

Diseño y desarrollo de nuevos fármacos contra la malaria

¹Jorge Gálvez, ²Jesús V. de Julián-Ortiz, Ramón García-Doménech

¹Departamento de Química Física. Unidad de Investigación de Conectividad Molecular y Diseño de Fármacos, Facultat de Farmàcia, Universitat de València. ²Red de Investigación de Enfermedades Tropicales. Facultad de Farmacia, Universitat de València

Correspondencia: Ramón García-Doménech. Universitat de València.

Av. Vicente Andrés Estellés, s/n 46100 Burjassot, València.

E-mail: ramon.garcia@uv.es

Resumen

Fundamentos: La creciente resistencia de *P. falciparum* a los fármacos convencionales obliga a la búsqueda de nuevas alternativas, ya terapéuticas, ya preventivas. Un camino prometedor lo ofrecen los análogos de fosfatidilcolina, que interactúan con el metabolismo de los fosfolípidos. En el campo de la prevención, se estudia el diseño de nuevos insecticidas más eficaces.

Métodos: Se utilizan índices topológicos para modelar la actividad inhibidora de *P. falciparum*, *in vitro*, así como el efecto insecticida, mediante regresión multilínea o análisis lineal discriminante.

Resultados: Se mencionan resultados sobresalientes obtenidos en el campo de los antimaláricos ya publicados, y se presenta un trabajo optimización de análogos de fosfatidilcolina. Se proponen modelos de la actividad insecticida contra *Anopheles* y *Culex*, y se presentan sustancias que han sido seleccionadas por los modelos como potenciales insecticidas.

Conclusiones: La topología molecular ofrece una vía, tanto para el diseño de nuevos antimalaricales como de agentes activos contra sus vectores.

Palabras clave: Topología molecular. Índices topológicos. Regresión multilínea. Análisis lineal discriminante. Análogos de fosfatidilcolina. Reguladores del crecimiento de insectos. Insecticidas.

Summary

Grounds: The increasing resistance of *P. falciparum* to conventional drugs forces the search of new alternatives, either therapeutic, or preventive. A promising way is offered by the phosphatidyl choline analogues, which interact with the metabolism of the phospholipids. In the field of the prevention, the design of new more effective insecticides is studied.

Methods: Topological indices are used to model to the inhibiting activity of *P. falciparum*, *in vitro*, as well as the insecticide effect, by means of multilinear regression or linear discriminant analysis.

Results: Published results obtained in the field of the antimalarial drugs are mentioned, and a new result on optimization of phosphatidyl choline analogues is presented. Models of the insecticide activity against *Anopheles* and *Culex* are proposed, and substances selected by the models as potential insecticides are presented.

Conclusions: Molecular topology offers a route either, for the design of new antimalarial drugs, or the design of active agents against its vectors.

Key words: Molecular topology. Topological indices. Multilinear regression. Linear discriminant analysis. Phosphatidyl choline analogues. Insect growth regulators. Insecticides.

Introducción

La mayoría del trabajo que se realiza hoy en día en diseño de fármacos requiere un conocimiento previo del mecanismo de acción implicado. Sin embargo, la topología molecular, basada en la semejanza estructural molecular, ha demostrado ser un formalismo útil para encontrar relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR)^{1,2}. Incluso en el campo de los antimaláricos, nuestro grupo de investigación ya ha seleccionado como potenciales fármacos, para la realización de ensayos en fase I, la hexetidina, un antiséptico bucal, y la hidroxicina, conocido ansiolítico que también posee acción antihistamínica. Dichos compuestos han sido ensayados *in vitro* con resultados esperanzadores. Concretamente, la hexetidina mostró una potencia similar a la de la cloroquina en dichos ensayos contra las cepas passou y 3CD7³.

La resistencia del *Plasmodium falciparum* a los antimaláricos convencionales hace necesarias nuevas estrategias terapéuticas. Un blanco interesante para la quimioterapia puede hallarse en el metabolismo de los fosfolípidos (PL). En los hematíes parasitados, el contenido de PL puede aumentar hasta un 500%. La fosfatidilcolina (PC) es el principal PL presente en eritrocitos infectados. Para inhibir la síntesis de la PC en parásitos de la malaria, Henry Vial, *et al.*^{4,5} han diseñado y sintetizado una serie de compuestos, análogos de cabezas polares de PL. Su actividad se basa en su capacidad de mimetizar la estructura de la colina. Estos investigadores han demostrado que las sales de amonio cuaternario muestran actividad antimalárica potente frente a tres cepas del parásito (dos sensibles a la cloroquina, NF54 y Nigerian y una resistente, la T23). En este trabajo presentaremos un modelo matemático para optimizar la actividad antimalárica de un grupo de análogos fosfolipídicos polares.

