R^2_{predicho}$, los coeficientes y coeficientes estandarizados, siendo todos los valores admisibles y ofreciendo la veracidad correspondiente.

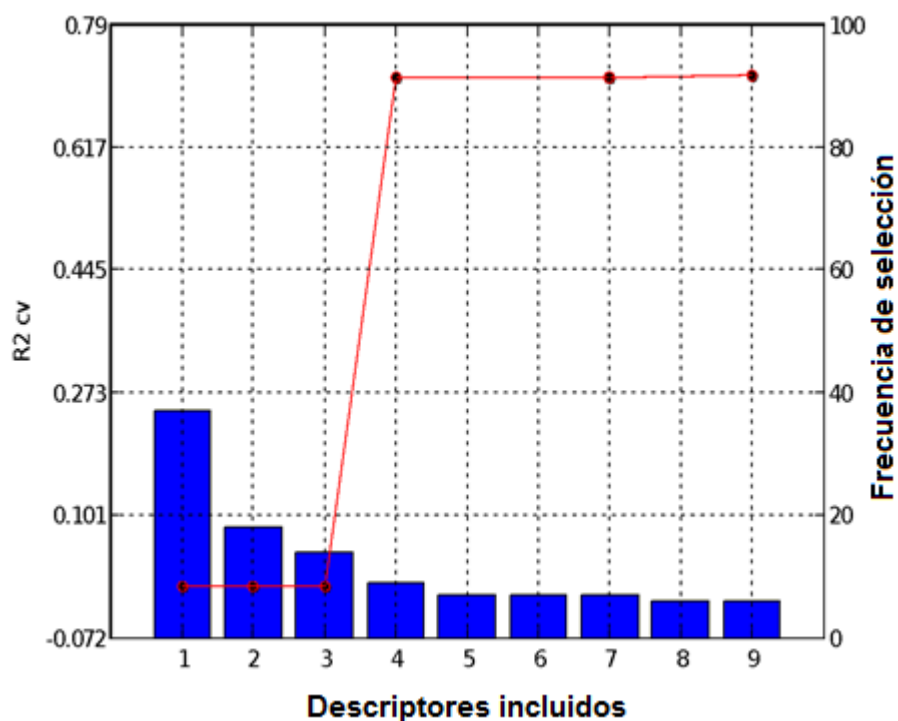


Gráfico 2. Diagrama de algoritmos genéticos modelo #2

Descriptores incluidos frecuencia de selección

Parámetros del método OLS

Tabla 7. Parámetros Modelo 4 variables

Modelo 4 variables OLS	
R2CV	0.82
R2 predext	0.88

En este modelo de cuatro variables los parámetros obtenidos para los indicadores fue $R^2CV=0.82$ y un $R^2predicho=0.88$ al ser un modelo más sencillo y ofreciendo mejores predicciones con valores superiores al modelo de ocho variables para el R^2CV en 0.01% más y en R^2 predicho en 0.03% por lo tanto los errores se ven disminuidos en la misma proporción.

Revisión y validación del modelo

Coeficientes para el modelo #2 (4 variables)

Las variables con mejor puntuación en su coeficiente estandarizado fueron las siguientes:

Tabla 8. Coeficientes Modelo #2

Coeficientes de cada variable		
	coef	stdcof
b1	0.531	0.233
b2	0.880	0.416
b3	0.594	0.256
b4	0.156	0.067

De acuerdo a los coeficientes estandarizados los descriptores que mejor definen este modelo son los: CATS2D_03_DL; CATS_2D_DL

Tabla 9. Descriptores modelo #2

Modelo 2	
No	Descriptores
0	2.077
1	CATS2D_03_DL
2	CATS2D_03_AL
3	CATS2D_04_DL
4	CATS2D_07_DL

Matemáticamente la ecuación del modelo se expresa así:

$$y_i = b_0 + b_1x_{i1} + b_2x_{i2} + \dots + b_px_{ip}$$

$$y_i = 2.077 + 0.531(CATS2D_{03DL}) + 0.88(CATS2D_{03AL}) + 0.594(CATS2D_{04DL}) + 0.156(CATS2D_{07DL})$$

Los descriptores obtenidos tanto en el modelo #1 como los descriptores en el modelo #2 pertenecen al grupo de descriptores topológicos-geométricos, para poder entender estos iniciaré con los descriptores de acuerdo a su dimensión; D. 0D, los D.2D o Topológicos, D. CATS, D. Autocorrelación.

