



---

**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM  
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR  
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA**

**FRAGMENS-ALAPÚ MEGKÖZELÍTÉSEK A GPCR-CÉLPONTÚ  
GYÓGYSZERKUTATÁSBAN**

Tézisfüzet

Szerző: **Kelemen Ádám Andor**  
Témavezető: **Keserű György Miklós**

Gyógyszerkémiai Kutatócsoport  
Természettudományi Kutatóközpont  
Magyar Tudományos Akadémia



2018

## 1. BEVEZETÉS

Munkám során aminerg-GPCR célpontokra fókuszált fragmenskönyvtárak tervezésére alkalmas ligandum-, és szerkezet-alapú virtuális szűrési módszerek kidolgozását és alkalmazását tűztem ki célul. A sikeres módszerfejlesztést követően végzett prospektív szűrővizsgálatok segítségével új szerotonin receptor (5-HT<sub>6</sub>R, 5-HT<sub>7</sub>R) kemotípusokat (spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindolok], spiro[indoline-3,3'-pyrrolidinek]) azonosítottunk, valamint új, szelektív 5-HT<sub>2B</sub>R ligandumokat terveztünk.

## 2. IRODALMI HÁTTÉR

### 2.1. Fragmens-alapú gyógyszerkutatás

Az első sikeres fragmens-alapú tanulmányt 1996-ban publikálták, mely egy NMR-alapú szerkezet-hatás összefüggés analízist (SAR – structure activity relationship analysis) mutatott be<sup>1</sup>. Ezt követte számos sikertörténet a gyógyszeriparban (Astex, Vernalis, Sunesis) a 2000-es évektől kezdődően. A fragmens-alapú gyógyszerkutatás (FBDD – fragment-based drug discovery) egy jól bevált stratégia, mely jelentős számú tesztvegyület, klinikai jelölt és gyógyszerjelölt kifejlesztésében vezetett sikerre, mint például: Verubecestat, Vemurafenib, Venetoclax.

A fragmens-szűrési találatok nagy affinitású és szelektivitású vezérmolekulákká fejleszthetők farmakofór-modellezés, szerkezet-hatás összefüggés analízis, szerkezet-alapú modellezés, és különböző fragmens-optimalizációs stratégiák segítségével, úgy mint: fragmens-összekötés (fragment-linking), fragmens-összevonás (fragment-merging), fragmens-növesztés (fragment-growing).

### 2.2. G-protein kapcsolt receptorok

A receptorok mikrokapcsolói/jeltovábbítói a sejtek közötti kémiai kommunikációnak. A receptorok endogén ligandumai (neurotranszmitterek, hormonok, citokinek, mediátorok, sejten belüli hírvivők, stb.) specifikusan a megfelelő helyen, a megfelelő koncentrációban szabadulnak fel, hogy kapcsolódjanak a receptor makromolekulák úgynevezett ortosztérikus kötőhelyéhez. A receptor további kötőhelyei az allosztérikus zsebek. A receptorok képesek a kötődés révén jelszignalizációt indítani más fehérjék és hírvivők irányába. A G-protein-kapcsolt receptorok (GPCR) a sejtmembránban találhatóak meg, és a G-fehérjén, valamint a  $\beta$ -arresztinen keresztül vesznek részt a sejt-szignalizációban. A GPCR-ek a perifériás és központi idegrendszerben (KIR) is expresszálnak, funkcionálisan kapcsolva a heterotrimer ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) G-fehérjéhez. A gyógyászatban betöltött jelentős szerepüket tükrözi, hogy a piacra dobott gyógyszerek mintegy 40%-a GPCR-célpontú hatásmechanizmusra alapszik. A GPCR-célpontok indikációi közé sorolhatóak a jelentősebb központi-idegrendszeri betegségek (pl. Alzheimer-kór, skizofrénia,

---

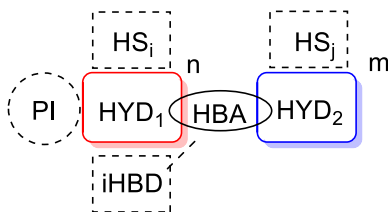
<sup>1</sup> Shuker SB, Hajduk PJ, Meadows RP, Fesik SW. Discovering high-affinity ligands for proteins: SAR by NMR. *Science*. 1996;274(5292):1531-1534. doi:10.1126/science.274.5292.1531.

depresszió, kognitív deficit, szorongás, stb.), és egyéb betegségek, mint: magas vérnyomás, cukorbetegség, szepszis, obezitás, rák, stb.

### 2.3. Serotonin receptor subtype-6 (5-HT<sub>6</sub>R)

Az 5-HT<sub>6</sub>R receptor egy ígéretes gyógyszerélcspont különböző központi idegrendszeri indikációkban<sup>2</sup>, mint a Alzheimer-kórból eredő kognitív-, tanulási, és memória-zavarok kezelése, Parkinson-kór, skizofrénia, valamint egyéb indikációk, mint: fájdalomcsillapítás, obezitás, gyógyszerabúzus, súlyos depresszív zavar.

Az 5-HT<sub>6</sub>R receptor farmakofór modellje<sup>3</sup> (**1. ábra**) két hidrofób gyűrűt/gyűrűrendszert definiál (HYD<sub>1</sub>, HYD<sub>2</sub>), melyek egy hidrogén-kötés akceptorral (HBA, pl. szulfonil-, szulfonamid-) vannak összekapcsolva. Opcionálisan egy pozitívan ionizálható szerkezeti részlet (PI) is elhelyezkedhet az egyik hidrofób gyűrűn, amely az aminerg GPCR-ek aktivációjában közismerten szerepet játszó Asp<sup>3,32</sup>-es aszpartáttal lép kölcsönhatásba<sup>4</sup>. Egy további lehetséges farmakofór tulajdonság egy intramolekuláris hidrogén-kötés donor (iHBD), mely stabilizálja a ligandum kötő-konformációját<sup>5</sup>. Más aminerg receptorokkal szembeni szelektivitás elérésében szerepet játszhat a PI-farmakofór eltávolítása<sup>6</sup>.



**1. ábra** - 5-HT<sub>6</sub>R általános farmakofór modellje. PI: pozitívan ionizálható rész; HYD<sub>1,2</sub>: hidrofób alszerkezetek; iHBD: intramolekuláris hidrogén-kötés donor, HS<sub>i,j</sub>: szubsztituensek

A következő négy 5-HT<sub>6</sub>R receptor antagonistá gyógyszerjelölt 2-3. klinikai fázisokig

<sup>2</sup> Kelemen ÁA, Mordalski S, Bojarski AJ, Keserü GM. Computational Modeling of Drugs for Alzheimer's Disease: Design of Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Antagonists. In: Vol 132. ; 2018:419-461.

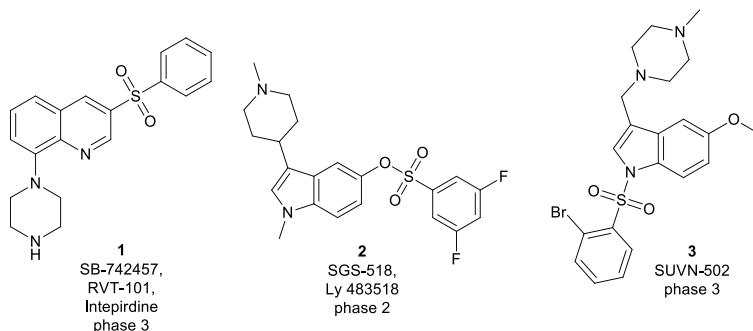
<sup>3</sup> Holenz J, Mercè R, Díaz JL, et al. Medicinal Chemistry Driven Approaches Toward Novel and Selective Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Receptor Ligands. 2004.

<sup>4</sup> Deupi X, Standfuss J, Schertler G. Conserved activation pathways in G-protein-coupled receptors. *Biochem Soc Trans.* 2012;40(2):383-388.

<sup>5</sup> López-Rodríguez ML, Benhamú B, de la Fuente T, Sanz A, Pardo L, Campillo M. A three-dimensional pharmacophore model for 5-hydroxytryptamine<sub>6</sub> (5-HT<sub>6</sub>) receptor antagonists. *J Med Chem.* 2005;48(13):4216-4219.

