

# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



**FACULTAD DE FARMACIA**

**GRADO EN FARMACIA**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

**“MODELADO MOLECULAR COMO HERRAMIENTA EN  
EL DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS FÁRMACOS QUE  
INTERACCIONAN CON PROTEÍNAS”**

**Héctor Carlos García Díaz**

**Tutelado por el Dr. Giorgio Giorgi.**

## Contenido

RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....	4
-DISEÑO RACIONAL DE FARMACOS.....	4
-LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA (LMC) .....	7
-DESARROLLO DE LOS INHIBIDORES DE TIROSINA KINASA FRENTE A LMC .....	7
OBJETIVOS .....	10
METODOLOGÍA .....	11
RESULTADOS.....	11
DISCUSIÓN .....	12
CONCLUSIÓN .....	16
BIBLIOGRAFÍA.....	16

## RESUMEN

Gracias al conocimiento de la estructura 3D de la diana farmacológica se puede predecir la afinidad de unión de un ligando al receptor mediante técnicas computacionales como el modelado molecular. Esto permite el cribado de enormes bases de datos de compuestos químicos seleccionando aquellos potencialmente afines a la diana, suponiendo un ahorro importante de costes. Hoy en día, muchos grupos terapéuticos han sido diseñados a través de esta metodología, en concreto nos centraremos en el diseño de los inhibidores de BCR-ABL para el tratamiento de la leucemia mieloide crónica. A pesar de su elevada eficacia, presentan numerosas resistencias y efectos adversos que no son tolerados por un gran número de pacientes. Por ello existe la necesidad de encontrar alternativas que tengan un espectro mayor a la hora de tratar las resistencias y presenten mayor eficacia y seguridad. En este trabajo se realizará una revisión bibliográfica en la búsqueda de nuevos inhibidores potenciales de la BCR-ABL. Como resultado se encontraron 9 compuestos que fueron validados por métodos computacionales entre los cuales, tres de ellos se comprobó también la actividad *in vitro* (GZD856, ZINC 08764498 y gefitinib) y en uno de ellos *in vivo* (GZD856).

## ABSTRACT

Thanks to the knowledge of the 3D structure of the pharmacological target, the affinity of a ligand to the receptor can be predicted by computational techniques such as molecular modeling. This allows the screening of huge chemical compound databases by selecting those that potentially inhibit the target, assuming significant cost savings. Nowadays, many therapeutic groups have been designed through this methodology, among them, we will focus on the design of BCR-ABL against chronic myeloid leukemia. Despite their high efficacy, they have numerous resistances and adverse effects that are not well tolerated by a large number of patients. Therefore, there is a need to find alternatives that have a greater spectrum when dealing with resistances and have greater efficacy and safety. In this work, a bibliographic review will be carried out in search of new potential inhibitors of BCR-ABL. As a result, 9 compounds were found that were validated by computational methods, among which three of them were also checked for *in vitro* activity (GZD856, ZINC 08764498 and gefitinib) and in one of them *in vivo* (GZD856).

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

### -DISEÑO RACIONAL DE FARMACOS

Desde su origen, el descubrimiento de fármacos ha derivado de sucesivas pruebas de ensayo-error, en las que compuestos naturales se prueban en modelos celulares y animales con el objetivo de encontrar una actividad terapéutica. Esto implica una enorme pérdida de recursos y sobre todo, de tiempo, dado que sólo unas pocas moléculas entre millones resultan aplicables en el ser humano. Por este motivo, se requirió una racionalización del proceso de diseño de fármacos hacia un modo más retrospectivo, partiendo de la diana farmacológica hacia el ligando. [1][2]. Una solución a este problema fue el nacimiento de la química computacional que aplica modelos y algoritmos matemáticos a través de *software* para ayudar a estudiar y resolver problemas relacionados con la química.[3] Posteriormente se aplicó la química computacional al diseño de fármacos (modelado molecular, química combinatoria, bioinformática...) resultando en 1995 con la dorzolamida (Merck), el primer fármaco cuyo diseño es racional, es decir, basado en la estructura de la diana farmacológica (anhidrasa carbónica).[4]

Desde entonces el diseño racional de fármacos no ha hecho más que crecer exponencialmente, gracias al desarrollo de nuevas tecnologías y nuevos algoritmos matemáticos.

Dentro de la química computacional, el modelado molecular abarca todos los métodos, teóricos y computacionales, utilizados para modelar o imitar el comportamiento de las moléculas. Con ello se puede predecir la conformación u orientación óptima de unión del complejo ligando-proteína, este concepto se denomina acoplamiento molecular o *docking*. [5] El *docking* además puede predecir mediante algoritmos matemáticos la fuerza de las interacciones intermoleculares (enlaces de hidrógeno, Van der Waals...) representado por un valor aproximado de afinidad de unión (*docking score*). [6]

Para dar esta puntuación, se debe obtener la estructura en tres dimensiones del complejo ligando-receptor, la cual suele estar en bases de datos. No obstante si no se dispone del complejo, se deben seleccionar ambos (ligandos candidatos y proteína), prepararlos y posteriormente unirlos en el programa informático.

-La estructura terciaria de la proteína, se obtiene bien por métodos de cristalografía de rayos X o bien por Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Estas estructuras se

encuentran en amplias bases de datos de acceso público como *Protein Data Bank* (PDB). Por otra parte si la estructura de la proteína no es conocida, se puede modelar a través de programas informáticos.

