



Dormán György

■ TargetEx Kft., SZTE Gyógyszerésztudományi Kar

A kombinatorikus kémia tündöklése, hanyatlása és újjászületése

Hatása a modern gyógyszerkutatásra | II. rész

Cikksorozatunkat Furka Árpád professzornak ajánljuk közelgő 90. születésnapjára a kombinatorikus kémia történetében betöltött, nemzetközileg elismert, úttörő szerepéért.

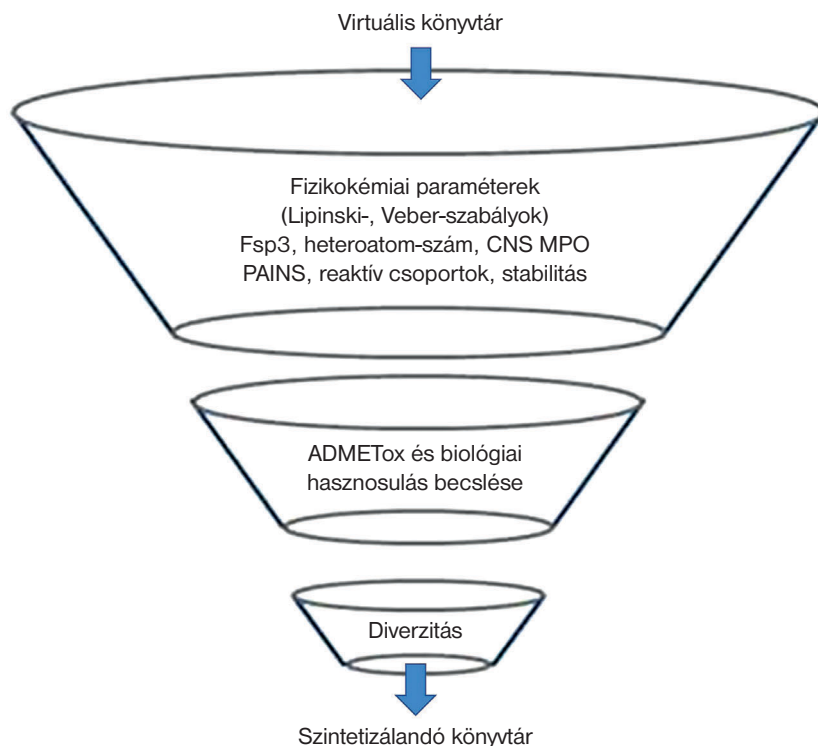
Négyrészes sorozatunkban a gyógyszerkutatás elmúlt 25 évében komoly szerepet játszó kombinatorikus kémia felmerülését, virágzását, hanyatlását, végül újjászületését kívánjuk bemutatni kitekintéssel a hazai szakmai műhelyek hozzájárulására is.

1. Mennyiségből átmenet a minőség irányába

Az innovációk korai szakaszában elsősorban azok a technológiai megoldások domináltak, amelyek nagyszámú vegyület gyors előállítására irányultak, a minőség különösen a keverékkönyvtárak esetén háttérbe szorult. Időközben rájöttek, hogy bár a kombikem elve az, hogy minden egyes szerkezeti kör összes lehetséges variációját előállítsák, a HTS találati aránya csak 0,01–0,14% [1] között mozgott, azaz nagyszámú szerkezetileg hasonló hatástalan vegyületet mértek.

Emellett az is nyilvánvalóvá vált, hogy a nagyszámú új molekula önmagában nem javítja a gyógyszerfejlesztés kiesési rátáját, tehát azt, hogy a fejlesztés során a gyógyszerjelölt molekulának hány százaléka hullik el különböző okokból. Statisztikák szerint ugyanis az *in vitro* aktív vegyületek 80%-a kiesik a későbbi fázisokban a nem megfelelő farmakokinetikai tulajdonságok, illetve a nem várt toxicitás miatt. [2,3] Az egy gyógyszerre vonatkoztatott kb. 800 millió dolláros ráfordítási költség 75%-a a fejlesztés során elbukott vegyületekre fordítódik.

Ezt a felismerést követően a nagy gyógyszergyárak arra törekedtek, hogy minél korábbi fázisban derüljön ki a molekula alkalmatlansága a későbbi fejlesztésekre, amivel jelentősen csökkenthetik a ráfordításaikat („fail fast, fail cheap”). [4]



1. ábra. Virtuális könyvtár *in silico* szűrési lépései

A következő időszak trendjét tehát a szerkezeti diverzitás, a molekulák magasabb minősége, illetve az adott gyógyszerfejlesztésben releváns tulajdonságok korai figyelembevétele jelentette.

A biológiai szűrésben, illetve gyógyszerfejlesztésben releváns tulajdonságok *in silico* szűrésével kisebb méretű, gazdaságosan szintetizálható könyvtárakat nyertek (1. ábra). [5] Ez csökkentette a költségeket, a munka- és környezeti terhelést is. Természetesen ehhez még a szintetizálhatóság előértékelése is igen fontos, mivel ez bizonyos könyvtárakat kiejthet, ami torzíthatja az eredetileg eltervezett diverzitást. [6] Ugyancsak fontos volt a könyvtár alapjául szolgáló vázszerkezet- (kemotípus) új-

donság vizsgálata is, valamint a költséghatékonyság előzetes becslése.

Diverzitás és könyvtárméret

A számítógépes modellezés fejlődésével a lehetséges összes szerkezeti variációból képzett hatalmas virtuális könyvtárakból diverzitásalapú válogatással [7] képezett kisebb molekulaszám is elegendőnek bizonyult a biológiai szűrések tapasztalatai alapján. Jacoby molekuláris ujjlenyomaton alapuló számításai szerint a kémiai tér lefedéséhez 1000–5000 könyvtárméret elegendő. [8] Ennek ellenére a 2001-re a publikált könyvtárak 3/4-e 100 vagy kisebb tag-számú könyvtárat jelentett, elsősorban a



szintetikus kihívások vagy sikertelenség miatt. [9]

