

Artículo original

Reposicionamiento de fármacos identificados por métodos computacionales (SBVS), para su uso como terapias contra el cáncer

Carranza-Aranda A.S. (1), Segura-Cabrera A. (2), Cárdenas-Vargas A. (3), Herrera-Rodríguez S. E. (4).

(1) Maestra en Ciencias en Innovación Biotecnológica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C (CIATEJ); (2) Doctor en Ciencias (European Bioinformatics Institute); (3) Doctora en Farmacología, Posdoctorado (CIATEJ) Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica (UBMyF); (4) Investigador Titular, CIATEJ-UBMyF.

Resumen

Introducción: Desde los años 80s el cribado de alto rendimiento (HTS) es el método estándar para el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos, se lleva a cabo mediante pruebas experimentales al evaluar la acción que ejercen sobre los sistemas vivos. Sin embargo, requiere de proceso largo, costoso y al final un bajo índice de moléculas son aprobadas para uso clínico. A la fecha, existe una alternativa al HTS, utiliza herramientas bioinformáticas, tamizaje virtual basado en la estructura proteica (SBVS) y reposicionamiento virtual de fármacos. El reposicionamiento virtual tiene gran impacto pues permite identificar nuevos usos de un medicamento ya aprobado, lo que reduce significativamente los costos y el tiempo de investigación, permitiendo así encontrar nuevos tratamientos para enfermedades relevantes como el cáncer. **Objetivo:** Evidenciar la aplicabilidad del uso de las herramientas bioinformáticas en conjunto con la metodología del reposicionamiento virtual, para identificar y así proponer nuevos tratamientos potenciales antitumorales. **Resultados y conclusión:** Dado que los tratamientos actuales contra diferentes tipos de cáncer presentan baja eficiencia o bien, pueden desencadenar resistencia en el tumor, se han realizado análisis para el reposicionamientos de fármacos contra cáncer como: de próstata, mama, colon, glioma y cervicouterino. La metodología SBVS ha demostrado ventajas tal es el caso de astemizol en cáncer de mama y risperidona en cáncer de próstata pues se han propuesto tratamientos antitumorales. Por lo tanto, en este trabajo se expone la importancia y el uso de tecnologías computacionales basado en la estructura proteica (SBVS) para el reposicionamiento de fármacos con potencial de nuevo uso como agentes terapéuticos antitumorales, con un enfoque práctico para su posible utilización en el sector salud.

Palabras clave: Reposicionamiento de fármacos, docking, cáncer.

Abstract

Introduction: Since the 80s high performance screening (HTS) is the standard method for the development and discovery of new drugs, it is carried out by experimental tests to evaluate the action they exert on living systems. However, it requires a long, expensive process and in the end a low index of molecules are approved for clinical use. To date, there is an alternative to HTS, it uses bioinformatics tools, virtual screening based on protein structure (SBVS) and virtual repositioning of drugs. Virtual repositioning has a great impact because it allows the identification of new uses of an already approved medicine, which significantly reduces the costs and time of research, thus allowing new treatments to be found for relevant diseases such as cancer. **Objective:** To demonstrate the applicability of the use of bioinformatics tools in conjunction with the methodology of virtual repositioning, to identify and thus propose new potential anti-tumor treatments. **Results and conclusion:** Since the current treatments against different types of cancer have low efficiency or may cause resistance in the tumor, analyzes have been carried out to reposition cancer drugs such as: prostate, breast, colon, glioma and cervical. The SBVS methodology has shown advantages such as astemizol in breast cancer and risperidone in prostate cancer as antitumor treatments have been proposed. Therefore, in this work the importance and use of computational technologies based on protein structure (SBVS) for the repositioning of drugs with potential for new use as therapeutic anti-tumor agents, with a practical approach for their possible use in the Health sector.

Keywords: Drug repositioning, docking, cancer.

Recibido: 09/06/2018

Aceptado: 18/01/2019

Introducción

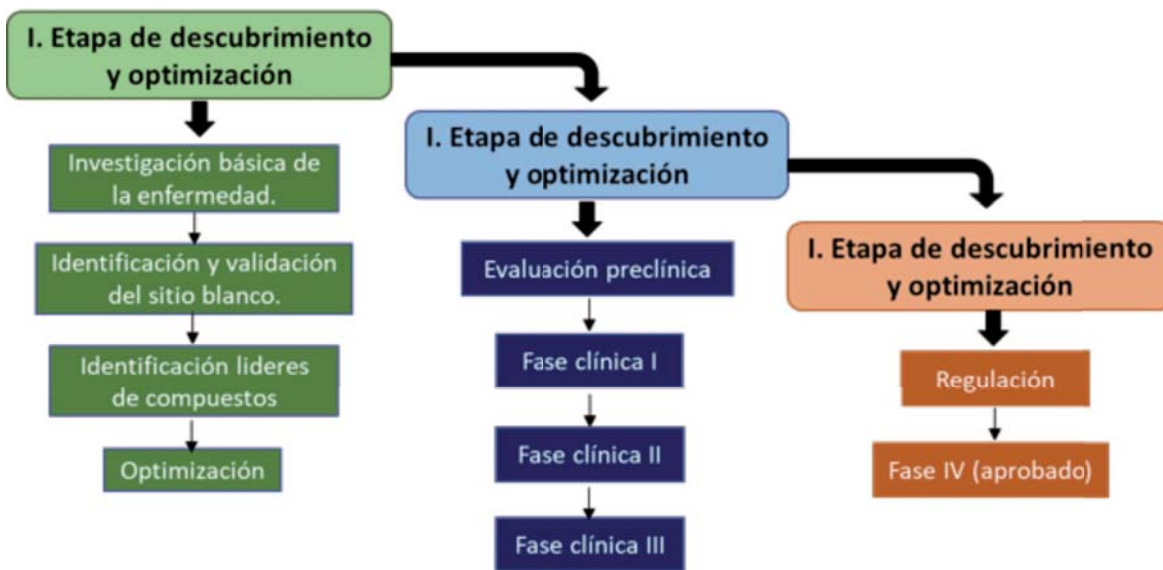
El descubrimiento de nuevos fármacos o agentes terapéuticos es relevante para el sector salud pues uno de sus objetivos es contribuir a mejorar la salud de la población, ya sea al buscar o diseñar un medicamento para establecer tratamientos eficaces que permitan incidir en la terapia y mejorar la calidad de vida de los pacientes.¹

