

<i>Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación</i>	8	11-22	Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir	Valencia (España)	ISSN 1888-8550
--	---	-------	---	-------------------	----------------

Aplicación de topología molecular a la predicción de la actividad frente a *Trypanosoma cruzi* de compuestos derivados nitrotriazoles

Fecha de recepción y aceptación: 22 de septiembre de 2015, 24 de octubre de 2015

Cristina Rodríguez Grande¹, Beatriz Villalba de Gregorio¹, María Amelia Bort Carbonell¹, Claudio Norberto Giordanelly Mendicoa¹, Jorge Gálvez Álvarez^{1,2} y Ramón García-Domenech^{1,2*}

¹ Máster de Enfermedades Parasitarias Tropicales. Departamento de Biología Celular y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universitat de València.

² Departamento de Química Física. Facultad de Farmacia. Universitat de València.

* Correspondencia: Universitat de València. Facultad de Farmacia. Departamento de Química. Avenida V. A. Estellés, s/n. 46100 (Burjassot), Valencia. España. E-mail: ramon.garcia@uv.es



RESUMEN

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, es considerada la enfermedad tropical desatendida más importante. Los fármacos utilizados para tratar esta enfermedad presentan múltiples problemas, lo que implica la necesidad de buscar nuevos medicamentos. En el presente trabajo se estudian, empleando la topología molecular, 22 compuestos derivados nitrotriazoles que han demostrado ser eficaces como anti-*Trypanosoma* en estudios *in vivo*. Empleando el análisis discriminante se obtuvo una función discriminante que mostró una sensibilidad y especificidad del 100%. Además, para predecir la actividad antiparasitaria, se realizó un análisis de regresión multilíneal, capaz de explicar un 85% de la varianza. La validación de este modelo fue realizada mediante una crovalidación y un test de aleatoriedad. Finalmente, el modelo seleccionado se aplicó para buscar nuevos compuestos potencialmente activos frente a *T. cruzi*.

PALABRAS CLAVE: *Trypanosoma cruzi*, análisis QSAR, topología molecular.

ABSTRACT

The Chagas disease, caused by the protozoa *Trypanosoma cruzi*, is considered the most important unattended tropical disease. The drugs destined to treat this disease present several problems, which implies the need to look for new drugs. In the present work 22 nitrotriazole derivatives that have proven to be effective as antitrypanosoma in *in vivo* tests, are studied. Using discriminant analysis, it was obtained a correct classification as active compounds of 100% of them. Furthermore to predict the antiparasitic activity, a multilinear regression analysis was carried out and it yielded a predictive of 85% of the variance. The validation of this model was done by leave-one-out cross-validation. Finally, the model was applied to search for new potential new active compounds against *T. cruzi*.

KEYWORDS: *Trypanosoma cruzi*, QSAR analysis, molecular topology.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades tropicales desatendidas representan un grupo de enfermedades infecciosas que proliferan en entornos empobrecidos, especialmente en el entorno caluroso y húmedo de los climas tropicales. Entre ellas se encuentra la enfermedad o mal de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana, endémica en 21 países latinoamericanos y causada por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), un protozoo parásito transmitido por la chinche triatomina, que actúa como vector [1]. Existen múltiples mamíferos, tanto silvestres como domésticos, que son reservorios de la infección. La



población en riesgo es de unos cien millones de personas; ocho millones de ellas están infectadas y 14.000 mueren al año a causa de esta enfermedad [2].

Aunque la incidencia está bajando considerablemente en los últimos veinte años, principalmente debido a la implantación de medidas de control frente al vector, el número de casos en zonas no endémicas está creciendo, de modo que el problema comienza a ser global [3]. Ello se debe, principalmente, a la migración de la población internacional. Sin embargo, existen otras vías de infección, como las transfusiones de sangre procedentes de pacientes infectados [4], el trasplante de órganos [5], la ingestión de comida o agua contaminada [6] y la transmisión congénita, de madre a feto [7].

La enfermedad de Chagas se desarrolla en dos fases: aguda y crónica. En la fase aguda, pueden darse síntomas como lesiones en la piel, signo de Romaña (inflamación en el párpado de uno de los ojos) [8], fiebre, dolor de cabeza, ganglios inflamados, dificultad al respirar, etc. No obstante, los pacientes son a menudo asintomáticos, de modo que la mayoría de las infecciones pasan desapercibidas y no son diagnosticadas en esta fase. Las manifestaciones clínicas más importantes se dan en la fase crónica y desencadenan la mayoría de las veces insuficiencia cardiaca (arritmias y cardiomiopatía chagásica, principalmente) y síndromes gastrointestinales (megaesófago y megacolon). Cuando la enfermedad está muy avanzada, puede causar la muerte repentina a consecuencia del deterioro progresivo del músculo cardiaco y del sistema nervioso [9]. Dado que no existe vacuna, la quimioterapia es el único método actual para tratar a los pacientes enfermos de Chagas [10].

Los tratamientos frente a la enfermedad de Chagas se limitan a dos compuestos: nifurtimox y benznidazol. Ambos son orales, pero requieren periodos de tratamiento muy largos y presentan efectos secundarios [2]. Además, el tratamiento en la fase crónica de la enfermedad se ha vuelto algo controvertido, ya que no parece ser efectivo en la fase avanzada de la infección [2,10].