-La conformación activa del ligando en 3D también se obtiene de bases de datos o se puede modelar. [7]

El *docking* nos da una idea aproximada de la afinidad de unión antes de que un compuesto sea sintetizado, esto se puede utilizar para establecer un cribado bases de datos reduciendo un amplísimo número de moléculas candidatas a solo unas pocas. Este concepto se conoce como cribado virtual o *virtual screening* (VS) y supone un ahorro importante de tiempo recursos en comparación con los métodos de ensayo-error que se usaban antiguamente. No obstante, este método no es fiable a la hora de predecir la afinidad de unión con exactitud, por lo tanto, es necesario realizar otros cálculos para llegar a predecir con mayor certeza la unión de la molécula a la proteína. [8]

Por este motivo, surgen otros métodos para aumentar la precisión del proceso, entre ellos, el *ensemble-based virtual screening* (EBVS) y un análisis paramétrico posterior. El *ensemble-based virtual screening* que tiene en cuenta la flexibilidad de la diana farmacológica y permite realizar un screening con diferentes conformaciones del receptor. [9] Por otra parte, el análisis multiparamétrico realizado tras el *docking*, requiere de (1) análisis teórico de densidad funcional (DFT) para determinar la reactividad química de los compuestos candidatos, (2) una simulación de dinámica molecular (MD) para predecir el comportamiento del complejo y (3) el cálculo de la energía libre de unión (MM-GBSA) y la energía de interacción. Como complemento a los estudios de docking existen *softwares* que predicen las propiedades biofarmacéuticas de la serie ADME de los compuestos líderes obtenidos y también existen modelos que predicen la toxicidad. Otros ensayos complementarios incluyen ensayos *in vitro* en modelos celulares y enzimáticos para determinar y comparar la actividad de los compuestos obtenidos. [10]

El DFT nos da una aproximación de la reactividad química evaluando la contribución de los orbitales atómicos de la molécula mediante la diferencia de energía entre el HOMO Y LUMO, conocido como HOMO-LUMO gap. El HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) determina la capacidad de los grupos funcionales de la molécula para donar electrones mientras que el LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) determina la

capacidad de aceptar electrones (con respecto a la diana). El HOMO-LUMO gap determina la energía de excitación electrónica. [11]

La simulación de dinámica molecular (MD) nos es de utilidad por tres motivos: (i) establece un modelo de unión del ligando con la diana basándose en los comportamientos de la molécula, (ii) evalúa mediante el análisis de las fluctuaciones del complejo ligando-diana la estabilidad del mismo (*root mean square desviation* o RMSD) y (iii) determina la estabilidad de los enlaces de hidrógeno con la proteína. En definitiva, el MD se usa para analizar la estabilidad de unión de los compuestos candidatos con la diana farmacológica y establecer modelos de unión [17].

Para comprobar las afirmaciones anteriores se usa la herramienta MM-GBSA o MM-PBSA, en donde se calcula la energía de interacción y la energía libre de Gibbs. La energía de interacción (estima la estabilidad de los complejos diana-ligando). La energía de unión se mide en kcal/mol y debe ser negativa, esto significa que en dicha interacción química se desprende energía (exotérmico) y, por lo tanto, es favorable. Estos cálculos aportan datos extra para descartar falsos positivos en el *docking* y refuerzan la evidencia de los compuestos líderes obtenidos en el cribado.

A pesar de los avances, los métodos computacionales de hoy en día no presentan una estimación precisa de los valores de afinidad de unión y en muchas ocasiones no se correlacionan estos valores con los ensayos de actividad biológica. Por otra parte, aunque se correlacionen estos valores, no se justifica el uso de las biomoléculas en terapéutica ya que se necesitan optimización de la serie ADME y de la evaluación de seguridad y eficacia en humanos. No obstante gracias a estos métodos se reduce el número de ensayos requeridos para desarrollar nuevos fármacos, suponiendo un ahorro del coste y un aumento del rendimiento. [5]

Muchos grupos terapéuticos muy usados en la actualidad han sido desarrollados gracias a un diseño racional del fármaco, algunos ejemplos son los inhibidores de la bomba de protones, los inhibidores de la proteasa del VIH entre muchos. Sin embargo, en este trabajo nos vamos a centrar en los inhibidores de tirosina kinasa (TK), más en concreto en la kinasa BCR-ABL para el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (LMC). [13]

### -LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA (LMC)

Es un tipo de neoplasia mieloproliferativa que ocupa entre 10-15% de las leucemias adultas con edad media de aparición en 66 años y mayor frecuencia en varones. Se ha demostrado que su principal causa es la expresión aberrante de una proteína de fusión denominada ABL-BCR, resultante de una translocación del cromosoma Philadelphia (cromosomas 22 y 9 respectivamente). Esta proteína es una tirosina kinasa que, a través de reacciones de fosforilación a diferentes mensajeros secundarios promueve una proliferación excesiva dando lugar a la enfermedad. [14]

### -DESARROLLO DE LOS INHIBIDORES DE TIROSINA KINASA FRENTE A LMC

En un principio el tratamiento de la enfermedad estaba basado en agentes inespecíficos que presentaban una modesta eficacia y efectos adversos bastante significativos. No obstante, se produjo un cambio radical en el panorama terapéutico de la patología cuando, en el año 2000 se desarrolló el imatinib. El imatinib (Glybec), una molécula pequeña que revolucionó el campo de la quimioterapia del cáncer abriendo las puertas a lo que se conoce como “terapia dirigida” y al posterior desarrollo de más miembros de este grupo terapéutico. Este tratamiento dirigido supuso un incremento de la tasa de supervivencia desde el 10-20% hasta un 80-90% en la enfermedad. [15]

Cabe destacar que los inhibidores de tirosina kinasa actualmente es un amplio grupo terapéutico que no solo tratan la leucemia sino también otros tipos de cáncer. Este grupo se clasifica según el modo de unión en 4 tipos:

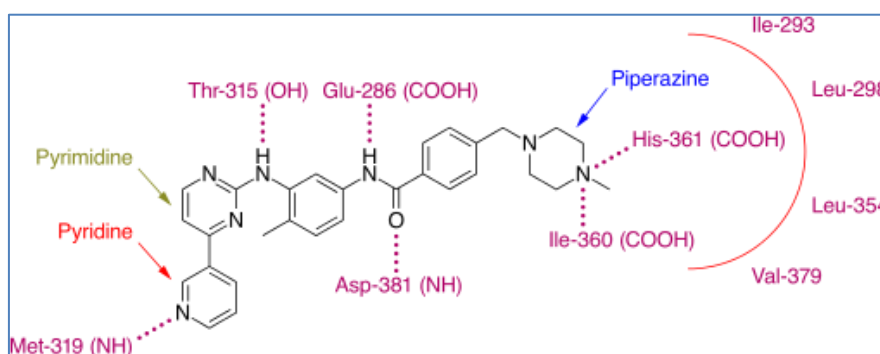
-ITK tipo 1: son ATP-miméticos y se unen en el sitio de unión al ATP en la conformación activa de la enzima.

