

Dormán György

■ TargetEx Kft., SZTE Gyógyszerésztudományi Kar

A kombinatorikus kémia tündöklése, hanyatlása és újjászületése

Hatása a modern gyógyszerkutatásra | IV. 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.

A klasszikus kombinatorikus kémia válsága

1995-ben Ecker és Crooke megfogalmazta a kombinatorikus gyógyszerfeldezés iránti elvárásokat. Idetartozott a gyógyszerjelöltek minőségének és teljesítményének javítása, a gyorsított vezérmolekula-azonosítás, a vezérmolekulák gyorsabb eljuttatása a klinikáig, nagyobb szelektivitás, farmakokinetikai tulajdonságok javítása, alacsonyabb toxicitás.

A hangsúlyt az újdonságra és a megnövelt kémiai térre helyezte, illetve arra, hogy a kombikem olyan vegyületeket eredményezzen, amilyeneket a hagyományos szerves kémiai módszerekkel nem sikerülne előállítani. Viszont amennyiben kizárólag a molekulaszám nő, de a kémiai tér ugyanabban a szerkezeti körben marad, mint korábban, akkor nem várható áttörés. Ez a „próféta jövendölés” beigazolódott. [1]

A kombikem azt a paradigmaváltást is ígérte, hogy az automatizált, robotizált molekulagyárak tehermentesítik a szerves kémikust a rutin kísérleti tevékenységtől. Illúzió volt azt is feltételezni, hogy a nagy tagszámú könyvtárak már közvetlenül tartalmazzák a klinikai jelölt molekulákat, illetve hogy a szintetikus erőfeszítéseket meg lehet spórolni azzal, hogy egyszerűen megnöveljük az olcsón előállítható vegyületek számát (1. ábra).

Évekkel később fel is tették a kérdést, hogy hány gyógyszer kifejlesztéséhez járult hozzá a kombikem. Egyes vélekedések



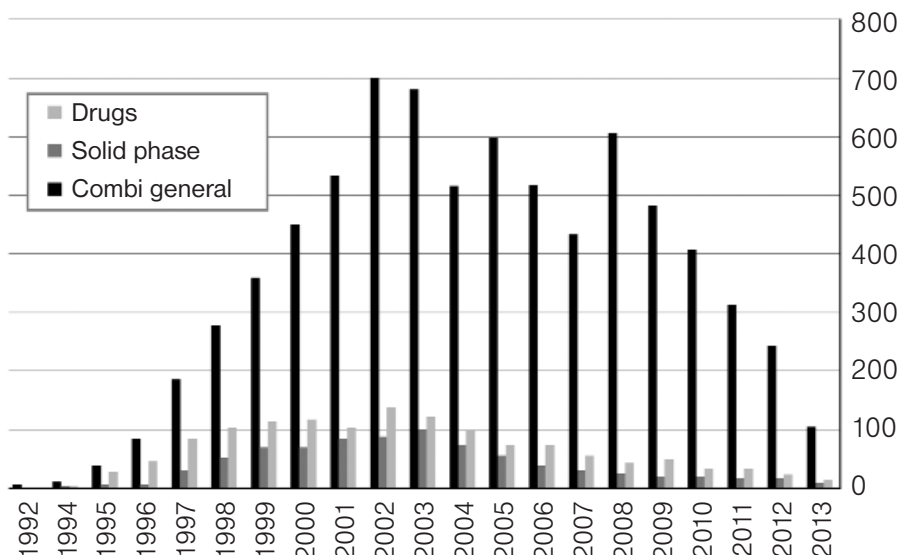
1. ábra. A szintetikus ráfordítások és az előállított molekulák számának, minőségének összefüggése [5]

szerint: a kombikem kitermelt tonnányi haszonértelen vegyületet nagyon sok vegyész alkalmazva. [2] Emellett a HTS gyakran gyenge minőségű adatokat szolgáltatott, ill. számos fehérje célpont esetében nem sikerült egyetlen aktív vegyületet sem azonosítani. A nagy molekulaszám nem várt, relatíve alacsony találati arányt (0,01% és 0,14% között) eredményezett, [3,4] ami különösen az első időkben a vegyületek alacsony tisztaságának és a tervezett szintéziságak részbeni sikertelenségének volt betudható.

A vegyületek hasonló vázszerkezete a változatos „dekoráció” ellenére sem hozott több találatot. A szintetikus komplexitás és diverzitás elérésére és a nagyszámú vegyület biológiai szűrésére drága berendezéseket fejlesztettek, de a nyert vegyületek értéke nem volt arányban a ráfordításokkal. Az automatizált technológiák és a kémia könyvtárásításának időskálája ugyancsak aránytalanul hosszú volt a kapott vegyületek hasznosságához képest. [5]

Bár új technológiai megoldások szület-

2. ábra. Évenkénti publikációk a kombinatorikus kémia területén (kombinatorikus kémia – általánosságban; szilárd fázisú szintézis és kombinatorikus kémia; kombinatorikus kémia és gyógyszerek)





tek, mint pl. a HTS, az automatizálás, a virtuális könyvtárszűrés és a kombinatorikus/párhuzamos szintézis módszerek, ezek a költségek jelentős emelkedését eredményezték. A várt áttörés nem következett be, az NCE-k száma nem növekedett, a gyógyszer-szektor bevételei tovább csökkentek. A valóság ennél árnyaltabb: 1991 és 2008 között 58 törzskönyvezett gyógyszer közül 19 felfedezéséhez járult hozzá a HTS és a kombikem, a fejlesztés valamelyik fázisában. Idetartozik több rákellenes tirozinkináz-gátló (gefitinib, erlotinib, sorafenib, dasatinib), ill. HIV-ellenes (Tiptanivir, Maraviroc) szer felfedezése is. [6] Bár Dolle szerint ez idő alatt több mint 5000 könyvtárat közöltek az irodalomban. [7] A publikációk évenkénti eloszlása szépen mutatja a kombikem felfutását és lecsengését. [8] A publikációs csúcs 2002–2003-ra esik (2. ábra).

A kombikem időközben „tabu” kifejezéssé vált, és fokozatosan felváltotta a nagy áteresztőképességű kémia elnevezés (high-throughput chemistry). [9] Ez magába olvasztott minden területet az analóg tervezéstől, párhuzamos és kombinatorikus szintézisen át a tisztításig és a molekulák automatizált kezeléséig.