Una nueva forma de tratamiento en desarrollo son los azoles antifúngicos, inhibidores de la enzima CYP51, implicada en la biosíntesis de esterol y en la formación de la membrana de los hongos. Dos de estos inhibidores, el posaconazol y el compuesto E1224, están ahora en la fase de ensayos clínicos [11]. Además, se han hecho estudios con inhibidores de la enzima homóloga de CYP51 en *T. cruzi*, algunos de ellos como el compuesto VNI, con muy buenos resultados, tanto en la fase aguda como en la crónica, en modelos de Chagas *in vivo* [12]. Sin embargo, el alto coste de estos inhibidores limita su uso en países pobres, donde la enfermedad es más prevalente [13]. Asimismo, el mecanismo de acción de estos aún tiene que ser validado. Todo ello aumenta la necesidad de seguir investigando en la búsqueda de nuevos fármacos, más seguros y asequibles [10].

Recientemente, estudios anteriores demostraron que distintos tipos de compuestos nitrotriazoles (incluidas aminas aromáticas y alifáticas, amidas y sulfonamidas) son potentes agentes anti-*Trypanosoma*, tanto *in vitro* como *in vivo*, y lo que es más importante, algunos de ellos muestran una actividad anti-chagásica *in vivo* superior a la del benznidazol, considerado el fármaco de referencia [10].

Actualmente, se emplean distintos métodos para el diseño de nuevos fármacos, uno de ellos la topología molecular, cuyos índices topológicos, así como las relaciones cuantitativas estructura-actividad (análisis QSAR), han demostrado ser de gran utilidad en la predicción de la actividad, selección y diseño de nuevos fármacos [14-17].

En el presente trabajo, se estudia la actividad antitrypanosoma de un grupo de 22 compuestos a través de la obtención de modelos QSAR de predicción empleando la topología molecular, el análisis discriminante y el análisis de regresión multilínea. Además, se estudia a través de las mismas funciones obtenidas la actividad antichagásica teórica de nuevos compuestos.

MATERIAL Y MÉTODOS

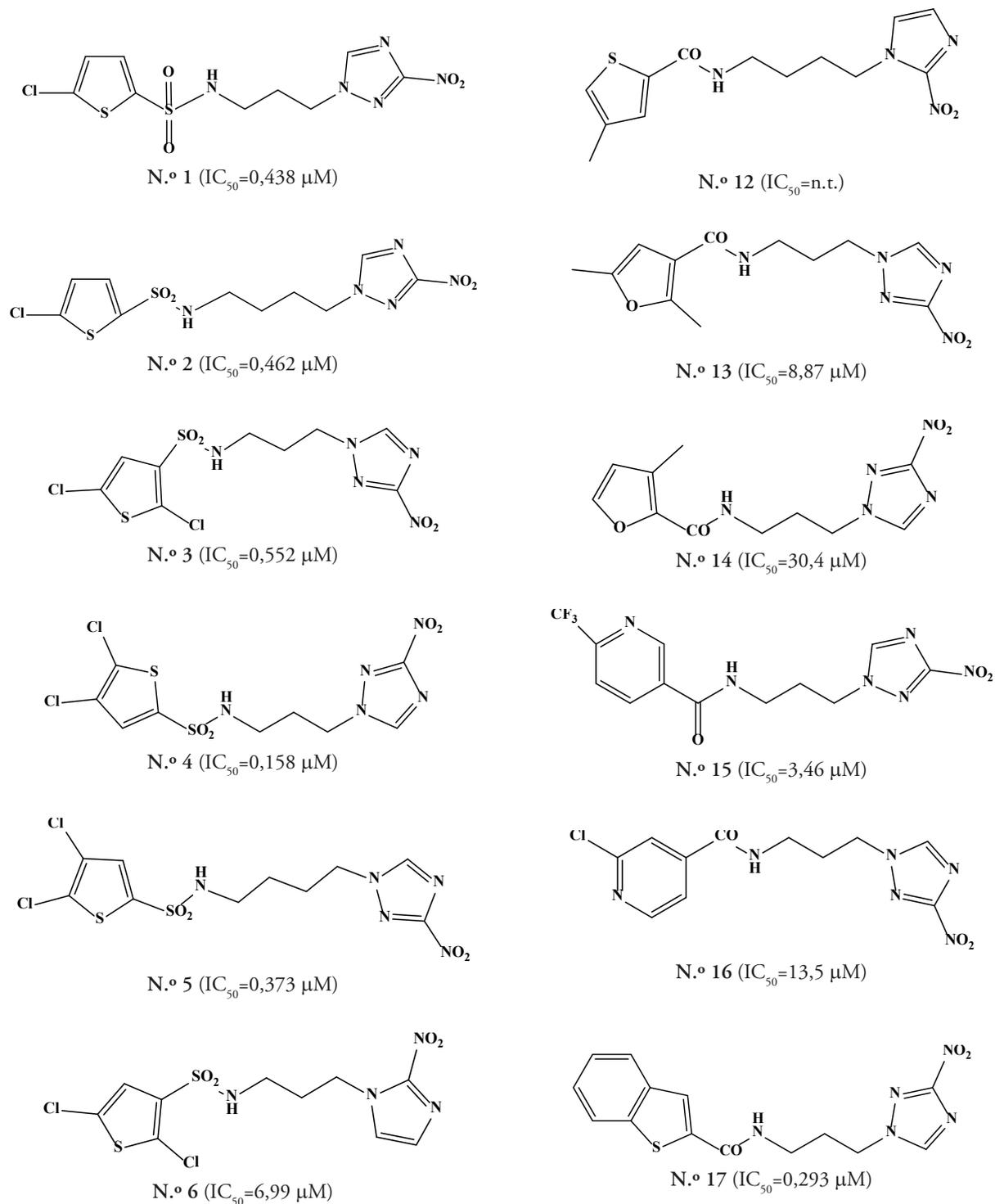
Compuestos analizados y ensayos realizados

