



**VILNIAUS UNIVERSITETAS  
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS  
CHEMIJOS INSTITUTAS  
ORGANINĖS CHEMIJOS KATEDRA**

**Edita Skinderytė**  
Farmacinė chemija  
Magistro baigiamasis darbas

***In silico* metodais paremtas vaistinių junginių metabolizmo  
puslaikio tyrimas**

Darbo vadovas  
Dr. Andrius Sazonovas

Darbo konsultantas  
Dr. Kiril Lanevskij

Vilnius 2022

## TURINYS

Turiny	2
Santrumpos	3
Įvadas	5
1. Literatūros apžvalga	7
1.1. Junginių metabolizmas kepenyse	7
1.2. <i>In vitro</i> kepenų metabolizmo tyrimai	7
1.3. Ankstesnių darbų apžvalga	9
2. Metodai	11
2.1. Duomenų bazės kūrimas	11
2.2. Programinė įranga	11
2.3. Naudojami parametrai	11
2.3.1. Struktūriniai fragmentai	11
2.3.2. Fizikocheminiai parametrai	12
2.3.3. Biocheminiai parametrai	12
2.4. Statistiniai metodai	12
2.4.1. Statistiniai modeliai	12
2.4.2. Statistiniai parametrai	13
3. Rezultatai ir jų aptarimas	14
3.1. Duomenų bazės paruošimas ir analizė	14
3.2. Egzistuojančio modelio nuspėjimo tikslumo patikrinimas	15
3.3. Modelio, nuspėjančio molekulės stabilumą žmogaus mikrosomose, kūrimas	15
3.3.1. Bazinio modelio kūrimas ir tobulinimas	15
3.3.2. GALAS modelio kūrimas	17
Išvados	19
Literatūros sąrašas	20
Santrauka	23
Summary	24
Priedai	25
1 priedas	26

## SANTRUMPOS

AI (angl. artificial intelligence) – dirbtinis intelektas. Kompiuterinių modeliavimų sritis siekianti atkartoti žmogaus mąstymą kompiuterinėje aplinkoje;

AUC (angl. area under the curve) – plotas po kreive aprašančia vaisto koncentracijos kraujyje kitimą laike. Farmakokinetinis parametras, leidžiantis įvertinti suminių efektyvų vaisto poveikį bet kuriame pasirinktame laiko intervale;

BPLS (angl. binomial partial least squares) – binominis dalinis mažiausių kvadratų statistinis metodas;

CAS (angl. chemical abstracts service) – cheminių junginių santraukų tarnyba. Amerikos chemikų draugijos padalinys teikiantis viešai prieinamą informaciją apie cheminius junginius;

$CL_{tot}$  (angl. total body clearance) – bendras organizmo klirensas. Plazmos tūris per laiko vienetą pilnai išvalomas nuo pašalinės medžiagos visais organizmui prieinamais būdais;

$C_{ss}$  (angl. steady state plasma concentration) – pusiausvriosios būsenos junginio koncentracija kraujyje, kuomet jo absorbcijos greitis žarnyne yra lygus pašalinimo iš organizmo greičiui;

$F_h$  (angl. hepatic availability) – kepenų nulemtas vaisto/medžiagos įsisavinamumas. Dozės dalis nepaveikta kepenų metabolizmo;

GALAS (angl. global, adjusted locally according to similarity) – globalus(i), lokaliai pakoreguotas(a) atsižvelgiant į panašumą modelis(metodika);

GCNN (angl. graph convolution neural network) – grafo konvoliucinis neuroninis tinklas. Dirbtinių neuroninių tinklų metodų grupė skirta informacijos užrašytos grafų pavidalu analizei panaudojant konvoliucijos principą;

HLM (angl. human liver microsomes) – žmogaus kepenų mikrosomos;

HTS (angl. high throughput screening) – didelio našumo eksperimentinės atrankos metodas;

InChI (angl. international chemical identifier) – tarptautinis cheminis identifikatorius. Cheminio junginio struktūros užrašymo tekstine eilute formatas sukurtas IUPAC (angl. international union of pure and applied chemistry – tarptautinės bendrosios ir taikomosios chemijos sąjungos);

*in silico* – procesas atliekamas pasitelkiant kompiuterio ir kompiuterinių modeliavimo metodų pagalbą;

*in vitro* – eksperimentas atliekamas dirbtinės izoliacijos sąlygomis;

*in vivo* – procesas vykstantis gyvame organizme;

LogP – neutralios junginio formos pasiskirstymo tarp vandens ir n-oktanolio koeficientas;

ML (angl. machine learning) – mašininis mokymasis. Pačiu bendriausiu atveju – sritis tyrinėjanti ir kurianti kompiuterinius metodus sugebančius „mokyti“, t.y., naujų duomenų analizės būdu tobulėti konkrečios užduoties atlikimo kontekste.