Descubrimiento de nuevos fármacos, metodología HTS
La forma convencional para identificar y diseñar fármacos es el cribado de alto rendimiento (HTS). El

método se basa en buscar, aislar y diseñar nuevos agentes terapéuticos a partir de bibliotecas de compuestos con actividad biológica, realizando ensayos miniaturizados (*in vitro* e *in vivo*) y el análisis de datos a gran escala en los cuales evalúan la eficiencia, afinidad y seguridad de las moléculas evaluadas.²⁻⁴

El proceso consta de tres grandes etapas, que va desde el descubrimiento y optimización, donde se hace la identificación de la enfermedad o blanco farmacológico; la etapa de desarrollo con las evaluaciones pre-clínica y clínica; por último, la comercialización del fármaco.⁵⁻⁸ (Fig. 1).

Figura 1.
Proceso de obtención, validación y comercialización de fármacos (Figura original)



Este método presenta diversas limitaciones, ya que se requiere de una gran cantidad de compuestos bioactivos, que en ocasiones son difíciles de obtener, durante la evaluación del mismo se pueden presentar falsos positivos (evaluación de moléculas inactivas que prevén que puedan ser activas durante la experimentación) como falsos negativos (no detección de moléculas aptas), por lo que el éxito de los ensayos es variable.² Además, se requiere de una gran infraestructura para almacenar los compuestos bioactivos de las bibliotecas, como también para la realizar los ensayos experimentales. Por ello, el cribado de alto rendimiento (HTS) es un proceso que toma tiempo, de costo elevado (1 a 2 billones por cada fármaco aprobado), en consecuencia, el precio en que

adquieren los medicamentos los pacientes suele ser alto.^{2,4}

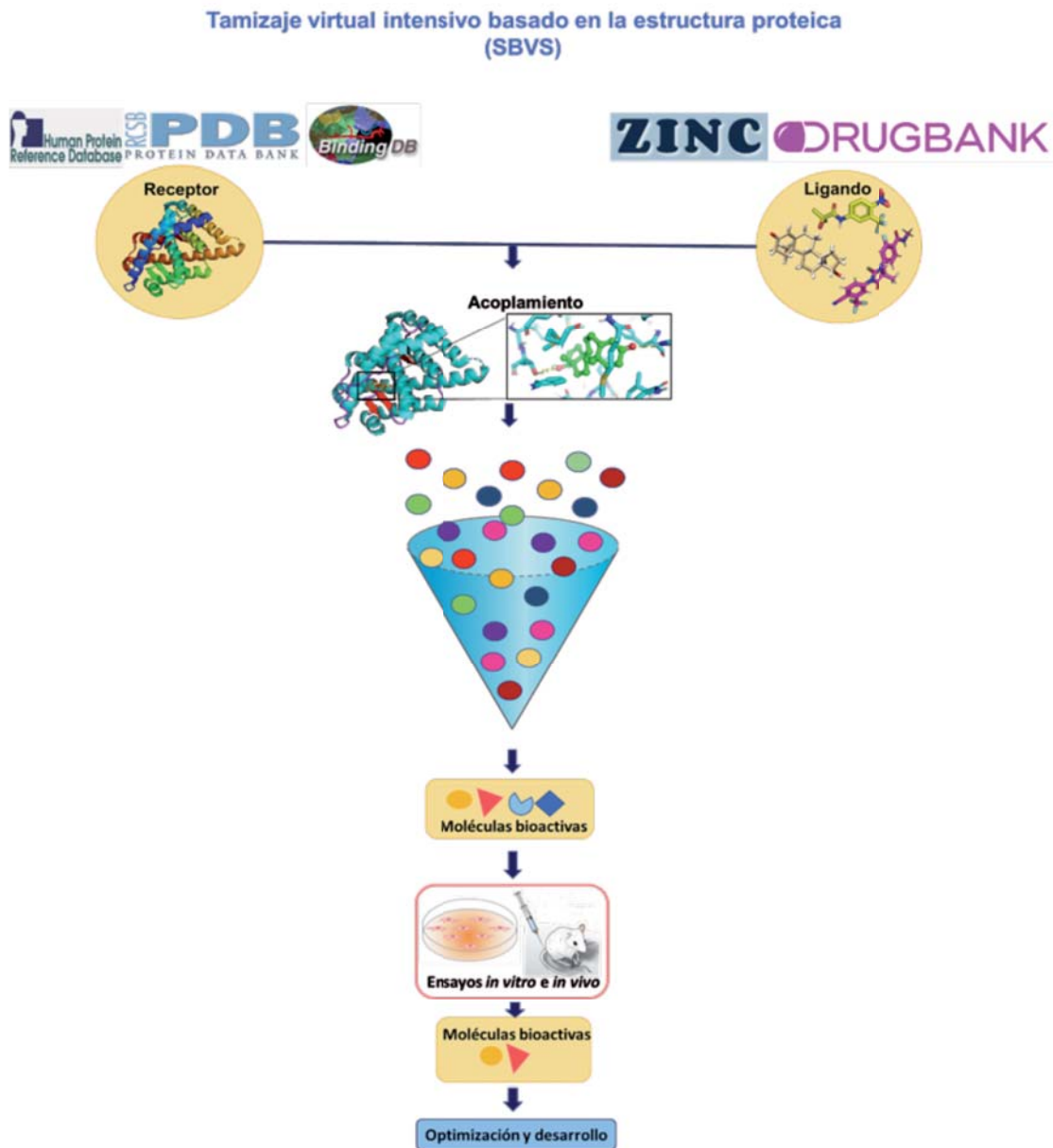
Tamizaje virtual intensivo basado en la estructura proteica (SBVS)