-ITK tipo 2: son ATP-miméticos y se unen en el sitio de unión al ATP, pero en la conformación inactiva de la enzima. El cambio de la tríada Asp-Phe-Gly en el extremo N-terminal del bucle de activación produce la exposición de un bolsillo de unión que puede ser utilizado por inhibidores. [16] El Imatinib, el Nilotinib y el Ponatinib son ejemplos de este tipo. Estos fármacos no son especialmente selectivos ya que el sitio de unión al ATP está bastante conservado en todas las enzimas kinasas (implicadas en multitud de procesos). Por este motivo, estos fármacos presentan perfiles de toxicidad (sobre todo a nivel cardíaco).

-ITK tipo 3: son inhibidores alostéricos no competitivos. Aprovechan sitios de unión más específicos de la enzima a inhibir para producir un cambio conformacional en la proteína que impida la unión de su ligando habitual con el centro catalítico. De esta manera se produce una inhibición del proceso. Es una estrategia con mayor selectividad que las anteriores ya que el sitio de unión no está tan conservado como el sitio de unión del ATP. Por lo tanto, además de ser más selectivos, no compiten con el sustrato (ATP) por lo que no son susceptibles de ser desplazados por el mismo aumentando la eficacia. El GNF-2, GNF-5, GNF-7, BO-1 son ejemplos de este tipo.

-ITK tipo 4: inhibidores del sitio de unión del sustrato. Presentan alta selectividad ya que el sustrato es diferente según la enzima. [17]

El imatinib es un claro ejemplo de diseño racional de fármacos. Una vez descubierta la causa principal de la enfermedad (la proteína BCR-ABL), se realizó un screening virtual de alto rendimiento para buscar posibles compuestos químicos que inhibieran dicha diana. En los estudios se encontró el grupo **2-fenilaminopirimidina**. Tras pruebas posteriores, se modificó el compuesto añadiéndose los grupos metilo y benzamida confiriendo mejor afinidad de unión al ligando dando lugar al imatinib.

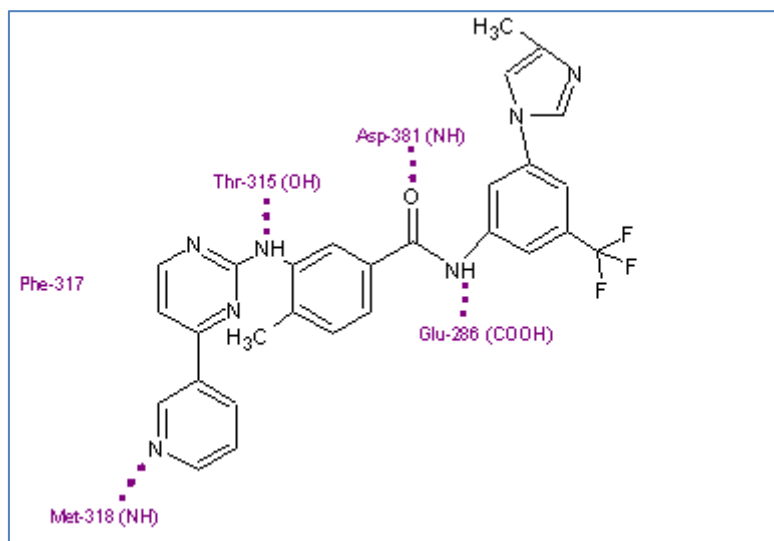


\*Figura 1: Sitio de unión del Imatinib con bcr-abl.

El imatinib estabiliza el complejo Bcr-Abl a través de seis interacciones de enlaces de hidrógeno e impide que el ATP llegue a su sitio de unión. Además, varias interacciones de van der Waals contribuyen a la unión. Un bolsillo hidrofóbico está formado por los residuos de aminoácidos Ile-293, Leu-298, Leu-354 y Val-379 alrededor del anillo de fenilo adyacente al grupo metilpiperazilina del imatinib.



A pesar de la alta eficacia del imatinib, muchos pacientes presentaron resistencias al tratamiento las cuales en un 40-50% eran debidas a mutaciones en el dominio de unión del ATP. Por este motivo se desarrollaron fármacos de segunda generación mediante un diseño racional a partir de la estructura del imatinib, sobre la cual se introdujeron pequeños cambios en la molécula para dar lugar al Nilotinib. Los grupos 3-metilimidazol y trifluorometilo proporcionan interacción con un bolsillo adicional en la diana dando lugar a una mejora en la potencia y selectividad.



\*Figura 2: Sitio de unión del nilotinib con bcr-abl.