Otra estrategia muy interesante contra la malaria es la lucha contra sus vectores, principalmente los mosquitos de las familias *Anopheles* y *Culex*. De hecho, hay muchos insecticidas que serían útiles en principio. Sin embargo, de nuevo la aparición de resistencias de las diversas especies de mosquitos hace urgente el desarrollo de nuevos insecticidas contra ellos. Los reguladores de crecimiento del insecto (IGRs) son sustancias que tienen en común el interferir e inducir alteraciones en los procesos del desarrollo y del crecimiento de insectos⁶. IGRs para dípteros se han desarrollado durante los últimos 30 años⁷. Diversas clases de IGRs se han descubierto, por ejemplo los análogos sintéticos de la hormona juvenil (JHAs) o *juvénoids*, los fenoles butil substituidos, los carbamatos, las benzoilfenilureas disubstituidas y las triazinas. Los JHAs son terpenos que actúan principalmente en las etapas larvales del mosquito. Los fenoles y los carbamatos butílicos también han demostrado una actividad similar a la de JHAs. Por el contrario, los IGRs basados en urea inhiben la síntesis de la quitina, bloqueando la formación de la cutícula.

Como hemos apuntado, en este trabajo desarrollamos modelos matemáticos para optimizar la actividad antimalárica de un grupo de análogos fosfolípidicos polares, así como sendos modelos para la predicción de la actividad reguladora del crecimiento de insectos y de la actividad insecticida general. Por otro lado se seleccionan nuevos compuestos potencialmente activos contra esos vectores.

Material y métodos

Cálculo de los índices topológicos

La Tabla 1 muestra el cálculo de los índices topológicos utilizados en este trabajo. Todos ellos se obtuvieron a partir de la matriz topológica de

Tabla 1. Índices topológicos utilizados en este trabajo

Símbolo	Nombre y referencia	Definición
N	Tamaño molecular ⁸	Número de átomos distintos de hidrógeno.
V_k $k=3,4$	Vértices de grado k^8	Número de átomos que tienen k enlaces, σ o π , con átomos distintos de hidrógeno.
R	Ramificación ⁸	Número de ramificaciones estructurales simples.
W	Número de Wiener ⁹	Suma de las distancias entre dos átomos en términos de enlaces.
L	Longitud ⁸	Distancia máxima entre pares de átomos en términos de enlaces.
PR_k $k=0-3$	Pares de ramificaciones a distancia k^8	Número de pares de ramificaciones simples a distancia k en términos de enlaces.
$k\chi_t$ $k=0-4$ $t=p,c,pc$	Índices tipo Randic de orden k y tipo lineal (p), ramificado (c) y lineal-ramificado (pc) ¹⁰	${}^k\chi_t = \sum_{j=1}^{n_t} (\prod_{i \in S_j} \delta_i)^{-1/2}$ δ_i , número de enlaces, σ o π , del átomo i a átomos distintos de hidrógeno. S_j , j -ava subestructura de orden k y tipo t .
$k\chi_t^v$ $k=0-4$ $t=p,c,pc$	Índices de Kier-Hall de orden k y tipo lineal (p), ramificado (c) y lineal-ramificado (pc) ¹⁰	${}^k\chi_t^v = \sum_{j=1}^{n_t} \left(\prod_{i \in S_j} \delta_i^v \right)^{-1/2}$ δ_i^v , valencia de Kier-Hall del átomo i . S_j , j -ava subestructura de orden κ y tipo t .
G_k $k=1-5$	Índices topológicos de carga de orden k^{11}	$G_k = \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N M_{ij} - M_{ji} \delta(k, D_{ij}) \mathbf{M} = \mathbf{A}\mathbf{Q}$ producto de las matrices de adyacencia y de las distancias inversas al cuadrado, para los grafos moleculares de hidrógenos suprimidos. \mathbf{D} , matriz de distancias. δ , delta de Kronecker
G_k^v $k=1-5$	Índices topológicos de carga de orden k de valencia ¹¹	$G_k^v = \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N M_{ij}^v - M_{ji}^v \delta(\kappa, D_{ij}) \mathbf{M}^v = \mathbf{A}^v\mathbf{Q}$ producto de las matrices: adyacencia modificada por electronegatividad, y de las distancias inversas al cuadrado, para los grafos moleculares de hidrógenos suprimidos. \mathbf{D} , matriz de distancias. δ , delta de Kronecker
J_k $k=1-5$	Índices topológicos de carga ponderados de orden k^{11}	$J_k = \frac{G_k}{N-1}$
J_k^v $k=1-5$	Índices topológicos de carga ponderados de orden κ de valencia ¹¹	$J_k^v = \frac{G_k^v}{N-1}$
kD_t $k=0-4$ $t=p,c,pc$	Diferencias de conectividad de orden k y tipo lineal (p), ramificado (c) y lineal-ramificado (pc)	${}^kD_t = {}^k\chi_t - {}^k\chi_t^v$
kC_t $k=0-4$ $t=p,c,pc$	Cocientes de conectividad de orden k y tipo lineal (p), ramificado (c) y lineal-ramificado (pc)	${}^kC_t = \frac{{}^k\chi_t}{{}^k\chi_t^v}$

adyacencia obtenida a partir del grafo de hidrógenos suprimidos correspondiente a cada molécula objeto de estudio.