A pesar de sus limitaciones el método de HTS es el método más utilizado por la industria farmacéutica. Lo que se ha llevado al desarrollo de métodos alternativos basados en estrategias computacionales también conocidas como metodologías *in silico*, permiten seleccionar candidatos terapéuticos a partir grandes bibliotecas de compuestos activos, lo que mejora el método de diseño y uso racional de moléculas farmacéuticas.^{2,4} Una de las metodologías computacional o *in silico* es la metodología tamizaje virtual intensivo basado en la estructura proteica (SBVS), se

utiliza principalmente para identificar nuevos compuestos bioactivos, para hacer modificaciones en la estructura de las moléculas y para buscar la conformación y posición óptima basada en su ligando con su blanco molecular.^{4,6} Actualmente, el SBVS se usa para predecir la unión de un ligando con su receptor mediante el uso de grandes

bases de datos. Para ello, el conocimiento estructural de las proteínas y sus respectivos ligandos favorece a mejorar la potencia y selectividad farmacológica y facilita la identificación de compuestos líder para que sean evaluados mediante ensayos tradicionales del método HTS^{9,10} (Fig. 2).

Figura 2.
Diagrama general del proceso del Tamizaje Virtual Intensivo basado en la estructura proteica (SBVS) (Figura original)



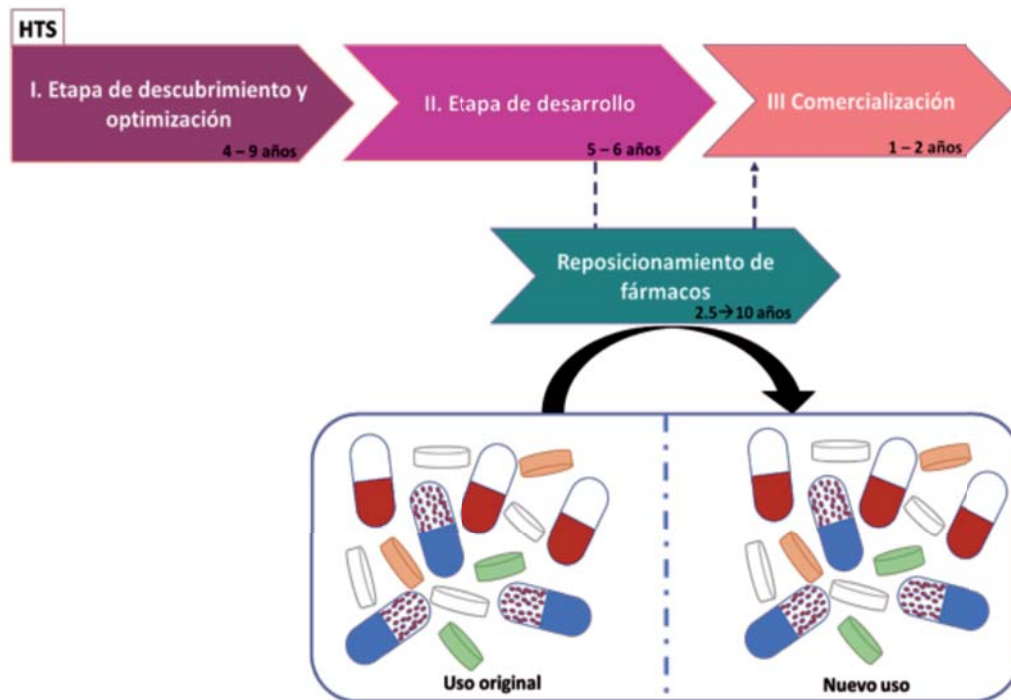
Reposicionamiento de fármacos por tamizaje virtual