<sup>6</sup> Harris RN, Stabler RS, Repke DB, et al. Highly potent, non-basic 5-HT<sub>6</sub> ligands. Site mutagenesis evidence for a second binding mode at 5-HT<sub>6</sub> for antagonism. *Bioorg Med Chem Lett.* 2010;20(11):3436-3440.

jutott (**2. ábra**): Intepirdine/RVT-101/SB-742457 **1** (3. klinikai fázis – fejlesztésből kiesett; GSK, Axovant), Lu-AE58054/idalopirdine/SGS-518 **2** (3. klinikai fázis – fejlesztésből kiesett; Lundbeck), SUVN-502 **3** (2. klinikai fázis; Suven LifeSciences), PF-0521377/SAM-760 – nem nyilvános szerkezet (2. klinikai fázis; Pfizer).



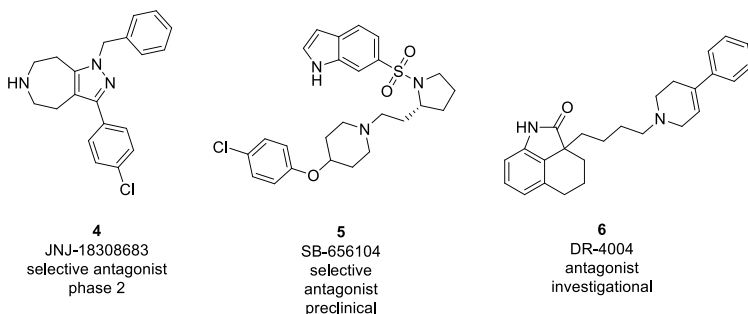
**2. ábra** – Klinikai fázist elért 5-HT<sub>6</sub>R gyógyszerjelöltek szerkezetei

#### 2.4. Serotonin receptor subtype-7 (5-HT<sub>7</sub>R)

Az 5-HT<sub>7</sub>R receptor szerepet játszik a testhőmérséklet, az alvás, a cirkadián ritmus, és a hangulat szabályozásában. Ezáltal fontos célpontja a központi-idegrendszeri indikációknak<sup>7</sup>, ami *in vivo* állatmodellekben is igazolást nyert: depresszió, alvászavar, stressz, szorongás, tanulási/memória-zavarok, skizofrénia-eredetű kognitív deficit, epilepszia, migrén, autizmus spektrum betegségei, Rett-szindróma.

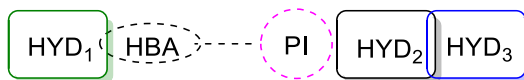
Napjainkig egyetlen gyógyszerjelölt jutott 2. klinikai fázisba (pyrazolo[3,4-*d*]azepin alapváz, JNJ-18308683, **4**), valamint számos szelektív antagonistá ismert a preklinikai fázisban (pl. **5**, **6**), (**3. ábra**).

<sup>7</sup> Nikiforuk A. Targeting the serotonin 5-HT<sub>7</sub>receptor in the search for treatments for CNS disorders: Rationale and progress to date. *CNS Drugs*. 2015;29(4):265-275.



3. ábra – Szelektív 5-HT<sub>7</sub>R antagonisták szerkezetei

Az 5-HT<sub>7</sub>R receptor farmakofór modellje<sup>8</sup> (4. ábra) egy aromás szerkezeti elemet (mely kölcsönhat Phe<sup>3,28</sup>-al és Tyr<sup>7,43</sup>-al), és két további hidrofób szerkezeti részt (HYD<sub>1</sub>, HYD<sub>2</sub>, Phe<sup>6,52</sup>-vel szemben), valamint egy hidrogén kötés akceptor tulajdonságot definiál (kölcsönhatás Ser<sup>5,42</sup>-vel és Tyr<sup>5,43</sup>-al) 5-6 Å közelségben a HYD<sub>1</sub>-hez. Továbbá egy az Asp<sup>3,32</sup>-al kölcsönható pozitívan ionizálható részt, mely 5-6 Å távolságra található a HYD<sub>1</sub> szerkezeti elemtől.



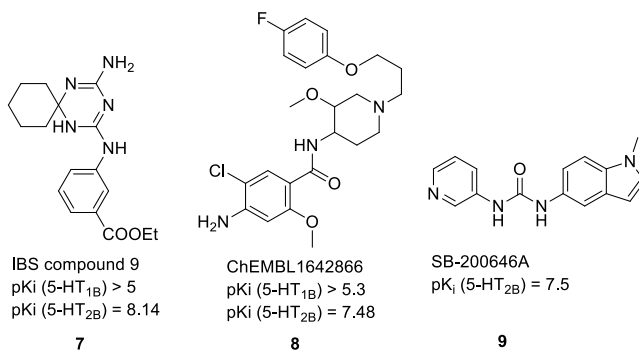
4. ábra – 5-HT<sub>7</sub>R antagonisták általános farmakofór modellje. PI: pozitívan ionizálható rész; HYD<sub>1-3</sub>: hidrofób tulajdonságú szerkezeti részletek; HBA: hidrogén-kötés akceptor

<sup>8</sup> López-Rodríguez ML, Porras E, Morcillo MJ, et al. Optimization of the Pharmacophore Model for 5-HT<sub>7</sub>R Antagonism. Design and Synthesis of New Naphtholactam and Naphthosultam Derivatives. *J Med Chem.* 2003;46(26):5638-5650.

## 2.5. Serotonin receptor subtype-2B (5-HT<sub>2B</sub>R)

Habár a nem-szelektív 5-HT<sub>2B</sub>R agonisták (pl. ergolinok<sup>9</sup>) akkut mellékhatásokat okoznak, úgy mint magas vérnyomás, szív valvulopathia, retroperitoneális fibrózis, ezzel szemben ugyanezen receptor gátlása a migrénben<sup>10</sup>, krónikus szívelégtelenségben<sup>11</sup> és az irritábilis bél szindrómában<sup>12</sup> potenciális gyógyszercélpontként szolgálhat.

Az ismert 5-HT<sub>2B</sub>R antagonisták kémiai terét a következő néhány kemotípus jellemzi (**5. ábra**). Nagy affinitású, és 5-HT<sub>1B</sub>R receptorral szemben nagy szelektivitást mutató vegyületsaládok a triazinok (**7**), piperidinek (**8**), és az aril-karbamidok (SB-200646A **9**, SB-2014741, SB-215505). A relatíve kis számú ismert 5-HT<sub>2B</sub>R vegyületsalád teret enged új kemotípusok azonosítására alkalmas ligandum-, és szerkezet-alapú módszereknek.



**5. ábra** – Szelektív 5-HT<sub>2B</sub>R ligandumok szerkezetei, Rendelkezésre áll 5-HT<sub>1B</sub>R/5-HT<sub>2B</sub>R adat: **7-8**, klinikai jelölt: **9**

## 3. KÍSÉRLETI ÉS SZÁMÍTÁSI MÓDSZEREK

<sup>9</sup> Silberstein SD, McCrory DC. Ergotamine and Dihydroergotamine: History, Pharmacology, and Efficacy. *Headache J Head Face Pain*. 2003;43(2):144-166.

<sup>10</sup> Johnson KW, Phebus LA, Cohen ML. Serotonin in migraine: theories, animal models and emerging therapies. *Prog Drug Res*. 1998;51:219-244.

<sup>11</sup> Janssen W, Schymura Y, Novoyatleva T, et al. 5-HT<sub>2B</sub> receptor antagonists inhibit fibrosis and protect from RV heart failure. *Biomed Res Int*. 2015;2015:438403.

<sup>12</sup> Zhou Y, Ma J, Lin X, Huang X-P, Wu K, Huang N. Structure-Based Discovery of Novel and Selective 5-Hydroxytryptamine 2B Receptor Antagonists for the Treatment of Irritable Bowel Syndrome. *J Med Chem*. 2016;59(2):707-720.