Tratamiento informático

El estudio de regresión multilíneal fue realizado con ayuda del programa BMDP¹² utilizando los índices topológicos como variables independientes y la propiedad a estudiar, Toxicidad, Dosis o Cl_{50} como variable independiente. El estudio estadístico de la función de conectividad seleccionada se hace atendiendo al número de casos utilizados N, el tanto por uno de la varianza explicada r^2 , el coeficiente de correlación r , el error estándar de estimación SE, el valor F de Fisher-Snedecor y la significación estadística p .

Se ha realizado también un estudio de validación cruzada con objeto de evaluar la calidad predictiva del modelo matemático seleccionado. Para ello, se elimina un caso y se realiza el análisis de regresión utilizando los

N-1 restantes compuestos y prediciendo el valor de la propiedad del compuesto eliminado. El proceso se repite tantas veces como compuestos forme el grupo. La regresión multilíneal se utilizó en este trabajo para obtener ecuaciones para la predicción de $\log IC_{50}$ de *P. Falciparum* y la actividad insecticida. La actividad insecticida se expresó de diversa manera dependiendo del grupo: Para análogos de hormonas, la toxicidad fue expresada como LC_{50} . Se define como la dosis letal que causa la inhibición del 50% del desarrollo hasta mosquitos adultos para las larvas de *Culex pipiens quinquefasciatus*, expresada en ppm. Para los insecticidas generales, la actividad fue expresada como "dosis del ingrediente activo" (g/m^2).

El análisis lineal discriminante, ALD, se ha realizado usando el programa BMDP 7M. Mediante esta técnica es posible obtener funciones lineales capaces de clasificar los compuestos estudiados en categorías o grupos. En nuestro caso, el ALD se ha aplicado a un amplio grupo de compuestos con actividad antimalárica, siendo la Cl_{50} la propiedad utilizada para

Tabla 2.
Resultados de clasificación de actividad antimalárica obtenidos a través del análisis lineal discriminante a un grupo de derivados fosfolipídicos

Compuesto	IC50 (μ M)	Prob (activ)	Clase	Compuesto	IC50 (μ M)	Prob (activ)	Clase	Compuesto	IC50 (μ M)	Prob (activ)	Clase
G19	0,000003	0,996	+	B4	0,61	0,999	+	C12	130	0	-
G25	0,00064	1	+	E70	0,62	0,933	+	A2	200	0	-
G22	0,0011	1	+	F10	0,62	1	+	F16	230	0,004	-
G15	0,0016	0,999	+	F50	0,67	1	+	F14	250	0	-
G5	0,004	1	+	E30	0,7	1	+	A3	300	0	-
G24	0,013	1	+	E4	0,7	0,986	+	E2	300	0,228	-
E13	0,033	1	+	E41	0,7	1	+	C3	350	0,001	-
G14	0,045	0,998	+	E50	0,7	1	+	C6	400	0	-
E10	0,064	1	+	E8	0,8	1	+	C2	420	0	-
G4	0,09	0,999	+	F25	0,81	0,216	+	D7	420	0	-
E20	0,11	1	+	F7	0,84	1	-	C7	450	0	-
E37	0,14	1	+	E7	0,9	1	+	C9	500	0	-
E11	0,14	1	+	F3	0,97	0,996	+	A8	600	0	-
G23	0,15	0,998	+	E40	1	1	+	G20	650	0,419	-
E21	0,15	1	+	C8	1,3	0,996	+	G1	700	0,126	-
E23	0,21	1	+	F6	1,3	1	+	E1	700	0	-
E24	0,22	1	+	F11	1,5	1	+	F19	700	0	-
E34	0,23	1	+	E3	1,6	0,923	+	A4	800	0	-
E22	0,26	1	+	G3	1,7	0,988	+	A0	800	0	-
E12	0,27	1	+	B7	2,1	1	+	A7	900	0	-
E27	0,27	1	+	E9	2,1	1	+	B1	1100	0	-
E35	0,27	1	+	F2A	3,85	0,911	+	D2	1200	0	-
F8	0,34	1	+	E2A	5	0,66	+	C4	1200	0	-
E36	0,36	1	+	E60	9,7	0,224	+	C5	1300	0	-
E38	0,38	1	+	G2	12	0,799	-	A9	2000	0	-
E26	0,42	1	+	E25	26	0,875	+	D1	2000	0	-
F30	0,43	0,992	+	B2	40	0,001	+	F18	4830	0	-
F4	0,48	1	+	A5	50	0	-	A1	>2000	0	-
E6	0,5	0,999	+	C1	50	0	-	B6	>1000	0,001	-
E5	0,5	0,997	+	A6	80	0	-	D3	>8000	0	-
b3	0,51	1	+	F13	110	0,004	-	D4	>8000	0	-
G12	0,54	0,93	+	F12	112	0,001	-	D5	>2000	0	-
F9	0,55	1	+	F32	115	0,001	-	F1	>300	0	-
F5	0,6	1	+	F15	120	0	-				