Az 1999-ben alapított Journal of Combinatorial Chemistry 2010-ben kiterjesztett szakmai területtel, új névvel (ACS Combinatorial Science) jelent meg. A korábbi QSAR-ról 2003-ban QSAR & Combinatorial Science-ra kiterjesztett Wiley folyóirat pedig 2010-ben megszűnt, szakmai területének informatikai vonatkozásait a Molecular Informatics vette át. Az 1995-ben alapított Molecular Diversity (Springer) több válságot és megszakítást átélve vegyes tartalmú szintetikus, informatikai orgánummá vált.

A kombikem sikertelensége miatt a gyógyszeripar nagy nyomás alá került, mert a felfedező kutatás költségeit jelentősen csökkenteniük kellett. Egy mítosz szertefoszlott. A legtöbb kombinatorikus csoport 2008-ra lényegében feloszlott (a „molekulagyárak” ideje lejárt), a vegyészeket más területek szívták fel.

A nagy gyógyszergyárak addigra többmillió, saját kutatási irányukat kiszolgáló molekulabankokat létesítettek. A Bayer és AstraZeneca-könyvtárak esetén < 20%-nyi vegyület mutatott szerkezeti hasonlóságot egymáshoz, amelyek többsége külső könyvtárellátótól származott. [10] A már létrehozott molekulabankokat később is megtartották, időnként szűkítették tisztaság alapján, ill. új molekulák hozzáadásával egészítették ki.

A nagy tagszámú könyvtárak szintézisének ideje végleg lejárt, a figyelem kisebb fókuszált, ill. analógvételek felé fordult. A vegyületszám csökkenésével az osztásos-keveréses szintézis háttérbe szorult, a kisebb nemkeverék-könyvtárak klasszikus vagy párhuzamos szintézismódszereket igényeltek. A trendet támogatta a 2D/3D alapú virtuális szűrés intenzív fejlődése, sebességének és pontosságának növekedése.

A kombikem- és kombinatorikus könyvtárak gyenge pontjai

1. Szerkezeti redundancia, a kémiai tér alacsony lefedettsége, alacsony újdonságtartalom

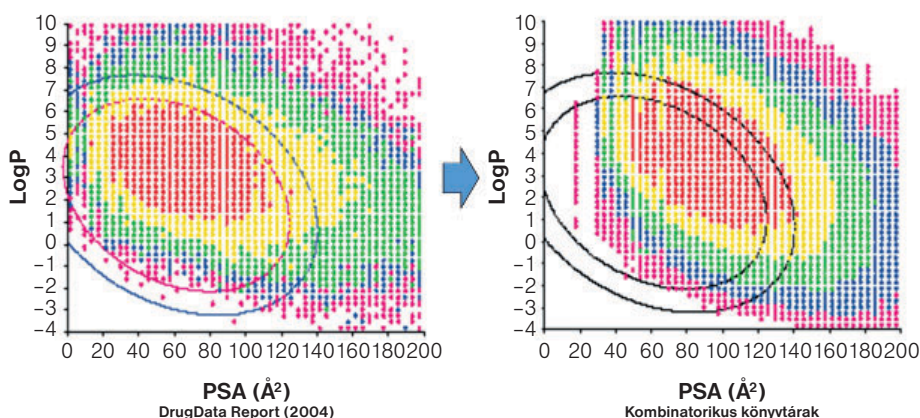
A szerkezeti redundancia (ismétlődés) részben az építőelemek, reagensok korlátozott elérhetőségében, ill. a néhány viszonylag egyszerű kémiai lépés alkalmazásában rejlik. [11] Ez a diverzitás mértékét eleve korlátozta, így a különböző laborokban készült könyvtárak nagyban hasonlítottak egymásra. Shang és munkatársai 11 kereskedelmi könyvtárat hasonlítottak össze vázdiverzitás szempontjából, és nagyszámú gyűrűrendszert azonosítottak, amely mindegyik könyvtárban nagy arányban fordult elő. [12] Ezek közé tartoztak a számos gyógyszerben megtalálható ún. „kiváltságos” vázszerkezetek is, amelyek számos fehérjecélponton mutattak biológiai aktivitást a helyettesítésektől függően. Kimutatták, hogy 2013-ig az új gyógyszereknek csupán 28%-a tartalmazott új gyűrűrendszereket, és évente átlagosan 6 új gyűrűrendszer került be az új gyógyszerek kémiai terébe. [13] A trendhez hozzájárult a jól bevált „me-too” („én is”) stratégia alkalmazása is, miszerint az új hatóanyag felfedezésekor egy régi gyógyszerből indulunk ki. A UCB kutatói legenerálták a lehetséges 5 és 6 tagú

heterociklusokból képezhető mono- és biciklikus gyűrűrendszereket (24 847); ez alkotja a VEHICLe (virtual exploratory heterocyclic library) virtuális felfedező heterociklusos könyvtárat. [14] Irodalomkutatás szerint csupán 1701-et szintetizáltak a megjelenés időpontjáig. Megállapították, hogy kb. 3000 gyűrűrendszer szintézise megvalósítható. Ez a tanulmány megerősítette a gyógyszerfejlesztés szempontjából releváns kémiai tér alacsony lefedettségét a gyógyszerjelöltek és a kombinatorikus könyvtárak által.

2. A könyvtárak nagy része planáris (síkszerű) gyűrűrendszereket tartalmaz

A különböző könyvtárak molekuláinak alakja, térbeli elrendeződése (topológiája) hasonló volt. Emögött részben az a tényező állt, hogy a molekuláris váz milyen pozícióban és térbeli irányban tartalmazott diverzitás bevezetésére alkalmas funkcionális csoportokat, melyben gyakran az elérhető reagensok és a kémia egyszerű megvalósíthatósága volt korlátozó tényező. A topológikus hasonlóság oka volt az is, hogy a molekulák főleg planáris (síkszerű) gyűrűrendszereket tartalmaztak. [15] Ebben komoly szerepet játszottak a nagy népszerűsége miatt átmenetifémek által katalizált keresztkapcsolásos reakciók (Suzuki, Heck stb.), amelyek új sp^2-sp^2 kötéseket létesítettek. [16] A 3 dimenziós térszerkezetű, sp^2-sp^3 vagy sp^3-sp^3 kötések tartalmazó, nem síkszerű, flexibilisebb vegyületek nagyobb valószínűséggel kötődnek célfehérjeikhez, így találati arányuk is magasabb. A természetes anyagokat imitáló, nagy vázdiverzitású, számos aszimmetriacentrumot tartalmazó könyvtárak lennének a legalkalmasabbak, viszont ezek általában soklépéses, nehezen párhuzamosítható szintézist igényelnek.