Nilotinib es capaz de inhibir todas las formas mutadas de la BCR-ABL excepto una: la mutación T315I en la cual la Treonina 315 se cambia por una Isoleucina. Este aminoácido además de no formar enlace de hidrógeno con la anilina provoca una repulsión estérica entre el voluminoso grupo sec-butilo del nuevo aminoácido con el grupo metilo de la misma anilina, consecuentemente se reduce la afinidad de unión dando lugar al fracaso terapéutico. [18] Esta mutación supone el 20% de las mutaciones de BCR-ABL y hasta entonces no se encontró ningún compuesto que inhibiera este tipo de proteína mutante. [19]

El problema de la repulsión estérica se solucionó introduciendo un conector acetileno dando lugar al ponatinib (3ª generación). Este cambio supuso un aumento en la rigidez de la molécula, con ello, por una parte, se reduce la repulsión estérica y por otra, se potencia la actividad del fármaco debido a una reducción de la entropía. Para solucionar el problema de la repulsión estérica, se introdujo un conector acetileno, lo cual supuso un incremento en la rigidez de la molécula resultando en una reducción del impedimento

estérico y además permite nuevas interacciones de Van der Waals con la Ile315 y la Phe382. A día de hoy, el ponatinib es el único tratamiento disponible para la mutación T315I. [18] A pesar de ser el primer compuesto capaz de inhibir la BCR-ABL T315I y de presentar la mayor potencia de inhibición, este compuesto presenta numerosos efectos adversos a nivel cardiovascular por lo que fue temporalmente retirado del mercado en octubre de 2013. [20]

Otra forma de inhibición es la alostérica. En el caso de la diana que nos ocupa, se une al sitio de unión del miristato, produciendo un cambio conformacional que impide la unión del ligando con el receptor, y por tanto, se inhibe la acción. Este tipo de inhibición es más selectiva debido a que estos dominios no están tan conservados y son más específicos de cada enzima en concreto. Por este motivo, estos fármacos esperan tener menos efectos adversos que los tradicionales. El primero fármaco desarrollado en este grupo fue el GNF-2. Posteriormente se realizaron modificaciones para mejorar los aspectos biofarmacéuticos de la molécula (GNF-5). Por otra parte GNF-2 era incapaz de inhibir la mutación T315I por sí sólo, pero sí lo hace en combinación con imatinib. GNF-7 es el primero de los inhibidores alostéricos que es capaz de inhibir la mutación T315I por sí sólo. Este tipo de compuesto compitió con el ponatinib en la búsqueda de una estrategia para tratar la mutación T315I. Se ha visto que la combinación de un inhibidor alostérico junto con un ATP mimético es sinérgica, por lo que este tipo de combinaciones siguen siendo objeto de investigación hoy en día. [21]

Aprovechando el conocimiento actual de la diana farmacológica (estructura 3D, modo de unión del ligando etc...) junto con las herramientas computacionales, se deben desarrollar nuevos fármacos que se unan de manera eficaz a todas las variantes de la TK y presenten mejores perfiles de seguridad. Por este motivo en esta revisión se analizarán trabajos que hayan usado el modelado molecular para descubrir nuevas moléculas capaces de inhibir la BCR-ABL.

## OBJETIVOS

- Profundizar en los conocimientos del modelado molecular aplicado al descubrimiento de fármacos.
- Analizar el uso de métodos computacionales para identificar nuevos compuestos capaces de inhibir bcr-abl para el tratamiento de la LMC.

## METODOLOGÍA

A través de una búsqueda bibliográfica en bases de datos como PubMed y Google Scholar, se seleccionaron artículos que utilizaran herramientas computacionales para descubrir nuevos inhibidores de Bcr-Abl. Para ello se introdujeron en los canales de búsqueda los términos, “docking CML compounds”, “bcr-abl allosteric inhibitors docking”, y “T315I mutant BCR-ABL”, “CML virtual screening compound”.

Los criterios de selección de los artículos fueron:

- a) Publicados desde el 2014.
- b) Publicados en cualquier país, en inglés.
- c) Artículos que usen herramientas computacionales en el descubrimiento de nuevos compuestos inhibidores de BCR-ABL.

Los artículos que no cumplieron los requisitos fueron descartados. Las principales razones fueron:

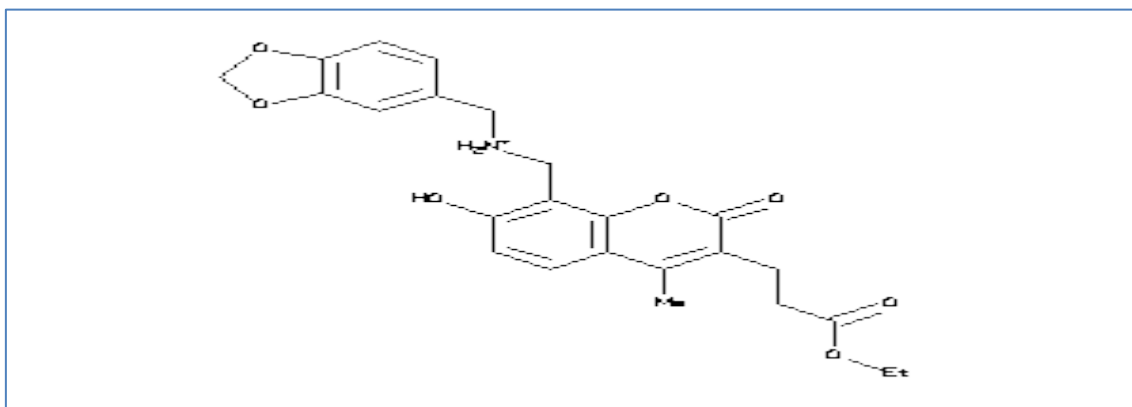
- Describen actividades terapéuticas o usos clínicos de los fármacos, no se basan en descubrimiento.
- Se realizaron en años anteriores a 2014.
- Describen un proceso de cribado virtual de otros fármacos.