Serie A: Aminas primarias; Serie B: Aminas secundarias; Serie C: Aminas terciarias; Serie D: Aminas cuaternarias; Series E y F: Sales de amonio cuaternarias; Serie G: Sales de amonio bis-cuaternarias. Datos experimentales extraídos de la referencia 5.

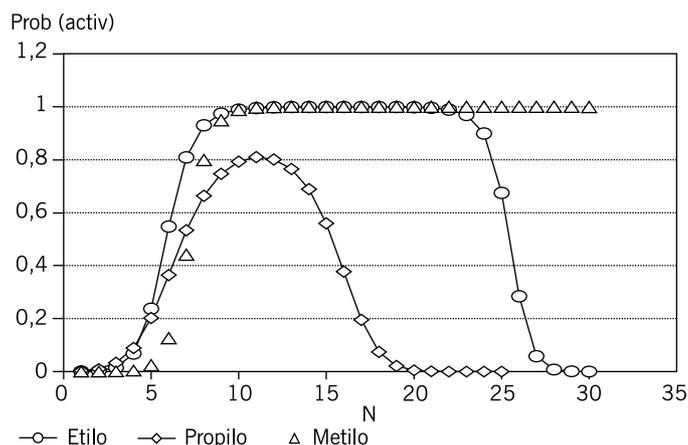


Figura 1. Aplicación del modelo discriminante a una librería construida con sales de amonio bi-cuaternarias, diferentes longitud de cadena y diferentes grupos alquílicos sobre el nitrógeno de la amina

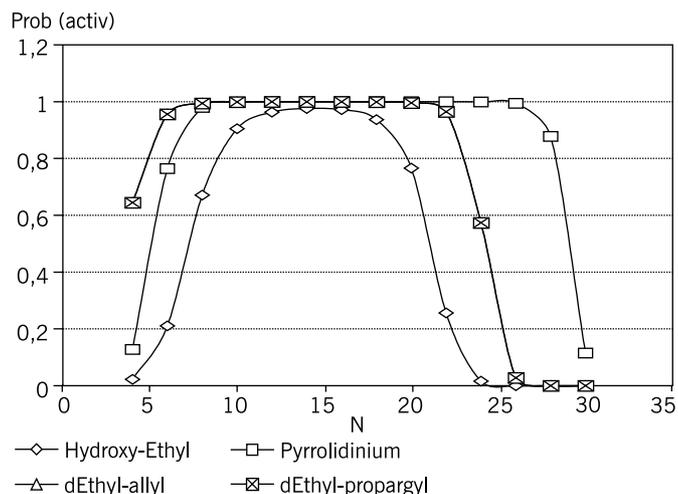


Figura 2. Aplicación del modelo discriminante a una librería construida con sales de amonio bi-cuaternarias, diferentes longitud de cadena y diferentes grupos funcionales sobre el nitrógeno de la amina

definir una variable categórica que agrupe cada molécula. Los compuestos se han distribuido en dos grupos: el grupo activo lo forman todos los compuestos con valores de $Cl_{50} < 10\mu M$ y grupo inactivo para $Cl_{50} > 10\mu M$. El programa estadístico selecciona los índices a incorporar en la función discriminante sobre la base del valor de F de Fisher-Snedecor, y el criterio de clasificación seguido es la distancia de Mahalanobis. La calidad de la función discriminante obtenida se evalúa a través del parámetro de Wilks, λ .

Resultados y discusión

Optimización de la estructura-actividad antimalárica para derivados fosfolipídicos

En una primera etapa, los índices topológicos se correlacionaron con la actividad antimalárica (valores de actividad frente a la cepa Nigerian, sensible a la cloroquina) usando el análisis lineal discriminante (ALD). El grupo de trabajo consta de 101 compuestos (aminas primarias, secundarias y terciarias junto con sales de amino cuaternario). El grupo activo lo forman 58 compuestos con valores de $Cl_{50} < 10\mu M$. El resto son considerados inactivos. La ecuación discriminante FD clasificó correctamente 56 de los 58 compuestos activos y 41 de los 43 compuestos inactivos.

$$FD = 5.619 \text{ } ^1D - 1.662 \text{ } ^4C_{pc} + 0.0051 W + 3.722 R - 5.136 PR1 - 2.206 L + 17.943 \quad \text{Eq. 1}$$

$$N = 101 \quad \lambda = 0.182 \quad F = 70.5$$

Sobre la base de esta función discriminante, un compuesto será clasificado con actividad antimalárica si $FD < 0$. En caso contrario será clasificado como inactivo. La Tabla 2 muestra los resultados de clasificación para cada compuesto.