Descriptores 0D:

Estos representan la constitución molecular y no dependen de su conectividad ni conformación, entre estos están el número de átomos, peso molecular, hidrógenos enlazados a un carbono alfa, suma de volúmenes de Vander Waals, sin poder identificar a los isómeros más populares. Siendo útiles para identificar la forma molecular (Garro Martinez, Duchowicz, Estrada, Zamarbide, & Castro, 2011).

Descriptores 1D:

Este tipo de descriptor considera las fracciones de las moléculas como subconjuntos de los átomos, los grupos funcionales químicos, hidrógenos enlazados a un carbono alfa entre otros (Garro Martinez et al., 2011).

Descriptores 2D o Topológicos:

La representación molecular más común es en dos dimensiones también denominada representación topológica. Estos descriptores se obtienen del estudio de los grafos moleculares, los primeros descriptores obtenidos de esta clase fueron el índice de Wiener y el número de Platt, se consideran de los mejores sin embargo siempre se complementan con descriptores relacionados. Todo descriptor calculado en función de su representación topológica se los denomina descriptores 2D (Aranda, Garro Martinez, Castro, & Duchowicz, 2016).

Descriptores Geométricos:

Son descriptores que se derivan de la posición de los átomos en sus estructuras moleculares 3D o partiendo de la teoría de grafos para el cálculo de estos se debe partir de una estructura optimizada para garantizar la geometría molecular como ejemplo de este descriptor tenemos el índice tridimensional de Wiener (Mercader, 2009). En este grupo ya se presenta una subclasificación de acuerdo a la teoría que se utilizó para su desarrollo.

Descriptores CATS. - Son representaciones de cadena que consideran pares de átomos (Excepto los pares de átomos de Hidrógeno) y la separación interatómica entre ellos. Estos descriptores están relacionados con la presencia de potenciales farmacóforos (PPP), donde se deben tener en cuenta los aspectos fisicoquímicos para este tipo de átomo. Los aspectos PPP para los descriptores CATS según la tabla N°10: Donante de enlaces de hidrógeno (D), aceptor de enlaces hidrógeno (A), positivo (P), negativo (N), lipofílico (L). El siguiente aspecto importante en los descriptores CATS2D es la distancia topológica que hay entre ellos, está puede estar entre 0 y 9. No así para los descriptores CATS3D (Renner, Fechner, & Schneider, 2006).

Tabla 10. Potenciales farmacóforos

Potenciales farmacóforos	
PPP	Tipos
Donante de enlaces de hidrógeno (D)	Átomo de oxígeno de un grupo OH Átomo de nitrógeno de un grupo NH o NH ₂
Aceptor de enlaces de hidrógeno (A)	Átomo de oxígeno Átomo de nitrógeno no adyacente a un átomo de hidrógeno
Positivo (P)	Átomo con carga positiva Átomo de nitrógeno de un grupo NH ₂
Negativo (N)	Átomo con carga negativa Átomo de carbono, azufre o fósforo de un grupo COOH, SOOH o POOH
Lipofílico (L)	Átomo de cloro, bromo o yodo Átomo de azufre adyacente únicamente a dos átomos de carbono (C-S-C) Átomo de carbono adyacente únicamente a átomos de carbono
Aromático (ar)	Átomo en una subestructura aromática
Conjugado (con)	Átomo en una subestructura conjugada
Halógeno (hal)	Cualquier átomo halógeno
Cíclico (cyc)	Átomo que pertenece a ciclos
Terminal (ter)	Átomo con un enlace no hidrogénico

(Rojas, 2017)

Índices topológicos:

También conocidos como descriptores moleculares topológicos, se derivan de la representación topológica de la estructura química 2D y de acuerdo a su categoría se los puede describir por número de trayectos moleculares, índice de conectividad molecular, índice de información y autovalores de Burden (Todeschini & Consonni, 2008).

