

<i>Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación</i>	5	9-17	Universidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir"	Valencia (España)	ISSN 1888-8550
--	---	------	---	-------------------	----------------

Aplicación de la topología molecular en la predicción de la actividad antiprotozoaria de derivados del benzimidazol

Fecha de recepción y aceptación: 23 de enero de 2013, 15 de febrero de 2013

Ángela Debenedetti López, Irene Iglesias Gómez, Lissette Retana Moreira, Jorge Gálvez Álvarez y Ramón García Domenech*

Facultad de Farmacia, Universitat de València

* Correspondencia autor: Avda. V. A. Estellès, s/n. 46100 Burjassot, Valencia. España. E-mail: ramon.garcia@uv.es



RESUMEN

Se ha aplicado la topología molecular a la búsqueda de nuevos derivados del benzimidazol con actividad antiprotozoaria frente a *Trichomonas vaginalis* y *Giardia intestinalis*. A partir de los resultados del análisis lineal discriminante, dos modelos basados en cuatro descriptores (en el caso de *T. vaginalis*) y cinco descriptores (en el caso de *G. intestinalis*) demostraron ser capaces de predecir correctamente la actividad de cada compuesto analizado. Después de un cribado virtual aplicando ambos modelos, se proponen nuevas estructuras químicas potencialmente activas frente a *T. vaginalis* y *G. intestinalis*.

PALABRAS CLAVE: Topología molecular, actividad antiprotozoaria, *Trichomonas vaginalis*, *Giardia intestinalis*, análisis QSAR.

ABSTRACT

Molecular topology has been applied to search for new benzimidazole derivatives with antiprotozoal activity against *Trichomonas vaginalis* and *Giardia intestinalis*. From linear discriminant analysis results, two models based on 4 descriptors (in the case of *T. vaginalis*) and 5 descriptors (in the case of *G. intestinalis*), demonstrated to be capable to predict correctly the activity of each compound tested. After a virtual screening using both models, new chemical structures potentially active against *T. vaginalis* and *G. intestinalis* are proposed.

KEYWORDS: Molecular topology, antiprotozoal activity, *Trichomonas vaginalis*, *Giardia intestinalis*, QSAR analysis.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias están ampliamente distribuidas a nivel mundial, representando un gran problema sanitario, principalmente en países en vías de desarrollo. Dentro de este gran grupo de enfermedades, dos causadas por protozoos que afectan a diferentes tipos de mucosas tienen una prevalencia importante; estas enfermedades son la trichomoniasis y la giardiasis, causadas por los flagelados *Trichomonas vaginalis* y *Giardia intestinalis*, respectivamente.

En la trichomoniasis, el parásito afecta al tracto genitourinario. Se estima que más de ciento sesenta millones de personas al año son infectadas con este protozoo, considerándose, por tanto, la enfermedad de transmisión sexual más común provocada por un protozoo flagelado (Harp y Chowdhury, 2011). En el caso de la giardiasis, se estima que afecta aproximadamente a doscientos cincuenta millones de personas al año, siendo sus manifestaciones clínicas más frecuentes en niños que en adultos (Alarcón *et al.*, 1993; W.H.O., 1996) y donde el parásito afecta al tracto gastrointestinal, siendo la diarrea su principal síntoma (Jerlstrom-Hultqvist *et al.*, 2010).

Debido a los efectos secundarios, contraindicaciones y resistencia a los fármacos utilizados frente a *T. vaginalis* y *G. intestinalis*, como son los nitroimidazoles (Gardner y Hill, 2001; Cudmore *et al.*, 2004), se sigue trabajando en el desarrollo de nuevos



compuestos con actividad giardicida y trichomonocida, probándose algunos derivados sintéticos del benzimidazol para estos fines (Pérez-Villanueva *et al.*, 2010).

En la actualidad, se utilizan diferentes métodos para el diseño y selección de nuevos compuestos activos, destacando la topología molecular y particularmente la conectividad molecular (Kier y Hall, 1976) como herramientas sumamente útiles, esta última destinada a la búsqueda de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR, siglas en inglés) (García-Domenech *et al.*, 2008b).