Si nos centramos en el grupo más activo, las sales de amonio bi-cuaternarias de estructura general:



el modelo topológico discriminante fue utilizado para encontrar la longitud óptima de la cadena alifática, N, usando diferentes sustituyentes en el amonio cuaternario (R_1 , R_2 , R_3) y valores de N, sobre la quimioteca virtual diseñada con este propósito.

Las Figuras 1 y 2 muestran los intervalos de N y sustituyentes para los cuales la probabilidad de actividad es mayor. Como puede apreciarse la amplitud del intervalo de N va decreciendo a medida que aumenta el volumen del sustituyente sobre el nitrógeno cuaternario.

En una segunda etapa, la actividad antimalárica, Cl_{50} , de 25 sales de amonio bis-cuaternario fue procesada mediante regresión multilinear (RML) para establecer un modelo capaz de predecir su actividad *in vitro*.

Análisis de regresión multilinear realizado al grupo de sales de amonio bis-cuaternarias:

$$\log Cl_{50} = -17.891 + 0.696 \text{ } ^1\chi - 2.134 G_2^v + 4.011 G_5^v + 7.062 J_1^v + 49.520 J_2^v \quad \text{Eq. 2}$$

$$N = 25 \quad r^2 = 0.928 \quad SEE = 0.619 \\ F = 49 \quad p < 0.0001$$

La Tabla 3 muestra los resultados de predicción obtenidos con la Eq. 2 para cada uno de los compuestos del grupo.

La función de predicción obtenida se utilizó para seleccionar los sustituyentes sobre el nitrógeno cuaternario y longitud de la cadena que mostraban una óptima actividad.

Las Figuras 3, 4 y 5 muestran los valores de N y sustituyentes óptimos para conseguir una elevada actividad antimalárica.

Tabla 3. Estructura química, actividad antimalárica y resultados de predicción obtenidos a partir del análisis de regresión multilíneal

Series G y H: Sales de amonio bis-cuaternarias: $R_1-N^+(R_2)(R_3)-(CH_2)_n-(R_2)(R_3)N^+-R_1$								
Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	n	LogIC ₅₀ exp.	LogIC ₅₀ calc	LogIC ₅₀ calc(cv)	
G19	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	21	-5.52	-4.2	-3.68	
G25	CH ₃		-(CH ₂) ₄ -	16	-3.19	-3.19	-3.19	
G22	CH ₃		-(CH ₂) ₄ -	14	-2.96	-2.75	-2.73	
G15	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	16	-2.8	-3.61	-3.76	
G5	CH ₃	CH ₃	CH ₃	16	-2.4	-1.9	-1.78	
H5	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	CH ₂ -CH ₂ -OH	16	-2.31	-1.87	-1.79	
G84	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	CH ₂ -CH=CH ₂	12	-2.28	-2.66	-2.71	
G94	CH ₃	CH ₃	CH ₂ -CCH	12	-2.12	-1.2	-1.07	
G24	CH ₃		-(CH ₂) ₄ -	12	-1.89	-2.12	-2.14	
G74	CH ₃	CH ₃	CH ₂ -CH ₂ -CCH	12	-1.36	-0.38	-0.08	
G14	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	12	-1.35	-2.47	-2.6	
G4	CH ₃	CH ₃	CH ₃	12	-1.05	-1	-0.99	
G23	CH ₃		-(CH ₂) ₄ -	10	-0.82	-1.23	-1.28	
G44	CH ₃	CH ₃	(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	12	-0.74	-0.53	-0.46	
G41	CH ₃	CH ₃	(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	6	-0.66	-1.19	-1.29	
G12	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	8	-0.27	-0.36	-0.38	
G3	CH ₃	CH ₃	CH ₃	10	0.23	-0.15	-0.24	
G45	CH ₃	CH ₃	(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	16	0.26	0.12	0	
H3	CH ₂ -CH ₂ -OH	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	10	0.3	0.03	0.01	
G40	CH ₃	CH ₃	(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	3	1.03	0.8	0.56	
G2	CH ₃	CH ₃	CH ₃	8	1.08	1.12	1.13	
G20	CH ₃		-(CH ₂) ₄ -	5	2.81	2.72	2.67	
G1	CH ₃	CH ₃	CH ₃	6	2.85	2.99	3.11	
H0	CH ₂ -CH ₂ -OH	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	5	3.1	3.44	3.61	

Datos experimentales extraídos de la referencia 5.