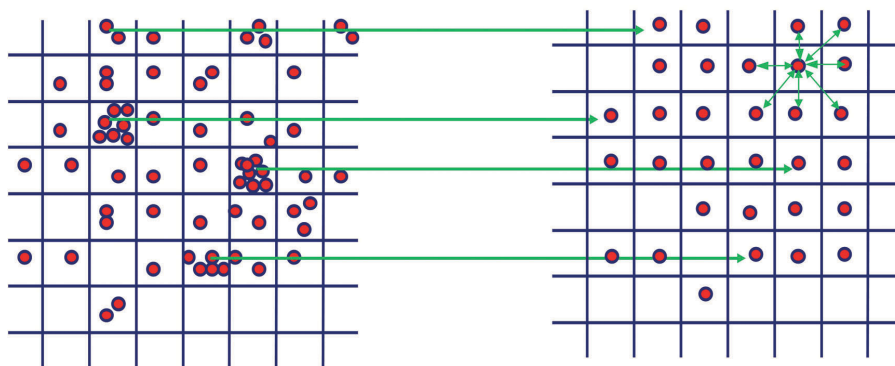
A legfontosabb könyvtártípusok jelentősen eltérnek a diverzitás és a könyvtár méret szempontjából

1. Felfedező („találomra” szintetizált – „random”)
2. Diverz, kisebb méretű, válogatott könyvtár (2. ábra)
3. „Találatra” fókuszált analógon-könyvtár (3. ábra)
4. Fehérje-célpontra fókuszált könyvtár
5. Fragmentum- vagy vezérmolekula-jellegű könyvtárak

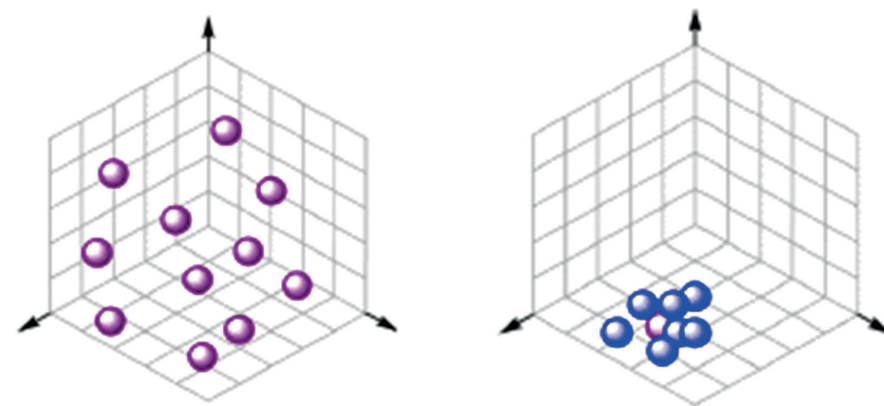
A diverzitás kemoinformatikai megközelítése a vegyületek 2D molekuláris „ujjlenyomatának” (alszerkezeteik bináris kódjának) hasonlóságán és különbözőségén alapszik. [10] Ha a vegyületek egymáshoz való átlagos hasonlósága (vagy a szerkezetileg legközelebb álló vegyületek hasonlósága) alacsony, akkor a vegyüethalmaz diverz.

A korai nagy tagszámú (> 5000), ún. felfedező könyvtárak a szintetikusan elérhető összes szerkezeti variációt a szintézis sikerességétől függően véletlenszerűen tartalmazták. Ennek gazdaságosságát és hatékonyságát hamar megkérdőjelezték, így a 2000-es évek közepétől a kisebb célzott/előszűrt molekulakönyvtárak párhuzamos szintézise terjedt el. Első lépésként számítógéppel itt is legenerálták az összes lehetséges szerkezeti variációt, majd az így nyert (gyakran többmillió) virtuális könyvtárat diverzitás, fizikokémiai és gyógyszerjellegűsége jellemző paraméterek becslésével *in silico* leszűrték. [11] A fókuszált analógon-könyvtárak alkalmazási célja az aktív kémiai szerkezet megerősítése, ill. a szerkezet és biológiai aktivitás összefüggésének feltárása volt. E lépés során a találat („hit”) szerkezetéhez közeli analógonokat generáltak le, amelyek az aktív vegyületek legfontosabb szerkezeti motívumait tartalmazták vagy a diverz könyvtár lyukait töltötték ki. [12]

Fehérje-célpontra fókuszált könyvtárakat az ismert aktív ligandumok 2D/3D szerkezeti hasonlósága vagy a célfehérje 3D szerkezetéhez történő dokkolás alapján, ún. virtuális szűréssel generálhatunk. A kemoinformatikai módszerek alkalmasak fizikailag még nem rendelkezésre álló, csak „papíron” elképzelt vegyületek szűrésére, ami lehetővé teszi, hogy csak a virtuálisan aktívnek tekintett vegyületeket állítsák elő. A humán genom DNS és fehérje szekvenciáinak megismerését követően kialakult kemogenomika elve kiterjeszti az egyes fehérje-célpontra célzott könyvtárakat fe-



2. ábra. A diverzitás-szelekció sematikus ábrázolása. A mátrix a kémiai teret jelképezi



3. ábra. A diverz és találatra fókuszált könyvtár szemléltetése a virtuális kémiai térben

hérjecsaldókra, amelyek a szervezetben rokon funkciót látnak el, mechanisztikus és szekvenciahasonlóság kapcsolja össze őket. A fehérjecsaldók tagjaival gyakran hasonló vázszerkezetű kismolekulák (ún. kiváltságos szerkezetek, pl. benzodiazepin) lépnek kölcsönhatásba. Így virtuális szűréssel például a kinázcsaldóra [13] vagy G-fehérje-csatolt receptorok családjára [14] célzott (fókuszált) inhibitor- vagy antagónista-könyvtárakat generálhatunk. Az aktív vegyületek találati aránya az ilyen könyvtárak esetében jóval magasabb, mint a felfedező könyvtárak esetén tapasztalt 0,1–5%. [15]

Fragmentum- vagy vezérmolekula-jellegű könyvtárak esetében a Lipinski-féle 5-ös szabály mintájára 3-as szabályt alkalmaznak (Rule-of-3, $M_{wt} \leq 300$ Da ; $\text{LogP} \leq 3$). A fragmentum-könyvtárak biológiai szűrésekor azonosított aktív vegyületek optimalizálása hatékonyabb diverz szerkezetű, sok esetben lipofil csoportok bevezetésével, összehasonlítva a nagyobb molekula-tömegű aktív vegyületek vezérmolekula optimalizációjával.