La ventaja del empleo de la topología molecular radica en el cálculo rápido y directo de descriptores topológicos. Para ello la molécula se representa por un grafo en donde los átomos son los vértices (exceptuando los átomos de hidrógeno los cuales se suprimen) y los enlaces, las aristas. Además, se incluye la conectividad entre los átomos dentro de matrices topológicas (de distancia o adyacencia), las cuales se manipulan matemáticamente para obtener los índices topológicos (IT). Estos IT van a permitir una caracterización sencilla de la estructura molecular y se utilizarán en la búsqueda de los modelos QSAR (De Gregorio *et al.*, 1998; Duart *et al.*, 2002; García-Domenech *et al.*, 2008b).

El empleo de la topología molecular para el diseño y la selección de nuevos fármacos va en aumento, tanto es así que en el área de la parasitología actualmente se reporta su uso en el diseño de antimaláricos (Gálvez *et al.*, 1995; García-Domenech *et al.*, 2008c; Mahmoudi *et al.*, 2008), antitripanosomátidos (García-Domenech *et al.*, 2008a), drogas con actividad anti-*Toxoplasma* (Gonzalbes *et al.*, 2000) y repelentes de mosquitos (García-Domenech *et al.*, 2010). Sin embargo, su aplicación se extiende más allá de esta área, reportándose también en el diseño de antivirales (De Julián-Ortiz *et al.*, 1999), antibacterianos (García-García *et al.*, 2004; Sivakumar *et al.*, 2008), hipoglucémicos (Calabuig *et al.*, 2004), analgésicos (Gálvez *et al.*, 1994a y b), antihistamínicos (Duart *et al.*, 2002) e, incluso, anticancerígenos (Vyas *et al.*, 2011; Jasinski *et al.*, 2011).

En el presente trabajo se analiza la actividad trichomonocida y giardicida de un grupo de compuestos derivados del benzimidazol, con el fin de obtener modelos de predicción QSAR utilizando la topología molecular y el análisis lineal discriminante. Los modelos topológicos seleccionados se aplicarán a una librería molecular virtual con el objetivo de seleccionar y proponer nuevos derivados del benzimidazol potencialmente activos frente a *T. vaginalis* y *G. intestinalis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se ha seleccionado un grupo de 32 derivados del benzimidazol. Las estructuras químicas, así como su actividad biológica *in vitro* frente a los protozoos *T. vaginalis* y *G. intestinalis* descrita por Pérez-Villanueva *et al.* (2010 y 2012), se encuentran recopiladas en las tablas 1 y 2 (columnas 2 y 6). La actividad antiparasitaria aparece como pCI_{50} para cada compuesto, lo que corresponde a la transformación $-\log CI_{50}$ (siendo CI_{50} la concentración inhibitoria del 50% expresada en unidades de mol/L).

A partir de la formulación química teórica se realizó una representación bidimensional de cada compuesto, con el fin de simular la estructura molecular y la posición de las especies químicas que diferencian cada derivado benzimidazol (tabla 1). Para realizar el diseño en 2D se utilizó la aplicación *ChemDraw* del software informático *ChemOffice*® versión 10.0. Dicha herramienta informática permite guardar cada compuesto en un formato digital apto para diferentes programas informáticos de análisis químico y cálculo de descriptores topológicos.



Tabla 1. Estructura química del grupo de compuestos derivados del benzimidazol estudiado