3. ábra. Törzskönyvezett gyógyszerek (DrugData report, 2004) (balra) és kereskedelmi molekulakönyvtárak LogP- és PSA-eloszlása (D. Reynolds nyomán – nem közölt)





3. A molekulák „elzsírosodása”¹

Leeson elemzése szerint 18 gyógyszeripari cég 2000 és 2011 közötti gyógyszerjelölt-szabadalmaiban a leírt molekulák szignifikánsan nagyobb molekulatömeggel bírtak és lipofilebbek voltak a forgalomban lévő orálisan felszívódó gyógyszerekénél. [17] Más elemzések ugyanezt találták a kombinatorikus könyvtárakra is (3. ábra). Ennek egyik oka, hogy a diverzitás növelése érdekében minden funkciós csoport származékoltatva van (elsősorban lipofil csoportokkal), ezáltal a LogP érték folyamatosan nő, és nem illeszkedik a gyógyszerek LogP értékeihez. [18]

Bár a Lipinski-féle 5-ös szabály kritériumait többen komolyan vitatták, [19] mégis azokat figyelembe véve, a törzskönyvezett gyógyszerek kiterjesztett LogP értékeinek eloszlási határvonalán a kereskedelmi könyvtárak nagy arányban kívül esnek. Ez ugyanúgy érvényes a Veber-szabályokban lévő PSA (poláris felület terület) eloszlására is.

Összegezve, kisebb tagszámú könyvtárak, kisebb molekulatömegű, kevésbé lipofil molekulák, új gyűrűrendszerekkel, sp³-dús 3D térszerkezetű, számos aszimmetriacentrumot tartalmazó molekulák várhatóan nagyobb sikerarányt eredményeztek volna. A fenti megállapítások ugyan csak hozzájárultak a fragmentum- és vezérmolekula-jellegű könyvtárak elterjedéséhez, amiről később lesz szó.

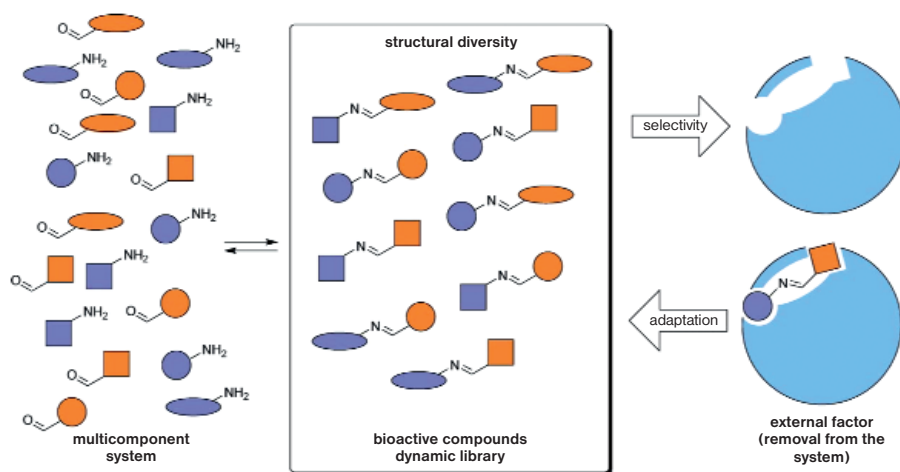
A kombinatorikus kémia reneszánsza

A kombikem újjászületése valójában néhány korábbi koncepció forradalmi megújításának köszönhető. Idetartozik a dinamikus kombinatorikus kémia, a DNS-kódolt könyvtárak (DEL) innovatív alkalmazása, könyvtárszintézis áramlások rendszerekben és az új könyvtártípusok felmerülése.

Dinamikus kombinatorikus kémia

Számos új közlemény született az elmúlt években a dinamikus kombikem korszerű alkalmazásairól. [20,21]

A dinamikus kombikem eredeti koncepciója a Nobel-díjas J. M. Lehn-től származik. [22] Itt a vegyületár az építőelemek reverzibilis kovalens kapcsolódásával *in situ* képződik, elméletileg az összes lehetséges kombinációt magában foglalja, és a fe-



4. ábra. A dinamikus kombinatorikus kémia elve és megvalósítása [23]

hérjéhez legszorosabban kötődő tagok dúslását eredményezi a könyvtár tagjai között fennálló dinamikus versengés következtében. A dinamikus kémiai könyvtárban az építőelemeknek a szerkezeti diverzitás mellett reverzibilis kapcsolódásra képes funkciós csoportokkal is kell rendelkezniük (pl. amin- és aldehidcsoport), ami egyensúlyi reakcióban Schiff-bázis-könyvtárhoz vezet (4. ábra). A találat validálásaként az azonosított aktív vegyület irreverzibilis kovalens kötést tartalmazó analógját szintetizálják meg és szűrik a célfehérjén.