Un área de diseños de fármacos por tamizaje virtual (SBVS) que han tomado relevancia, es el reposicionamiento virtual de fármacos, el cual acelera el proceso de descubrimiento de nuevos usos de agentes terapéuticos existentes (ya probados y seguros), lo cual, reduce significativamente el costo y tiempo en su desarrollo (de 40-80 millones en 3 a 12 años, por cada fármaco).¹¹ Debido a que los fármacos evaluados por esta alternativa han pasado por las diversas

etapas del desarrollo clínico, por lo tanto, ya se conocen los perfiles de seguridad y farmacocinética, lo que reduce el riesgo en comparación con otras estrategias.^{5,7,12,13} Aunque existen diferentes estrategias para la selección de fármacos para su reposicionamiento, una de tantas está basado en el conocimiento previo, otra por serendipia o ensayos HTS, a diferencia, el reposicionamiento virtual tiene un enfoque racional, exhaustivo y sistemático¹² (Fig. 3).

Figura 3.

Visión general del reposicionamiento de fármacos, comparado con el proceso HTS (Figura original)



La reasignación de un nuevo uso a un fármaco se puede implementar desde dos puntos de vista, al hacer un reposicionamiento a nuevas dianas proteicas (reposicionamiento de diana) o bien utilizarse enfocando la acción hacia otro objetivo (reposicionamiento de la enfermedad), utilizando enfoques de similitud química y funcional.^{10,14}

Docking o reconocimiento molecular

El reposicionamiento virtual de fármacos mediante SBVS, consiste en identificar fármacos o moléculas a fines de una estructura proteica de interés, como receptores y enzimas, con la finalidad de mejorar interacción y la afinidad entre dichas moléculas, lo cual puede desencadenar una acción inhibitoria o regulatoria, según corresponda, en la vía de acción del

blanco molecular. Para la identificación de interacciones moleculares entre una molécula o fármaco con una proteína blanco de interés, de forma virtual, se emplea el método denominado como docking o acoplamiento molecular.²

La técnica de docking es una alternativa de análisis de ensayos de gran magnitud a los realizados en laboratorios farmacéuticos mediante pruebas de laboratorio. Esta técnica es realizada de forma rápida con alta eficiencia en la selección de moléculas o fármacos con potencial farmacéutico. Además, se ha empleado en las etapas de identificación del sitio blanco, así como de la construcción y evaluación de los complejos resultantes, lo cual favorece la identificación de fármacos con alto potencial de un nuevo uso diferente al primer uso.¹⁴

El análisis de acoplamiento molecular (docking) se realiza en poco tiempo y permite calcular las interacciones entre la proteína blanco con ligandos de interés, con lo cual, es posible analizar de entre 10,000 a 100,000 ligandos inclusive en un solo día a una semana. En las conformaciones resultantes (proteína/ligando) del docking, se evalúa tanto la interacción como de la presentación de los complejos, esto mediante una puntuación, con lo cual se puede clasificar la energía de la interacción en cada conformación.² Sin embargo, para que esto se lleve a cabo, se debe disponer de estructuras tridimensionales tanto de la proteína blanco como de los ligandos (moléculas farmacéuticas) a evaluar. Existen bases de datos libres y privadas con un gran número de compuestos farmacéuticos, la más conocida es: ZINC,¹⁵ de igual forma para la obtención de estructuras tridimensionales de las proteínas blanco existe la base de datos Protein Data Bank (PDB), Protein-NCBI, entre otros.¹⁵

Etapas de la metodología de docking

Los ensayos de docking consta de tres etapas claves, cada una de ellas con una serie de pasos.^{4,16} (Fig. 4):

Primera etapa:

- Obtención e identificación de la estructura tridimensional del blanco, en las bases de datos de estructuras tridimensionales de proteínas (Protein Data Bank).
- Fase de preparación molecular, las adecuaciones más comunes que se hacen son: adición de átomos de hidrogeno, los cuales no son detectados por la técnica de difracción de rayos X o cristalografía, eliminación de moléculas de agua que esta unidas a la superficie proteica, al igual la remoción de ligandos extras que se encuentren en la estructura tridimensional, y por último, la adición cargas con base en su composición de aminoácidos, lo cual es clave para obtener esquemas de puntuación durante el docking, esto se asigna de acuerdo con el pH de la simulación y la composición de la proteína.
- Identificación del sitio de unión en el blanco, para esto se debe tomar en cuenta toda la información experimental sobre la proteína blanco, para seleccionar solo una cavidad de toda la estructura para el estudio. Dicha cavidad debe de tener un tamaño óptimo en el que pueda unirse sus ligandos naturales (si es enzima o receptor). La

elección correcta del sitio es clave, ya que cualquier molécula que se una a este sitio, puede impedir la función biológica correcta de la proteína.

Segunda etapa:

- Búsqueda y obtención de ligandos (moléculas terapéuticas) a fines al sitio determinado, para que puedan actuar como ligandos.
- Preparación molecular de ligandos, al igual que la proteína blanco, las moléculas a evaluar también son sometidas a adecuaciones como presentar una estructura tridimensional, adición de átomos de hidrógeno y asignación de cargas atómicas para cada átomo que constituyen al compuesto.

Tercera etapa:

- Formación de complejos proteína blanco-ligandos y evaluación de los complejos formados.
- Análisis y validación de resultados, con base en puntuación de afinidad.