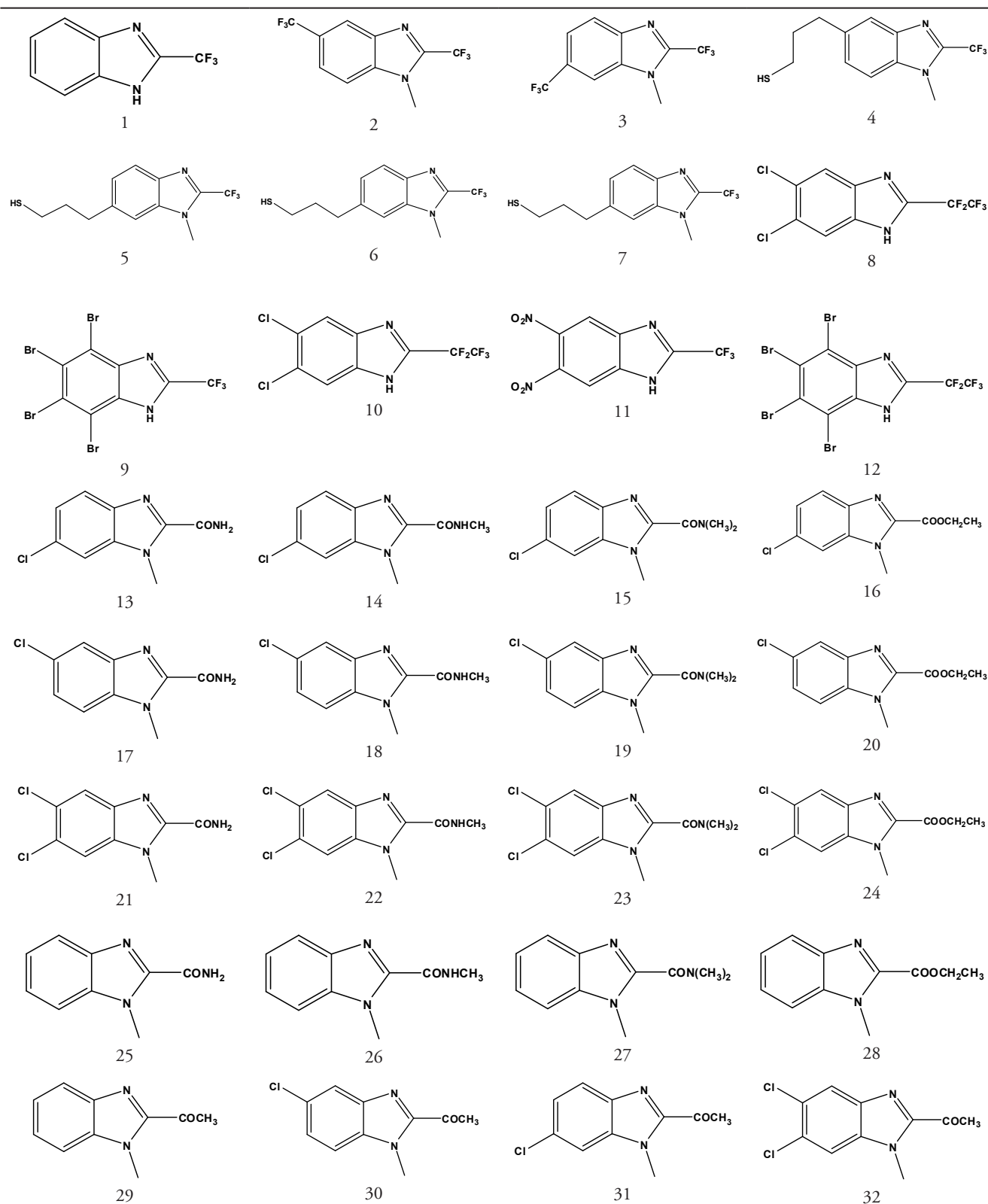


Tabla 2. Actividad antiparasitaria experimental y resultados de clasificación obtenidos para cada compuesto a partir de las funciones discriminantes seleccionadas

Comp.	<i>T. vaginalis</i>				<i>G. intestinalis</i>			
	pCI _{50exp}	Clas _{exp}	FD _{Tv}	Clas _{calc}	pCI _{50exp}	Clas _{exp}	FD _{Gi}	Clas _{calc}
1	5,5	I	-7,41	I	6,97	A	11	A
2	5,39	I	-13,92	I	5,94	I	-8	I
3	5,27	I	-9,16	I	5,05	I	-7,6	I
4	6,7	A	0,17	A	4,98	I	-7,4	I
5	5,59	I	-5,41	I	5,85	I	-10	I
6	4,53	I	-7,13	I	5,96	I	-6,7	I
7	4,97	I	-12,16	I	5,89	I	-8,7	I
8	6,66	A	5,36	A	6,92	A	5,6	A
9	8,7	A	15,00	A	7,25	A	10	A
10	6,52	I	-10,76	I	6,25	I	-12	I
11	6,24	I	-1,73	I	6,62	A	7,6	A
12	5	I	-12,13	I	7,64	A	9,5	A
13	6,96	A	10,18	A	7,12	A	9,5	A
14	6,98	A	7,86	A	7,15	A	0,4	A
15	6,63	A	9,98	A	7,4	A	7,3	A
16	7,72	A	10,18	A	7,32	A	5,7	A
17	6,73	A	10,78	A	6,63	A	6,5	A
18	6,45	I	1,14	A	6,45	I	0	I
19	6,68	A	3,23	A	6,61	A	5,9	A
20	7,57	A	9,31	A	7,4	A	6,6	A
21	6,87	A	13,09	A	6,34	I	3,2	A
22	6,65	A	4,48	A	6,82	A	8,7	A
23	7,12	A	6,32	A	7,13	A	8,4	A
24	7,53	A	16,24	A	7,56	A	11	A
25	6,78	A	12,32	A	7,03	A	13	A
26	6,98	A	9,31	A	7,22	A	7,2	A
27	6,37	A	11,19	A	6,29	I	-3,7	I
28	7,07	A	7,24	A	7,16	A	2,2	A
29	6,68	A	12,33	A	7,06	A	13	A
30	6,88	A	10,12	A	7,3	A	6,5	A
31	6,64	A	9,97	A	7,17	A	9,5	A
32	7,2	A	13,13	A	7,46	A	3,2	A
Metronidazol	6,62				5,92			