A koncepció újrafelfedezése az időközben megvalósult technológiai újításoknak is köszönhető. Ezek egyikében áramlások rendszerben valósul meg az építőelemek reverzibilis kombinációja és kölcsönhatása a fehérjecélponttal. A legjobban kötődő molekulát méretkizáras kromatográfiával, majd fehérjedenaturációt követően tömegspektrometriával azonosítják (5. ábra). [24]

DNS-kódolt könyvtárak (DEL)

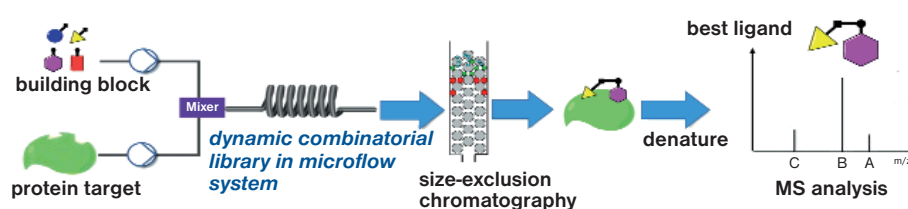
A szilárd fázisú osztásos-keveréses könyvtárszintézis DNS-kódolt (címkézett) változatának újrafelfedezése Lerner korai koncepciójára épül, ami a biológiai szűrést követő PCR- (polimeráz láncreakció) amplifikációs (sokszorozó) és gyors DNS-szekvenálási technológia kiegészítésével gyors,

nagy kapacitású és hatékony módszerre fejlődött az elmúlt években. [25,26] Ily módon rövid idő alatt akár 10⁹ tagszámú keverékkönyvtárat is elő lehet állítani és le lehet szűrni (lásd a címlapon szereplő ábrát).

A többlépéses osztásos-keveréses szintézis mindegyik lépésében egy oligonukleotid-fragmentumot kapcsolunk a keletkező keverék molekuláihoz, ami azonosíthatóvá teszi az adott lépésben beépített építőelemeket. A könyvtárszintézis egy többfunkciós építőelem rövid DNS-szekvenciához való kapcsolásával indul, majd egyesítik a termékeket, és szétosztják különböző reakcióedényzetbe. Ezt edényzetenként új reakció követi, újabb építőelemekkel, majd az oligonukleotid-szálat újabb, a lépésre jellemző DNS-szekvenciával meghosszabbítják ligálás útján. Több lépés után a DNS-kódolt keverékkönyvtárat affinitásalapú biológiai szűrővizsgálatnak vetik alá, amely kötődési képesség alapján megkülönbözteti, szétválasztja a molekulákat. A kötődést mutató molekulák DNS-lánc relatív mennyiségének sokszorozása polimeráz-láncreakció (PCR), majd azt követő azonosítása nagy áteresztőképességű szekvenálás alkalmazásával történik.

A módszer kétségtelen előnye a relatív kis mennyiség: kis reagensigény, nanomólnyi termékek elegendők több ezer szűrés végrehajtásához, a módszer gyorsasága, nagy könyvtárak generálása stb. A szilárd

5. ábra. Dinamikus kombinatorikus kémia megvalósítása folyamatos áramlások rendszerben



¹ Az „elzsírosodás” kifejezést Keserű György használta számos előadásában



fázisú szintézis és az oligonukleotid-címke azonban korlátozza az alkalmazható kémiai reakciók sorát. A DEL technológia sikerét és növekvő népszerűségét bizonyítja, hogy például a GSK kutatói a DEL-találatok kisebb módosításával rövid idő alatt jutottak klinikai jelölt molekulához RIPI (Receptor Interacting Protein 1) és sEH (soluble epoxide hydrolase) célpontok ellen. [27]

Könyvtárszintézis folyamatos áramlós rendszerekben

A könyvtárszintézis reneszánszára komoly hatással volt az áramlós kémia gyors fejlődése és általános elterjedése. [28] Ezt valójában a szilárd (polimer) hordozós reagentsek és reagensmegkötő gyanták széles körű elterjedése és többlépcsős reakciókban való alkalmazása alapozta meg.

Damiao és munkatársai [29] egyetlen folyadékáramban elosztott folyadékcseppekben (szegmensekben) állítottak elő szubsztituált triazolkönyvtárt (6. ábra). Itt valójában a párhuzamos szintézis helyett a könyvtár kiépítése rövid reakcióintervallumokkal szekvenciálisan (egymást követően) történik. A különböző reakciót hordozó és a mosásra használt folyadékszegmenseket nem elegyedő fluoros oldószerrel szétválaszthatjuk (7. ábra) [30]

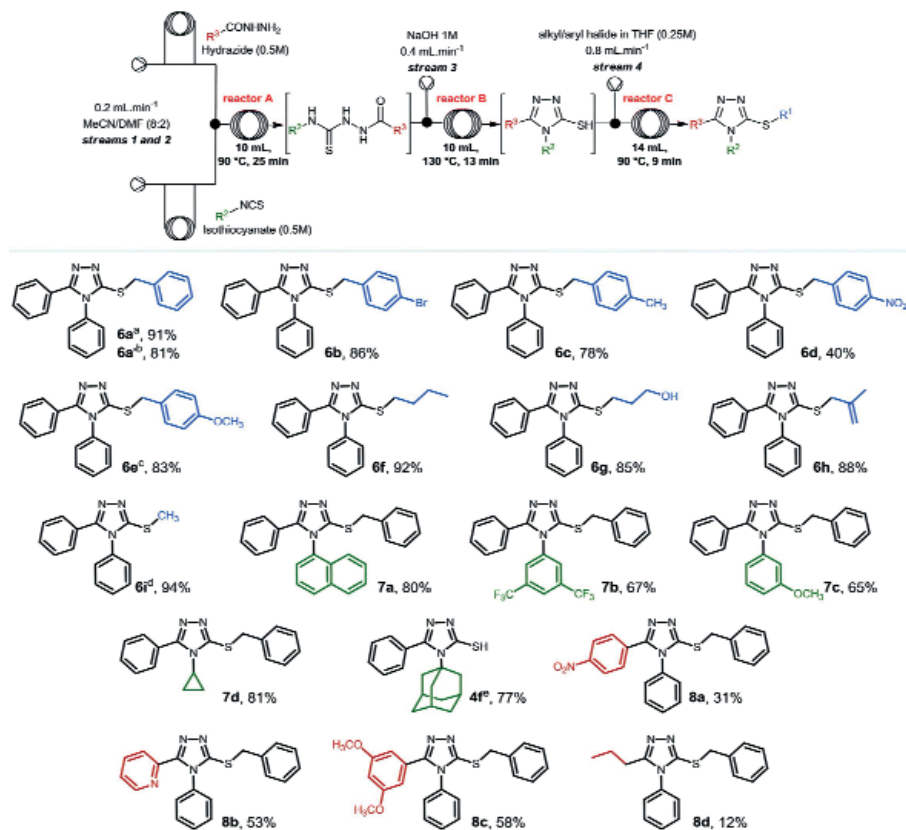
Az áramlós kémia új lehetőségeket teremtett a kémiai tér új típusú, elsősorban 3 dimenziós (nem síkszerű) gyűrűrendszerekkel való kiterjesztésére is. Ezt az aromás (planáris) gyűrűrendszerek részleges vagy teljes telítésével valósították meg. Ez utóbbit a ThalesNano által kifejlesztett H-Cube® áramlós hidrogénező reaktorban végezték. A módszer lényegében megfelel a „könyvtárból könyvtárba” stratégiának. Varga és munkatársai a 3 komponensű reakcióval előállított piridínium-pirazolát-könyvtár [31] néhány tagjának részleges telítését hajtották végre áramlós rendszerben (8. ábra).