## RESULTADOS

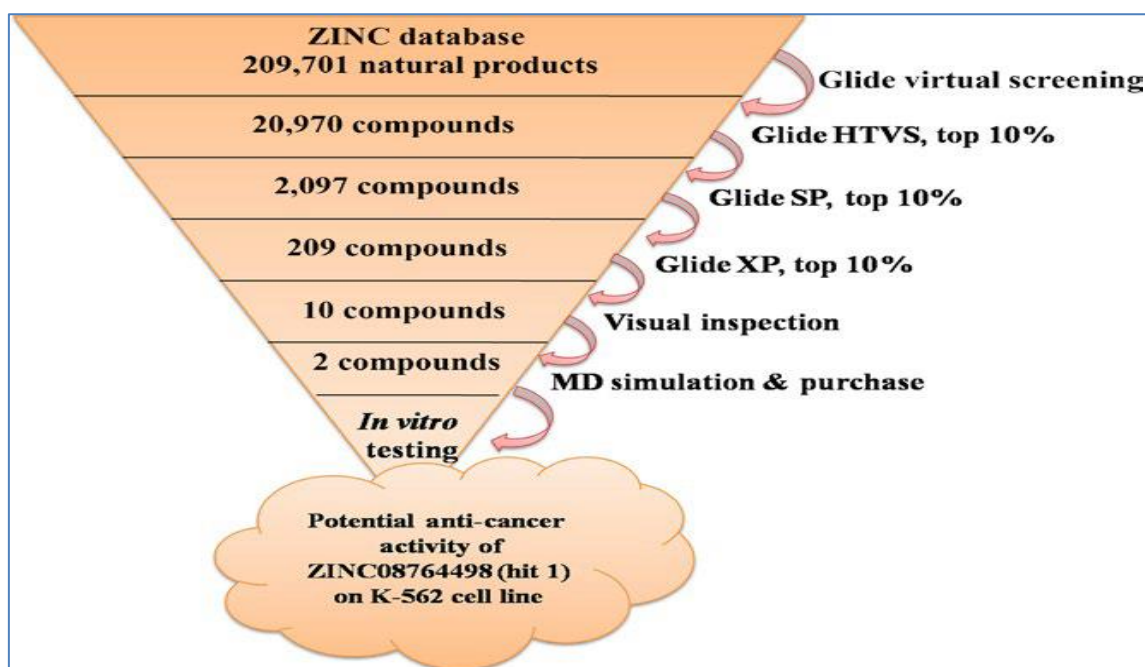
Únicamente cinco artículos cumplieron los requisitos para la realización de este trabajo. Los cinco utilizan herramientas computacionales en el descubrimiento de nuevos fármacos que inhiben la bcr-abl. Tres artículos se centran en la proteína mutada (T315I y T334I). Uno se centra en el descubrimiento de compuestos naturales con actividad sin hacer distinción de proteína mutada o salvaje. El último usa herramientas computacionales con el propósito de identificar nuevas indicaciones terapéuticas de fármacos ya aprobados para usarlos en combinación con imatinib.

## DISCUSIÓN

En un screening de 209.701 compuestos naturales (ZINC) se seleccionaron 2 compuestos cumarínicos tras someterse a un cribado computacional. De los compuestos sólo 1 (ZINC 08764498) superó los ensayos de actividad in vitro produciendo citotoxicidad selectiva en líneas celulares K-562 (que sobreexpresan bcr-abl). [22]

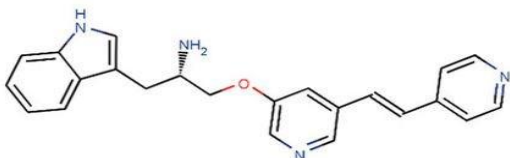

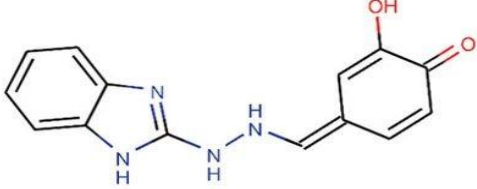
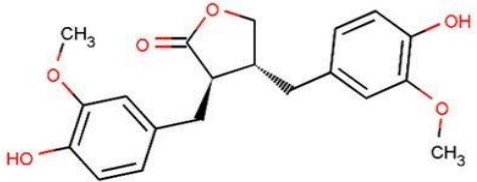
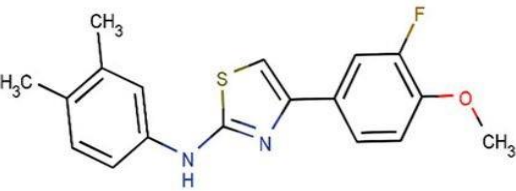


\*Figura 3: Estructura química de ZINC 08764498. [ZINC DATABASE]