TRATAMIENTO INFORMÁTICO

Descriptores moleculares

En el presente trabajo se escogió un gran número de descriptores topológicos, en su mayoría índices de uso habitual en el campo de la topología molecular (García-Domenech *et al.*, 2008b). De cada compuesto se caracterizaron hasta un total de 425 descriptores moleculares, entre ellos: índices de conectividad, descriptores constitucionales, índices de información teórica, índices de proximidad, autovalores, índices de carga, etc. Para el cálculo de los descriptores topológicos se utilizó el software informático *Dragon*® versión 5.0, el cual permite la obtención de un gran número de variables topológicas de forma automática e inmediata.

Análisis lineal discriminante

El análisis lineal discriminante (ALD) es un algoritmo heurístico capaz de distinguir entre dos o más categorías u objetos. Así pues, el ALD permite discriminar entre compuestos activos e inactivos a partir de los valores de los descriptores moleculares de cada uno. Como criterio de discriminación se utilizó su actividad antiprotozoaria (anti-*T. vaginalis* y anti-*G. intestinalis*, en cada caso) en función del valor del pCI_{50} , estableciéndose dos grupos:

- Compuestos activos con capacidad antiprotozoaria probada ($pIC_{50} > 6,6$).
- Compuestos inactivos y sin capacidad antiprotozoaria ($pIC_{50} < 6,6$).

El valor de corte empleado para discriminar la actividad, $pCI_{50} = 6,6$, corresponde a una concentración $0.25\mu M$, equivalente a la del fármaco de referencia utilizado (metronidazol).

La capacidad discriminante se testó en función del porcentaje de clasificación correcta obtenida dentro de cada grupo. El ALD se realizó con ayuda del software informático *Statistica*® versión 8.0. La selección de los descriptores se basó en el parámetro de *F*-Snedecor y el criterio de clasificación fue la distancia más corta de Mahalanobis, entendiendo como tal la distancia de cada caso a la media de todos los casos utilizados para la ecuación de regresión. El programa informático elige las variables más adecuadas computando las funciones de clasificación lineal una por una. En cada paso, la variable que presente mayor separación del grupo o bien será introducida en la función discriminante, o bien la que tenga menos distancia será excluida de este. Seguidamente, la calidad de la función se evaluó por el parámetro lambda de Wilk (λ), un estadístico de análisis de varianza que mide la igualdad de medias de los grupos para la variable o variables que han sido introducidas en la función discriminante.

Una vez obtenida la función discriminante, es posible dibujar un diagrama de distribución de la actividad antiprotozoaria (DDAA). Los DDAA son histogramas en los que en ordenadas aparece la expectancia (E) y en abscisas el valor de la función discriminante (FD). Para un intervalo arbitrario de (FD), se puede definir la expectancia de actividad (Ea) como: $Ea = a/(i+1)$, en donde *a* e *i* representan el número de compuestos activos (o inactivos) en dicho intervalo dividido por el número total de compuestos activos (o inactivos). De forma similar se puede definir la expectancia de inactividad (Ei) como: $Ei = i/(a+1)$ (Gálvez *et al.*, 1996).