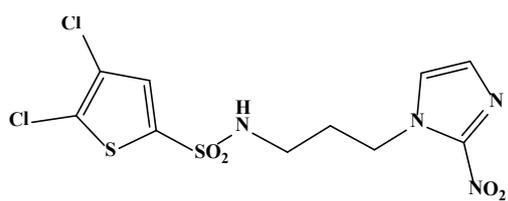
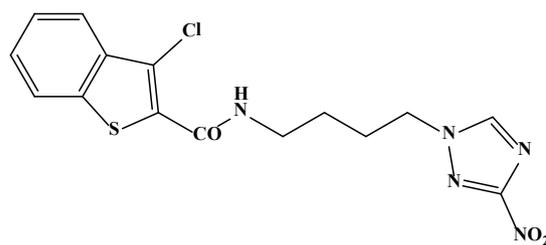
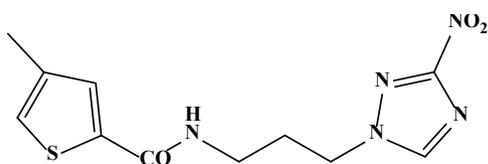
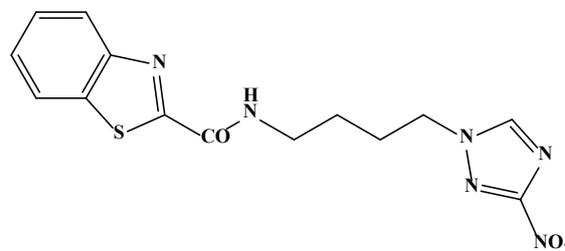
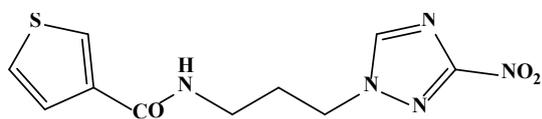
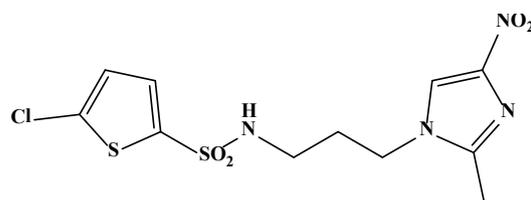
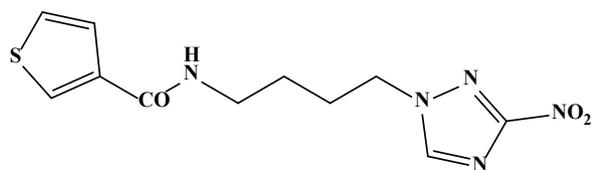
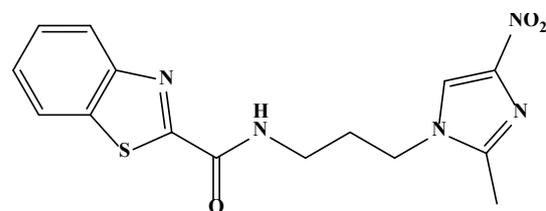
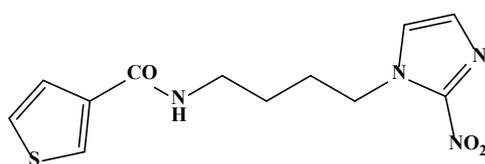
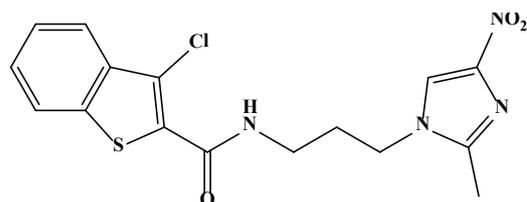
En este estudio fueron seleccionadas un grupo de 22 moléculas (heteroarilamidas/sulfonamidas con base triazol/imidazol) que habían sido estudiadas como agentes frente a *Trypanosoma* en trabajos anteriores [10]. La tabla 1 muestra la



estructura química de los compuestos estudiados así como la actividad antiparasitaria frente a *T. cruzi* en unidades de pIC_{50} ($pIC_{50} = -\log IC_{50}$), donde IC_{50} representa la concentración inhibitoria 50 micromolar (μM).

Tabla 1. Estructura química de los compuestos estudiados y actividad antiparasitaria frente a *T. cruzi*



N.º 7 (IC_{50} =4,75 μ M)N.º 18 (IC_{50} =0,187 μ M)N.º 8 (IC_{50} =2,55 μ M)N.º 19 (IC_{50} =0,422 μ M)N.º 9 (IC_{50} =3,99 μ M)N.º 20 (IC_{50} =102,3 μ M)N.º 10 (IC_{50} =1,75 μ M)N.º 21 (IC_{50} =104,6 μ M)N.º 11 (IC_{50} =n.t.)N.º 22 (IC_{50} =32,2 μ M)

Descriptores moleculares

Todos los compuestos analizados en este trabajo fueron caracterizados por un conjunto de 62 descriptores bien conocidos, entre ellos subgrafos tipo Randic-Kier-Hall de hasta cuarto orden (${}^m\chi_t$, ${}^m\chi_t^v$) [18,19], índices topológicos de carga de hasta quinto orden (J_m , G_m , J_m^v , G_m^v) [20], cocientes y diferencias entre los índices de conectividad de valencia y no valencia (${}^mC_t = {}^m\chi_t / {}^m\chi_t^v$ y ${}^mD_t = {}^m\chi_t - {}^m\chi_t^v$), índice de Wiener [21], así como descriptores constitucionales sencillos tales como el número de vértices (N), longitud del grafo (L), número de ramificaciones (R), pares de ramificaciones (PR), etc. Los descriptores usados para ello se obtuvieron con el programa DESMOL11 [22].