### 3.1. Számítási módszerek

Knime.com AG's Konstanz Information Miner (Knime) adat-elemző és szkript-alapú folyamatkezelő programot használtam a kémiai/biokémiai adatbázisok összeállítására és elemzésére, valamint a ligandum-, és szerkezet-alapú módszerekhez használt tanító- és validáló készletek összeállítására; a kívánatossági-pontszámok kiszámítására, és a dokkolás-alapú virtuális szűrések kiértékelésére és pontozására. A ChEMBL adatbázist (ChEMBL. <https://www.ebi.ac.uk/chembl/>), a PubChem adatbázist (The PubChem Project. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), és az MCule adatbázist (mcule. <https://mcule.com/>) használtam a vizsgált biokémiai adatkészletek forrásaként. A fehérje-szerkezetekbe történő molekuladokkolásokat (a ligandumok és a fehérjeszerkezetek előkészítésével együtt) Schrödinger Small-Molecule Drug Discovery Suite, LLC, New York, NY programcsomaggal végeztem. A fizikai-kémiai deskriptorokat a ChemAxon JChem for Office programcsomaggal számítottam ki.

### 3.2. Szintetikus kémiai módszerek

Minden kémiai reagenst és vizsgált tesztvegyületet vegyszerkereskedelmi cégektől vásároltuk. Az NMR mérések 500 MHz Varian VNMR SYSTEM spektrométeren történtek. A HPLC-MS méréseket Shimadzu LCMS2020 rendszeren végeztük. A vegyületek flash kromatográfiás tisztítása Teledyne ISCO CombiFlash Lumen+ Rf készüléken történt. A vegyületek preparatív HPLC tisztítása Hanbon NS4205 Binary high pressure semi-preparative HPLC készüléken történt. A nagyfelbontású tömegspektrometriás mérések Q-TOF Premier tömegspektrométeren történtek (Waters Corporation, Milford, MA, USA) pozitív elektro spray módban.

### 3.2. Biológiai mérések

A virtuális szűrési találatokat és a szintetizált vegyületeket radioligand kötődési assay kísérletekben vizsgáltuk az 5-HT<sub>1A</sub>R, 5-HT<sub>2A</sub>R, 5-HT<sub>6</sub>R, 5-HT<sub>7</sub>R receptorokon a Krakói Lengyel Tudományos Akadémia Farmakológiai Intézetének Gyógyszerkémiai Osztályán. a fragmenskönyvtár szűrési találatainak 5-HT<sub>6</sub>R és CB<sub>1</sub>R mérései az MTA-TTK Enzimológiai Intézetében történtek. Az 5-HT<sub>1B</sub>R és 5-HT<sub>2B</sub>R mérések a spanyolországi Grupo de Investigación "BioFarma" USC, Centro de Investigación CIMUS, Santiago de Compostela laboratóriumában történtek.

## 4. EREDMÉNYEK

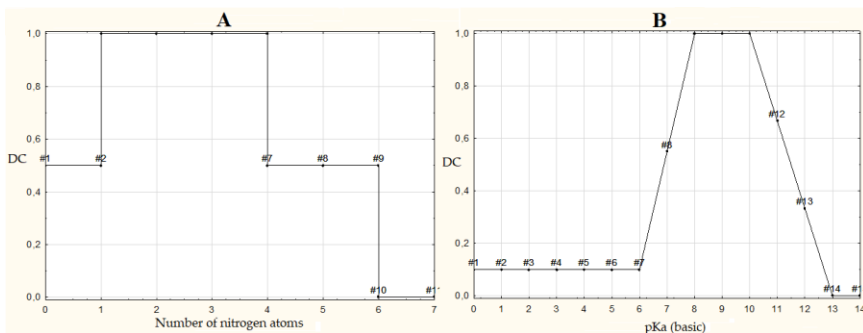
### 4.1. Aminerg fragmenskönyvtárak tervezésére alkalmas fizikokémiai-tulajdonság alapú pontozási

A gyógyszerkutatói kampányokban alkalmazott virtuális szűrések során kis számítási igényű ligandum-alapú módszereket alkalmaznak a kiindulásként milliós adatkészletek feldolgozására. Az ennek eredményeképpen kapott előszűrt készletek megfelelő kiválasztási szempontoknak megfelelő vegyületeket tartalmaznak, vagy az ismert aktív vegyületekhez hasonló kémiai szerkezettel rendelkeznek (kémiai

hasonlósági kritériumok alapján). Ezáltal jobb találati arányokat eredményezhetnek a szűrési kampányokban. Célul tűztük ki egy olyan módszer megalkotását, mely alkalmas lehet aminerg GPCR ligandumokat tartalmazó vegyületkönyvtárak összeállítására. Fragmens-tulajdonságú aminerg GPCR ligandumok készletét gyűjtöttük össze nyilvános adatbázisból (ChEMBL). A készletre jellemző fizikokémiai paraméterek eloszlásfüggvényeinek elemzésével vegyületkönyvtárak virtuális szűrésére alkalmas pontozási módszert vezettünk le. Egy 2183 aktív és 5000 inaktív vegyületből álló reprezentatív tanítókészletet gyűjtöttünk össze a ChEMBL adatbázisból az ismert aminerg fragmensek elemzésének céljából. A fragmenseket széleskörűen alkalmazott fizikokémiai tulajdonságokkal jellemeztük, melyek a molekulák polaritását jellemzik:  $\log P$ ,  $\log D$  ( $\text{pH} = 7.4$ ), poláris molekulafelszín ( $\text{pH} = 7.4$ , PSA); valamint farmakofór leírókat is vizsgáltunk: hidrogénkötés akceptorok száma (nHBA), hidrogénkötés donorok száma (nHBD); valamint jellemeztük  $\text{pK}_a$  (savas, legerősebb centrum),  $\text{pK}_b$  (bázikus, legerősebb centrum) értékeikkel; topológiai leírókkal: forgatható kötések száma (nRot), nitrogénatomok száma (nN), oxigénatomok száma (nOx). Az eloszlások eltéréseit a mediánok, átlagok és szórások elemzésével azonosítottuk, összehasonlítva az aminerg fragmenseket és az inaktív referencia fragmenseket. Az aminerg GPCR ligandumok és a random referencia vegyületek eloszlásainak összehasonlító elemzésével a következő hat diszkriminatív leíró azonosítottuk:  $\log D$  ( $\text{pH} = 7.4$ ), PSA ( $\text{pH} = 7.4$ ),  $\text{pK}_a$  (bázikus, legerősebb centrum), nitrogénatomok száma (nN), oxigénatomok száma (nOx), és a forgatható kötések száma (nRot). A kívánatossági-függvény egy folytonos pontszám értékét ábrázolja  $[0; 1]$  intervallumban egy változó függvényében. A kívánt, és nem-megfelelő tulajdonság-értékek tartományait ( $x$ -tengely) a függvény definiálja<sup>13</sup>, melyet  $y(x)$  értékekben fejezünk ki. A „Fragment Aminergic GPCR Score” (FrAGS) pontozás az egyes különálló fizikokémiai-tulajdonságok pontszámának összegéből kapható meg és  $[0; 6]$  közötti értékeket vehet fel. Megalkottuk a kiválasztott hat tulajdonság kívánatossági függvényeit (két példa látható a **6. ábrán**).

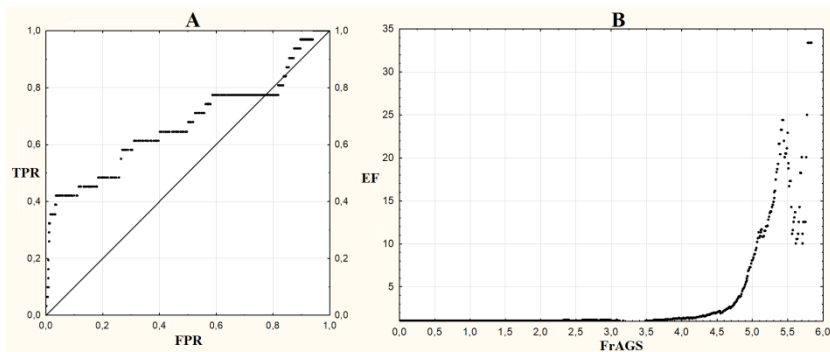
---

<sup>13</sup> Wager TT, Hou X, Verhoest PR, Villalobos A. Moving beyond rules: the development of a central nervous system multiparameter optimization (CNS MPO) approach to enable alignment of druglike properties. *ACS Chem Neurosci*. 2010;1(6):435-449.