A könyvtárak minősége, ami biológiai szűréskor fontos

E tekintetben az alábbi tulajdonságokat tartalmazó vegyületek nem kívánatosak:

1. Gyakori nem specifikus találatok (frequent hitter, pan-assay interference compounds – PAINS) [16], például aggregációra képes vegyületek, fluoreszcens vegyületek, melyek fluoreszcencián alapuló HTS esetén hamis pozitív eredményt adnak [17]
2. Reaktív csoportokat tartalmazó vegyületek (pl. alkil-halogenidek, epoxidok, diszulfidok stb.)
3. Nem megfelelő tisztaságú anyagok

A korábbi, elsősorban nagy vegyület-igény kielégítésére irányuló törekvések után előtérbe kerültek az új vegyületekkel szemben támasztott minőségi követelmények. Míg korábban az elsődleges szűrésnél 85% volt az ipari sztenderd, a későbbiekben nagy tisztaságú (> 95%) vegyületekre volt igény, ami megerősítette, hogy ténylegesen az adott kémiai szerkezet felelős a biológiai aktivitásért. Ha nem a kívánt szerkezetű vegyületet nyerték és az nem mutatott aktivitást, akkor hamis negatív, ha pedig egy szennyező felelt az aktivitásért, akkor hamis pozitív találatot kaptak. Ez korszerű elválasztási és detektálási technikákat igényelt, amilyen például a tömegspektrométer által [18] vagy UV-elnyelés által vezérelt HPLC vagy NMR alkalmazása, [19] valamint az ehhez kapcsolódó magas szintű adatkezelés és kiértékelés. Míg korábban az egyedileg előállított (nem keve-



rék) vegyületek kis hányadán ($\leq 10\%$) végeztek teljes analitikai vizsgálatot (tisztaság, azonosság), ezt később a teljes könyvtárra kiterjesztették. Ez azért is vált fontossá, mert a nagy gyógyszergyárak jelentős molekulabankokat építettek ki, ahol a minőség, a hosszú távú, bomlás nélküli eltarthatóság vált kulcskérdéssé a szűrési kampányok között.

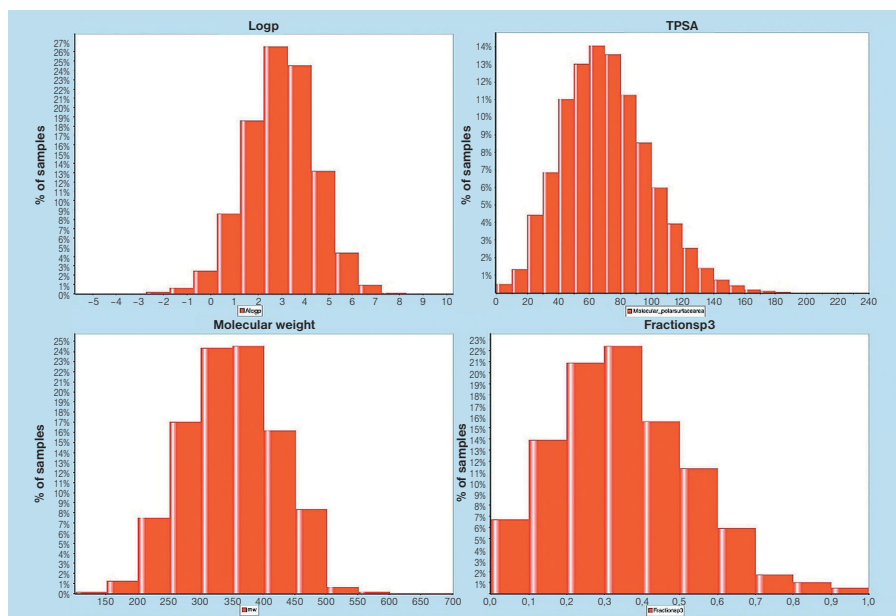
A vegyületkönyvtárak lejáratí idejének becslésére Darvas és munkatársai kidolgoztak egy nagy kapacitású analitikai rendszert, amely gyorsított módon határozta meg a termikus stabilitást. Ennek alapján megfelelő extrapolálással a vegyületek, szerkezeti klaszterek lejáratí ideje becsülhetővé vált. [20] A gyakorlatban a leghatékonyabbnak a tiszta állapotban, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, argon alatti tárolás bizonyult, de praktikus okokból a DMSO-oldatban való lefagyaszthatás terjedt el. Itt a stabilitás jelentősen függött a vegyület eredeti tisztaságától is. [21] A DMSO-oldatban való tárolás esetén az időleges biológiai szűrések a felolvasztás-lefagyasztás ciklusait követelték meg, melyek hatással voltak a vegyületek és az oldat stabilitására. [22]

A gyógyszerfejlesztésben releváns tulajdonságok korai kiszűrése

A Pfizer gyógyszerkutatói folyamatában korábban felmerült nagyszámú vegyület elemzése során született meg az ún. Lipinski-féle 5-ös szabály. [23] (Molekulatömeg < 500 , hidrogénkötés-donorok száma $(\text{OH}+\text{NH}) < 5$, hidrogénkötés-akceptorok $(\text{O}+\text{N}) < 10$, $\log P < 5$), amit a vegyületkönyvtárak számítógépes (*in silico*) előszűrésére használtak oly módon, hogy ha legalább 2 feltételnek nem felelt meg a vegyület, akkor várhatóan orálisan rosszul szívódik fel. Az 5-ös szabály hamarosan ipari sztenderddé vált. Későbbiekben további kritériumokat azonosítottak: a Veber-szabály [24] szerint a forgatható csoportok száma < 10 és a poláris felület területe $< 140\text{ }\text{\AA}^2$.