Índices ETA. –Se calculan de un grafo molecular libre de hidrógenos en el que cada vértice se asume que está compuesto por un núcleo y un entorno electrónico de valencia. La electronegatividad ETA se obtiene combinando el conteo del núcleo de un átomo con su respectivo número de electrones de valencia (Das & Roy, 2012).

P_VSA. – Esta clase de descriptores definen el área superficial de Van der Waals (VSA) con una propiedad específica o valor P. Estas se caracterizan por que se expresan en: logP, refractividad molar, masa, volumen de Van der Waals, electronegatividad de Sanderson, polarizabilidad, energía de ionización, estado intrínseco (Hari Narayana Moorthy, Sousa, Ramos, & Fernandes, 2011).

CONCLUSIONES

- Se elaboró la base de datos de flavonoides con carácter antioxidante, teniendo un total de sesenta y un moléculas de flavonoides con carácter antioxidante que es un volumen representativo para el desarrollo de los modelos de la actividad/estructura. Todas las moléculas que se incluyeron en la base de datos cumplen con las características indicadas (de ser flavonoides con capacidad antioxidante) dando claridad a las cualidades que las define frente a la actividad/estructura de las mismas siendo esta, la primera cualidad que da veracidad al modelo.
- Los modelos de estudio QSAR que se obtuvieron tienen la capacidad de predecir la actividad antioxidante de todos los flavonoides que cumplan con esta característica "antioxidante" quedando como el mejor modelo por ser el más sencillo y preciso el de cuatro variables al describir estas moléculas con una capacidad de acierto del 88% y un error relativo del 22%. Estos valores fueron obtenidos con el método OLS por el indicador R^2 y rectificados con el R^2 predicho, teniendo en cuenta que la capacidad de predicción incluye; moléculas que no estén en la base de datos, como moléculas prototipo o moléculas antioxidantes de tipo flavonoide que no han sido estudiadas anteriormente, ofreciendo una herramienta para futuros estudios.

BIBLIOGRAFÍA

- Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D., Rastija, V., Lucic, B., & Trinajstić, N. (2007). SAR and QSAR of the Antioxidant Activity of Flavonoids. *SAR and QSAR of the Antioxidant Activity of Flavonoids*, 14(7), 827–845. <https://doi.org/10.2174/092986707780090954>
- Aranda, J. F., Garro Martinez, J. C., Castro, E. A., & Duchowicz, P. R. (2016). Conformation-independent QSPR approach for the soil sorption coefficient of heterogeneous compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/ijms17081247>
- Balaban, A. T. (2012). Review of “Statistical Modelling of Molecular Descriptors in QSAR/QSPR” by Matthias Dehmer, Kurt Varmuza, and Danail Bonchev. *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 36. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-36>
- Cai, Y. Z., Mei Sun, Jie Xing, Luo, Q., & Corke, H. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78(25), 2872–2888. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.11.004>
- Das, R. N., & Roy, K. (2012). Development of classification and regression models for *Vibrio fischeri* toxicity of ionic liquids: Green solvents for the future. *Toxicology Research*, 1(3), 186–195. <https://doi.org/10.1039/c2tx20020a>
- Dehmer, M., Varmuza, K., Bonchev, D., & Emmert-streib, F. (2012). Statistical Modelling of Molecular Descriptors in QSAR / QSPR. *Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH*, (February), 32434.
- Duchowicz, P. R. (2005). APLICACIONES FISICOQUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DE LA TEORÍA QSPR-QSAR, 264.
- Garro Martinez, J. C., Duchowicz, P. R., Estrada, M. R., Zamarbide, G. N., & Castro, E. A. (2011). QSAR study and molecular design of open-chain enaminones as anticonvulsant agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(12), 9354–9368. <https://doi.org/10.3390/ijms12129354>
- Gasteiger, J. (2006). Chemoinformatics: A new field with a long tradition. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384(1), 57–64. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0065-y>
- Guardado, E., Molina, E., João, M., & Uriarte, E. (2012). Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. <https://doi.org/10.5772/50570>
- Hari Narayana Moorthy, N. S., Sousa, S. F., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. (2011). Structural feature study of benzofuran derivatives as farnesyltransferase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 26(6), 777–791. <https://doi.org/10.3109/14756366.2011.552885>
- Hodgson, J. M., & Croft, K. D. (2010). Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 31(6), 495–502. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2010.09.004>
- Hofmann, M., & Schaefer, H. (2013). Computational Chemistry. In *Molecular Sciences and Chemical Engineering* (Third Edit, pp. 487–506). 2003. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227410-5/00129-0>
- Ishige, K., Schubert, D., & Sagara, Y. (2001). Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(4), 433–446. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00498-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00498-6)
- Jeton, J. (2014). *Facultad de ciencia y tecnología. “Desarrollo de bebidas con potencial*