Modelo QSAR

Los análisis realizados se obtuvieron a partir del programa STATISTICA8.0.550 [23].

Análisis lineal discriminante

El análisis lineal discriminante (ALD) es un método de clasificación basado en la combinación de variables que mejor predicen la categoría o grupo al cual pertenece un compuesto; su objetivo es, por tanto, encontrar una función (FD) a través del valor de los índices topológicos de las moléculas que permita discriminar entre los compuestos activos e inactivos. La capacidad discriminatoria se evaluó con el porcentaje de clasificación de cada grupo de compuestos, y el criterio de clasificación fue la distancia de Mahalanobis. La selección de los descriptores empleados en la función se basó en el parámetro de Fisher (F), que determina la importancia relativa de las variables candidatas. La calidad de la función discriminante fue evaluada empleando el parámetro λ de Wilks que se obtuvo mediante un análisis multivariante.

En el presente estudio, el grupo activo lo forman los compuestos con probada actividad antitripanosómica $IC_{50} < 2,5 \mu M$, ($pIC_{50} > 5,60$) y el grupo inactivo, los compuestos con valores de $IC_{50} > 2,5 \mu M$, ($pIC_{50} < 5,60$). El fármaco de referencia utilizado fue el benznidazol, que mostró una actividad de $2,13 \mu M$ [10].

Para evaluar la estabilidad de la función discriminante seleccionada, FD, se le realizó un test de aleatoriedad cambiando los compuestos de grupo en varias etapas y evaluando la capacidad discriminante obtenida en cada etapa, y se comparó con la FD seleccionada.

Para conocer el dominio de aplicación de la FD, se le realizó un diagrama de distribución de la actividad, DDA, que nos permite conocer el intervalo de la FD en el que la expectativa, E, o probabilidad de encontrar compuestos activos, es máxima. El DDA representa en el eje de ordenadas la E y en el eje de abscisas la FD. Para un intervalo arbitrario de FD, se puede definir la expectativa de actividad, Ea , como $Ea = a/(i+1)$, donde a representa el número de compuestos activos en el intervalo dividido por el número total de compuestos activos e i representa el número de compuestos inactivos en el intervalo dividido por el número total de compuestos inactivos. La probabilidad de inactividad viene definida de forma simétrica por $Ei = i/(a+1)$. Esta representación da una buena visualización de las regiones de mínimo solapamiento y permite la selección de intervalos de la FD en los que la probabilidad de encontrar compuestos activos es máxima.

Análisis de regresión multilíneal

La ecuación de regresión se obtuvo correlacionando el valor pIC_{50} con los mencionados índices topológicos por análisis de regresión multilíneal utilizando el programa Statistica. El programa buscó combinaciones de 1, 2, 3, etc., variables independientes y se seleccionó aquella que optimizando un valor de $R^2 > 0,800$ contenía el menor número de variables para evitar el sobreajuste. Para validar la función de predicción seleccionada se realizó una validación interna y un test de aleatoriedad. Para la validación interna se usó el algoritmo *leave-one-out*, en el que un compuesto se elimina del modelo y se recalcula su valor de actividad pIC_{50} con los restantes compuestos y los descriptores de la ecuación de regresión



seleccionada. El proceso se repite tantas veces como compuestos se estudian. Con los valores predichos se determina el coeficiente de predicción Q^2 y se compara con el R^2 . Para el test de aleatoriedad, los valores de la propiedad se intercambian entre las moléculas de forma aleatoria y se recalculan R^2 y Q^2 . El modelo se considera estable si se obtienen valores de R^2 y Q^2 muy bajos y lejanos a los del modelo de regresión seleccionado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La búsqueda de un modelo topológico matemático útil para predecir la actividad antitripanosómica se realizó en dos fases. En la primera se obtuvo una función discriminante, FD, dirigida a distinguir entre compuestos activos e inactivos. En la segunda se obtuvo una función topológica capaz de predecir el valor de la actividad en términos de pIC_{50} . Ambas funciones constituyen el marco del modelo matemático que va a permitir la búsqueda y selección de teóricos nuevos compuestos con actividad antitripanosómica.

Para conseguir la FD aplicamos el ALD a un total de 22 compuestos. El grupo activo lo forman los compuestos con $IC_{50} < 2,5 \mu M$, mientras que el inactivo lo forman los compuestos con valores de $IC_{50} > 2,5 \mu M$.

La FD seleccionada fue:

$$FD = -17,38 \text{}^0\chi^v - 23,99 \text{}^0\chi + 60,08 \text{}^4\chi_{pc}^v + 32,69 L + 52,50 \quad \text{Ec. 1}$$

$$N = 20 \quad F = 26,8 \quad \lambda \text{ (Wilks' lambda)} = 0,123$$

A partir de esta función, un compuesto dado se clasificará con potencial actividad antitripanosómica si $FD > 0$, y como inactivo si $FD < 0$. Los descriptores topológicos seleccionados fueron $\text{}^0\chi$ y $\text{}^0\chi^v$, que tienen en cuenta el volumen molecular, $\text{}^4\chi_{pc}^v$, la ramificación y L, la longitud molecular. Todos ellos informando sobre la topología de la molécula. La función discriminante seleccionada clasificó correctamente como activos al 100% del grupo activo y al 100% del grupo inactivo. Se trata de una función con una excelente sensibilidad (100%) y especificidad (100%). La tabla 2 muestra los resultados de clasificación obtenidos para cada compuesto (las columnas 5, 6 y 7 representan la probabilidad de actividad, el valor numérico de FD y la clasificación del compuesto). Los compuestos no testados, n.º 11 y 12, son clasificados como inactivos.