A molekulák 3 dimenziós jellege a planáris szerkezetekhez képest kedvező a biológiai kötődés és szelektivitás szempontjából, és javította a gyógyszerfejlesztés sikerarányát, így az fsp^3 érték (sp^3 szénatomok száma/összes szén atomok száma) előnyösen $> 0,4$. [25]

Hasonlóan a nem hidrogénatomok száma („heavy atom count”) < 20 , és a gyűrűk száma < 3 is kedvező a későbbi sikerarány szempontjából. A központi idegrendszerbe való bejutás több tényezőtől álló empirikus kritériuma az ún. CNS MPO érték (CNS MPO kritérium > 4). [26] A szer-



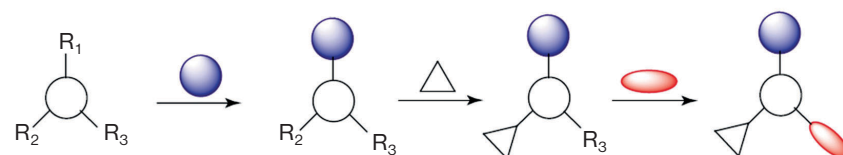
4. ábra. Egy tipikus vegyületkönyvtár 4 jellemző paraméterének eloszlása (logP, molekulatömeg, topografikus poláris felület területe (TPSA), sp^3/sp^2 arány) [27]

(a) Linear, divergent synthesis

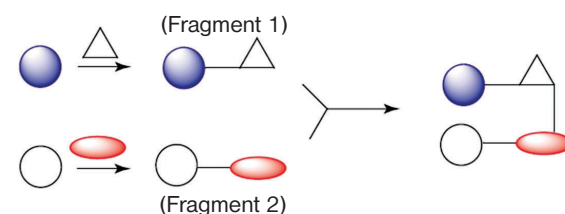
(i) Oligomer synthesis



(ii) (Eq 2): Scaffold modification



(b) Convergent synthesis



5. ábra. Különböző tipikus könyvtárkiépítési stratégiák [34]

kezeti diverzitás mellett a fizikokémiai paraméterek szabályos (Gauss-) eloszlása ugyancsak fontos a biológiai szűrésre szánt könyvtárakban (4. ábra).

A nagy kapacitású biológiai szűrőrendszerek *in vitro* természetük miatt nem adnak választ arra, hogy a „találatok” biológiai hasznosulása, farmakokinetikai tulajdonságai alkalmasak-e gyógyszerfejlesztésre vagy sem.

A predikciós szakértői rendszerek elterjedése és pontosságuk javulása azt eredményezte, hogy a vegyületeket még szintetizálásuk előtt virtuális ADMETox- (orá-

lis felszívódás (D), eloszlás (D), metabolizmus (M), kiürülés (E) és toxicitás (T)) szűrésnek lehet alávetni, ami további jelentős költségsökkentést eredményez, mivel csupán az előszűrt gyógyszerjelölt vegyületeket kell előállítani. Az *in silico* ADME predikciós módszerek [28] bekerültek a kombinatorikus könyvtárakat előállító vállalkozások és nagy gyógyszergyárak napi rutintevékenységebe, így a várhatóan nem megfelelő vegyületeket már a könyvtárak tervezésénél ki tudták szűrni. [29, 30] A toxicitás korai előrejelzésére számos szakértői rendszer [31] mellett a könyvtárak to-



xikogenomikai profilizálása jelentett új lehetőséget. [32]

2. Szintetikus megközelítések szerkezeti diverzitás kiépítésére

A könyvtárak szerkezete szempontjából a diverzitás fogalmát több módon közelíthetjük meg:

1. Toldalékdiverzitás – szerkezeti változatosság a központi váz körül
2. Funkcióscsoport-diverzitás
3. Sztereokémiai diverzitás
4. Váz- (szkaffold) diverzitás [33]

A központi vázon (többnyire gyűrűn vagy gyűrűrendszeren) alapuló könyvtártervezés során 3-4 különböző térrányba vezetünk be különböző szubsztituenseket (előnyösen farmakofor elemeket). A diverzitásért felelős szubsztituenseket hordozó reagensek és az azokat beépítő reakciólépések szempontjából lineáris, divergens, vázdekoráló („feldíszítő”) és konvergens szintéziseket különböztethetünk meg (5. ábra).

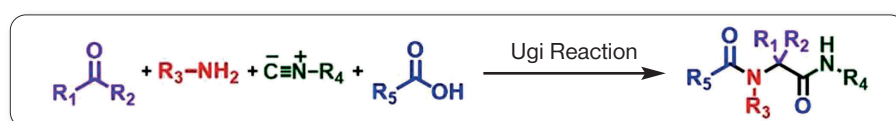
A 2000-es évek közepére a természetes anyagokat imitáló központi váz és sztereokémia sokféleségére törekvő diverzitásorientált szintézis (DOS) komoly áttörést jelentett a gyakran redundáns szerkezetű, többnyire sikserű heterociklusos könyvtárakhoz képest.

A lineáris könyvtárépítési stratégiában a diverzitást hordozó elemeket egymást követően építjük be, de köztük lehetnek olyan lépések, amelyekben csak funkcióscsoport-csere valósul meg annak érdekében, hogy a következő diverzitást hordozó elemet beépíthessük. A diverzitás kiépítésének hatékonysága: a diverzitást hordozó elemek száma osztva az összes reakciólépéssel. E tekintetben a leghatékonyabb módszert a több mint 100 éves múltra visszatekintő többkomponensű reakciók jelentik (Passerini, Biginelli, Ugi stb.). [35] Tipikus példa erre az Ugi-reakció (6. ábra), ahol egy lépésben 4-5 diverzitási elemet is be lehet építeni.

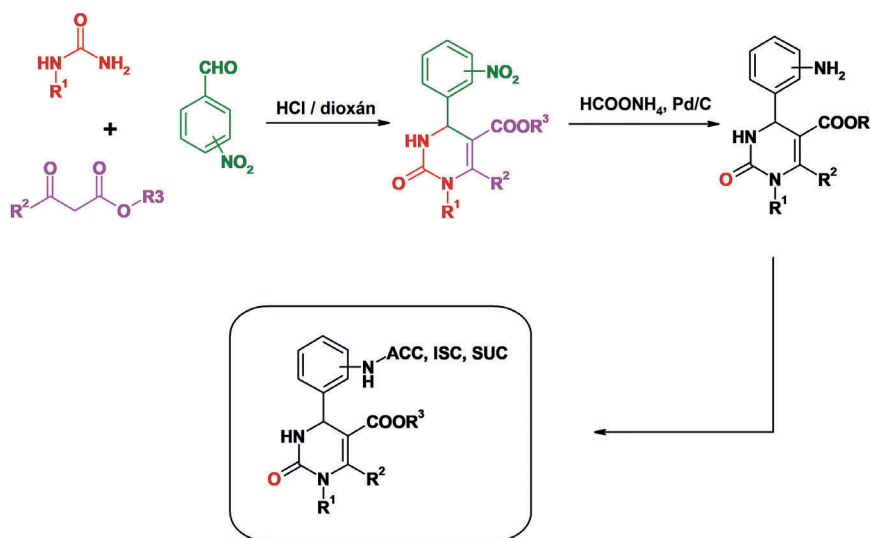
A Biginelli-reakció az egyik legsokoldalúbban alkalmazható többkomponensű reakció, amivel különböző (akár 4 diverzitási ponton át) szubsztituált vagy módosított dihidropirimidinon-könyvtárakat lehet előállítani (7. ábra). [36]