Estos diagramas permiten visualizar los intervalos de la función discriminante, para los cuales la probabilidad de actividad es máxima o mínima.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La búsqueda de modelos topológicos capaces de discriminar la actividad antiprotozoaria frente a *T. vaginalis* y *G. intestinalis* se realizó con la ayuda del análisis lineal discriminante. El punto de corte utilizado para agrupar los compuestos en activos o inactivos fue de $pCI_{50} > 6,6$. Ello significa que un compuesto con un valor de $CI_{50} < 0,25\mu M$ se encontrará en el grupo de los activos. Si $CI_{50} > 0,25\mu M$ ($pCI_{50} < 6,6$), el compuesto se considera inactivo. La tabla 2 (columnas 3 y 7) muestra la agrupación asignada a cada compuesto según su actividad experimental.

Utilizando el valor numérico de agrupación como variable dependiente y los descriptores topológicos como variables independientes, se seleccionaron las siguientes funciones de discriminación para ambos parásitos:

$$FD_{Tv} = 9,82 - 30,14EEig09r + 251,14ESpm04d - 210,82ESpm05d + 146,15GGI8$$

N = 32 λ (Wilk) = 0,201 F(4,27) = 26,8

$$FD_{Gi} = 179,6 + 26,6EPS1 + 38,6EEig10x + 50,3EEig13x - 38,0EEig14x + 1,01BAC$$

N = 32 λ (Wilk) = 0,241 F(4,27) = 16,4



A partir de estas funciones, un compuesto será clasificado como activo si $FD > 0$, y en caso contrario, se clasifica como inactivo. La tabla 2 recoge el valor de FD para cada compuesto y la clasificación resultante. Las ecuaciones seleccionadas muestran valores bajos de λ de Wilks (λ) (0,201 y 0,241 para *T. vaginalis* y *G. intestinalis*, respectivamente), lo que sugiere un elevado grado de discriminación.

Como se puede observar, la matriz de clasificación muestra un elevado grado de significación, con un porcentaje de correcta clasificación del 100% para el grupo de compuestos activos y ambos parásitos, pues las 22 moléculas activas fueron clasificadas adecuadamente. En cuanto a la clasificación del grupo inactivo, 9 de las 10 moléculas que fueron evaluadas se clasificaron correctamente, por lo que el porcentaje de acierto fue del 90%. En términos globales, aplicando estas FD se obtiene un 96,87% de probabilidad de clasificar correctamente el grupo de compuestos analizados.

Los descriptores topológicos que se seleccionaron para construir las funciones discriminantes fueron, por un lado, índices derivados de la matriz de adyacencia de aristas, EEig, ESpm y EPS y, por otro, un índice de carga topológico, GGI8, y el índice céntrico de Balaban, BAC (Todeschini *et al.*, 2009).

Las figuras 1 y 2 muestran los diagramas de actividad obtenidos con ambas funciones discriminantes. Como se puede observar, existen pequeños solapamientos de actividad entre los grupos activo e inactivo con valores de FD próximos a cero. La máxima probabilidad de encontrar compuestos activos estaría en el intervalo 5-10 para *G. intestinalis*, FD_{Gi} y 3-12 para *T. vaginalis* y FD_{Tv} .

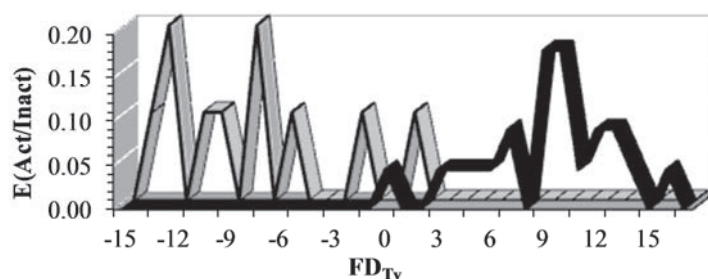


Figura 1. Diagrama de distribución de la actividad antiprotozoaria, *T. vaginalis*, obtenido con la función discriminante FD_{Tv} .