Tabla 2. Resultados obtenidos del análisis lineal discriminante y regresión multilineal para cada compuesto analizado

Comp. N.º	$IC_{50} \text{ exp}$ (μM)	$pIC_{50} \text{ exp}$	Clas exp	Prob (Act)	FD	Clas (calc)	$pIC_{50} \text{ calc}$	$pIC_{50} \text{ calc(vc)}$
1	0,44	6,36	A	1,000	9,7	A	6,01	5,95
2	0,46	6,34	A	1,000	13,2	A	6,23	6,22
3	0,55	6,26	A	1,000	19,7	A	5,98	5,93
4	0,16	6,80	A	1,000	14,4	A	6,49	6,35
5	0,37	6,43	A	1,000	17,8	A	6,71	6,80
6	6,99	5,16	I	0,000	-9,6	I	4,77	4,64
7	4,75	5,32	I	0,000	-14,9	I	5,27	5,24
8	2,55	5,59	A	1,000	15,5	A	5,71	5,73
9	3,99	5,40	I	0,286	-0,9	I	5,59	5,69
10	1,75	5,76	A	0,926	2,5	A	5,81	5,83
11	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	-26,8	I	4,60	n.t.
12	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	-10,4	I	4,71	n.t.



Comp. N.º	IC ₅₀ exp (µM)	pIC ₅₀ exp	Clas exp	Prob (Act)	FD	Clas (calc)	pIC ₅₀ calc	pIC ₅₀ calc(vc)
13	8,87	5,05	I	0,000	-18,0	I	4,10	3,74
14	30,40	4,52	I	0,000	-19,7	I	4,94	5,07
15	3,46	5,46	I	0,000	-10,4	I	5,85	6,34
16	13,50	4,87	I	0,000	-13,4	I	4,88	4,89
17	0,29	6,53	A	1,000	14,7	A	6,45	6,44
18	0,19	6,73	A	1,000	9,2	A	6,73	6,73
19	0,42	6,38	A	1,000	11,7	A	6,31	6,30
20	102,30	3,99	I	0,000	-12,1	I	4,33	4,48
21	104,60	3,98	I	0,000	-13,5	I	4,41	4,53
22	32,20	4,49	I	0,000	-16,1	I	4,82	4,97

La tabla 3 muestra los resultados del test de aleatoriedad realizado en el ALD. Como puede observarse, en todos los casos, excepto para la FD seleccionada, los valores de lambda de Wilks, λ , son superiores a 0,6 y los porcentajes de clasificación inferiores al obtenido con la FD seleccionada.

Tabla 3. Test de aleatoriedad realizado a la función discriminante seleccionada

Test aleatoriedad N.º	Wilks lambda (λ)	Clasificación (%)
FD	0,123	100
1	0,838	67
2	0,809	78
3	0,808	74
4	0,986	50
5	0,678	72

La figura 1 muestra el diagrama de distribución de la actividad frente a *T. cruzi* obtenido con FD, el cual nos permite establecer el dominio de aplicabilidad de dicha función. Los compuestos activos se agrupan preferentemente en el intervalo de FD entre 0 y 20. Por tanto, un compuesto será clasificado como activo si muestra un valor de FD dentro de ese intervalo. Un compuesto se consideraría no clasificado, n.c., si $FD < -30$ o $FD > 20$.



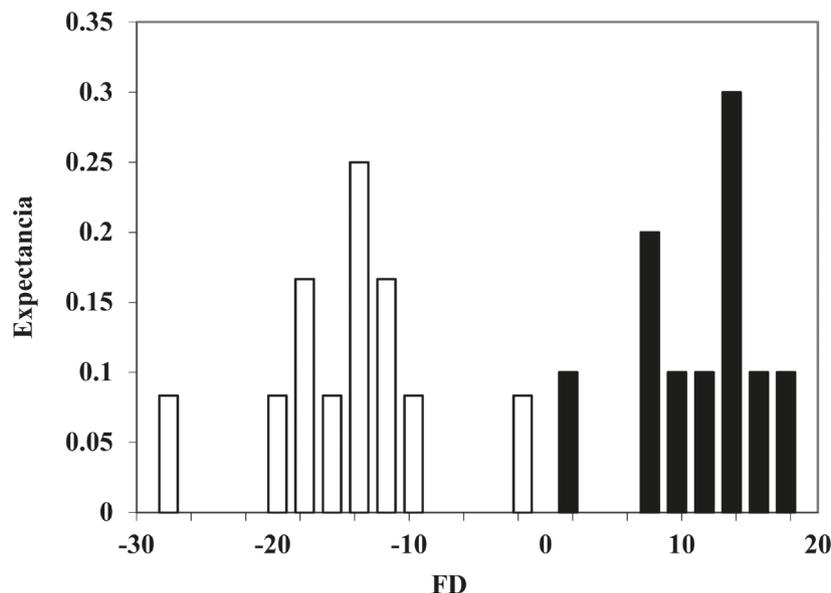


Figura 1. Diagrama de distribución de la actividad frente a *T. cruzi* obtenido con la función discriminante FD (barras negras, grupo activo, A; barras blancas, grupo inactivo, I).

Para predecir la actividad de cada compuesto utilizado en el estudio, se realizó un análisis de regresión multineal usando los índices topológicos como variables independientes y el valor de pIC_{50} como variable dependiente. Solo se realizó el ARML con los compuestos para los que se conoce el valor experimental de IC_{50} ; así pues, quedaron excluidas del análisis las moléculas n.º 11 y n.º 12, ya que no se disponía de dicha información.