Las adecuaciones moleculares tanto de la proteína blanco como de los ligandos evaluados, por su complejidad existen algoritmos en los programas que realizan docking de forma automática y eficiente, para que el acoplamiento molecular sea óptimo. Al igual que las bases de datos, los programas para hacer simulaciones moleculares existen tanto de libre acceso y privadas (Surflex,¹⁷ LigandFit,¹⁸ Glide,¹⁹ GOLD,²⁰ FlexX,²¹ eHiTS²² and AutoDock).^{23, 4,15}

Todo esto se hace con la finalidad de mimetizar computacionalmente el entorno que se presenta comúnmente al interior de las células y así lograr una predicción sobre las interacciones que ocurrirían en un modelo *in vitro* o *in vivo*.

Fármacos que fueron reposicionados

Los primeros casos de reposicionamiento de fármacos fueron por serendipia o por observaciones clínicas de los efectos fisiológicos favorables para un diferente uso que para el padecimiento que se administraba,^{12,14} ejemplo, el uso de Sildenafil para tratar la disfunción eréctil, el cual fue creado para la enfermedad de angina de pecho.²⁴ Otro caso es la Talidomida, actualmente se usa como tratamiento en leprosis y el mieloma múltiple, originalmente indicado para tratar embarazo antiemético, sin embargo, causo efectos secundarios, malformación en el desarrollo de los fetos,^{25,26} así existen otros^{7, 13, 27} (Tabla 1).

Figura 4.
Etapas de la metodología Docking (Figura original)

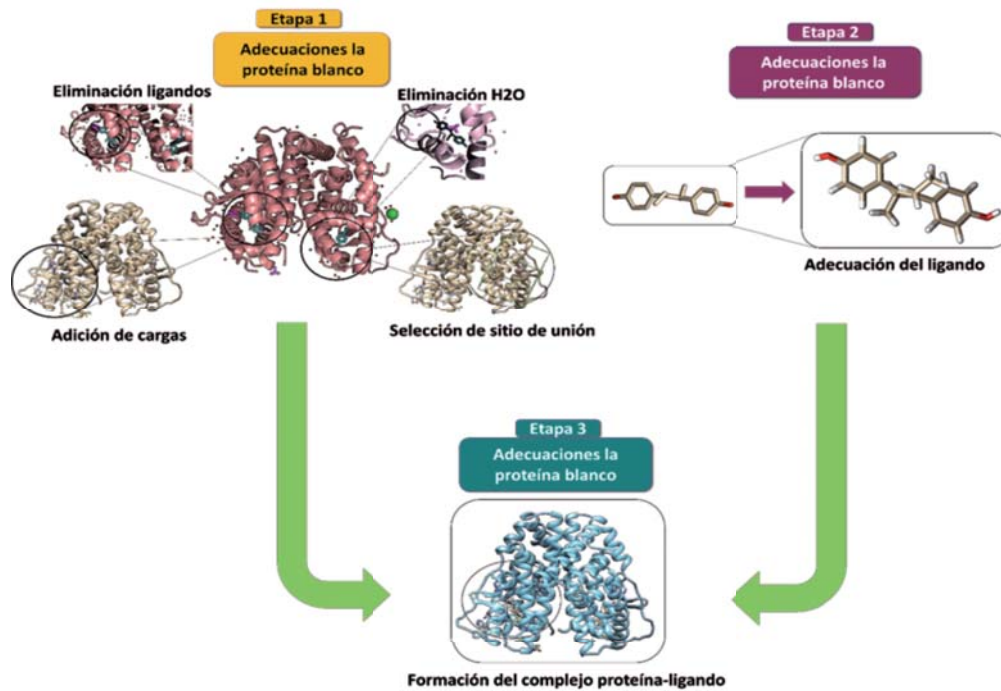


Tabla 1.

Ejemplos de fármacos reposicionados (Tabla basada en Ashburn y Thor, 2004 [7] y GNS *et al.* 2019²⁷)

Fármaco	Uso original	Uso nuevo	Mecanismo de acción
Dapoxetina	Analgésico y antidepresivo.	Eyacuación prematura.	Inhibidor selectivo de recaptación de serotonina.
Galantamida	Poliomielitis, parálisis y anestésico.	Enfermedad de Alzheimer	Inhibidor acetilcolinesterasa.
Atomoxetina	Enfermedad de Parkinson.	Desorden de Hiperactividad (déficit de atención)	Inhibidor no selectivo de absorción de serotonina.
Finasterida	Hiperplasia prostática benigna.	Caída de cabello.	Inhibidor de α5-reductasa.
Zidovudina	Cancer	Enfermedad de inmunodeficiencia por VIH.	Inhibidor de la retrotranscriptasa reversa.
Duloxetina	Antidepresivo	Incontinencia urinaria	Inhibidor de absorción de serotonina y noradrenalina
Difenildudramina	Antiemético	Migraña	Inhibidor competitivo de los receptores de histamina.
Lansaprozole	Antiulceroso	Trombocitopénica idiopática crónica.	Inhibidor de bomba de protones.
Elflornitina	Hirsutismo facial	Tripanosomiasis	Inhibidor de ornitina descarboxilasa.