Ennek kiterjesztéseként a többkomponensű reakciókkal nyert vegyületeket poszt-szintetikus gyűrűzárással további nagy diverzitású könyvtárrá lehet alakítani (8. ábra). [37]

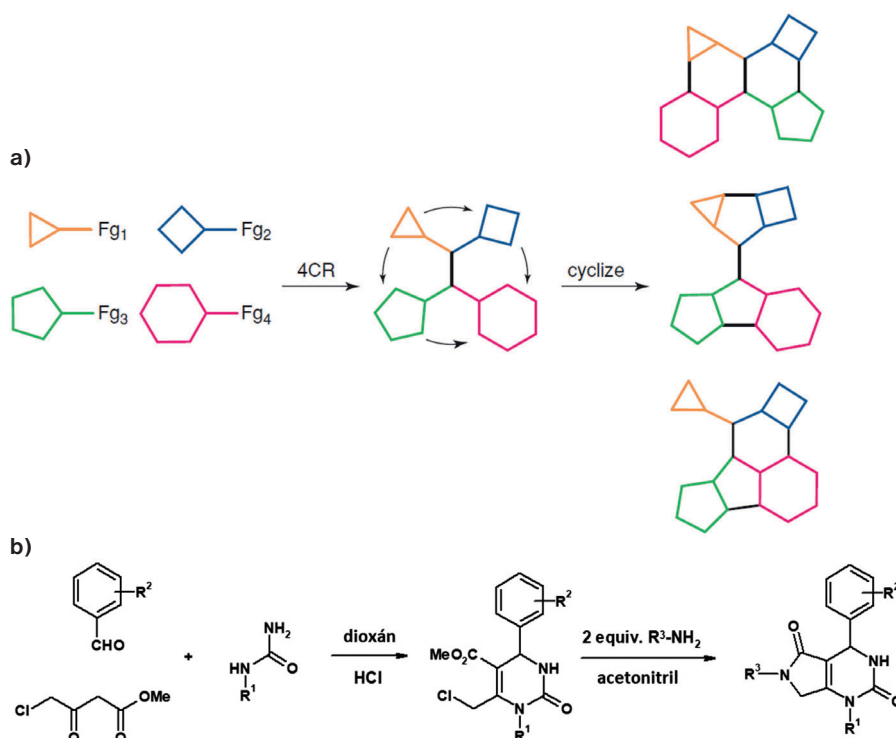
A szintetikus könyvtárak jelentős mértékben tartalmaznak sikserű, főleg *N*-he-



6. ábra. Az Ugi-féle többkomponensű reakció általános sémája



7. ábra. Biginelli-féle többkomponensű reakció alkalmazása dihidropirimidinon-könyvtárak szintézisére – (ACC = acil-klorid, ISC = izotiocianát, SUC = szulfonil-klorid) – *in memoriam* Lukács András (1969–2015)



8. ábra. Többkomponensű reakció poszt-szintetikus gyűrűzárással. a) Long et al. [37], b) Gerencsér J., Lukács A. nem közölt eredményei (2005)

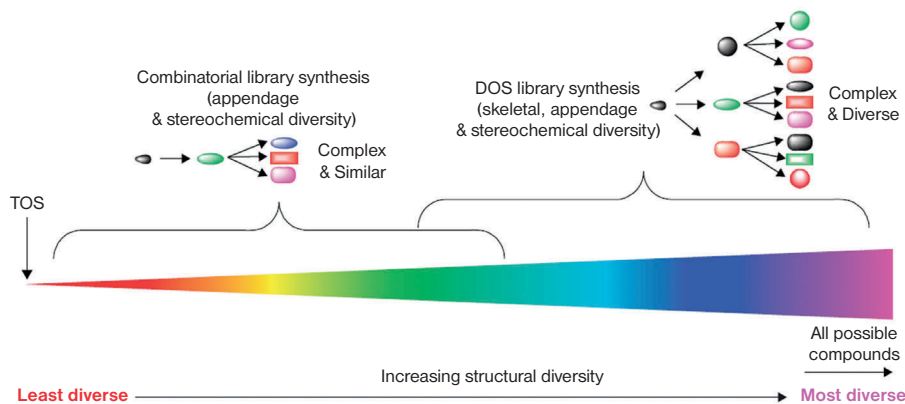
terociklikus, akirális vegyületeket, melyek biológiai aktivitása korlátozott, és a sejten belül számos célpontra hatástalannak bizonyultak. A természetes anyagok fokozott biológiai aktivitása miatt a figyelem az ilyen komplex szerkezetű vegyületek felé fordult. Ganesan és mtsai összehasonlí-

tották a természetes anyagok, bevezetett gyógyszerek és szintetikus vegyületek (benn a könyvtárak) szerkezeti és fizikokémiai tulajdonságait (1. táblázat). Megállapították, hogy a természetes anyagok több királis centrummal rendelkeznek, a C–O kötések aránya magasabb a C–N kö-