**6. ábra** – Aminerg fizikokémiai tulajdonságok kívánatossági függvényei; 7/A: nitrogénatomok száma, 7/B: bázikus pKa (legerősebb centrum)

A kívánatossági pontszám (FrAGS) validálását három különböző eseten végeztük el. Elsőként egy aktív vegyületeket tartalmazó tanítókészletet kevertünk bele egy nagyságrenddel nagyobb számú véletlenszerűen kiválasztott ChEMBL-ből származó referencia vegyületkészletbe. A validálás során ellenőriztük, hogy a pontozómódszer képes-e dúsulást elérni az aktív aminerg ligandumokra nézve. A második megközelítésben egy független aktív adatkészletet gyűjtöttünk össze a PubChem adatbázisból. A harmadik validálási módszerben pedig a Richter Gedeon által rendelkezésre bocsátott nagy-áteresztőképességű szűrésből (HTS) és fragmensszűrésből (FS) származó adatokat használtuk fel. A FrAGS módszer hatékonyságát a dúsulási faktorok (enrichment factor – EF), a ROC-görbék (Receiver Operating Characteristic) meghatározásával, valamint a fals negatív (FNR) és valós negatív ráták (TNR) összehasonlításával jellemeztük (7. ábra).



**7. ábra** – Pubchem 5-HT1R validáló készlet ROC-görbéje (A) és a FrAGS függvényében ábrázolt dúsulási faktor (B).

A pontozási módszer validálása során megállapítottuk, hogy a FrAGS  $\geq 5$  szűrési feltétel mellett érhető el háromszoros, vagy annál jobb dúsulási faktor. A FrAGS pontozás tehát alkalmas módszer nagyméretű fragmenskönyvtárak virtuális szűréséből aminerg GPCR ligandumok azonosítására. Ezáltal gyógyszerkutatósi projektekben hasznos módszerként szolgálhat fókuszált fragmenskönyvtárak összeállítására.

#### **4.2. Aminerg fragmenskönyvtárak tervezésére alkalmas dokkolás-alapú konszenzus-pontozó módszer**

A rodopszin GPCR receptor fehérje kristályszerkezetét 2000-ben fejtették meg. Azóta is folyamatosan növekvő számban jelennek meg az új aminerg GPCR röntgen-szerkezetek<sup>14</sup>. Az *egy* fehérje modellbe történő dokkoláshoz képest a *több* fehérje szerkezetbe történő dokkolás egy jól ismert módszer, mely magas dúsulási faktorok elérését biztosítja, valamint diverz vegyületkészletek összeállítását teszi lehetővé<sup>15</sup>. Az aminerg receptorok szerkezetileg hasonló ortosztérikus kötőzsebei felvetik annak lehetőségét, hogy a receptorok reprezentatív sokasága alkalmas lehet olyan találatok azonosítására, melyek a modellekben nem szereplő aminerg receptoron is aktivitást mutatnak. Mindazonáltal több receptorszerkezet esetén megnő a számítási igény és a feldolgozandó adatmennyiség a virtuális szűrések során. Ezért a tanulmány idején rendelkezésre álló tizenkilenc aminerg szerkezetet klasztereztük a kötőzseb aminosavaira számolt RMSD értékek (root-mean square deviation) alapján, valamint a kristályszerkezetben lévő ligandumok visszadokkolásának kiértékelésével kiválasztottunk egy reprezentatív receptor-sokaságot. Összesen kilenc aminerg receptor szerkezetet választottunk ki a virtuális szűrési módszer kidolgozására.

A dokkolt vegyületeket Glide dokkolási pontszámuk alapján rangsoroljuk minden egyes különálló receptorszerkezet esetében. Az így kapott kilenc sorszámot szavazatokká (igen/nem feltételek) fordítjuk le egy rangsorolási feltétel alapján. Az úgynevezett Rank(x)% rangsorolási feltétel kiválasztja a listában szereplő vegyületek felső x százalékát. A kapott szavazatokat (igen/nem feltételek) összegezve kapjuk a FrACS (Fragment Aminergic Consensus Score) pontszámot, mely [0; 9] értékeket vehet fel.

A ligandum- (FrAGS), és fehérje-szerkezet alapú (FrACS) módszereket konsekutívan alkalmaztuk a ChEMBL adatbázis fragmenskészletének virtuális szűrésére, és a kombinált módszer optimalálására.

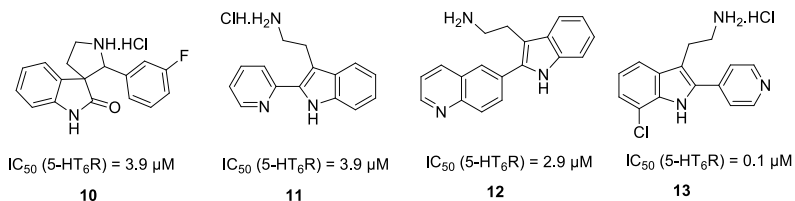
A kombinált módszereket prospektíven validáltuk egy házon belüli fragmenskönyvtáron. A FrAGS  $\geq 5$  feltétel alapján szűrtük a fragmenskönyvtárat,

---

<sup>14</sup> Topiol S, Sabio M. X-ray structure breakthroughs in the GPCR transmembrane region. *Biochem Pharmacol.* 2009;78(1):11-20.

<sup>15</sup> Huang S-Y, Zou X. Ensemble docking of multiple protein structures: Considering protein structural variations in molecular docking. *Proteins Struct Funct Bioinforma.* 2006;66(2):399-421.

majd a fennmaradó vegyületeket a kilenc tagú szerkezeti sokaságba dokkoltuk. A dokkolási pontszámok alapján rangsoroltuk és szavazatokkal minősítettük a vegyületeket. Az így kapott 36 virtuális szűrési találatot 5-HT<sub>6</sub>R sejtes-assayben vizsgáltuk. (Az 5-HT<sub>6</sub> receptor nem szerepel a modellben használt kilenc szerkezetben.) Négy alacsony mikromólos affinitású fragmenstalálatot azonosítottunk, mint új 5-HT<sub>6</sub>R ligandumokat (**8. ábra**).



**8. ábra** – A fragmenskönyvtár virtuális szűrésével azonosított 5-HT<sub>6</sub>R találatok.

A módszer specificitásának igazolására három találatot (**11-13**) egy nem-aminerg GPCR receptorral (kannabioiid-1 receptor) szemben teszteltünk. Mindhárom találat inaktívnak bizonyult a CB<sub>1</sub>R receptorral szemben. Továbbá a négy fragmenstalálat kötőmódját egy ismert 5-HT<sub>6</sub>R antagonistá SB-742457 (**1**) kötőmódjával hasonlítottuk össze egy 5-HT<sub>6</sub>R homológia modell<sup>16</sup> kilenc konformációjában (molekuladinamikai szimulációjából kapott konformációk).

A FrACS-alapú virtuális szűrés önmagában és a FrAGS módszerrel kombinálva is hatékony eszköz aminerg-fókuszált fragmenskönyvtárak és ligandumok tervezésére.