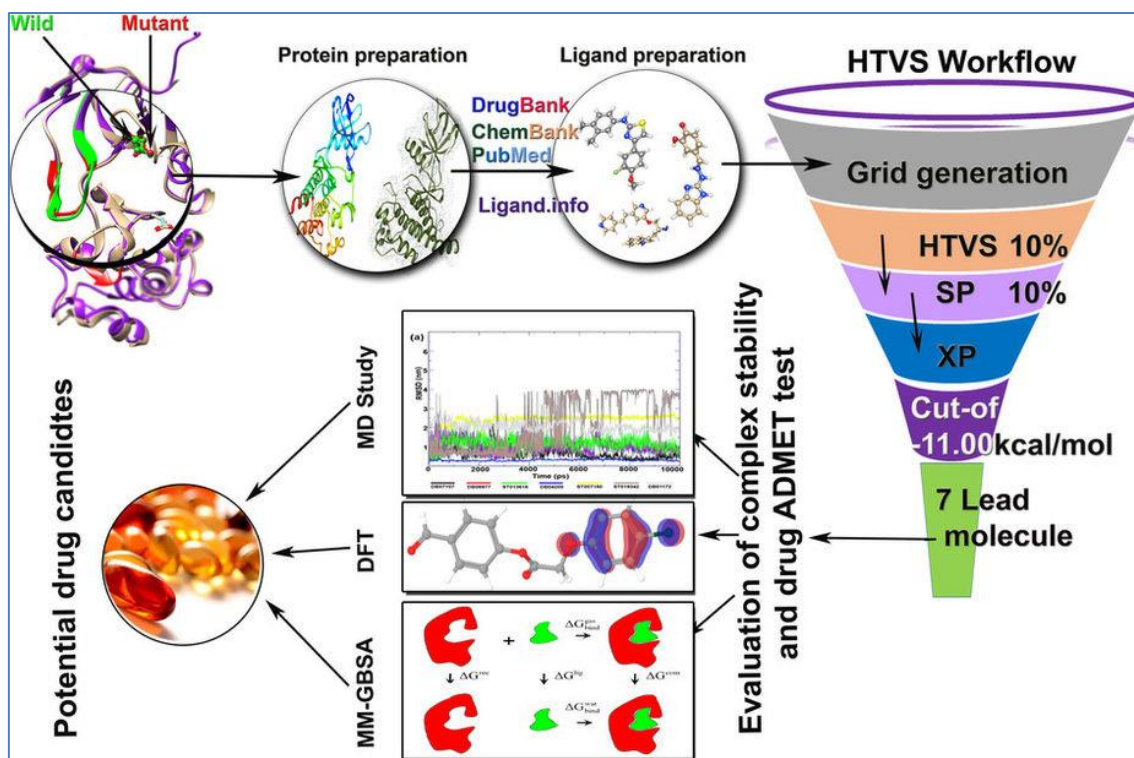


\*Figura 4: Esquema de trabajo de Parcha et.al.

En otro trabajo publicado por Naick et al. Se realiza un screening con el objetivo de encontrar moléculas capaces de inhibir la bcr-abl T315I con mayor potencia que el ponatinib. Se realizó un cribado de 36,481 moléculas. Posteriormente se estableció como punto de corte la puntuación obtenida en el docking de ponatinib con la diana mutada. El resultado de este ensayo *in silico* fueron 7 compuestos que tienen mayor afinidad de unión que el ponatinib hacia la T315I mutante. No obstante tras los análisis DFT, MD y de MM-GBSA se descartaron 2 compuestos dado que presentaban inestabilidad de unión con la diana farmacológica. Los 5 compuestos resultantes se muestran a continuación. [11]

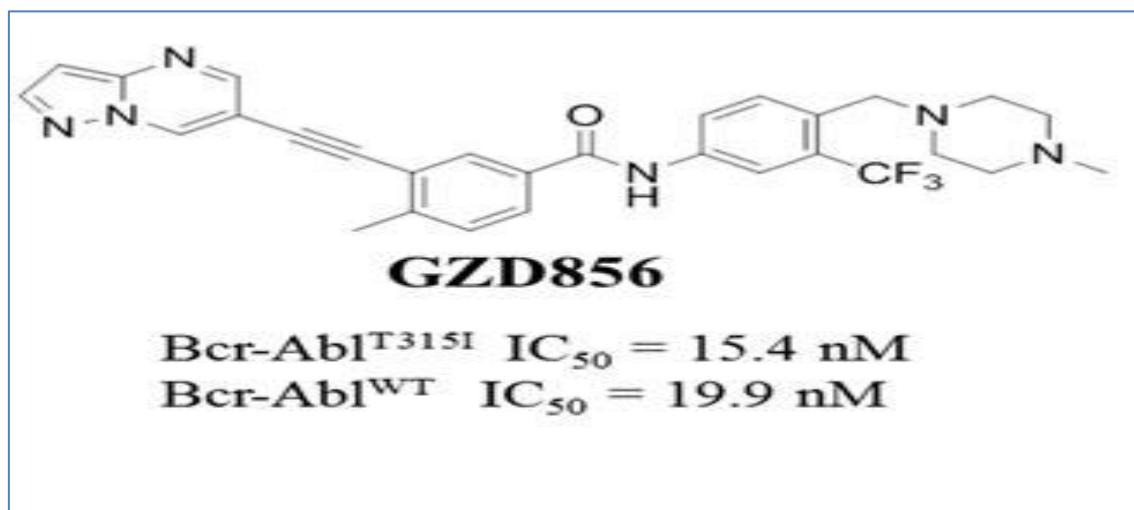
Ligand-ID	Chemical formula	Mol. Wt.	2D-Structure
1. DB07107	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O	370.447	
2. DB06977	C <sub>23</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O	383.446	
3. ST013616	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	268.270	
4. DB04200	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	358.385	
5. ST007180	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> OS	328.403	

\*Figura 5: Estructuras recomendadas para posteriores investigaciones, Naick et al.



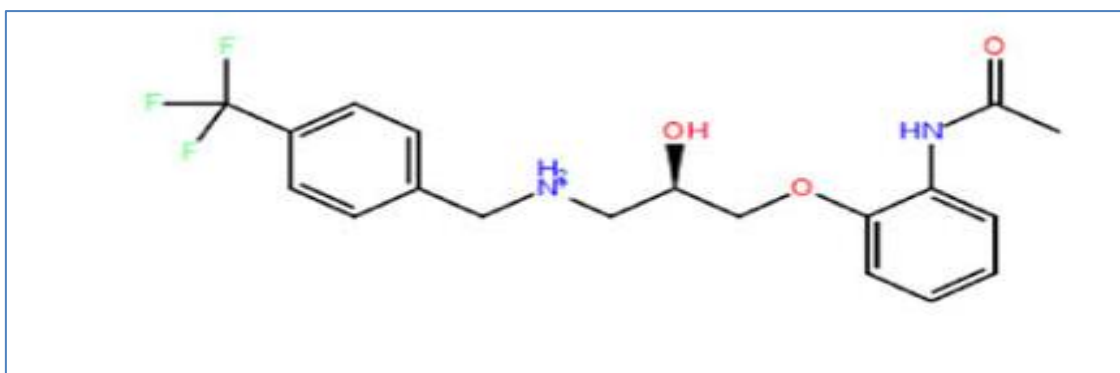
\*Figura 6: Esquema de trabajo de Naick et al.