Az áramlós kémia alkalmazásával jött létre az automatizált vagy integrált gyógyszerkémia. [32,33] Itt ciklikus hatás-szerkezet optimalizálás által automatikusan generált könyvtártagok szekvenciális *in situ* szintézise és közvetlen biológiai szűrése valósul meg (9. ábra).

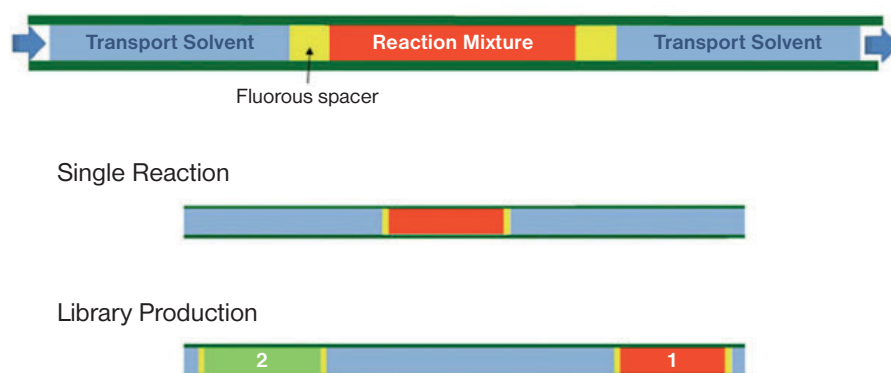
Új könyvtártípusok

a) Kovalens kötést létesítő vegyületeket tartalmazó könyvtárak

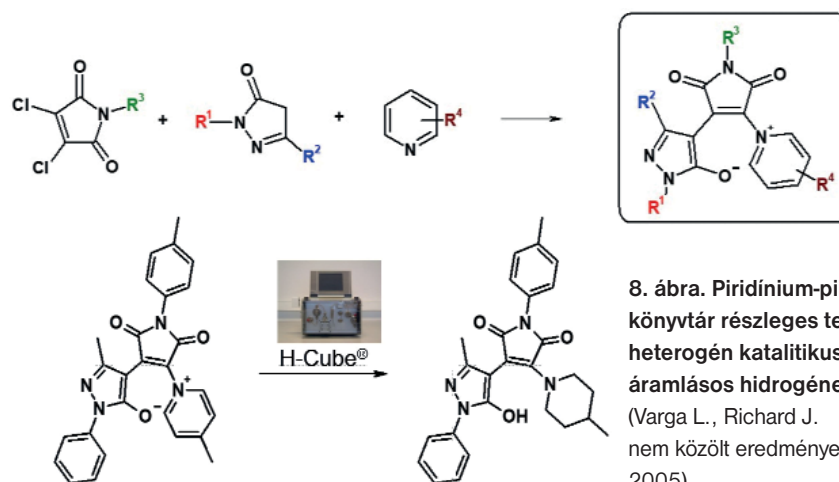
A kovalens kötést létesítő molekulákat korábban eltávolították a könyvtárakból. Évek-



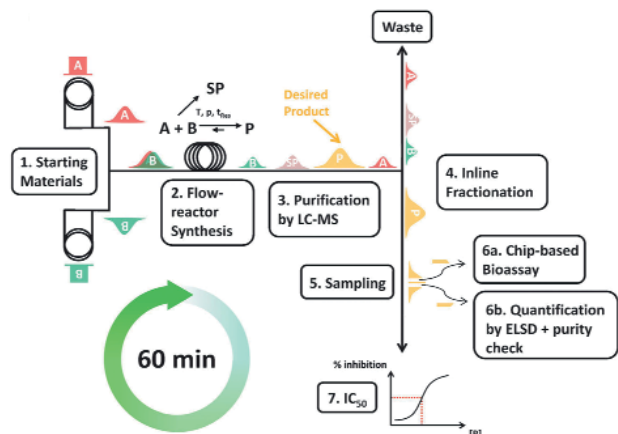
6. ábra. Helyettesített triazolkönyvtár előállítása egyetlen folyadékáramban áramlós reaktorokban



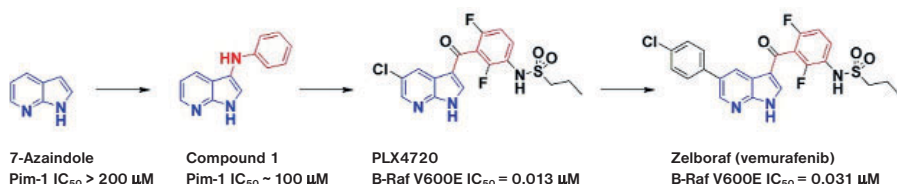
7. ábra. A fluoros oldószerrel szétválasztott folyadékáramok (cseppek) lehetőséget nyújtanak gyors egymást követő reakcióra és könyvtárszintézisre



8. ábra. Piridínium-pirazolát-könyvtár részleges telítése heterogén katalitikus áramlós hidrogénezéssel (Varga L., Richard J. nem közölt eredmények, 2005)