### 4.3. Spiro-oxindolok, és indolinok, mint új 5-HT<sub>6</sub>R antagonisták

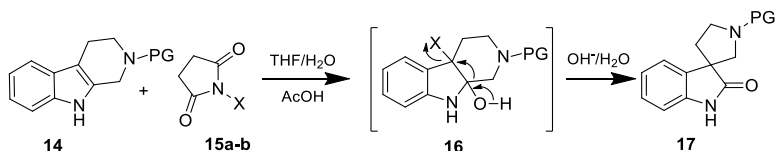
A (2'-(3-fluorofenil)spiro[indoline-3,3'-pirrolidin]-2-on) (**10**) fragmenst mikromólos affinitású 5-HT<sub>6</sub>R találatként azonosítottuk a FrAGS és FrACS módszerek kombinált alkalmazása során. A találat optimalása érdekében a spiro[pirrolidine-3,3'-oxindol] alapváz különböző származékainak előállítására alkalmas szintézistervet dolgoztunk ki. N-klórszukcinimid (NCS) **15a**, vagy N-brómszukcinimid (NBS) **15b** oxidálószer<sup>17,18</sup> alkalmazásával a bázikus nitrogénjén védőcsoporttal ellátott triptolinból (**14**) egy oxidatív spiro-átrendeződési reakcióban alakítható ki a megfelelő spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindol] gyűrűváz (**17**). A gyűrű

<sup>16</sup> Vass M, Jójárt B, Bogár F, Paragi G, Keserű GM, Tarcsay Á. Dynamics and structural determinants of ligand recognition of the 5-HT<sub>6</sub> receptor. *J Comput Aided Mol Des.* 2015;29(12):1137-1149.

<sup>17</sup> Finch N, Taylor WI. The Conversion of Tetrahydro- $\beta$ -Carboline Alkaloids into Oxindoles. The Structures and Partial Syntheses of Mitraphylline and Rhyn Cophylline. *J Am Chem Soc.* 1962;84(7):1318-1320.

<sup>18</sup> Shavel J, Zinnes H. Oxindole Alkaloids. I. Oxidative-Rearrangement of Indole Alkaloids to their Oxindole Analogs. *J Am Chem Soc.* 1962;84(7):1320-1321.

átrendeződése a **16**-os intermedieren keresztül játszódik le hidrogén-bromid eliminációját követően (**9. ábra**).



PG: protecting group, pl. tert-butiloxikarbonil (Boc), benzil (Bn), benziloxi-karbamát (Cbz), stb.  
X: **15a** Cl, **15b** Br

### 9. Ábra – Triptolinok spiro-átrendeződésének mechanizmusa

A spiro[pirrolidine-3,3'-oxindol] **17** alapvázat farmakofór-modell<sup>19</sup> és szerkezet-hatás összefüggés-analízis segítségével vizsgáltuk előállítva a megfelelő fenil-szulfonilcsoporttal ellátott származékokat (**19-20**, **22-26**), valamint a redukált spiro[pyrrolidin-3,3'-indolin] (**21-26**) alapvázat.

Az eredeti (2'-(3-fluorofenil)spiro[indoline-3,3'-pirrolidin]-2-on) (**10**) találat körüli szerkezet-hatás összefüggéseket a katalógus-alapú SAR módszerrel vizsgáltuk. Az Mcule adatbázisban elérhető összes spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindol] alszerkezettel rendelkező tesztvegyületet dokkolással vizsgáltuk a korábban bemutatott 5-HT<sub>6</sub>R homológiamodell kilenc konformációjában. A virtuális szűrésből 10 vegyület választottunk ki in vitro vizsgálatokra, melynek során nem-szelektív és közepes affinitású 5-HT<sub>6</sub>R ligandumokat azonosítottunk. Ezért az új 5-HT<sub>6</sub>R kemotípust a következő stratégia szerint optimaltunk. A **10. ábrán** bemutatott oxindol és indolin származékokat állítottuk elő a közös triptolin intermedierből (**18**). A 2'-es helyzetben található nagy lipofil csoportot elhagytuk, és a klasszikus fenil-szulfonil csoporttal ellátott származékokat állítottuk elő (**19-20**), melyek esetében a szelektivitás más szerotonin-receptor altípusokkal (5-HT<sub>1A</sub>R, 5-HT<sub>2A</sub>R, 5-HT<sub>6</sub>R, 5-HT<sub>7</sub>R) szemben jelentősen javult. Az oxindol oxo-csoportja, mint hidrogén-kötés akceptor nem illik a farmakofór mintázatba. Ezért előállítottuk a megfelelő indolinok különböző 1-(fenilszulfonil) származékait (**22**, **23a,b**, **25**), melyek az 1'-pirrolidin nitrogénen lipofil, vagy bázikus nitrogénnel rendelkező csoportokat tartalmaztak. Az előállított származékok közül az 1'-benzil-1-(fenilszulfonil)spiro[indoline-3,3'-pirrolidine] (**22**) származékot választottuk ki további optimalásra. Következő lépésként a szubsztituensek hatását vizsgáltuk a benzil (**26a-c**) és a fenil-szulfonil gyűrűkön (24a-

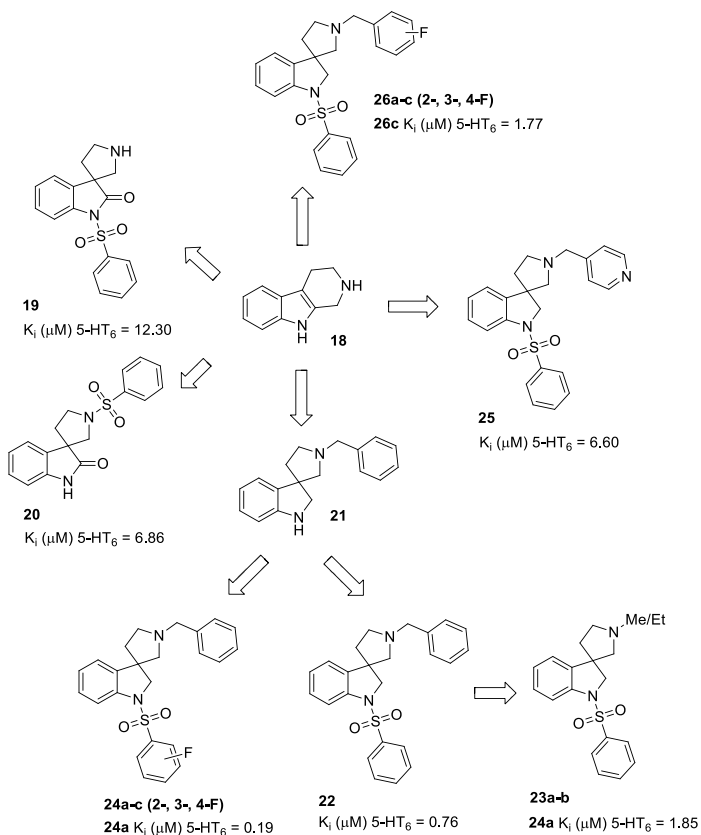
<sup>19</sup> Kelemen ÁA, Mordalski S, Bojarski AJ, Keserü GM. Computational Modeling of Drugs for Alzheimer's Disease: Design of Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Antagonists. In: Vol 132. ; 2018:419-461.

c) 2-, 3-, 4-fluorszámazékok előállításával<sup>20</sup>. A fenil-szulfonil csoport irányába történő építkezés az eredeti **22**-es vegyületnél jobb affinitású származékokat eredményezett, melyek egyúttal megőrizték jó szelektivitásukat az 5-HT<sub>1A</sub>R és 5-HT<sub>7</sub>R altípusokkal szemben is (200 nM-os affinitás 5-HT<sub>6</sub>R-ra nézve, és 200-szoros szelektivitás 5-HT<sub>7</sub>R-al szemben). Az kapott eredmények alapján a **24a** származék fenil-szulfonil csoport 2-es pozíciójában optimálható tovább vezérmolekulává.

A legjobb affinitással rendelkező **24a** származék kötőmódját elemeztük az 5-HT<sub>6</sub>R homológia modellben. A Schrödinger-Glide programmal végzett dokkolási kísérletek megkötések alkalmazásával (hidrogén-kötés kialakításának feltétele Asn288<sup>6,55</sup> és/vagy Ser193<sup>5,43</sup> aminosavakkal) és megkötések nélkül is robusztus kötőmódot eredményeztek az ortosztérikus kötőzsebben. Tehát az 1'-benzil-1-(fenilszulfonil)spiro[indoline-3,3'-pirrolidint] (**22**) és annak 2-, és 3-as pozícióban szubsztituált analógjait (**24a-b**) sikerült azonosítanunk, mint új ígéretes 5-HT<sub>6</sub>R ligandumokat.

---

<sup>20</sup> Shah P, Westwell AD. The role of fluorine in medicinal chemistry. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2007;22(5):527-540.