Los parámetros estadísticos y la función de predicción seleccionada fueron los siguientes:

$$pIC_{50} = 7,85 - 1,64 \chi^v + 3,92 \chi_{pc}^v - 0,94 G_1 + 1,38 L \quad \text{Ec. 2}$$

N = 20 $R^2 = 0,853$ $Q^2 = 0,711$ $EEE = 0,387$ $F = 21,7$ $p < 0,0000$

La ecuación seleccionada muestra un valor de R^2 por encima de 0,8 (0,853) que explica prácticamente el 86% de la varianza. Los descriptores topológicos que aparecen en la ecuación, Ec. 2, χ^v , χ_{pc}^v , G_1 y L , evalúan, todos ellos, al igual que en la función FD, el volumen, la ramificación y la longitud molecular, además de la transferencia de carga intramolecular a través del índice de carga G_1 .

Como puede observarse en la figura 2 y la tabla 2, columna 8, los valores de actividad para cada compuesto calculados con la Ec. 2 ($pIC_{50,calc}$) son muy similares a los experimentales ($pIC_{50,exp}$). Esto nos indica que la ecuación de regresión que hemos obtenido es adecuada y nos permite diferenciar correctamente los compuestos más activos de los menos activos, tomando como más activos aquellos que tienen un valor de $pIC_{50} > 6$ ($IC_{50} < 1\mu M$). Así, podemos asegurar que existe una relación directamente proporcional entre el valor de pIC_{50} y la efectividad del compuesto. Llamamos la atención los valores bajos de pIC_{50} predichos para los compuestos no testados, n.º 11 y 12, de 4,70 y 4,71, respectivamente; valores que concuerdan con la clasificación que hace la Ec. 1, FD, para estos compuestos.



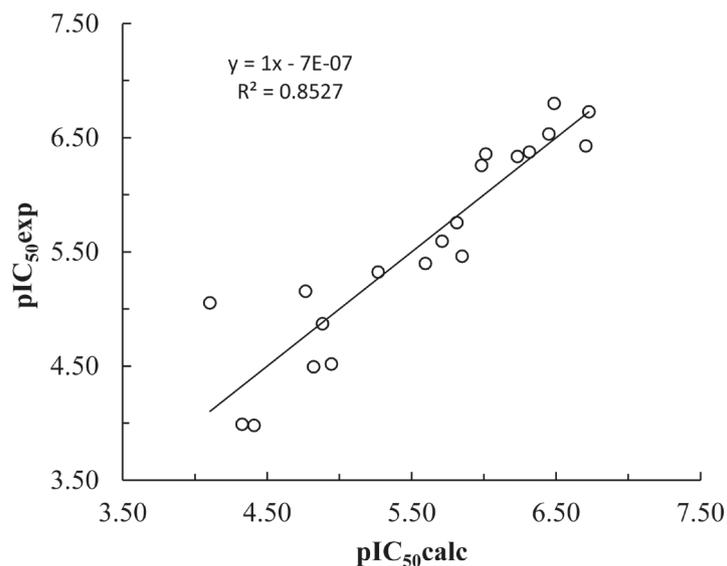


Figura 2. Representación gráfica de la actividad antitripanosómica experimental frente a la calculada para cada compuesto con la Ec. 2.

La validación de la ecuación de regresión seleccionada fue realizada por el método de validación interna y el test de aleatoriedad. En cuanto al primero, se obtuvo un coeficiente de predicción $Q^2 = 0,711$, ligeramente inferior a R^2 , lo que sugiere un aceptable poder predictivo (la columna 10 de la tabla 2 muestra los valores de pIC_{50} predichos por este método para cada compuesto). La figura 3 muestra la relación entre los residuales obtenidos en la validación y los residuales con la Ec. 2 para cada compuesto. Salvo para el compuesto n.º 13, el resto se ajusta a una dependencia prácticamente lineal.

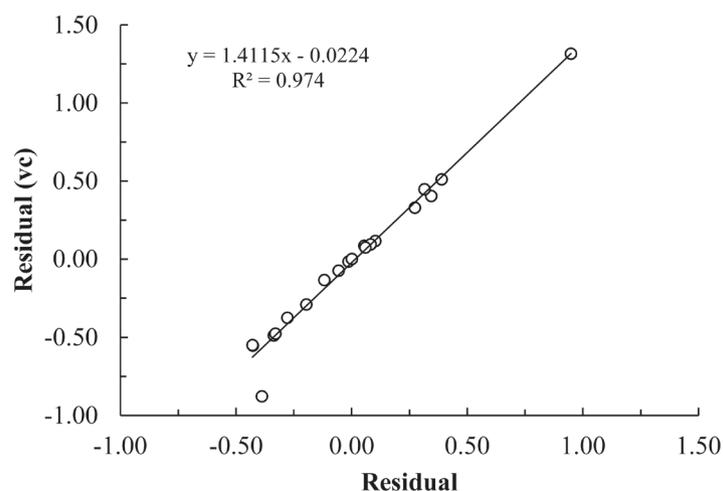


Figura 3. Representación gráfica del test de validación interna obtenido con la función de predicción de la actividad frente a *T. cruzi*, Ec. 2.



El test de aleatoriedad en el que se asignaron valores aleatorios a la variable dependiente mostró valores de R^2 y Q^2 muy bajos en comparación con los obtenidos con el modelo seleccionado (ver figura 4).