10. ábra. Vemurafenib kifejlesztése elsődleges fragmentumtalálathból kiindulva többlelépéses optimalizáció útján



kel később rájöttek, hogy a kovalens kötés célzott, specifikus kialakítása a célfehérjén a biológiai hatás tartós fennmaradásához vezethet. A kovalensen kötődő ligandumok [34] lehetnek mechanizmusalapú [35] vagy általános elektrofil, [36] ill. Michael-akceptor molekulák, melyek elsősorban a ciszteinek tiolcsoportjaival lépnek kölcsönhatásba. [37]

b) Fragmentumkönyvtárak

Hann és munkatársai már 2001-ben [38] azt találták, hogy a vezérmolekula-felfedezés sikeressége fordított arányban áll a molekulák komplexitásával. Ez teljességgel ellentmond a diverzitásorientált szintézis természetesanyag-szerű vegyületeit megcélzó koncepciójának. A kombinatorikus könyvtárak alacsony sikeraránya és elméleti megfontolások vezettek a fragmentumkönyvtárak elterjedéséhez [39] és az erre épülő fragmentumalapú gyógyszertervezéshez. [40] Itt a Lipinski-féle 5-ös szabály analógiájára egy ún. 3-as szabályt ($\text{LogP} < 3$, molekulatömeg < 300 , max. 3 hidrogénkötés-donor, ill. -akceptor, 3 vagy kevesebb rotálható csoport és a poláris felület területe $< 60 \text{ Å}^2$) kielégítő vegyületekből, építőelemekből álló könyvtárat létesítenek és mérnek a HTS-ben. A koncepció szerint az ún. vezérmolekula-szerű vegyületekhez hasonlóan ezekből a fragmentumokból a későbbi optimalizációs lépésekben további csoportokkal ellátva vagy éppen más aktív fragmentumokkal összekapcsolva sikeresen lehet gyógyszerjellegű vegyületeket kifejleszteni. A korábbi koncepció szerint a Lipinski-féle 5-ös szabályt kielégítő vegyületek

biológiai szűrésekor kapott találatok optimalizálása során további csoportokat kapcsolnak hozzájuk, ami által a vegyületek molekulatömege és lipofilicitása tovább nőtt, megnehezítve ezzel az orális felszívódást. Számos tanulmány [41,42] szerint a fragmentumokra jellemző az entalpiavezérelt kötődés, amit szubsztituensek bevezetése által entrópiorientált módon lehet optimalizálni. Elemzésük alapján a fragmentumok révén a kémiai tér lefedettsége is sokkal nagyobb.

A vemurafenib volt az első FDA-engedélyezett gyógyszer, amit fragmentumalapú gyógyszertervezés útján fejlesztettek ki. [43] A kiindulási nagy diverzitású, „vázjellegű” fragmentumokat (150–350 Da) tartalmazó könyvtár (20 000 vegyület) először 200 μM koncentráción tesztelték, majd a kinázgátló aktivitást mutató találatokat szisztematikusan, szelektivitást és biológiai hasznosulást figyelembe véve építették tovább (10. ábra).

Mit kaptunk a kombinatorikus kémiától az elmúlt 25 évben? Mi épült be a modern gyógyszerkutatásba?

Bár a klasszikus kombinatorikus kémia ideje lejárt, mégis komoly hatással volt a korszerű gyógyszerkutatásra. [5] A korai lelkesedést felváltotta a kombikem realisztikus megítélése, és betagozódott a standard technológiák, eszköztárak sorába. Bár már ritkán használjuk a „kombinatorikus” kifejezést, a „könyvtár” (vegyülettár) elne-

9. ábra. Hatás-szerkezet alapú könyvtárgenerálás, szintézis, tisztítás és biológiai szűrés automatizált optimalizációs ciklusa folyamatos áramlásos rendszerben

vezésben legfontosabb eleme tovább él. A kombikem jelentősen gyarapította a szintetizált molekulák számát, így nagy molekulabankok jöhetnek létre. A gyógyszertervezés manapság a kombinatorikus analógtervezés és párhuzamos szintézismódszerek alkalmazásával gyorsabban és kisebb erőfeszítéssel képes diverz analógvagyatartat előállítani. Ezek a módszerek és technikák mára a legtöbb gyógyszerfelfedező laboratóriumban rutinszerűvé váltak.

A kombikem hatása 4 csoportba sorolható

1. A kombikem legfontosabb hatása a kombinatorikus gondolkodás elterjesztésében érhető tetten. Ez magában foglalja a produktivitás növelését és a kémiai tér szisztematikus feltérképezését annak érdekében, hogy maximalizálja az elérhető kémiai, szerkezeti, szintetikus és biológiai hatásra vonatkozó információk kihasználását az adott projekten belül. [44] A kombinatorikus variációkban és a kémiai térben való globális molekuláris gondolkodás kétségtelenül jövőbe mutató új szemléletet hozott a gyógyszerkutatásba. A gyógyszerkémikus már nem egyetlen szintetizálandó molekulában, hanem azok analóg sorozatában, „könyvtárakban” gondolkodik. Ehhez kapcsolódik a tulajdonságok statisztikus eloszláson alapuló elemzése. A kombinatorikus gondolkodás áttért az anyagtudomány és a katalizátorfejlesztés területére is, ahol a szerkezeti sokféleség mellett az alkalmazott paraméterek lehetséges variációi is megjelennek. [45] Ezzel lényegében a kombinatorikus gondolkodás egy új, általános felfedező kutatási paradigmává vált. [46]

2. Az előbbi ponthoz szorosan kapcsolódik a kemoinformatika rohamos fejlődése, aminek egyik fő mozgatója a kombinatorikus kémia és gondolkodás volt. Idetartozik a virtuális könyvtártervezés és generálás, a 2D/3D virtuális szűrés egyre pontosabb végrehajtása, a kémiai tér analízise, a diverzitátszámolás és a szelekció, a fizikokémiai (ADMETox) paraméterek becslése, a szintézistervezés, a párhuzamosítás, a szintetizálhatóság becslése, a nagy adatbázisok kezelése stb.