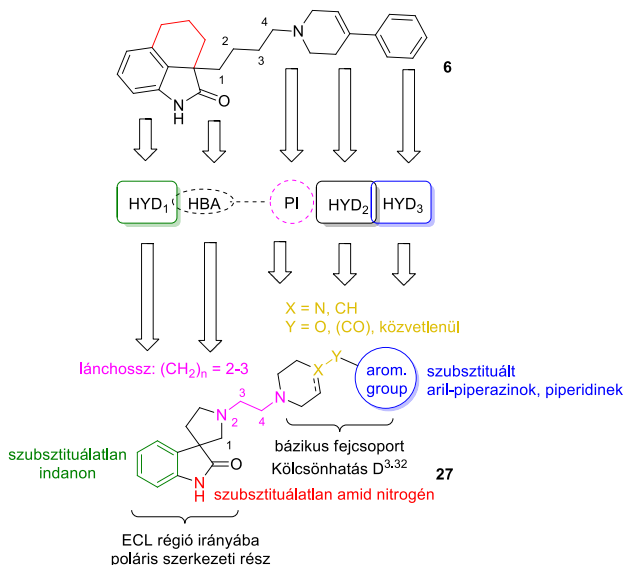
**10. ábra** – 5-HT<sub>6</sub>R ligandumok: spiro[pirrolidine-3,3'-oxindolok] és spiro[pirrolidine-3,3'-indolinok]

#### 4.4. Spiro-oxindolok, mint új 5-HT<sub>7</sub>R antagonisták

A **3.** és **11. ábrákon** bemutatott tetrahydrobenzindolok (pl. DR-4004 <sup>621</sup>) validált szelektív 5-HT<sub>7</sub>R antagonisták. Ezen alapváz analógiájára új, kevésbé lipofil és szelektív 5-HT<sub>7</sub>R ligandumok: (arilpiperaziniletil)spiro[indoline-3,3'-pirrolidin]-2-

<sup>21</sup> Kikuchi C, Ando T, Watanabe T, et al. 2a-[4-(Tetrahydropyridoindol-2-yl)butyl]tetrahydrobenzindole Derivatives: New Selective Antagonists of the 5-Hydroxytryptamine 7 Receptor. *J Med Chem.* 2002;45(11):2197-2206.

onok (27) előállítását tűztük ki célul (**11. Ábra**).



**11. ábra** – Az (arilpiperazinetil)spiro[indoline-3,3'-piperidin]-2-onok (27) szerkezet-hatás összefüggés analízise

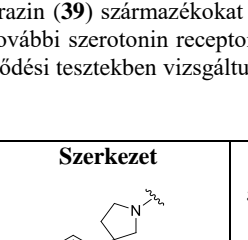
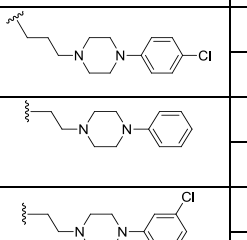
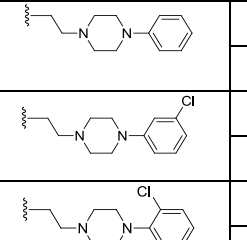
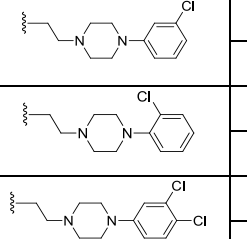
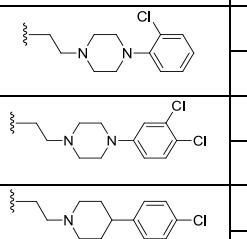
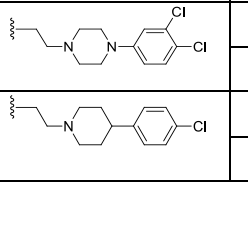
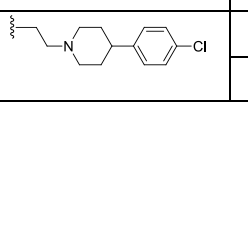
A más szerotonin-receptorokkal (5-HT<sub>1A</sub>R, 5-HT<sub>2A</sub>R, 5-HT<sub>6</sub>R) szemben szelektív 5-HT<sub>7</sub>R vegyületek tervezését az ismert farmakofór-modell<sup>22</sup> (**4. ábra**) alapján végeztük. A modell alapján a PI (pozitívan ionizálható) és a HBA (hidrogénkötés akceptor) csoportok közötti távolságot érdemes csökkenteni, a Ser<sup>6.55</sup> (Ala<sup>6.55</sup> 5-HT<sub>1A</sub>R) aminosavval való kölcsönhatás kialakítására. Továbbá a modell alapján poláris szubsztituenseket érdemes a HYD<sub>1</sub>-HYD<sub>2</sub> csoportokra kiépíteni az Arg<sup>7.36</sup> (5-HT<sub>1A</sub>R esetében hiányzik) aminosavval történő kölcsönhatás kialakítására. Ezen megfontolások ismeretében terveztük szelektív spiro[piperidin-3,3'-oxindolok] előállítását.

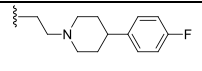
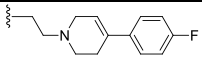
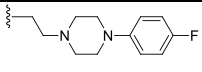
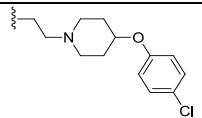
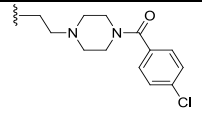
Korábbi tanulmányokkal összhangban<sup>23</sup> két atom lánchosszúsággal ellátott vegyületeket terveztünk előállítani (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> n=2. Továbbá a flexibilitás és a HBA-PI

<sup>22</sup> López-Rodríguez ML, Porras E, Morcillo MJ, et al. Optimization of the Pharmacophore Model for 5-HT<sub>7</sub>R Antagonism. Design and Synthesis of New Naphtholactam and Naphthosultam Derivatives. *J Med Chem.* 2003;46(26):5638-5650.

<sup>23</sup> Pittala V, Pittala D. Latest Advances Towards the Discovery of 5-HT<sub>7</sub> Receptor Ligands. *Mini-Reviews Med Chem.* 2011;11(13):1108-1121.

távolságok vizsgálatának céljából előállítottunk egy n=3 lánchosszal ellátott származékot is (**29**). Az irodalmi SAR-adatok alapján az oxindol aromás gyűrűjének szubsztituálása nem járult hozzá, más esetekben rontotta az 5-HT<sub>7</sub>R affinitást. Ezért a spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindol] alapváz szubsztituátlan származékait vizsgáltuk. Az aril-piperazin csoport fenil-gyűrűjének halogénnel szubsztituált származékait terveztük előállítani, ezért szubsztituátlan (**30**), meta- (**31**), orto- (**32**), para- (**28**) és 3,4-diklór- (**33**) származékokat állítottunk elő. Továbbá vizsgáltuk a HYD<sub>1</sub>/HYD<sub>2</sub> csoportok hatását az 5-HT<sub>7</sub>R affinitásra és szelektivitásra az aril-piperazin csoport cseréjével fenil-, és fenoxi-piperidineket (**34**, **35**, **38**), 5,6-dihidropiridin (**36**), és benzoil-piperazin (**39**) származékokat állítottunk elő. Az előállított származékokat az 5-HT<sub>7</sub>R és további szerotonin receptor altípusokra (5-HT<sub>1A</sub>R, 5-HT<sub>2A</sub>R and 5-HT<sub>6</sub>R) beállított kötődési tesztekben vizsgáltuk (**1. táblázat**).