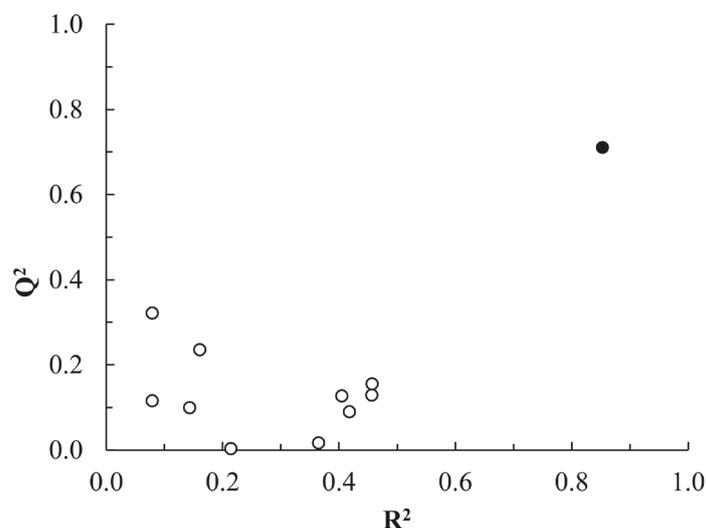
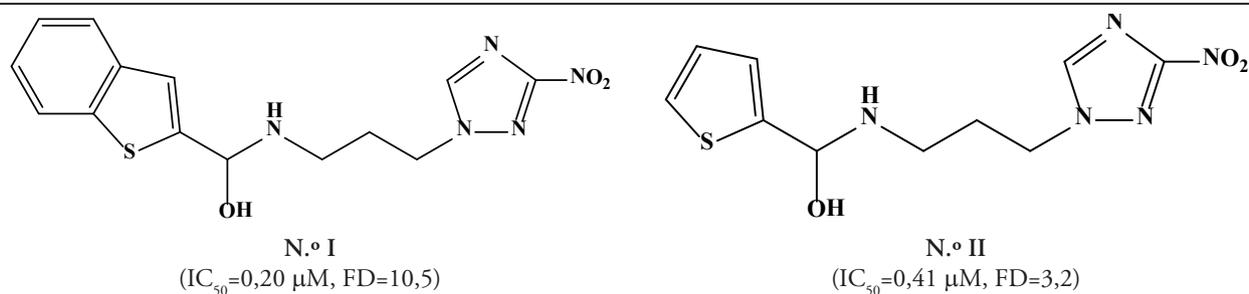


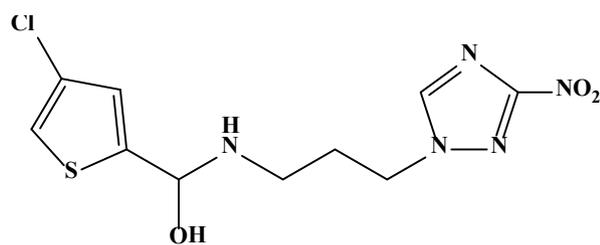
Figura 4. Test de aleatoriedad realizado con la función de regresión con pIC_{50} y el grupo de compuestos objeto de estudio.

Uno de los principales objetivos del análisis QSAR es poderlo aplicar a nuevos compuestos. En este trabajo se estudiaron otras moléculas de estructura similar a las analizadas anteriormente que podrían ser funcionales, pero cuya actividad anti-*Trypanosoma* es desconocida. Para ello, se les aplicaron las funciones obtenidas del ALD y ARML con el fin de predecir su valor de actividad teórica. En función del modelo obtenido, un compuesto se seleccionará como potencialmente activo si el valor de FD se encuentra en el intervalo $FD > 0$ y $FD < 20$, y un valor de $pIC_{50,calc} > 6,0$ (lo que correspondería a una concentración $IC_{50,calc} < 1 \mu M$).

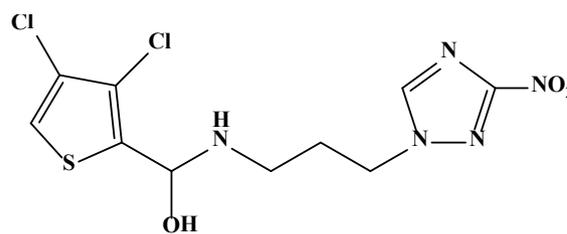
La tabla 4 muestra los nuevos compuestos seleccionados. Se observa que, de todas las nuevas moléculas estudiadas, aquellas que presentan un grupo hidroxilo en su estructura (en lugar del sulfonilo o el carbonilo) muestran una elevada actividad frente a *T. cruzi*.

Tabla 4. Estructura química de los nuevos compuestos seleccionados potencialmente activos frente a *T. cruzi*

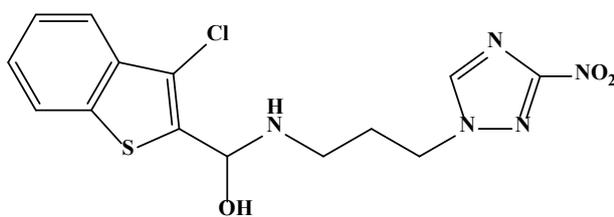




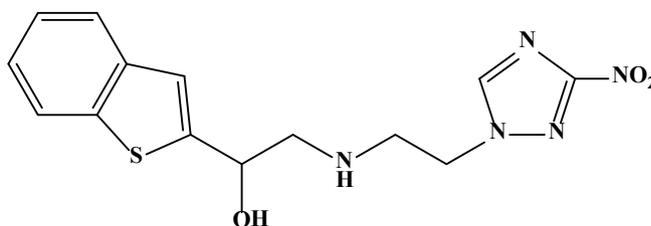
N.º III
(IC₅₀=1,35 μM, FD=11,7)



N.º IV
(IC₅₀=0,1 μM, FD=19,0)



N.º V
(IC₅₀=0,11 μM, FD=4,4)



N.º VI
(IC₅₀=0,095 μM, FD=15,4)

Tras los estudios de topología molecular, el siguiente paso sería buscarlas y/o sintetizarlas y realizarles los correspondientes ensayos de actividad antiparasitaria frente a *T. cruzi*.