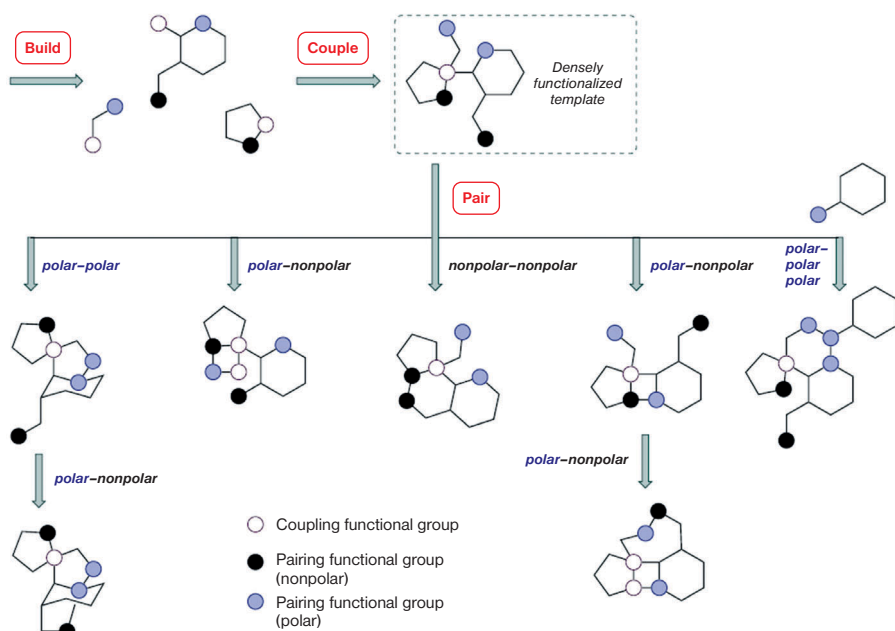


	Természetes anyagok	Törzskönyvezett gyógyszerek	Szintetikus könyvtárak
Molekulatömeg	387	348	393
LogP	2,65	2,15	4,3
Királis centrumok száma	4,7	1,75	0,25
N-atomok száma	0,84	1,64	2,69
O-atomok száma	5,9	4,03	2,77
Aromás gyűrűk aránya	31%	55%	80%

1. táblázat. Természetes anyagok, gyógyszerek és szintetikus könyvtárak tulajdonságainak összehasonlítása [38] (A táblázat a paraméterek átlagértékét tartalmazza.)



9. ábra. A klasszikus kombinatorikus szintézis és a DOS lényegi összehasonlítása (TOS = targetorientált szintézis, azaz egyedi molekulaszintézis) [6]



10. ábra. A diverzitásorientált szintézisek B/C/P algoritmuson alapuló stratégiája [40]

téseknél, valamint kevesebb aromás (planáris) gyűrűt tartalmaznak, és a molekuláris vázak igen nagy változatosságban fordulnak elő. [38]

A természetes anyagok által inspirált diverzitásorientált szintézis (DOS) stratégia [39, 40] alapjait Schreiber és mtsai fektették le. A DOS olyan szintetikus eljárás,

aminek során egyetlen kiindulási anyagot reagáltatnak különböző reagensekkel, ami különböző szerkezeti vázú intermedierekhez vezet. [41] Ezekből nagy vázdiverzitású, komplex, 3D térszerkezetű (magas fsp³ aránnyal rendelkező), szerkezetileg és funkcionálisan is diverz kombinatorikus könyvtárakat lehet nyerni. A DOS által

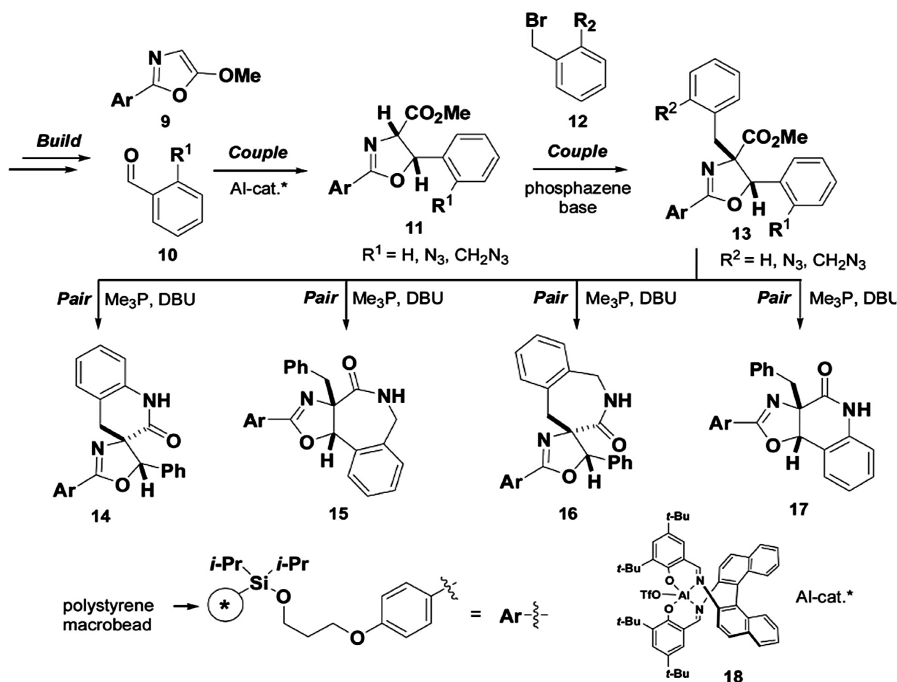
nyert diverzitás messze felülmúlja a klasszikus kombinatorikus lineáris vagy konvergens stratégiáival előállított könyvtárak diverzitását (9. ábra). [6]

A humán génállomány DNS- (fehérje-) szekvenciájának azonosítását követően a nagyszámú új fehérje-célpont felmerülése a gyógyszerkutatás számára új terápiás lehetőséget hordoz. Schreiber víziója az volt, hogy a DOS által előállított nagy diverzitású vegyületekkel minden új célfehérje számára sikerül szelektív moduláló (gátló) szert azonosítani, így a betegségben játszott szerepük azonosítható az adott fehérje, illetve jelátviteli útvonal időleges gátlásával (ami sejtes esszében sejtalapú – fenotípusos – változások formájában jelentkezik). [42] Konceptióját kémiai genetikanak nevezte a funkcionális genetika analógiájára, ahol a sejtalapú változásokat mutáció révén érik el. [43] A kémiai genetika/genomika kismolekulák sokaságával (magasan diverz kombinatorikus könyvtárakkal) sejtalapú biológiai esszében vizsgálja a kismolekuláknak a sejtet alkotó összes fehérjével való direkt vagy a jelátviteli hálózatokon át kiváltott kölcsönhatását, ami fenotípusos (morfológiai stb.) vagy génextpressziós változásokat, sejtválaszt vált ki. [44,45,46]