NN – netikras neigiamas klasifikacinio modelio rezultatas (angl. false negative, FN). Neigiama prognozė esant teigiamam eksperimentiniam rezultatui, „nuvertinimas“ – II-ojo tipo klaida;

NT – netikras teigiamas klasifikacinio modelio rezultatas (angl. false positive, FP). Teigiama prognozė esant neigiamam eksperimentiniam rezultatui, „netikras aliarmas“ – I-ojo tipo klaida;

P450 - citochromų (hemą turinčių, oksidoreduktazių klasei priklausančių fermentų, plačiai dalyvaujančių žmogaus organizmo metabolizmo procesuose) superšeima, pasižyminti charakteringu redukuotos formos, susijungusios su anglies monoksido molekule, absorbcijos piku ties 450 nm bangos ilgiu;

PLS (angl. partial least squares/projection to latent structures) – dalinis mažiausių kvadratų metodas;

RF (angl. random forest) – atsitiktinis sprendimų miškas. Statistinis metodas apjungiantis savyje keletą (dažniausiai dešimčių ar šimtų eilės skaičius) sprendimų medžių (angl. decision tree) gautų rekursinio skaidymo būdu ir visiškai atsitiktiniu būdu besiskiriančiais jo parametrais;

RI (angl. reliability index) – prognozės patikimumo indeksas, automatiškai apskaičiuojamas kiekvienai prognozei GALAS modelyje;

SVM (angl. support vector machines) – atraminių vektorių klasifikatorius;

SMILES (angl. simplified molecular-input line-entry system) – supaprastinta molekulių įvesties eilučių tipo įrašais sistema. Cheminio junginio struktūros užrašymo tekstine eilute formatas;

v-NN (angl. variable nearest neighbors) – kintamo artimiausių kaimynų skaičiaus metodas. Statistinio pastovaus artimiausių kaimynų skaičiaus (angl. k nearest neighbors, kNN) metodo variacija modeliams su chemine specifika, kuomet vietoje iš anksto nustatyto ir pastovaus artimiausių kaimynų skaičiaus kiekvieną kartą yra naudojamas konkrečiam tam kartui skirtas artimiausių kaimynų skaičius, apskaičiuotas atsižvelgiant į realų cheminį junginių panašumą;

TN - tikras neigiamas klasifikacinio modelio rezultatas (angl. true negative, TN). Neigiama prognozė esant neigiamam eksperimentiniam rezultatui, teisingas atmetimas;

TT – tikras teigiamas klasifikacinio modelio rezultatas (angl. true positive, TP). Teigiama prognozė esant teigiamam eksperimentiniam rezultatui, teisingas pataikymas (angl. hit).

## IVADAS

Tinkamo vaisto pasirinkimui svarbu žinoti ne tik to junginio aktyvumą prieš ligos sukėlėją, bet ir potencialų jo ar jo metabolitų toksiškumą, bei metabolizmo greitį, kuris lemia tiek dozę, tiek toksiškumą. Vaisto farmakologiniai ir/ar šalutiniai poveikiai siejami su farmakokinetiniais parametrais, tokiais kaip plotas po kraujo plazmos koncentracijos – laiko kreive (angl. area under the plasma concentration-time curve, AUC) ir pusiausvirosios būsenos kraujo plazmoje koncentracija (angl. steady state plasma concentration,  $C_{ss}$ ). Dėl to svarbu žinoti viso kūno klirensą (angl. total body clearance,  $CL_{tot}$ ) ir kepenų prieinamumą (angl. hepatic availability,  $F_h$ ), nuo kurių priklauso anksčiau minėti parametrai. Galutinės ir tikslios šių parametru reikšmės bet kuriam vaistui prieš registravimą yra nustatomos gyvo žmogaus organizme klinikinių tyrimų metu. Tačiau tai yra tik tyrimas, kuriuo siekiama patvirtinti ir patikslinti jau turimas, paprastesniais metodais nustatytas, beveik visų svarbių junginio savybių bent jau apytiksles reikšmes. Nei viena šiuolaikinė farmacijos kompanija neatidėlioja tokių svarbių vaisto savybių nustatymo klinikinių tyrimų stadijai, kadangi paaškęjus su tuo susijusioms problemoms kažką keisti būna arba neįmanoma, arba tai susiję su didžiuliais projekto vėlavimais ir pabrangimu. Iš Hwang et al. 2016 metais atlikto tyrimo, analizuojančio priežastis, kodėl naujų vaistų tyrimai buvo nutraukti 3 vaistų kūrimo fazėje, matyti, jog 22% procentai tokių tyrimų buvo sustabdyti dėl nepakankamo finansavimo, o 17% projektų sustabdomi nerimaujant dėl juose tiriamų medžiagų saugumo. Tokios nesėkmės vėlyviausiose vaistų kūrimo stadijose yra pačios brangiausios, kadangi yra susijusios su daugybės metų darbo ir milijardinių investicijų negrįžtamu praradimu.