CONCLUSIONES

El empleo de la topología molecular es una alternativa para el diseño de fármacos y el descubrimiento de nuevos compuestos activos. Mediante el análisis QSAR, y utilizando el análisis lineal discriminante y el análisis de regresión multilíneal, se ha podido predecir si existe o no actividad anti-*Trypanosoma*, así como su nivel de efectividad, para un grupo de derivados nitrotriazoles, coincidiendo los datos obtenidos con los observados *in vivo*.

Los nuevos compuestos muestran una actividad significativa frente a *T. cruzi*, por lo que se deberían continuar los estudios dirigidos a su utilidad antiparasitaria.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al máster de Enfermedades Parasitarias Tropicales de la Facultad de Farmacia de la Universitat de València por los medios y la ayuda prestados en el desarrollo y preparación del trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] WHO sede WEB, Neglected tropical diseases [actualizado 6 de diciembre de 2010; acceso 10 de diciembre de 2015]. Disponible en: http://www.who.int/topics/tropical_diseases/qa/faq/es/.
- [2] K. Stuart, R. Brun, S. Croft, A. Fairlamb, R. E. Gürtler, J. McKerrow, S. Reed, R. Tarleton. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. *Journal of Clinical Investigation* 118 (2008) 1301-1310.



- [3] G. A. Schmunis, Z. E. Yadon. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta tropica* **115** (2010) 14-21.
- [4] C. Young, P. Losikoff, A. Chawla, L. Glasser, E. Forman. Transfusion-acquired *Trypanosoma cruzi* infection. *Transfusion* **47** (2007) 540-544.
- [5] Anonymous. Chagas disease after organ transplantation [actualizado 28 de julio de 2006; acceso 12 de diciembre de 2015]. *CDC, Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* **55** (2006) 798-800. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5529a3.htm>.
- [6] R. E. Gurtler, E. L. Segura, J. E. Cohen. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* infection in Argentina. *Emerging Infectious Diseases Journal* **9** (2003) 29-32.
- [7] P. R. Benchimol Barbosa. The oral transmission of Chagas' disease: an acute form of infection responsible for regional outbreaks. *International Journal of Cardiology* **112** (2006) 132-133.
- [8] J. C. Dias, Cecilio Romaña. Romaña's sign and Chagas' disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **30** (1997) 407-413.
- [9] WHO sede WEB, Chagas disease (American trypanosomiasis) [actualizado marzo de 2015; acceso 11 de diciembre de 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>.
- [10] M. V. Papadopoulou, W. D. Bloomer, H. S. Rosenzweig, S. R. Wilkinson, M. Kaiser. Novel nitro (triazole/imidazole)-based heteroarylamides/sulfonamides as potential antitrypanosomal agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **87** (2014) 79-88.
- [11] G. I. Lapesheva, F. Villalta, M. R. Waterman. Targeting *Trypanosoma cruzi* sterol 14 -demethylase (CYP51). *Advances in parasitology* **75** (2011) 65-87.
- [12] F. Villalta, M. C. Dobish, P. N. Nde, Y. Y. Kleshchenko, T. Y. Hargrove, C. A. Johnson, M. R. Waterman, J. N. Johnston, G. I. Lapesheva. VNI cures acute and chronic experimental Chagas disease. *Journal of Infectious Diseases* **208** (2013) 504-511.
- [13] J. Clayton. Chagas disease: pushing through the pipeline. *Nature* **465** (2010) S12-S15.
- [14] R. Bretón Martínez, C. Torrico Ovando, N. Torrico Ovando, M. Gálvez-Llompart, J. Gálvez, R. García-Domenech. Aplicación de topología molecular a la predicción de la actividad frente a *Trypanosoma brucei rhodesiense* de compuestos bicíclicos derivados del 4-metilpiperazina. *Nereis* **7** (2014) 27-37.
- [15] N. Mahmoudi, R. García Doménech, J. Gálvez, K. Farhati, J. F. Franetich, R. Sauerwein et al. New active drugs against liver stages of *Plasmodium* predicted by molecular topology. *Antimicrob Agents Chemother* **52** (2008) 1215-1220.
- [16] J. Gálvez, M. Gálvez-Llompart, R. García-Doménech. Molecular topology as a novel approach for drug discovery. *Expert Opin Drug Discov* **7** (2012) 133-153.
- [17] R. Zanni, M. Galvez-Llompart, C. Morell, N. Rodríguez-Henche, I. Díaz-Laviada, M. Recio-Iglesias, R. Garcia-Domenech, J. Galvez. Novel Cancer Chemotherapy Hits by Molecular Topology: Dual Akt and Beta-Catenin Inhibitors. *PLOS ONE* (2015), DOI:10.1371/journal.pone.0124244.
- [18] L. B. Kier, L. H. Hall. *Molecular Connectivity in Chemistry and Drug Research*. Academic Press, London, 1976.
- [19] L. B. Kier, L. H. Hall. *Molecular Connectivity in Structure-Activity Analysis*. Wiley, New York, 1986.
- [20] J. Galvez, R. Garcia-Domenech, M. T. Salabert, R. Soler. Charge indexes. New topological Descriptors. *J Chem Inf Comput Sci* **34** (1994) 520-525.
- [21] H. J. Wiener. Structural determination of paraffin boiling points. *Journal of the American Chemical Society* **69** (1) (1947) 17-20.
- [22] DESMOL11 Software. Unidad de Investigación de Diseño de Fármacos y Conectividad Molecular. Facultad de Farmacia, Universitat de València, Spain.
- [23] Statistica 8.0 (2008). Statsoft Inc <http://www.statsoft.com>.