ID	Szerkezet	5-HT <sub>1A</sub> K <sub>i</sub> (μM)	5-HT <sub>2A</sub> K <sub>i</sub> (μM)	5-HT <sub>6</sub> K <sub>i</sub> (μM)	5-HT <sub>7</sub> K <sub>i</sub> (μM)
<b>28</b>		3.755	0.068	4.737	<b>0.029</b>
		129.5	2.3	163.3	
<b>29</b>		2.891	0.715	5.559	<b>0.067</b>
		43.1	10.7	83.0	
<b>30</b>		6.005	0.496	6.556	<b>0.100</b>
		60.1	5.0	65.6	
<b>31</b>		2.687	0.351	2.005	<b>0.055</b>
		48.9	6.4	36.5	
<b>32</b>		1.096	0.452	2.843	<b>0.245</b>
		4.5	1.8	11.6	
<b>33</b>		4.054	0.270	1.131	<b>0.038</b>
		106.7	7.1	29.8	
<b>34</b>		14.900	0.404	4,577	<b>0.284</b>
		52.5	1.4	16.1	

<b>35</b>		52.010	0.259	5.285	<b>0.275</b>
		189.1	0.9	19.2	
<b>36</b>		3.949	0.075	6.267	<b>0.043</b>
		91.8	1.7	145.7	
<b>37</b>		14.160	0.059	4.744	<b>0.021</b>
		674.3	2.8	225.9	
<b>38</b>		13.790	0.343	1.693	<b>0.121</b>
		114.0	2.8	14.0	
<b>39</b>		48.240	17.330	7.746	<b>0.529</b>
		91.2	32.8	14.6	

**1. Táblázat** – Spiro-oxindolok kötődési tesztek eredményei négy szerotonin receptoron (mért értékek  $K_i$  ( $\mu\text{M}$ )). 5-HT<sub>7</sub>R szelektivitások dőlt betűvel szerepelnek.

A szubsztituátlan fenilpiperazin származék (**30**) jelentős affinitással rendelkezik az 5-HT<sub>7</sub>R receptoron, azonban alacsonyabb szelektivitást mutatott 5-HT<sub>7</sub>R irányába a halogén-szubsztituenseket tartalmazó származékokhoz képest. A halogén-szubsztituensek vizsgálata alapján megállapíthatjuk, hogy az orto- (**32**), meta- (**31**), para- (**28**) irányban javul mind a vegyületek 5-HT<sub>7</sub>R affinitása és javul szelektivitása az 5-HT<sub>1A</sub>R és 5-HT<sub>6</sub>R receptorokkal szemben. A para-klór származék (**28**) nanomólos 5-HT<sub>7</sub>R affinitást, és több mint százszoros szelektivitást mutatott két receptor altípussal szemben is (5-HT<sub>1A</sub>R és 5-HT<sub>6</sub>R). A szelektivitást tovább sikerült növelni a para-fluor (**37**) származék esetében. Szinte valamennyi származék mikromól alatti affinitást mutatott az 5-HT<sub>2A</sub>R receptoron, ami érdekes lehet bizonyos kombinált indikációkban<sup>24</sup>. A **28**-as származékhoz képest, a hosszabb alkil-lánccal ellátott származék (**29**) esetében a megnövelt PI-HBA távolság csökkent 5-HT<sub>7</sub>R affinitáshoz vezetett. Az 5-HT<sub>1A</sub>R-el szembeni szelektivitása csökkent, 5-HT<sub>2A</sub>R altípussal szemben azonban javult. Mindazonáltal a **30**-as származék csökkent szelektivitást (65.5-szeres) mutatott az 5-HT<sub>6</sub>R altípussal szemben a **28**-as származék 163.3-szoros

<sup>24</sup> Deau E, Robin E, Voinea R, et al. Rational Design, Pharmacomodulation, and Synthesis of Dual 5-Hydroxytryptamine 7 (5-HT<sub>7</sub>)/5-Hydroxytryptamine 2A (5-HT<sub>2A</sub>) Receptor Antagonists and Evaluation by [18F]-PET Imaging in a Primate Brain. *J Med Chem.* 2015;58(20):8066-8096.

szelektivitásához képest. A legaktívabb 4-fluor származékból (37) kiindulva előállítottuk a megfelelő 5,6-dihidropiridin származékot (36), mely azonban csökkent szelektivitást (91.8-szoros) mutatott az 5-HT<sub>1A</sub>R altípussal szemben. A piperazin gyűrűt piperidin (35) gyűrűre cserélbe 10-szer alacsonyabb affinitású származékot kaptunk. Ezt tovább igazolta a megfelelő 4-klór piperidin analóg (34) esete is. Az 5-HT<sub>1A</sub>R-val és 5-HT<sub>2A</sub>R-val szembeni szelektivitások nem mutattak jelentős eltérést, azonban az 5-HT<sub>6</sub>R-al szemben szelektivitás tízszeresen romlott. A 34-es és 35-ös származékokhoz hasonlóan a 38-as fenoxi-piperidin származék is nagyobb affinitást mutatott az 5-HT<sub>6</sub>R receptoron. Végül a benzoil-piperazin származék (39), habár csökkent affinitást mutatott az 5-HT<sub>7</sub>R receptoron, egyúttal a legjobb szelektivitást mutatta az 5-HT<sub>2A</sub>R altípussal szemben (32.8-szoros).

Összefoglalva, a szerkezet-hatás összefüggés elemzés megmutatta, hogy a spiro[pirrolidin-3,3'-oxidolok] megfelelő kiindulópontok 5-HT<sub>7</sub>R ligandumok fejlesztésére. Igazoltuk, hogy a kétatomos alkil-lánchossz biztosít megfelelő távolságot a HYD<sub>1</sub> és HYD<sub>2</sub> csoportok között, és ezáltal jó affinitást az 5-HT<sub>7</sub>R receptoron. A aril-piperazin csoport 4-es helyzetben szubsztituált származékai jó 5-HT<sub>7</sub>R affinitást és jó 5-HT<sub>1A</sub>R, és 5-HT<sub>6</sub>R receptorokkal szembeni szelektivitásokat eredményeztek. A vizsgálatok során azonosított legjobb affinitású és szelektivitású (5-HT<sub>1A</sub>R, 5-HT<sub>6</sub>R) származék a 4-fluor szubsztituált aril-piperazin analóg (37). Az 5-HT<sub>2A</sub>R altípussal szembeni szelektivitást a fenil-piperazin benzoil-piperazinra (39) történő módosításával lehetett elérni. Az eredmények alapján egy új 5-HT<sub>7</sub>R kemotípust sikerült kifejleszteni, melynek tovább optimalálásával *in vivo* betegségmodellekben vizsgálható vegyületek is fejleszthetők.

#### 4.5. 5-HT<sub>2B</sub>R szelektív antagonisták tervezésére alkalmas konszenzus-pontozás alapú dokkolási módszer

Az aminerg GPCR receptorok kristályszerkezeteinek átfogó elemzése felfedte az úgynevezett másodlagos kötőzsebek (SBP – secondary binding pocket) létezését. A másodlagos kötőzseb a fehérje extracelluláris régiójában található a 2-es extracelluláris loop (ECL2) részvételével. Ebben a régióban nagy arányban találhatóak nem-konzervált aminosavak, amik lehetőséget nyújtanak az aminerg receptorok családján belüli szelektivitás elérésére. Michino és munkatársai egy átfogó elemzés során<sup>25</sup> szisztematikusan összegyűjtötte az aminerg receptorok másodlagos kötőzsebeit, melyek legalább három olyan aminosav oldalláncot tartalmaznak, melyek kölcsönhatást létesítenek a receptorok ligandumaival, azonban nem részei a klasszikus ortosztérikus kötőzsebeknek (OBP – orthosteric binding pocket). Elemzésük során 36 röntgen szerkezet közül 30 esetben azonosítottak másodlagos kötőhelyet. Ezek a másodlagos kötőzsebek lehetőséget nyújtanak altípus-szelektivitás elérésére fragmens-optimalási stratégiák alkalmazásával. Amíg a ligandum egyik része (első

---

<sup>25</sup> Michino M, Beuming T, Donthamsetti P, et al. What can crystal structures of aminergic receptors tell us about designing subtype-selective ligands? *Pharmacol Rev.* 2015;67(1):198-213.