- antioxidante y antirradicalario a partir de frutos ecuatorianos.* Retrieved from <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/4220/1/10782.pdf>
- Mercader, A. (2009). *DESARROLLO Y APLICACIÓN DE LA TEORÍA QSAR / QSPR*. Universidad Nacional De La Plata.
- Niazi, A., & Leardi, R. (2012). Genetic algorithms in chemometrics. *Journal of Chemometrics*, 26(6), 345–351. <https://doi.org/10.1002/cem.2426>
- OMS. (2013). Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. *Alimentacion Y Dieta, Consecuencias De Habitos Alimentarios Inadecuados Pdf*, 1, 1–152. <https://doi.org/ISBN924120916X> ISSN 0512-3054 (NLM classification: QU 145)
- Ramachandran, I. ., Deepa, G., & Namboori, K. (2008). *Computational Chemistry and Molecular Modeling*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-77304-7>
- Randić, M. (1996). Molecular bonding profiles. *Journal of Mathematical Chemistry*, 19(3), 375–392. <https://doi.org/10.1007/BF01166727>
- Rastija, V., Srećnik, G., & Marica-Medić-Šarić. (2009). Polyphenolic composition of Croatian wines with different geographical origins. *Food Chemistry*, 115(1), 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.071>
- Renner, S., Fechner, U., & Schneider, G. (2006). *Alignment-Free Pharmacophore Patterns - A Correlation-Vector Approach. Pharmacophores and Pharmacophore Searches*. <https://doi.org/10.1002/3527609164.ch3>
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Rice Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152–159. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2)
- Rojas, C. X. (2017). ESTUDIO Y APLICACIÓN DE TÉCNICAS MATEMÁTICAS DE LA TEORÍA QSAR–QSPR EN QUÍMICA ANALÍTICA Y QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS, 1, 317.
- Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 579(1–2), 200–213. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.03.023>
- Todeschini, R. (2003). Introduzione alla chemiometria. *EdiSES, Napoli*. Retrieved from http://michem.disat.unimib.it/chm/download/materiale/introduzione_alla_chemiometria.pdf
- Todeschini, R., & Consonni, V. (2008). Descriptors from Molecular Geometry. *Handbook of Chemoinformatics*, 3, 1004–1033. <https://doi.org/10.1002/9783527618279.ch37>
- Yordi, E. G., Pérez, E. M., Matos, M. J., & Villares, E. U. (2012). Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. *Nutrition, Well-Being and Health*, (October 2015), 23–48. <https://doi.org/10.5772/1864>