A DOS egy jól megtervezett, 3 lépésből álló szintetikus algoritmust követ. A B/C/P (build/couple/pair = felépít/kapcsol/párosít) algoritmus első lépéseként a kiindulási vegyületeket állítják elő, amelyek királisak, és alkalmas csoportokkal rendelkeznek, hogy a második lépésben komplex és diverz módon funkcionálizált intermedierek molekulát eredményezzenek. A harmadik lépésben a különböző karakterű funkciócsoportok „párosításával” adott reakciókörülmények között nagy vázdiverzitású, komplex, természetesanyag-szerű vegyületekhez jutnak (10–11. ábra). [47]

A DOS stratégiát az elmúlt évtizedben számos módon továbbfejlesztették, például a kismolekulákkal kevésbé kölcsönható fehérje-fehérje interakciók kiváltására is adaptálták makrociklusos vázak előállítására. [48] A DOS-hoz hasonló Waldmann megközelítése a biológiaorientált szintézis (BIOS), [49] amelyben a természetes anyagokban fellelhető vázak köré épített könyvtárakat.

Komoly kritika érte a DOS által szintetizált molekulákat abban a tekintetben, hogy megsértik a Lipinski-féle 5-ös gyógyszer-szerűsége vonatkozó szabályt. Valóban, a gyógyszerre fejlesztés során más innovatív megoldások szükségesek, hogy orálisan felszívódó készítményt nyerjenek. [50]



11. ábra. Példa a diverzitásorientált szintézisek B/C/P algoritmuson alapuló stratégiájára [47]

A cikksorozat 3. részében a molekulagyárak és molekulabankok létrehozását és gyógyszerkutatói alkalmazását, valamint a nagyszámú hazai műhelyt mutatjuk be.

Köszönetnyilvánítás. A szerző köszönettel tartozik Gerencsér Jánosnak a kézirat szakmai lektorálásáért.

IRODALOM

- [1] Zhu, T., Cao, S., Su, P. C., Patel, R., Shah, D., Chokshi, H. B., et al. (2013). Hit identification and optimization in virtual screening: practical recommendations based on a critical literature analysis: miniperspective. *J. Med. Chem.*, 56(17), 6560–6572.
- [2] Kennedy, A. (1997). Managing the Drug Discovery/Development Interface. *Drug Discov. Today*, 2, 436–444.
- [3] Leeson, P. D. (2016). Molecular inflation, attrition and the rule of five. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 101, 22–33.
- [4] Eddershaw, P. J., Beresford, A. P., Bayliss, M. K. (2000). ADME/PK as Part of a Rational Approach to Drug Discovery. *Drug Discov. Today*, 5, 409–414.
- [5] Dandapani, S., Rosse, G., Southall, N., Salvino, J. M., & Thomas, C. J. (2012). Acquiring, and Using Small Molecule Libraries for High-Throughput Screening. *Curr. Protoc. Chem. Biol.*, 4, 177–191.
- [6] Galloway, W. R., Spring, D. R. (2009). Is synthesis the main hurdle for the generation of diversity in compound libraries for screening? *Expert Opin. Drug Discov.*, 4(5), 467–472.
- [7] Gorse, A.-D., Diversity in medicinal chemistry space. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2006, 6(1), 3–18.
- [8] Jacoby, E., Schuffenhauer, A., Popov, M., Azzaoui, K., Havill, B., Schopfer, U. et al. (2005). Key aspects of the Novartis compound collection enhancement project for the compilation of a comprehensive chemogenomics drug discovery screening collection. *Curr. Top. Med. Chem.*, 5(4), 397–411.
- [9] Dolle, R. E. (2002) Comprehensive survey of combinatorial library synthesis: 2001. *J. Comb. Chem.*, 4, 369–418.
- [10] Maldonado, A. G., Doucet, J. P., Petitjean, M., & Fan, B. T. (2006). Molecular similarity and diversity in chemoinformatics from theory to applications. *Mol. Divers.*, 10(1), 39–79.
- [11] Paricharak, S., Méndez-Lucio, O., Chavan Ravindranath, A., Bender, A., Ijzerman, A. P., & van Westen, G. J. (2018). Data-driven approaches used for compound library design, hit triage and bioactivity modeling in high-throughput screening. *Brief Bioinform.*, 19(2), 277–285.
- [12] An, Y., W. Sherman, and S. L. Dixon, (2012). Hole filling and library optimization: Application to commercially

- available fragment libraries. *Bioorg. Med. Chem.*, 20(18), 5379–5387.
- [13] Jacoby, E., Wroblewski, B., Buyck, C., Neefs, J. M., Meyer, C., Cummings, M. D., & van Vlijmen, H. (2018). Protocols for the Design of Kinase-focused Compound Libraries. *Mol. Inform.*, 37(5), e1700119.
- [14] Guo, T., & Hobbs, D. W. (2003). Privileged structure-based combinatorial libraries targeting G protein-coupled receptors. *Assay Drug Dev. Technol.*, 1(4), 579–592.
- [15] Zhang, X., Betzi, S., Morelli, X., & Roche, P. (2014). Focused chemical libraries—design and enrichment: an example of protein–protein interaction chemical space. *Future Med. Chem.*, 6(11), 1291–1307.
- [16] Baell, J. B., G. A. Holloway, (2010). New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *J. Med. Chem.*, 53(7), 2719–2740.
- [17] Senger, M. R., Fraga, C. A., Dantas, R. E., & Silva Jr, E. P. (2016). Filtering promiscuous compounds in early drug discovery: is it a good idea? *Drug Discov. Today*, 21(6), 868–72.
- [18] Cheng, X., & Hochlowski, J. (2002). Current application of mass spectrometry to combinatorial chemistry. *Anal. Chem.*, 74(12), 2679–2690.
- [19] Karancsi, T., Gödörházy, L., Szalay, D., & Darvas, F. (2005). UV-triggered main-component fraction collection method and its application for high-throughput chromatographic purification of combinatorial libraries. *J. Comb. Chem.*, 7(1), 58–62.
- [20] Darvas F., Dormán G., Karancsi T., Nagy T., Bágyi I. (2002). Estimation of Stability and Shelf Life for Compounds, Libraries and Repositories in Combination with Systematic Discovery of New Rearrangement Pathways. In: *Handbook of Combinatorial Chemistry* (Eds. Nicolaou KC, Hanko R and Hartwig W), 806–828, Wiley-VCH, New York, Weinheim.
- [21] Ilouga, P. E., Winkler, D., Kirchhoff, C., Schierholz, B., & Wölcke, J. (2007). Investigation of 3 industry-wide applied storage conditions for compound libraries. *J. Biomol. Screen.*, 12(1), 21–32.
- [22] Kozikowski, B. A., Burt, T. M., Tirey, D. A., Williams, L. E., Kuzmak, B. R., Stanton, D. T., et al. (2003). The effect of freeze/thaw cycles on the stability of compounds in DMSO. *J. Biomol. Screen.*, 8, 210–215.
- [23] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 23, 3–25.
- [24] Veber, D. E., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., Kenneth, D. K. (2002) Molecular properties