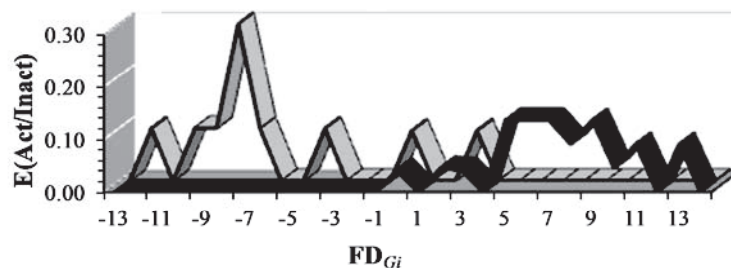


Figura 2. Diagrama de distribución de la actividad antiprotozoaria, *G. intestinalis*, obtenido con la función discriminante FD_{Gi} .



Una vez seleccionados los modelos matemáticos de discriminación de la actividad antiprotozoaria frente a *T. vaginalis* y *G. intestinalis*, las funciones FD_{Tv} y FD_{Gi} se pasó a realizar un cribado molecular virtual formado por derivados del benzimidazol no utilizados en el análisis discriminante y que se utilizaría con el fin de proponer nuevos compuestos potencialmente activos frente a ambos parásitos.

Para ello, se preparó una librería formada por 120 moléculas derivadas del benzimidazol (ver estructura química representada en la tabla 3), utilizando otros fragmentos estructurales diferentes a los analizados en el trabajo en las posiciones R_3 y R_4 . Se calcularon los índices topológicos de cada molécula de la librería y se les aplicaron los modelos de discriminación seleccionados. La tabla 3 recoge las moléculas seleccionadas basadas en los intervalos de máxima probabilidad de actividad establecidos por las funciones FD_{Tv} (3-12) para *T. vaginalis* y FD_{Gi} (5 y 10) para *G. intestinalis*. Estos compuestos se consideran potencialmente activos frente a *T. vaginalis* y *G. intestinalis*. El siguiente paso de la investigación sería la síntesis de algunos de estos nuevos compuestos y su posterior ensayo en el laboratorio para corroborar los resultados obtenidos a través del estudio topológico.

Tabla 3. Resultados de clasificación obtenidos para las moléculas utilizadas en el cribado molecular y que han superado los modelos topológicos, FD_{Tv} y FD_{Gi}

The image shows the chemical structure of a benzimidazole derivative. It consists of a benzene ring fused to an imidazole ring. The benzene ring has two substituents, R1 and R2, at the 6 and 7 positions respectively. The imidazole ring has two substituents, R3 and R4, at the 2 and 4 positions respectively.

Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	FD _{Tv}	FD _{Gi}
a	H	Cl	COOCH ₃	CH ₃	7,00	8,92
b	Cl	H	COOCH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₃	5,99	3,44
c	H	Cl	COCH ₂ CH ₃	CH ₃	5,75	8,92
d	H	H	COOCH ₃	CH ₃	7,42	3,74
e	Cl	Cl	COOCH ₃	CH ₃	3,42	8,29
f	Cl	Cl	COOCH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₃	5,63	11,41
g	H	H	CONHCH ₂ CH ₃	CH ₃	8,95	3,00
h	H	H	COCH ₂ CH ₃	CH ₃	5,49	3,74
i	H	H	COCH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₃	4,25	3,00
j	H	Cl	CONH ₂	H	9,60	5,96
k	Cl	H	CONH ₂	H	9,60	7,29
l	H	Cl	CON(CH ₃) ₂	H	11,28	6,42
m	Cl	H	CON(CH ₃) ₂	H	11,28	6,44
n	H	Cl	CO ₂ CH ₂ CH ₃	H	8,92	3,30
o	H	Cl	COCH ₃	H	9,64	5,96
p	Cl	H	COCH ₃	H	9,64	7,29
q	H	Cl	CONHCH ₂ CH ₃	H	10,12	3,30
r	H	Cl	COCH ₂ CH ₂ CH ₃	H	7,28	3,30
s	Cl	Cl	CONHCH ₃	H	3,55	6,16