Reposicionamiento de fármacos para el tratamiento de cáncer

El cáncer es un padecimiento de gran relevancia en la población mundial, se prevé que para el 2025 sean diagnosticadas más de 20 millones de personas con dicha enfermedad, actualmente los de mayor prevalencia, cáncer de mama, de próstata y colorrectal.²⁸

Aun a la fecha el desarrollo tradicional de fármacos contra dicho padecimiento se realiza mediante HTS, con etapas de identificación y optimización, estudios preclínicos y clínicos todo ello implica gran costo y lapsos de tiempo que van de 11.4 a 13.5 años. Además, solo el 5% de los fármacos que se encuentran en ensayos clínicos son aprobados por la FDA o EMA (Agencia Europea de Medicamentos).^{28,29} Aunado al tiempo de desarrollo

y al porcentaje de éxito de la etapa de evaluación, se sabe que el cáncer es una enfermedad heterogénea, lo que vuelve complicado la identificación y desarrollo de fármacos eficientes contra la enfermedad y reduciendo efectos secundarios importantes en el paciente [30]. Por lo tanto, el reposicionamiento de fármacos mediante la aplicación de las estrategias bioinformáticas por medio cribado virtual intensivo (SBVS) pueden acortar significativamente la identificación de fármacos contra el cáncer, lo que favorece la identificación de los mismos y su pronto uso como parte de tratamientos antitumorales.

Existen estudios de reposicionamiento de fármacos forma virtual con el fin de ser empleados para tratar diferentes tipos de cáncer, principalmente cáncer de mama y próstata.^{27,28} (Tabla 2)

Tabla 2.
Ejemplos de fármacos reposicionados contra cáncer de mama y próstata
(Tabla basada en GNS *et al.* 2019).²⁷

Fármaco	Uso original	Uso nuevo	Mecanismo de acción
Enzalutamida	Cáncer de próstata	Cáncer de mama avanzado	Inhibidor competitivo del receptor de andrógenos
Itraconazol	Antimicótico	Cáncer de próstata	Inhibidor de la 1 4 α -demetilasa
Diogoxin	Insuficiencia cardíaca congestiva	Cáncer de próstata	Inhibidor de la bomba Na ⁺ - K ⁺ y ATPasa.
Dilsufiram con cobre	Manejo de alcoholismo	Cáncer de mama metastásico	Inhibidor irreversible de la aldehído deshidrogenasa

Usando SBVS se han sido identificado moléculas para su reposicionamiento de uso, como la olsalazina cuenta con actividad hipometilante lo que favorece su función como anticancerígeno su aplicación tradicional es antiinflamatoria.³¹ Otra molécula identificada mediante esta tecnología es la Ribavirina, mediante ensayos computacionales de reposicionamiento, tienen efecto antitumoral sobre líneas de cáncer de próstata, mama, colon, glioma y cervicouterino, principalmente usado como un compuesto antiviral por inhibir la replicación del ARN viral.³² En otro estudio, trabajaron en el reposicionamiento de inhibidor etoposido para tratar el cáncer de mama, este medicamento se une al dominio de unión a hialuronano de CD44, por lo que disminuye la unión entre células de cáncer de mama.³³ Además, de las moléculas mencionadas, se han evaluado el Astemizol (antihistamínico), Ebastina (antihistamínico)

y Clotrimazol (antimicótico), estos medicamentos han mostrado potencial antitumoral. Se sabe que la actividad anticancerígena del Astemizol para el cáncer de cuello uterino, el carcinoma hepatocelular, melanoma y el cáncer de mama, es debido a su interacción con el receptor H1 (receptor de histamina) y canales de potasio.^{34,35} En cambio, las propiedades anticancerígenas del clotrimazol se basan en la disminución de la unión de la hexoquinasa con la membrana mitocondrial, lo cual desencadena una cascada de cambios alterando el metabolismo del Ca²⁺ y de potasio.³⁶

Otra molécula con actividad anticancerígena, es la ebastina, la se observó que revierte la resistencia a fármacos en las líneas celulares de cáncer de mama y próstata, debido a la posible inhibición de ERAD (Endoplasmic-reticulum-associated protein degradation).¹²

Para cáncer de próstata, existen diversos trabajos realizados de reposicionamiento de fármacos, pero pocos basados en métodos computacionales. Los más frecuentes, reposicionados por conocimiento previo o serendipia, como el Naftopidil, Niclosamide, Ormeloxifene, Nelfinavir, Glipizida, Ferroquina y

Nitroxolina. Los reposicionados por reposicionados por experimentos basados en su actividad Biológica (HTS) (Triclosan, Digoxin, Clofoctol y ácido zolendronico) y por ultimo las metodologías *in silico*, como la, donde se destacan la Resperidone, Dexametasona y el Zenarestat³⁷ (Tabla 3).