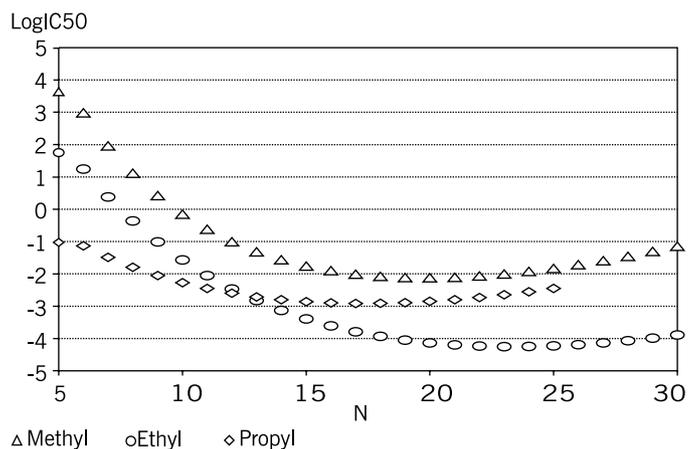


Figura 3. Optimización de la actividad antimalárica en función de la longitud de la cadena y sustituyentes sobre el nitrógeno

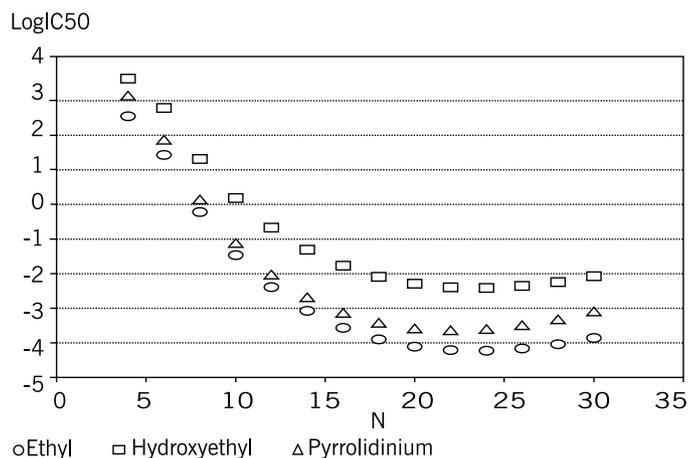


Figura 4. Optimización de la actividad antimalárica en función de la longitud de la cadena y sustituyentes sobre el nitrógeno

Estudios de predicción de IGRs y Dosificación para el diseño de insecticidas

Las estructuras químicas de los IGRs estudiados aparecen en la Tabla 4, donde se aprecia su gran diversidad estructural. La función topológica seleccionada para el grupo IGRs fue:

$$\text{Log Tox} = -2.632 + 14.991 J_3^v - 0.239 V4 \quad \text{Eq.3}$$

$$N = 19 \quad r_2 = 0.877 \quad \text{SEE} = 0.427$$

$$F = 35.7 \quad p < 0.0001$$

La Tabla 5 compara los valores experimentales y calculados, y muestra el valor de la validación cruzada (CV) para cada compuesto. Como puede apreciarse, las concordancias experimental-calculado son bastante buenas. A pesar que el número de puntos no es muy alto, N=19, sí se puede apreciar que los residuales de la validación cruzada no difieren significativamente de los residuales de la regresión. Asimismo, 14 de los 19 compuestos muestran residuales dentro de una desviación estándar, y solamente uno, MON585, muestra un valor mayor que dos desviaciones estándar.

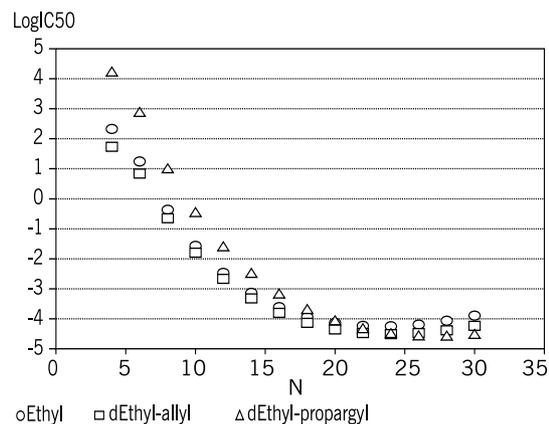


Figura 5. Optimización de la actividad antimalárica en función de la longitud de la cadena sustituyente sobre el nitrógeno

Tabla 4. Estructuras químicas de los IGRs estudiados

Fenoles butil sustituidos		
<p>COMP1 (R=C1) COMP4 (R=NO₂) COMP11 (R=OCH₃) COMP15 (R=COOH) BAYSIR8514</p>	<p>COMP2 (R=Br) COMP5 (R=ciano) COMP12 (R=CH₂OH) COMP31 (R=morfolino carbonil) CGA19255</p>	<p>COMP3 (R=NH₂) COMP10 (R=CH₃) COMP13 (R=n-butyl) MON585 (R=α, α dinetilbecil) DU19111</p>
<p>DIFLUBENZURON</p>	<p>crd9499</p>	<p>R20458</p>
<p>TH6038</p>	<p>HIDROPRENO</p>	<p>METOPRENO</p>
<p>MV678</p>		