that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.*, 45, 2615–2623.

- [25] Lovering, F., Bikker, J., Humblet, C. (2009). Escape from flatland: increasing saturation as an approach to improving clinical success. *J. Med. Chem.*, 52, 6752–6756.
- [26] Wager, T. T., Villalobos, A., Verhoest, P. R., Hou, X., & Shaffer, C. L. (2011). Strategies to optimize the brain availability of central nervous system drug candidates. *Expert Opin. Drug Discov.*, 6(4), 371–381.
- [27] Besnard, J., Jones, P. S., Hopkins, A. L., & Pannifer, A. D. (2015). The joint european compound library: Boosting precompetitive research. *Drug Discov. Today*, 20(2), 181–186.
- [28] Darvas F., Keserü G., Papp Á., Dormán G., Úrge L., Krajcsi P. (2002). In Silico and Ex Silico ADME Approaches for Drug Discovery. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2, 1269–1277.
- [29] High-throughput ADMETox Estimation: In vitro & in silico approaches, (2002) BioTechniques Press, Eaton Publishing Eds Darvas F and Dormán G, BioTechniques Press, Eaton Publishing, Westborough, MA, USA.
- [30] Darvas F., Dormán G., Papp Á. (2000). Diversity Measures for Enhancing ADME Admissibility of Combinatorial Libraries. *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, 40, 314–322.
- [31] Smithing, M. P., Darvas, F. (1992). HazardExpert: an expert system for predicting chemical toxicity. In: *Food safety assessment*, Eds. J. W. Finley, S. F. Robinson and D. J. Armstrong. ACS-Symposium-series-American-Chemical-Society (USA), (no. 484) p. 191–200.
- [32] Vass L., Kis Z., Fehér L. Z., Zvara Á., Lőrincz Z., Borbola I., Cseh S., Kulín S., Úrge L., Dormán G., Puskás L. G. (2006). Medium-Throughput Microarray-Based Approach for Toxicogenomic Profiling of Small Molecules, *QSAR Comb. Sci.*, 25(11), 1039–1047.
- [33] Burke, M. D., Berger, E. M., Schreiber, S. L. (2004). A Synthesis Strategy Yielding Skeletally Diverse Small Molecules Combinatorially. *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 14095–14104.
- [34] Beeler, A. B., S. E. Schaus, J. A. Porco Jr. (2005). Chemical library synthesis using convergent approaches. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 9(3), 277–284.
- [35] Ugi, I. (2001). Recent progress in the chemistry of multi-component reactions. *Pure Appl. Chem.*, 73(1), 187–191.
- [36] Kappe, C. O. (2000). Recent advances in the Biginelli dihydropyrimidine synthesis. New tricks from an old dog. *Acc. Chem. Res.*, 33(12), 879–888.
- [37] Long, A. (2012). Parallel chemistry in the 21st century. *Curr. Protoc. Pharmacol.*, 58(1), 9–16.
- [38] Ortholand, J. Y., Ganesan, A. (2004). Natural products and combinatorial chemistry: back to the future. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 8(3), 271–280.
- [39] Tan, D. S. (2005). Diversity-oriented synthesis: exploring the intersections between chemistry and biology. *Nature Chem. Biol.*, 1(2), 74.
- [40] Galloway, W. R., A. Isidro-Llobet, D. R. Spring (2010). Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules. *Nat. Commun.*, 1(1), 1–13.
- [41] Schreiber, S. L. (2000.) Target-oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. *Science*, 287(5460), 1964–1969.
- [42] Galloway, W. R. J. D., Spring, D. R. (2013) Towards drugging the undruggable: enhancing the scaffold diversity of synthetic small molecule screening collections using diversity-oriented synthesis. *Divers. Oriented Synth.*, 1, 21–28.
- [43] Schreiber, S. L. (1998). Chemical genetics resulting from a passion for synthetic organic chemistry. *Bioorg. Med. Chem.*, 6(8), 1127–1152.
- [44] Darvas F., Dormán G., Krajcsi P., Puskás L. G., Kovári Z., Lőrincz Z., Úrge L., (2004). Recent Advances in Chemical Genomics. *Curr. Med. Chem.*, 11, 3119–3145.
- [45] Chemical Genomics and Proteomics. (2013). Eds. Darvas F., Guttman A., Dormán G., Taylor and Francis/CRC Press. New York, Basel.
- [46] Dormán, G. (2011). Fenotípus alapú megközelítések, kémia genomika Gyógyszerkutatás kémiája (szerk. Keserü Gy.), Akadémiai Kiadó, Budapest, 116–152 old.
- [47] Nielsen, T. E., Schreiber, S. L. (2008) Diversity-oriented synthesis – towards the optimal screening collection: a synthesis strategy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 47(1), 48–56.
- [48] Beckmann, H. S. G., Nie, F., Hagerman, C. E., Johansson, H., Tan, Y. S., Wilcke, D., Spring, D. R. (2013) A strategy for the diversity-oriented synthesis of macrocyclic scaffolds using multidimensional coupling. *Nature Chem.*, 5, 861–867.
- [49] Wetzel S., Bon R. S., Kumar K., Waldmann H. (2011). Biology-oriented synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 50, 10800–10826.
- [50] Hajduk, P. J., Galloway, W. R. J. D., Spring, D. R. (2011) A question of library design. *Nature*, 470, 42–43.