CONCLUSIONES

La topología molecular ha demostrado ser una herramienta muy eficaz en la búsqueda de modelos QSAR de predicción de la actividad antiparasitaria de un grupo de compuestos derivados del benzimidazol, frente a los protozoos *T. vaginalis* y *G. intestinalis*. En el presente estudio se evaluaron diferentes descriptores moleculares de estos compuestos, todos ellos grafoteóricos y calculados mediante la aplicación de herramientas informáticas de uso habitual en el campo de la topología molecular. Las variables seleccionadas para la construcción de los modelos matemáticos son, en su mayoría, descriptores topológicos derivados de la matriz de adyacencia de aristas. La actividad antiprotozoaria se ha cuantificado a través de la concentración inhibitoria 50, en su transformación logarítmica pCI_{50} . El poder discriminante de los modelos topológicos seleccionados ha sido superior al 90% para ambos parásitos. Estos modelos pueden ser utilizados en la búsqueda de nuevos derivados del benzimidazol potencialmente activos frente a *T. vaginalis* y *G. intestinalis*. Se presentan algunos de los compuestos seleccionados para su valoración y posterior desarrollo.

Agradecimientos: esta investigación ha sido financiada por el Máster en Enfermedades Parasitarias Tropicales (Universitat de València, Curso 2011-2012).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALARCÓN J., CASTRO C. & MURILLO J. 1993. Prevalencia de giardiasis en encuestas parasitológicas publicadas en la literatura peruana, 1943-1990, *Revista Peruana de Epidemiología*, 6, 5-17.
- CALABUIG, C., ANTÓN-FOS, G. M., GÁLVEZ, J. & GARCÍA-DOMENECH, R. 2004. New hypoglycaemic agents selected by molecular topology. *International Journal of Pharmaceutics*, 278, 111-118.
- CUDMORE, S. L., DELGATY, K. L., HAYWARD-MCCLELLAND, S. F., PETRIN, D. P. & GARBER, G. P. 2004. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Reviews*, 17, 783-793.
- DE GREGORIO, C., KIER, L. B. & HALL, L. H. 1998. QSAR modeling with the electrotopological state indices: corticosteroids. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 12, 557-561.
- DE JULIÁN-ORTÍZ, J. V., GÁLVEZ, J., MUÑOZ-COLLADO, C., GARCÍA-DOMENECH, R. & GIMENO-CARDONA, C. 1999. Virtual combinatorial syntheses and computational screening of new potential anti-herpes compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 3.308-3.314.
- DUART, M. J., ANTON-FOS, G. M., DE JULIAN-ORTIZ, J. V., GOZALBES, R., GÁLVEZ, J. & GARCÍA-DOMENECH, R. 2002. Use of molecular topology for the prediction of physico-chemical, pharmacokinetic and toxicological properties of a group of antihistaminic drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 246, 111-119.
- GÁLVEZ, J., GARCÍA-DOMENECH, R., DE JULIÁN-ORTÍZ, V. & SOLER, R. 1994a. Topological approach to analgesia. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 34, 1198-1203.
- GÁLVEZ, J., GARCÍA, R., SALABERT, M. T. & SOLER R. 1994b. Charge indexes. New topological descriptors. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 34, 520-525.
- GÁLVEZ, J., GARCÍA-DOMENECH, R., DE JULIÁN-ORTÍZ, J. V. & SOLER R. 1995. Topological approach to drug design. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 35, 938.
- GÁLVEZ, J., GARCÍA-DOMENECH, R., GREGORIO-ALAPONT, C., DE JULIÁN-ORTIZ, J.V. and POPA L., 1996. Pharmacological distribution diagrams: A tool for the novo drug design. *Journal of Molecular Graphics*, 14, 272-276.
- GARCÍA-GARCÍA, A., GÁLVEZ, J., DE JULIÁN-ORTÍZ, J. V., GARCÍA-DOMENECH, R., MUÑOZ, C., GUNA, R. & BORRÁS, R. 2004. New agents active against *Mycobacterium avium* complex selected by molecular topology: a virtual screening method. *Journal of Antimicrobial Therapy*, 53, 65-73.
- GARCÍA-DOMENECH, R., ESPINOZA, N., GALARZA, R. F., MORENO-PADILLA, M. J., ROJAS-RUIZ, B., ROLDÁN-ARROYO, L. L., SÁNCHEZ-LAVADO, M.I. & GÁLVEZ J. 2008a. Application of molecular topology to the prediction of inhibition of *Trypanosoma cruzi* Hexokinase by bisphosphonates. *Ars Pharmaceutica*, 9, 199-209.
- GARCÍA-DOMENECH, R., GÁLVEZ, J., JULIÁN-ORTIZ, J. V. & POGLIANI, L. 2008b. Some new trends in chemical graph theory. *Chemical Reviews*, 108, 1127-1169.
- GARCÍA-DOMENECH, R., LÓPEZ-PEÑA, W., SÁNCHEZ-PERDOMO, Y., SANDERS, J. R., SIERRA-ARAUJO, M. M., ZAPATA, C. & GÁLVEZ, J., 2008c. Application of molecular topology to the prediction of the antimalarial activity of a group of uracil-based acyclic and deoxiuridine compounds, *International Journal of Pharmaceutics*, 363, 78-84.
- GARCÍA-DOMENECH, R., AGUILERA, J., MONCEP, A. E., POCOVI, S. & GÁLVEZ, J., 2010. Application of molecular topology to the prediction of mosquito repellents of a group of terpenoid compounds, *Molecular Diversity*, 14, 321-329.