Tabla 3.
Medicamentos reposicionados (*in silico*) para el tratamiento del CaP (Tabla original)

Medicamento	Actividad original	Actividad nueva	Evidencia nuevo uso
Risperidona	Antipsicótico: Trata desordenes del sistema nervioso central (depresión, esquizofrenia y desorden bipolar).	Inhibe la acción de la molécula 17HSD10, que se encuentra sobre expresada en el CaP.	De forma in vitro e in vivo que la Risperidona retarda el crecimiento celular de la línea celular PC3 y ralentiza el desarrollo del tumor prostático ³⁸ .
Dexametasona	Glucocorticoide sintético: Prevenir trastornos de inflamación o inmunosupresivas como las alergias, colitis, artritis, lupus y psoriasis.	Inhibe la actividad de ERG.	La combinación de este fármaco junto con otros quimioterapéuticos reduce el dolor, las náuseas y el vómito, generado por los tratamientos actuales contra el CaP ³⁹
Zenarestat	Inhibidor de la aldosa reductasa: Prevenir enfermedades como la catarogénesis diabética, retinopatía y neuropatía	Inhibición de la via NF-kB.	Inhibe la via NF-Kb, por lo que puede ser un nuevo agente quimioterapéutico. ⁴⁰

El reposicionamiento de fármacos por medio de metodologías computacionales SBVS, es muy poco usado para la búsqueda e identificación de potenciales medicamentos contra diversos tipos de cáncer. Sin embargo, el uso de esta metodología presenta grandes ventajas, ya que es un método que integra más métodos para su validación y puede evaluar y filtrar grandes cantidades de información. Por lo tanto, el uso de metodologías *in silico*, puede hacer más eficiente la búsqueda y uso de nuevas terapias antitumorales.

Conclusión

Las herramientas bioinformáticas para el diseño y desarrollo de nuevos medicamentos han acelerado el proceso de aprobación para que fármacos salgan al mercado en menor tiempo y puedan ser usados para diversas enfermedades, lo que favorece a los tratamientos actuales y la calidad de vida de los pacientes.⁷ Esta estrategia bioinformática, minimizan

los tiempos de obtención, de evaluación, validación y comercialización.

El reposicionamiento de fármacos por medio de metodologías computacionales, es muy poco usado de primera instancia para la búsqueda e identificación de potenciales medicamentos antitumorales. Por lo que el uso de tecnologías computacionales basado en la estructura proteica (SBVS) para el diseño o reposicionamiento de fármacos (nuevos usos de fármacos existentes) es una alternativa que favorecerá las investigaciones de nuevos agentes terapéuticos contra diversos tumores, así como a reducir el tiempo en que estos puedan ser usados por los pacientes.

Agradecimientos

Agradecimientos al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco por brindar las instalaciones para la realización de proyecto. A la M.C Flor Yohana Flores Hernández y al Dr. Rodolfo Hernández Gutiérrez, por el apoyo brindado.

Referencias bibliográficas

1. Secretaria de Salud. Salud: México 2002: Información para la rendición de cuentas. Segunda edición. 2002. ISBN 970-721-148-2.
2. Lill M. Chapter 1: Virtual Screening in Drug Desing. En: Kortagere S. (eds) In silico Models for Drug Discovery and Methods in Molecular Biology. Springer Science+Business Media. 2013. ISBN 978-1-62703-342-8
3. Nordberg G, Fowler B, Nordberg M. Handbook on the toxicology of Metals. 4ª Edición. Academic Press. pp 1542. eBook ISBN: 9780123973399
4. Plewczynski D, Łaźniewski M, Augustyniak R, Krzysztof G. Can We Trust Docking results? Evaluation of Seven comonly used program on PDBdatabase. Journal of Computational Chemistry. 2010; 00:000-000.
5. Saldivar-González F, Prieto-Martínez F, Medina-Franco JL. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. Educación Química. 2016; 28:51-58.
6. Medina-Franco J, Fernández-de Gortari E, Naveja J. Avances en el diseño de fármacos asistidos por computadora. Educación Química. 2015; 26:180-186.
7. Ashburn T, Thor K. Drugs repositioning indentifying and developing new use for existing drugs. Nature Review: Drug Discovery. 2004; 3:673-683.
8. Cronk D. Chapter 8: High-throughput screening. En: Hill RG., Rang HP (eds). Drug Discovery and Development. 2da Edición. Churchill Livingstone. 2012. ISBN: 978-0-7020-4299-7.
9. Cosconati S, Forli S, Perryman A, Harris R, Goodsell D, Olson A. Virtual screening with Autodock: Theory and practice. Technology Evaluation. 2010; 5(6): 597-607.
10. Segura-Cabrera A, Singh N, Komurov K. An integrated network platform for contextual prioritization of drugs and pathways. Molecular BioSystems. 2015; 11(11): 2850-2859.
11. March-Vila E, Pinzi L, Sturm N, Tinivella A, Engkvist O, Chen H, et al. On the integration of in silico drug desing methods for drug repurposing. Frontier in Pharmacology. 2017; 8:298.
12. Segura-Cabrera A, Tripathi R, Zhang X, Gui L, Tsui-Fechau C, Komurov K. A structure-and chemical genomics-base approach for repositioning of drugs against VCP/p97 ATPase. Scientific Reports. 2017; 7:44912.1-10
13. Park K. A review of computational drug repurposing. Translational and Clinical Pharmacology. 2019; 27(2): 59-63.
14. Naveja J, Dueñas-González A, Medina-Franco J. Drug reporposing for epigenetic targets guided by computational methods. En: Medina-Franco J. (ed) Epi-Informatics: Discovery and Development of small molecule epigenteic drug and probe. Elsevier Inc. 2016.
15. Cheng T, Li Q, Zhou Z, Wang Y, Bryant SH. Structure-based virtual screening for drug discovery: a problema-centric review. The AAPS Journal. 2012; 14(1): 133-141.
16. Padilla A, Rojo A. Simulación del reconocimiento entre proteínas y moléculas orgánicas o docking aplicación al diseño de fármacos. Mensaje Bioquímico. 2002; Vol. XXVI:129-145.
17. Jain AN. Surflex: Fully automatic flexible molecular docking a molecular similarity-based search engine. Journal of Medicine Chemistry. 2003; 46(4):499-511.
18. Venkatchalam CM, Jiang X, Oldfield T, Waldman M. LigandFit: a novel method for the shape-directed rapid docking of ligand of ligands to protein active sites. Journal of Molecular Graphics y modelling. 2003; 4:289-307.
19. Friesner RA, Bank JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT, et al. 2004. Glide: a new approach for rapid acurate docking and scoring 1. Method and assessment of docking accuracy. Journal of Medicine Chemistry. 2004; 47(7):1739-1749.
20. Jones G, Willett P, Glen RC, Leach AR, Taylor R. Development and validation of a Genetic algorithm for flexible docking. Journal of Molecular Biology. 1997; 267(3):727-248.
21. Rarey M, Kramer B, Lengauer T, Kleve G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithmm. Journal of Molecular Biology. 1996; 261(3):470-489.
22. Zsoldos Z, Reid D, Simon A, Sabjad SB, Johnson AP. eHiTs: a new, exhaustive flexible lingand docking system. Journal of Molecular Graphics & modelling. 2007; 26(1):198-2012.
23. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, et al. Automated docking using a Lamarckian Genetic algorith and empirical binding free energy y funtion. Journal of Computational Chemistry. 1998; 19:1639-1662.
24. Bollell M, Gepi-Attee S, Gingell JC, Allen MJ. Sildenafil, a novel ecfive oral therapy for male erectile dysfunction. British Journal of Urology. 1996; 78:257-261
25. Singhal S, Mehta J, Desikan R, Ayers D, Roberson P, Eddlemon P, et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. The New England Journal of Medicine. 1999; 341(2):1565-1571.
26. Walker SL, Waters MF, Lockwood DN. The role of thalidomide in the management of erythema nodusum leprosum. Leprosy review. 2007; 78(3):197-215.
27. GNS H, GR S, Murahari M, Krishnamurthy M. An update on drugs repurposing: re written saga of the drug's fate. Biomedicine and Pharmacotherapy. 2019; 110(2019): 700-716.
28. Sleire L, Førde HE, Netland IA, Leiss L, Skeie BS, Enger PØ. Drug repurposing in cancer. Pharmacological Research. 2017; 124(2017):74-91.
29. Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attriton rates. Nature reviews. Drug Discovery. 2004; 3(8):711-715.
30. Willingham A, Deveraux Q, Hampton G, Aza-Blanc P. RNAi and HTS: exploring cancer by systematic loss-of-function. Oncogen. 2004; 23:8392-8400.