Tabla 5. Resultados de predicción obtenidos para IGRs utilizando el análisis de regresión multilíneal

Compuesto	Toxicidad(ppm)*	J _{3v}	V4	Log Tox _{exp}	Log Tox _{calc} **	Log Tox _{calc} *** (VC)
BAYSIR8514	0,002	0,1111	7	-2,699	-2,636	-2,620
CGA19255	0,35	0,1915	4	-0,456	-0,715	-0,745
COMP1	0,93	0,2515	6	-0,032	-0,292	-0,318
COMP10	2,12	0,2812	6	0,326	0,152	0,124
COMP11	0,57	0,2587	6	-0,244	-0,185	-0,178
COMP13	0,24	0,2551	6	-0,620	-0,238	-0,197
COMP2	0,6	0,2534	6	-0,222	-0,264	-0,268
COMP31	2,86	0,2737	7	0,456	-0,198	-0,299
COMP4	0,36	0,2272	6	-0,444	-0,657	-0,672
COMP5	1,65	0,3020	7	0,218	0,227	0,229
crd9499	0,03	0,1538	4	-1,523	-1,281	-1,253
DIFLUBENZURON	0,0005	0,1133	7	-3,301	-2,603	-2,429
DU19111	0,002	0,1059	8	-2,699	-2,953	-3,072
HIDROPRENO	0,1	0,1246	2	-1,000	-1,242	-1,340
METOPRENO	0,01	0,1272	3	-2,000	-1,440	-1,313
MON585	0,02	0,2540	8	-1,699	-0,732	-0,544
MV678	0,02	0,1246	3	-1,699	-1,479	-1,429
R20458	0,04	0,1260	4	-1,398	-1,697	-1,739
TH6038	0,013	0,1076	7	-1,886	-2,689	-2,906

*Toxicidad experimental extraída de la referencia 6; **De la Eq. 3; c***Del análisis de validación cruzada

Tabla 6. Resultados de predicción obtenidos con el grupo de insecticidas utilizando el análisis de regresión multilíneal

Compuesto	Dosis _{exp} * (g/m ²)	G ₁	G ₂	PRO	Log Dosis _{exp} *	Log Dosis _{calc} **	Log Dosis _{calc} *** (CV)
α-							
Cypermethrin	0,025	8,500	12,889	1	-1,602	-1,020	-0,870
Bendiocarb	0,3	6,250	6,917	1	-0,523	-0,341	-0,311
Carbosulfan	1,5	13,500	14,500	2	0,176	0,164	0,012
Chlorpyrifos-methyl	0,67	6,500	7,000	1	-0,174	-0,232	-0,240
Cyfluthrin	0,035	9,250	14,667	1	-1,456	-1,179	-1,036
Cypermethrin	0,5	8,500	12,889	1	-0,301	-1,020	-1,206
DDT	1,5	6,500	6,000	1	0,176	0,085	0,070
Deltamethrin	0,2	6,750	7,889	1	-0,699	-0,380	-0,345
Etofenprox	2	6,250	5,667	1	0,301	0,056	0,008
Fenitrothion	0,025	10,000	13,889	2	-1,602	-1,539	-1,428
λ-Cyhalothrin	2	6,500	5,889	1	0,301	0,121	0,089
Malathion	0,5	8,000	11,222	1	-0,301	-0,761	-0,824
Permethrin	1,5	6,750	5,222	1	0,176	0,468	0,554
Pirimiphos-methyl	1,5	4,500	5,333	0	0,176	0,227	0,283

*Toxicidad experimental extraída de la referencia 13; **De la Eq. 4; ***Del análisis de validación cruzada

La función topológica de predicción de dosis seleccionada para el grupo de insecticidas fue:

$$\text{Log Dosis} = -0,517 + 0,542 G_1 - 0,318 G_2 - 1,014 \text{ PRO} \quad \text{Eq. 4}$$

N= 14 r²=0.773 SEE=0,384
 F=11,3 p<0,0001

Los resultados para este conjunto de insecticidas generales se ilustran en la Tabla 6, donde se compara los valores experimentales y calculados. Como en el caso anterior, se mantienen los residuales entre la regresión y la validación cruzada, a pesar de intervenir pocos puntos, N=14. Sola-

mente tres residuales se alejan una desviación estándar, y ninguno de ellos va más allá de dos.