3. A kombikem hozzájárult a szintézismódszerek megújításához is. Az ismert szerves kémiai reakciókra szilárd és folyadékfázisú párhuzamos szintézisprotokollok születtek. A diverzitás kiépítését célzó új szintetikus módszerek (MCR, DOS) és a diverzitást hordozó funkciók beépítését célzó új reakciók (keresztkapcsolás) jelentősen hozzájárultak a szerves kémia fejlődéséhez. A kombinatorikus kémia meg-



gyorsította az ún. szintézist könnyítő (enabling chemistry) [47] módszerek elterjedését is. Idetartoznak a szilárd-hordozós reagensek, a feleslegmegkötő gyanták, a MAOS (mikrohullámmal gyorsított szintézisek), az áramlások kémia stb. Új gyűűrendszerek szintézise érdekében a hagyományos laboratóriumi paramétertér [48] kiterjesztésére is számos kísérlet történt – pl. az Új Eljárás Ablak (Novel Process Windows) „kitárásával”. [49]

4. A kombinatorikus kémia ugyancsak meggyorsította a technológiai innovációk beépítését a szintetikus, tisztítási, biológiai szűrési és logisztikai folyamatokba. A robotizált mintakezelés, és kiszérelés, az automata tisztítási és analitikai rendszerek, a párhuzamos kémiai mikrosorok, az áramlások reaktorok, az automatizált nagy áteresztőképességű biológiai szűrési és szűrés mind-mind hozzájárultak a gyógyszerkutatás megújításához, kapacitásnöveléséhez és a fejlesztési ciklusidők csökkentéséhez.

A 25 évvel ezelőtt kifejlődött kombinatorikus kémia – bár maga az elnevezés tekintetében „kikopott” a szakmai köztudatból – mégis visszavonhatatlanul nyomot hagyott a korszerű gyógyszerkutatásban és jelenleg tanúi lehetünk az újjászületésének.

Cikksorozatunkat dr. Furka Árpád professzornak ajánlottuk, akinek hozzájárulása elvülhetetlen a kombinatorikus kémia alapjainak lerakásában, és az általa lefektetett elvek köszönnek vissza a DNS-kódolt könyvtárakban is, ami fontos mérföldkő a kombikém újjászületésében, megújításában.