Otro trabajo usó herramientas computacionales para realizar un “scaffold hopping” basado en el ponatinib con el fin de aumentar la actividad frente a la proteína mutada T315I. Se realizaron también ensayos *in vitro* e *in vivo* que apoyaron la posibilidad de usar este nuevo compuesto en el arsenal terapéutico. [23]

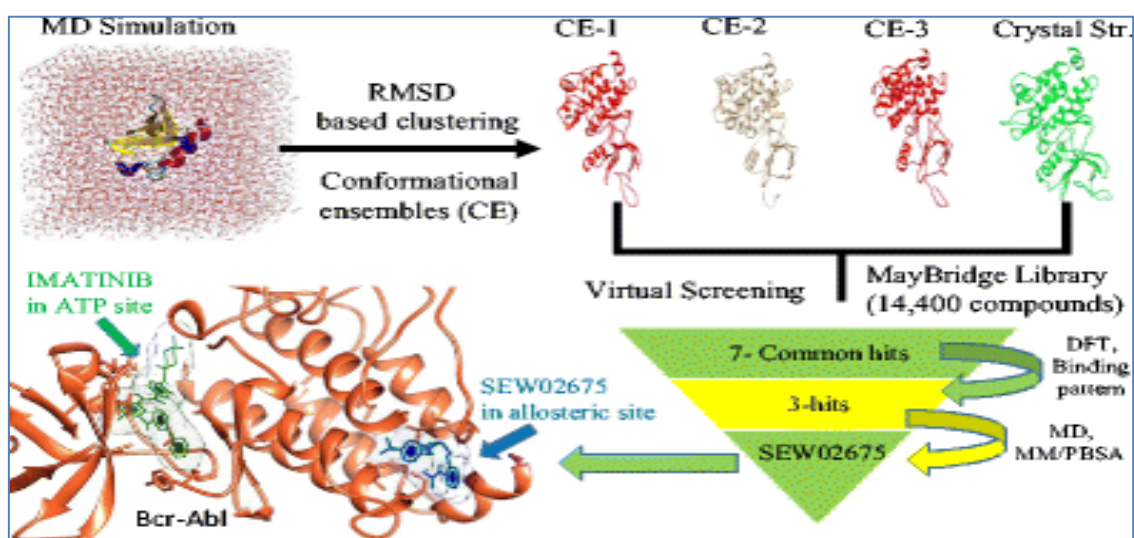


\*Figura 7: Estructura química y actividad in vitro de GZD856. Xiaoyun et al.

Por otra parte, los trabajos relacionados con los inhibidores alostéricos señalan otros compuestos potenciales inhibidores de bcr-abl. Con el objetivo de encontrar inhibidores alostéricos más potentes que GNF-2 se realizó un “ensemble-based virtual screening” de 14.400 compuestos. Se seleccionaron 7 que poseían una afinidad de unión superior al compuesto estándar (GNF-2) en todas las conformaciones presentadas. Tras el análisis DFT y de patrón de unión se descartaron 4. Por último, se realizó un MD y MM/PBSA tras los cuales sólo el compuesto **SEW02675** resultó tener mejores propiedades de unión que GNF-2. También se observó que, en presencia de este inhibidor, el imatinib se une con más fuerza al sitio de unión de ATP que sin él. Por tanto, se conjetura que SEW02675 podría tener beneficios clínicos en combinación con imatinib produciéndose una mejora de la eficacia del tratamiento tanto para la proteína salvaje como la mutada T334I. [24]

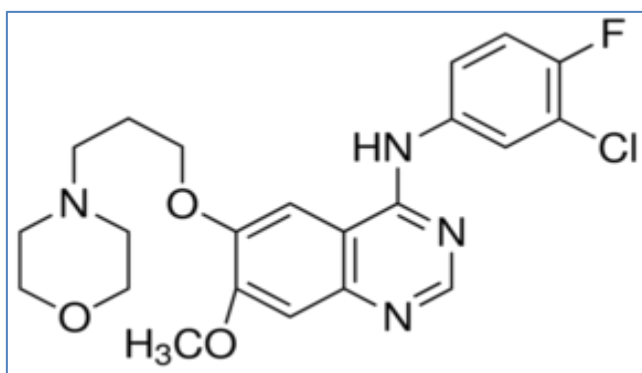


\*Figura 8: Estructura química de SEW02675. Vivek et al.



\*Figura 9: Esquema de trabajo de Vivek et al.

Gracias a la acción sinérgica de GNF-2 (alostérico) con inhibidores ATP-miméticos evidenciada por distintos estudios se propuso encontrar inhibidores alostéricos de bcr-abl dentro de los fármacos ya aprobados para su uso clínico. Este tipo de trabajos se conocen como “drug repurposing” de manera, que se usando herramientas computacionales se descubren nuevas indicaciones de fármacos ya aprobados. Así fue como Vivek Kumar et al, propusieron un cribado virtual basándose en la estructura cristalizada de GNF-2 con bcr-abl. En el estudio se comprobó que, de los 86 compuestos resultantes del cribado, el gefitinib presento el mejor perfil de acción sinérgica con imatinib. Posteriormente la acción sinérgica se comprobó con ensayos *in vitro* con ensayos de líneas celulares (K562) obteniéndose resultados favorables. [25]



\*Figura 10: Estructura química del gefitinib. Vivek et. al.

## CONCLUSIÓN

1. Se ha profundizado en el conocimiento del modelado molecular aplicado al descubrimiento de fármacos dejando claro que requiere de un conjunto de procesos y programas para aumentar la precisión del cribado.
2. A través de métodos computacionales se han encontrado diferentes moléculas, ya sean naturales o sintéticas, capaces de inhibir bcr-abl y, por tanto, con un potencial uso terapéutico en LMC.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Ganellin CR, Jefferis R, Roberts SM (2013). "**The small molecule drug discovery process — from target selection to candidate selection**". Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development: theory and case studies. Elsevier.