## 5. TÉZISEK

1. Kidolgoztam egy fizikokémiai tulajdonságokra épülő kívánatossági-függvény alapú módszert (FrAGS – Fragmens Aminerg GPCR pontozás) aminerg GPCR ligandumok azonosítására. Ez az alacsony számításigényű eljárás előszűrési módszerként szolgálhat fragmenskönyvtárak tervezéséhez és szerkezet-alapú virtuális szűrések ligandum készletének összeállításához. A módszer teljesítőképességét retrospektív és prospektív alkalmazásokkal támasztottuk alá. [K1]

2. Kidolgoztam egy szerkezet-alapú konszenzus pontozási módszert (FrACS – Fragmens Aminerg Konszenzus Pontozás) a rendelkezésre álló aminerg GPCR röntgenszerkezetek felhasználásával, mely alkalmas aminerg-GPCR fókuszált fragmenskönyvtárak tervezésére. A FrAGS és FrACS módszerek lépésenkénti kombinált alkalmazását prospektív szűréssel validáltam. Ennek eredményeképpen összesen négy 5-HT<sub>6</sub>R receptoron hatékony fragmens találatot azonosítottam. A spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindol] szerkezetet tartalmazó vegyületek ígéretes kiindulópontok lehetnek új 5-HT<sub>6</sub>R ligandumok fejlesztéséhez. [K2]

3. Az előző tézispontban azonosított spiro-oxindolokat 5-HT<sub>6</sub>R farmakofór-modell alapján optimaltunk, így jutottunk a megfelelő aril-szulfonil spiro[indoline-3,3'-pyrrolidin] származékokhoz. Szerkezet-hatás összefüggés elemzést (SAR) végeztem a spiro[indoline-3,3'-pyrrolidinek] alapváza körül, melynek során új szubmikromólos affinitású, 100-200-szoros szelektivitású 5-HT<sub>6</sub>R antagonistákat azonosítottam. Összesen 11 vegyületet az úgynevezett katalógus alapú SAR segítségével vizsgáltam, további 12 származékot egyedileg szintetizáltam, és szerotonin receptor panelen (5-HT<sub>1A</sub>R, 5-HT<sub>2A</sub>R, 5-HT<sub>6</sub>R, 5-HT<sub>7</sub>R) jellemeztünk. [K3,K4]

4. A spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindolok] aril-piperazin származékait potenciális 5-HT<sub>7</sub>R ligandumokként azonosítottam. Farmakofór-modell alapján szerkezet-hatás összefüggés elemzést (SAR) végeztem, melynek során 12 származékot szintetizáltam és jellemeztem 5-HT<sub>1A</sub>R, 5-HT<sub>2A</sub>R, 5-HT<sub>6</sub>R, 5-HT<sub>7</sub>R tesztekben. Ennek eredményeképpen nagy szelektivitású (100-200-szoros) és affinitású (nanomoláris) vegyületeket azonosítottam.

5. A második tézispontban kidolgozott szerkezet-alapú konszenzus pontozási módszert egy ligandum-alapú számítógépes tanulási módszerrel kombinálva 5-HT<sub>2B</sub>R szelektív antagonisták tervezésében alkalmaztam, melynek során két nagy affinitású és szelektivitású 5-HT<sub>2B</sub>R ligandumot azonosítottam. [K5]

## 6. AZ EREDMÉNYEK ALKALMAZHATÓSÁGA

A kívánatossági-függvény alapú pontozási módszer (FrAGS) és a dokkolás-alapú konszenzus pontozási módszer (FrACS) kombinációja hatékony eszközként szolgálhat aminerg GPCR ligandumok tervezésére.

Az eredmények alapján a spiro[indolin-3,3'-pirrolidineket] és a spiro[pyrrolidin-3,3'-oxindolokat] új 5-HT<sub>6</sub>R, illetve 5-HT<sub>7</sub>R kemotípusokként azonosítottuk. A bemutatott származékokat optimálva *in vivo* betegségmodellekben is vizsgálható vegyületek érhetőek el.

### PUBLIKÁCIÓK

#### 7.1. Az értekezés alapját képező közlemények:

**K1.** Kelemen Á. A.; Ferenczy Gy. G.; Keserű Gy. M. A desirability function-based scoring scheme for selecting fragment-like class A aminergic GPCR ligands. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2015**, 29(1), 59-66. [IF: 3.199 (2015), I (független): 5(2)]

**K2.** Kelemen Á. A.; Kiss R.; Ferenczy Gy. G.; Kovács L.; Flachner B.; Lőrincz Zs.; Keserű Gy. M. Structure-Based Consensus Scoring Scheme for Selecting Class A Aminergic GPCR Fragments. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2016**, 56(2), 412–422. [IF: 3.76 (2016), I (független): 6(5)]

**K3.** Kelemen Á. A.; Satała G.; Bojarski A. J.; Keserű Gy. M. Spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles] and Their Indoline Analogues as New 5-HT<sub>6</sub> Receptor Chemotypes. *Molecules* **2017**, 22(12), 2221. [IF: 2.861 (2016), I (független): 0(0)]

**K4.** Kelemen Á. A.; Mordalski S.; Bojarski A. J.; Keserű Gy. M. Computational Modeling of Drugs for Alzheimer's Disease: Design of Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Antagonists. *Neuromethods (Spiringer Protocols)* **2017**, 132, 419-461. ISBN: 978-1-4939-7404-7

**K5.** Rataj K.; Kelemen Á. A.; Brea J.; Loza M. I.; Bojarski A. J.; Keserű Gy. M. Fingerprint-Based Machine Learning Approach to Identify Potent and Selective 5-HT<sub>2B</sub>R Ligands. *Molecules* **2018**, 23, 1137. [IF: 2.861 (2016), I (független): 0(0)]

#### 7.2. További közlemények:

**K6.** Kelemen Á. A.; Szabó B. P.; Kovács P.; Keserű Gy. M. The first synthesis of furo[2,3-c]pyridazin-4(1H)-one derivatives. *Tetrahedron Letters* **2016**, 57(1), 64-66. [IF: 2.193 (2016), I (független): 1(1)]

### 7.3. ELŐADÁSOK, POSZTEREK:

1. Előadás: ChemAxon User Group Meeting, Budapest, 2014. május 22.; Physicochemical property based scoring scheme for design of an aminerg GPCR targeted fragment library Fragment GPCR Score – Kelemen Ádám Andor, Ferenczy György Gábor, Keserű György Miklós
2. Előadás: Kemometriai és Molekulamodellezési QSAR Szimpózium, Szeged, 2014, május 23.; Aminerg GPCR célzott fragmenskönyvtár-tervezésre alkalmas fizikai-kémiai leíró alapú pontozási módszer – Kelemen Ádám Andor, Ferenczy György Gábor, Keserű György Miklós
3. Poszter: SCT 22nd Young Research Fellow Meeting, Franciaország, Párizs, 2015. február 4-6.; A Desirability Function-based Scoring Scheme for Selecting Fragment-like Class-A Aminergic GPCR Ligands – Kelemen Ádám Andor, Ferenczy György Gábor, Keserű György Miklós
4. Előadás: Kemometriai és Molekulamodellezési QSAR Szimpózium, Szeged, 2015, május 14-15.; Ligandum- és szerkezet alapú módszerek aminerg GPCR célzott fragmenskönyvtárak tervezésére – Kelemen Ádám Andor, Kiss Róbert, Ferenczy György Gábor, Keserű György Miklós
5. Előadás: 10th European Workshop in Drug Design – Novel Trends in Computational Chemistry and HIV Research, Olaszország, Siena (Tuscany, Certosa di Pontignano), X EWDD, 2015. 05.16.-23.; Ligand and Structure-Based In Silico Methods for Aminergic GPCR Fragment Library Design - Kelemen Ádám Andor, Kiss Róbert, Ferenczy György Gábor, Keserű György Miklós
6. Előadás: Schrödinger Felhasználói Találkozó, Budapest, 2015.11.15.; Identification of new 5-HT<sub>6</sub> ligands by structure-based consensus scoring – Kelemen Ádám Andor, Kiss Róbert, Ferenczy György Gábor, Kovács László, Flachner Beáta, Lőrincz Zsolt, Keserű György Miklós
7. Poszter: GTC European Pharma Summit, Berlin, Germany, 2017.11.16-17. A Structure-based consensus scoring scheme for class-A aminergic GPCR fragments. Kelemen Ádám Andor, Kiss Róbert, Ferenczy György Gábor, Kovács László, Flachner Beáta, Lőrincz Zsolt, Keserű György Miklós