31. Méndez-Lucio O, Tran J, Medina-Franco JL, Meurice N, Muller M. Towards drug repurposing in epigenetics: Olsalazine as a novel hypomethylating compound active in a celular context. *ChemMedChem*, 2014; 9:560-565.
32. De la Cruz-Hernandez E, Medina-Franco JL, Trujillo J, Chavez-Blanco A, Dominguez-Gomez, G, Perez-Cardenas E, et al. Ribavirin as a tri-targeted antitumor repositioned drug. *Oncology Reports*, 2015;33:2384-2392.
33. Aguirre-Alvarado C, Segura-Cabrera A, Velázquez-Quesada I, Hernández-Esquivel MA, García-Pérez CA, Guerrero-Rodríguez, SL et al. Virtual screening-driven repositioning of etoposide as CD44 antagonist in breast cancer cells. *Oncotarget*. 2016; 7(17):23772-23784.
34. García-Quiroz J, Camacho J. Astemizole: an old anti-histamine as a new promising anti-cancer drug. *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2011; 11: 307-314.
35. Jakha R, Paul S, Bhardwaj M, Kang SC. Astemizole-Histamide induce bedin-1 independent autophagy by targetin p53 dependent crosstalk between antophagy and apoptosis. *Cancer letters*. 2015; 372(1):89-100.
36. Kadavakollu S, Stailey C, Kunapareddy CS, White S. Clotrimazole as a Cancer Drug: A Short Review. *Medicinal Chemistry Journal (Los Angeles)*. 2014; 4(11):722-724.
37. Turanli B, Grotli M, Boren J, Nielsen J, Uhlen M, Arga KY, et al. Drug repositioning of effective prostate cancer treatment. *Frontiers in Physiology*. 2018; 9:500.
38. Dilly SJ, Clark AJ, Marsh A, Mitchell DA, Cain R, Fishwick CWG, et al. A chemical genomics approach to drug reprofiling in oncology: antipsychotic drug risperidone as a potential adenocarcinoma treatment. *Cancer Letters*. 2017; 393:16-21.
39. Gayvert KM, Dardenne E, Cheung C, Boland MR, Lorberbaum T, Wanjala J, et al. A computational drug repositioning approach for targeting oncogenic transcription factors. *Cell Reports*. 2016; 15:2348-2356.
40. Turanli B, Gulfidan G, Arga KY. Transcriptomic-guided drug repositioning supported by a new bioinformatics search tool: geneXpharma. *OMICS* 2017; 21:584-591.