- [2]. Pouplana R.; Barril X.; Luque F. J. (2009). **“Química computacional en diseño de fármacos”**. LifeSciencesLab; (003): 28-31.
- [3]. Smith, S. J.; Sutcliffe B. T., (1997). **"The development of Computational Chemistry in the United Kingdom"**. Reviews in Computational Chemistry 70: 271 – 316
- [4]. Greer J, Erickson JW, Baldwin JJ, Varney MD (1994). **"Application of the three-dimensional structures of protein target molecules in structure-based drug design"**. Journal of Medicinal Chemistry. 37 (8): 1035–54.
- [5]. de Azevedo WF, Dias R (2008). **"Computational methods for calculation of ligand-binding affinity"**. Current Drug Targets. 9 (12): 1031–9.
- [6]. Jain AN (2006). **"Scoring functions for protein-ligand docking"**. Current Protein & Peptide Science. 7 (5): 407–20.
- [7]. Ain, Qurrat Ul; Aleksandrova, Antoniya; Roessler, Florian D.; Ballester, Pedro J. (2015). **"Machine-learning scoring functions to improve structure-based binding affinity prediction and virtual screening"**. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science. 5 (6): 405–424.
- [8]. John J. Irwin and Brian K. Shoichet. (2016). **“Docking Screens for Novel Ligands Conferring New Biology”**. J Med Chem. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b02008.
- [9]. Hyun-Hwi Kim, Ja-Shil Hyun, Joonhyeok Choi, Kwang-Eun Choi, Jun-Goo Jee & Sung Jean Park. (2018). **“Structural ensemble-based docking simulation and biophysical studies discovered new inhibitors of Hsp90 N-terminal domain”**. *Scientific Reports* volume 8, Article number: 368
- [10]. John J. Irwin\* and Brian K. Shoichet (2017). **“Docking Screens for Novel Ligands Conferring New Biology”**. J Med Chem. 12; 59(9): 4103–4120. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b02008.
- [11]. Hemanth Naick Banavath, Om Prakash Sharma, Muthuvel Suresh Kumar & R. Baskaran. (2014). **“Identification of novel tyrosine kinase inhibitors for drug**
-

**resistant T315I mutant BCR-ABL: a virtual screening and molecular dynamics simulations study**". Scientific Reports volume4, Article number: 6948

[12]. Pronk S, Páll S, Schulz R, et al. (2013). **"GROMACS 4.5: a high-throughput and highly parallel open source molecular simulation toolkit"**. Bioinformatics. 2013;29(7):845-854. doi:10.1093/bioinformatics/btt055.

[13]. Breccia, M.; Alimena, G. (2010). **"Nilotinib: a second-generation tyrosine kinase inhibitor for chronic myeloid leukemia"**. Leukemia research.

[14]. Jabbour E, Kantarjian H. (2018). **"Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring"**. Am J Hematol. 2018;93:442–459.

[15]. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures (2017). Atlanta: American Cancer Society; 2017.

[16]. Manley, P.; Stiefl, N.; Cowan-Jacob, S.; Kaufman, S.; Mestan, J.; Wartmann, M.; Wiesmann, M.; Woodman, R.; Gallagher, N. (2010). **"Structural resemblances and comparisons of the relative pharmacological properties of imatinib and nilotinib"**. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 18 (19): 6977–6986.

[17]. Jorg Thomas Hartmann, Michael Haap, Hans-Georg Kopp, Hans-Peter Lipp. (2009). **"Tyrosine Kinase Inhibitors – A Review on Pharmacology, Metabolism and Side Effects"**. Current drug metabolism.

[18]. Zhou, T.; Commodore, L.; Huang, W.-S.; Wang, Y.; Thomas, M.; Keats, J.; Xu, Q.; Rivera, V. M.; Shakespeare, W. C.; Clackson, T.; Dalgarno, D. C.; Zhu, X. (2011). **"Structural mechanism of the pan-BCRABL inhibitor ponatinib (AP24534): lessons for overcoming kinase inhibitor resistance"**. Chem. Biol. Drug Des. 77, 1-11

[19]. O'Hare, T et al. (2009). **"AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance"**. Cancer Cell.16, 401-412

[20]. **"FDA asks manufacturer of the leukemia drug Iclusig (ponatinib) to suspend marketing and sales"**. FDA Drug Safety Communication. U.S. Food and Drug Administration. 2013-10-31.

[21]. Anna Lucia Fallacara, Cristina Tintori, Marco Radi, Silvia Schenone, and Maurizio Botta. (2014). **“Insight into the Allosteric Inhibition of Abl Kinase”**. ACS Journal of Chemical information and modeling. [dx.doi.org/10.1021/ci500060k](https://doi.org/10.1021/ci500060k) .

[22]. Parcha P, Sarvagalla S, Madhuri B, et al. (2017). **“Identification of natural inhibitors of Bcr-Abl for the treatment of chronic myeloid leukemia”**. *Chem Biol Drug Des.* 2017; 90:596–608. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12983>

[23]. Xiaoyun Lu, Zhang Zhang, Xiaomei Ren, Deping Wang & Ke Ding (2017). **“Synthesis and identification of GZD856 as an orally bioavailable Bcr-AblT315I inhibitor overcoming acquired imatinib resistance”**. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32:1, 331-336. DOI: 10.1080/14756366.2016.1250757

[24]. Vivek Kumar Singh & Mohane Selvaraj Coumar1 (2017). **“Ensemble-based virtual screening: identification of a potential allosteric inhibitor of Bcr-Abl”**. *J Mol Model* 23: 218. DOI 10.1007/s00894-017-3384-y.

[25]. Vivek Kumar Singha, Hsin-Huei Chang, Ching-Chuan Kuob, Hui-Yi Shiao, Hsing-Pang Hsieh and Mohane Selvaraj Coumara. (2016). **“Drug repurposing for chronic myeloid leukemia: in silico and in vitro investigation of DrugBank database for allosteric Bcr-Abl inhibitors”** *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. <http://dx.doi.org/10.1080/07391102.2016.1196462>.