Dėl šių priežasčių, dar XX a. naujų vaistų paieška ėmė evoliucionuoti didelio kiekio organinių junginių sintetinimo ir jų bioaktyvumo matavimo ypatingai našiais metodais (kombinatorinė chemija, aukšto našumo atranka *in vitro* (angl. high throughput screening, HTS) ir pan.) kuo ankstyvesnėse tyrimo stadijose kryptimi. Daugeliu atveju tai leido pasiekti tik nekontroliuojamą prieinamų eksperimentinių duomenų kiekio augimą, bet ne supratimą apie tiriamus procesus, kuri galima būtų panaudoti teoriniam naujų perspektyvių junginių dizainui. Vėliau šiems tikslams pradėti naudoti kompiuteriniai duomenų analizės bei modeliavimo metodai, leidę pasiekti labai kryptingą teorinę bioaktyvių molekulių, nukreiptų prieš konkrečią ligą ar jos sukėlėją, paiešką virtualių bibliotekų stadijoje ir tik didžiausią potencialą turinčių kandidatų sintetinimą praktiniams biocheminiams tyrimams. Tokių metodų kaip mašininis mokymasis (angl. machine learning, ML) ir dirbtinis intelektas (angl. artificial intelligence, AI) vystymasis pastaraisiais metais toliau nuosekliai didino kompiuterinių modelių, galinčių efektyviai nuspėti pačias įvairiausias potencialios vaistinės molekulės savybes (pvz., fizikocheminius parametrus, nesurištą kiekį kraujyje, pagrindinių metabolinių fermentų slopinimą, galimus metabolitus ir jų toksiškumą ir t.t.), vaidmenį atrenkant geriausius pirmtakus (angl. lead compound) ir provaistus (angl. prodrugs) jų nesintetinant, kas smarkiai sumažina pasiruošimo klinikiniams tyrimams kaštus.

Ne išimtis ir vaistų metabolizmo bei eliminavimo tyrimai ir optimizavimas, kurie pirmiausiai iš žmonių persikėlė į *in vitro* izoliuotus kepenų sluoksnius (angl. liver slices), vėliau individualių kepenų ląstelių, pirminių hepatocitų (angl. primary hepatocytes), mėginius, homogenizuotus šių ląstelių preparatus – mikrosomas (angl. human liver microsomes, HLM), ir, galiausiai, specializuotas kompiuterines programas. Deja, efektyvių, komercinių, konkrečiai metabolizmo greitį žmogaus kepenyse nuspėjančių modelių, dėl įvairių priežasčių rinkoje iki šiol yra labai nedaug.

Darbo tikslas: sukurti efektyvų, plačiai pritaikomą modelį vaistinių junginių metabolizmo greičio žmogaus kepenyse įvertinimui.

Uždaviniai:

- Sukurti mikrosomose nustatytos pusėjimo trukmės duomenų bazę;
- Įvertinti papildomų parametrų (LogP ir metabolinių centrų skaičiaus) panaudojimo modelyje tikslumą;
- Remiantis ankstesnių uždavinių rezultatais ir išvadomis, sukurti bei validuoti galutinį modelį.