- GARDNER, T.B. and HILL, D.R., 2001. Treatment of Giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14, 114-128.
- GONZALBES, R., BRUN-PASCAUD, M., GARCÍA-DOMENECH, R., GÁLVEZ, J., GIRARD, P. M., DOUCET, J. P. & DEROUIN, F. 2000. Anti-*Toxoplasma* activities of 24 quinolones and fluoroquinolones in vitro: prediction of activity by molecular topology and virtual computational techniques, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 2771-2776.
- HARP, D. F. & CHOWDHURY, I. 2011. Trichomoniasis: evaluation to execution, *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 157, 3-9.
- JASINSKI, P., ZWOLAK, P., ISAKSSON VOGEL, R., BODEMPUDI, V., TERAI, K., GALVEZ, J., LAND, D. & DUDEK, A. Z. 2011. MT103 inhibits tumor growth with minimal toxicity in murine model of lung carcinoma via induction of apoptosis, *Investigational New Drugs*, 29, 1-7.
- JERLSTROM-HULTQVIST, J., ANKARKLEV, J. & SVARD, S. G. 2010. Is human giardiasis caused by two different *Giardia* species? *Gut Microbes*, 1, 379-382.
- KIER, L. B. & HALL, L. H. 1976. Molecular connectivity. VII. Specific treatment of heteroatoms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65, 1.806-1.809.
- MAHMOUDI, N., GARCÍA-DOMENECH, R., GÁLVEZ, J., FARHATI, K., FRANETICH, J. F., SAUERWEIN, R., HANNOUN, L., DEROUIN, F., DANIS, M. & MAZIER, D. 2008. New active drugs against liver stages of *Plasmodium* predicted by molecular topology, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, 1.215-1.220.
- PÉREZ-VILLANUEVA, J., SANTOS, R., HERNÁNDEZ-CAMPOS, A., GIULIANOTTI, M. A., CASTILLO, R. & MEDINA-FRANCO, J. L. 2010. Towards a systematic characterization of the antiprotozoal activity landscape of benzimidazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18, 7.380-7.391.
- PÉREZ-VILLANUEVA, J., SANTOS, S., HERNÁNDEZ-CAMPOS, A., GIULIANOTTI, M.A., CASTILLO, R. and MEDINA-FRANCO, J.L., 2012. Structure-activity relationships of benzimidazole derivatives as antiparasitic agents: Dual activity-difference (DAD) maps. *Bioorganic & Medical Chemistry*, 18, 7380-7391.
- SIVAKUMAR, P. M., GEETHA-BABU, S. K. & DOBLE, M. 2008. Impact of topological and electronic descriptors in the QSAR of pyrazine containing thiazolines and thiazolidinones as antitubercular and antibacterial agents, *Chemical Biology & Drug Design*, 71, 447-463.
- TODESCHINI, R. & CONSONNI, V. 2009. *Molecular descriptors for chemoinformatics*, Weinheim: WILEY-VCH, 1.257 p.
- VYAS, V. K., GHATE, M. & KATARIYA, H., 2011. 2D and 3D-QSAR study on 4-anilinoquinazoline derivatives as potent apoptosis inducer and efficacious anticancer agent, *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 4, 1-13.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996. The World Health Report, 1996: Fighting disease, fostering development, *World Health Forum*, 18, 1-8.