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

IRODALOM

- [1] Ecker, D.J. and S.T. Crooke, Combinatorial drug discovery: which methods will produce the greatest value? *Bio/Technology*, 1995. 13(4), 351.
- [2] https://blogs.sciencemag.org/pipeline/archives/2014/10/14/combichem_into_drugs_how_many
- [3] Lowe, D.B., (2014). Drug discovery: Combichem all over again. *Nature Chem.* 6(10), 851–2.
- [4] 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.
- [5] Campbell, I.B., S.J.F. Macdonald, and P.A. Procopiou, (2018). Medicinal chemistry in drug discovery in big pharma: past, present and future. *Drug Discov Today*, 23(2), 219–234.
- [6] Macarron, R., Banks, M. N., Bojanic, D., Burns, D. J., Cirovic, D. A., Garyantes, T., et al. (2011). Impact of high-throughput screening in biomedical research. *Nat Rev Drug Discov* 10(3), 188–195.
- [7] Dolle, R. E., Le Bourdonnec, B., Goodman, A. J., Morales, G. A., Thomas, C. J., Zhang, W. (2009) Comprehensive survey of chemical libraries for drug discovery and chemical biology: *J Comb Chem*, 11, 755–802.
- [8] Czechitzky, W. and P. Hamley, (2015) Small molecule medicinal chemistry: strategies and technologies. John Wiley & Sons. Marcel Patek, Martin Smrcina, Eric Węgrzyniak, Victor Nikolaev, and Andres Mariscal, *Solid-Phase Combinatorial Chemistry*, 103.
- [9] Merritt, A., (2011). High throughput chemistry in drug discovery, in *New Synthetic Technologies in Medicinal Chemistry*. 6–41.
- [10] Kogej, T., Blomberg, N., Greasley, P. J., Mundt, S., Vainio, M. J., Schamberger, J., et al. (2013). Big pharma screening collections: more of the same or unique libraries? The AstraZeneca–Bayer Pharma AG case. *Drug Discov. Today*, 18(19–20), 1014–1024.
- [11] Roughley, S. D.; Jordan, A. M. (2011). The Medicinal Chemist's Toolbox: An Analysis of Reactions Used in the Pursuit of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* 54, 3451–3479.
- [12] Shang, J., Sun, H., Liu, H., Chen, F., Tian, S., Pan, P., et al. (2017). Comparative analyses of structural features and scaffold diversity for purchasable compound libraries. *J Cheminform* 9(1), 25.
- [13] Taylor, R. D., M. MacCoss, and A. D. Lawson, (2014). Rings in drugs. *J Med Chem*, 57(14), 5845–59.
- [14] Pitt WR, Parry DM, Perry BG, Groom CR (2009). Heteroaromatic rings of the future. *J. Med. Chem.* 52, 2952–2963.
- [15] Kennedy, J. P., Williams, L., Bridges, T. M., Daniels, R. N., Weaver, D., Lindsley, C. W. (2008). Application of combinatorial chemistry science on modern drug discovery. *J. Comb. Chem.*, 10(3), 345–354.
- [16] Gerencsér J.; Balázs Á.; Dormán G. (2014) Transition-metal catalyzed coupling reactions in high-throughput library synthesis (Topics in Heterocyclic Chemistry, Vol. 45., Synthesis and Modification of Heterocycles by Metal-Catalyzed Cross-coupling Reactions, Editors: T. Patonay, K. Kónya, 305–358.
- [17] Leeson, P.D., (2016). Molecular inflation, attrition and the rule of five. *Adv Drug Deliv Rev*, 101, 22–33.
- [18] Keserű, G. M., Makara, G. M. (2009). The influence of lead discovery strategies on the properties of drug candidates. *Nat. Rev. Drug Discov* 8(3), 203–212.
- [19] Zhang, M. Q., Wilkinson, B. (2007). Drug discovery beyond the 'rule-of-five'. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 18(6), 478–488.
- [20] Mondal, M. and A. K. Hirsch, (2015). Dynamic combinatorial chemistry: a tool to facilitate the identification of inhibitors for protein targets. *Chem Soc Rev*, 44(8), 2455–88.
- [21] Frei, P. R., Hevey, and B. Ernst, (2019.) Dynamic Combinatorial Chemistry: A New Methodology Comes of Age. *Chemistry*, 25(1), 60–73.
- [22] Ramström, O., Lehn, J. M. (2002). Drug discovery by dynamic combinatorial libraries *Nat. Rev. Drug Discov.* 1(1), 26.
- [23] Herrmann, A. (2009). Dynamic mixtures and combinatorial libraries: imines as probes for molecular evolution at the interface between chemistry and biology. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 7(16), 3195–3204.
- [24] Qiu, C., Fang, Z., Zhao, L., He, W., Yang, Z., Liu, C., Guo, K. (2019). Microflow-based dynamic combinatorial chemistry: a microscale synthesis and screening platform for the rapid and accurate identification of bioactive molecules. *React. Chem. Eng.* 4(4), 658–662.
- [25] Neri, D., Lerner, R. A. (2018). DNA-encoded chemical libraries: A selection system based on endowing organic compounds with amplifiable information. *Annu Rev Biochem* 87, 479–502.
- [26] Goodnow, R. A., Dumelin, C. E., Keefe, A. D. (2017). DNA-encoded chemistry: enabling the deeper sampling of chemical space. *Nat Rev Drug Discov* 16(2), 131–147.
- [27] Belyanskaya, S. L., Ding, Y., Callahan, J. E., Lazaar, A. L., Israel, D. I. (2017). Discovering Drugs with DNA-Encoded Library Technology: From Concept to Clinic with an Inhibitor of Soluble Epoxide Hydrolase. *Chem BioChem*, 18(9), 837–842.
- [28] Watts, P., Haswell, S. J. (2003). Microfluidic combinatorial chemistry. *Curr Opin Chem Biol*, 7(3), 380–387.
- [29] Damião, M. C., Galaverna, R., Kozikowski, A. P., Eubanks, J., Pastre, J. C. (2017). Telescoped continuous flow generation of a library of highly substituted 3-thio-1, 2, 4-triazoles. *React. Chem. Eng.*, 2(6), 896–907.
- [30] Bogdan, A. R., Organ, M. G. (2018). Flow chemistry as a drug discovery tool: a medicinal chemistry perspective. In *Flow Chemistry for the Synthesis of Heterocycles* (319–341). Springer, Cham.
- [31] Varga L, Nagy T, Dormán G, Kálmán F, Ürge L and Darvas F (2006). Solution-Phase Parallel Synthesis of a Pyridinium-pyrazol-3-olate Inner Salt Library Using a Novel Three-Component Reaction *J. Comb. Chem.* 8, 338–343.
- [32] Schneider, G. (2017). Automating drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 17(2), 97.
- [33] Werner, M., Kuratli, C., Martin, R. E., Hochstrasser, R., Wechsler, D., Enderle, T. et al. (2014). Seamless Integration of Dose-Response Screening and Flow Chemistry: Efficient Generation of Structure–Activity Relationship Data of β -Secretase (BACE1) Inhibitors. *Angew Chem Int Ed Engl*, 53(6), 1704–1708.
- [34] Vasudevan, A., Argiriadi, M. A., Baranczak, A., Friedman, M. M., Gavriluk, J., Hobson, A. D., et al. (2019). Covalent binders in drug discovery. In *Progress in medicinal chemistry* (Vol. 58, 1–62). Elsevier.
- [35] Evans, M. J., Cravatt, B. F. (2006). Mechanism-based profiling of enzyme families. *Chem. Rev.* 106(8), 3279–3301.
- [36] Tolmachova, K. A., Moroz, Y. S., Konovets, A., Platonov, M. O., Vasylenko, O. V., Borysok, P., et al. (2018). (Chlorosulfonyl) benzenesulfonyl Fluorides–Versatile Building Blocks for Combinatorial Chemistry: Design, Synthesis and Evaluation of a Covalent Inhibitor Library. *ACS Comb. Sci.*, 20(11), 672–680.
- [37] Ábrányi-Balogh, P., Petri, L., Imre, T., Szijj, P., Scarpino, A., Hrást, M., Keserű, G. M. (2018). A road map for prioritizing warheads for cysteine targeting covalent inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 160, 94–107.
- [38] Hann, M. M., Leach, A. R., Harper, G. (2001). Molecular complexity and its impact on the probability of finding leads for drug discovery. *J Chem Inf Comput Sci*, 41(3), 856–864.
- [39] Keserű, G. M., Erlanson, D. A., Ferenczy, G. G., Hann, M. M., Murray, C. W., Pickett, S. D. (2016). Design principles for fragment libraries: maximizing the value of learnings from pharma fragment-based drug discovery (FBDD) programs for use in academia. *J Med Chem*, 59(18), 8189–8206.
- [40] Murray, C. W., Rees, D. C. (2009). The rise of fragment-based drug discovery. *Nat Chem*, 1(3), 187–192.
- [41] Ferenczy, G. G., Keserű, G. M. (2016). On the enthalpic preference of fragment binding. *MedChemComm*, 7(2), 332–337.
- [42] Ferenczy, G. G., Keserű, G. M. (2020). Thermodynamic profiling for fragment-based lead discovery and optimization. *Expert Opin. Drug Discov*, 15(1), 117–129.
- [43] Bollag, G., Tsai, J., Zhang, J., Zhang, C., Ibrahim, P., Nolak, K., Hirth, P. (2012). Vemurafenib: the first drug approved for BRAF-mutant cancer. *Nat Rev Drug Discov* 11(11), 873–886.
- [44] Seneci, P., Fassina, G., Frece, V., Miertus, S. (2014). The Effects of Combinatorial Chemistry and Technologies on Drug Discovery and Biotechnology – a Mini Review. *Nova Biotechnol. et Chim.* 13(2), 87–108.
- [45] Potyailo, R. A., Maier, W. F. (Eds.). (2006). Combinatorial and high-throughput discovery and optimization of catalysts and materials. CRC Press.
- [46] Dormán György (2000): Paradigmaváltás a felfedezőkutatásban (BME MBA Mérnöknek, szakdolgozat)
- [47] Kirschning, A., Solodenko, W., Mennecke, K. (2006). Combining enabling techniques in organic synthesis: continuous flow processes with heterogenized catalysts. *Chem. Eur. J.*, 12(23), 5972–5990.
- [48] Keserű, G. M., Soós, T., Kappe, C. O. (2014). Anthropogenic reaction parameters – the missing link between chemical intuition and the available chemical space. *Chem. Soc. Rev.*, 43(15), 5387–5399.
- [49] Hessel, V. (2009). Novel process windows-gate to maximizing process intensification via flow chemistry. *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 32(11), 1655–1681.