Finalmente, decidimos aplicar las ecuaciones seleccionadas para el modelo general a la búsqueda en las bases de datos de insecticidas nuevos potencialmente activos contra vectores de la malaria. Elegimos la base de datos del Índice de Merck por razones de disponibilidad. Tres moléculas fueron seleccionadas como candidatos: Acrinatrina (interesante insecticida bien conocido, para el cual se predice logTox_{calc} = -2.6014 y logDosis_{calc} = -1.1443), apraclonidina (droga usada para la presión intraocular elevada post-quirúrgica, con el valor logTox_{calc} = -1.5065 y el

registro $\log\text{Dosis}_{\text{calc}} = -0.7675$) y finalmente barban, un herbicida bien conocido selectivo para la avena salvaje con el valor $\log\text{Tox}_{\text{calc}} = -1.8502$ y $\log\text{Dosis}_{\text{calc}} = -0.7379$.

Conclusiones

Se obtuvo un modelo discriminante de actividad antimalárica capaz de clasificar correctamente el 96 % de los compuestos estudiados. Trabajando con el grupo más activo, sales de amonio bis-cuaternarias, y aplicando el modelo discriminante a una quimioteca preparada al efecto, el fragmento alquílico saturado que muestra mayor probabilidad de actividad antimalárica es el grupo etilo. Cuando se incorporan grupos funcionales e insaturaciones tales como OH, ciclación entre R_2 y R_3 o $\text{CH}_2\text{-C}\equiv\text{CH}$ se observa elevada probabilidad de actividad antimalárica con longitudes de cadena alifática central, N, entre 10 y 25. Al aplicar la función de predicción obtenida con Cl_{50} a la quimioteca construida con sales de amonio bis-cuaternarias, los compuestos más activos han de poseer valores de N entre 20 y 25 y sustituciones simétricas sobre el amonio cuaternario con tres grupos etilo o dos grupos etilo y un grupo propargilo, $-\text{CH}_2\text{-C}\equiv\text{CH}$.

La eficacia del uso combinado de diversos índices topológicos se demuestra en la predicción de la actividad del insecticida contra vectores de la malaria. Los resultados totales obtenidos para dos grupos de insecticidas, a saber IGRs e insecticidas generales, demuestran que el uso de índices topológicos rinde buenos resultados.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de esta investigación a la Red Temática de Investigación Cooperativa RICET (Red de Investigación de Centros de Enfermedades Tropicales) del Ministerio de la Sanidad.

Bibliografía

1. de Julián-Ortiz JV, Gálvez J, Muñoz-Collado C, García-Domenech R, Gimeno-Cardona C. Virtual Combinatorial Syntheses and Computational Screening of New Potential Anti-Herpes Compounds. *J Med Chem* 1999;42:3308-14.
2. Bruno-Blanch L, Gálvez J, García-Domenech R. Topological Virtual Screening: A Way to Find New Anticonvulsant Drugs from Chemical Diversity. *Bioorg Med Chem Lett* 2003;13:2749-54.
3. Gozalbes R, Galvez J, Moreno A, Garcia-Domenech R. Discovery of new antimalarial compounds by use of molecular connectivity techniques. *J Pharm Pharmacol* 1999;51:111-7.
4. Ancelin ML, Calas M, Bompert J, et al. Antimalarial activity of 77 phospholipid polar head analogs: Close correlation between inhibition of phospholipid metabolism and In Vitro Plasmodium Falciparum growth. *Blood* 1998;91:1426-37.
5. Calas M, Ancelin ML, Cordina G, et al. Antimalarial activity of compounds interfering with Plasmodium falciparum phospholipid metabolism: Comparison between mono- and bisquaternary ammonium salts. *J Med Chem* 2000;43:505-16.
6. Mian LS, Mulla MS. Biological and environmental dynamics of insect growth regulators (IGRs) as used against Diptera of public health importance. *Residue Rev* 1982;84:28-112.
7. Chamberlain WF. Insect growth regulating agents for control of arthropods of medical and veterinary importance. *J Med Entomol* 1975;12:395-400.
8. Moliner R, García F, Galvez J, Garcia-Domenech R, Serrano C. Nuevos Índices Topológicos en Conectividad Molecular. Su Aplicación a algunas Propiedades Físico Químicas de un Grupo de Hidrocarburos Alifáticos. *An Real Acad Farm* 1991;57:287-98.
9. Wiener H. Structural Determination of Paraffin Boiling Points. *J Am Soc* 1947;69:17-20.
10. Kier LB, Hall LH. General Definition of Valence Delta-Values for Molecular Connectivity. *J Pharm Sci* 1983; 72:1170-3.
11. Galvez J, Garcia-Domenech R, Salabert MT, Soler R. Charge Indices. New Topological Descriptors. *J Chem Inf Comput Sci* 1994;34:520-5.
12. Dixon WJ. BMDP Statistical Software. University of California, Berkeley, 1990.
13. Walker K. Cost-comparison of DDT and alternative insecticides for malaria control. *Med Vet Entomol* 2000; 14:345-54.