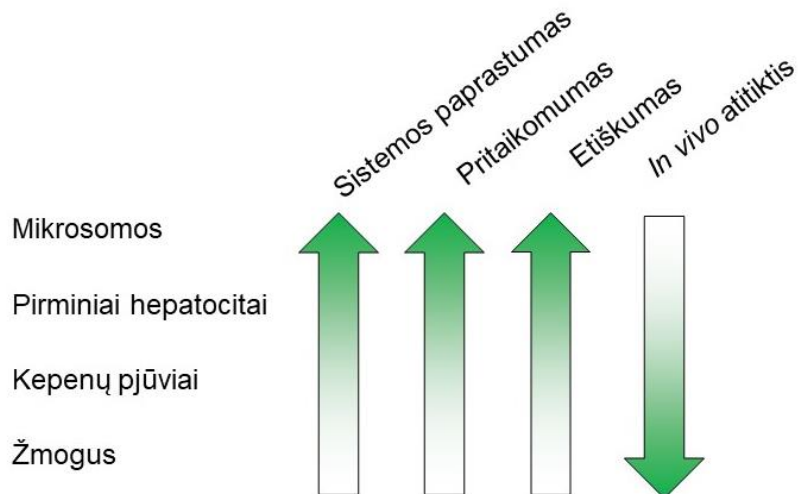
# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Junginių metabolizmas kepenyse

Vaistinių medžiagų metabolizmas vyksta dviem fazėmis: modifikacija (pirma fazė) ir konjugacija (antra fazė). Pirmosios fazės metu vyksta dviejų tipų reakcijos: (1) oksidacijos/redukcijos, kurias vykdo kelios skirtingos oksidoreduktazių šeimos, svarbiausia iš kurių yra citochromų P450 superšeima, bet taip pat žymų vaidmenį atlieka flavino turinčios monooksigenazės ir kiti fermentai; (2) hidrolizė, vykdoma įvairių hidrolazių, tokių kaip esterazės, amidazės, fosfatazės ir kt. Antros fazės metu vyksta pradinio junginio, ar funkcionalizuoto pirmos fazės metabolito konjugacija su endogeniniais substratais. Pagrindiniai konjugacijų tipai yra: metilinimas, acetilinimas, sulfonavimas, gliukuronidavimas, fosforilinimas, glutationo ir aminorūgščių prijungimas. Antros fazės metabolizmas turi dvi pagrindines paskirtis: polinio fragmento prijungimas, didinantis molekulės tirpumą ir palengvinantis pašalinimą iš organizmo (pvz., sulfonavimas, gliukuronidavimas), arba reaktyvių grupių detoksifikacija (pvz. glutationo prijungimas) (Testa & Krämer, 2008).

## 1.2. *In vitro* kepenų metabolizmo tyrimai

Viena pirmųjų sistemų kepenų metabolizmo tyrimams – kepenų pjūviai – buvo sukurta Otto Heinrich Wartburg apie 1920 – uosius metus. Tačiau tai brangus ir jautrus laikui metodas, todėl ilgainiui buvo sukurti nauji metodai. Turbūt populiariausios šiuo metu naudojamos sistemos yra mikrosomos ir hepatocitai. Šių trijų sistemų palyginimas pateiktas 1 pav.



1 pav. *In vitro* ir *in vivo* sistemos naudojamos kepenų metabolizmo tyrimams naujų vaistų kūrime, pateiktos panašumo į *in vivo* sistemą tvarka (Brandon et al., 2003)

Hepatocitai, specifinės kepenų ląstelės, dažnai naudojami vaistinių junginių metabolizmo tyrimuose, kuomet norima tirti tiek pirmos, tiek antros fazės metabolizmą. Hepatocitai gaminami perfuzuojant kepenys ar jų dalį (Howard et al., 1967; Puviani et al., 1998). Iš kepenų izoliuoti hepatocitai gali būti laikomi tirpale, bet juos reikia sunaudoti per

kelias valandas, arba gali būti padaromos monosluoksnių kultūros, kuriose hepatocitai išlaiko savo aktyvumą iki 4 savaičių (Brandon et al., 2003).

Tyrimai rodo, jog kriokonservuoti hepatocitai išlaiko daugumos pirmos ir antros metabolizmo fazių fermentų aktyvumą (Annaert et al., 2001; Silva et al., 1999). Tuo jie pranašesni už kepenų pjūvius ar perfuzuotas kepenis. Kriokonservavimas įgalino komercinę prekybą, kurios dėka hepatocitinės sistemos tapo prieinamesnės. (Hengstler et al., 2000). Tačiau tokios hepatocitų kultūrų laikymo sąlygos komplikuoja duomenų interpretavimą, nes rezultatai iš dalies priklauso nuo kultūros sisteminių faktorių. Nors hepatocitai sudaro 80% kepenų ląstelių, jos nėra vienintelės. Likusios 20% ląstelių gali gaminti kofaktorių ir taip kažkiek pakeisti metabolizmo eigą. Kitas hepatocitinės sistemos trūkumas yra jos variabilumas tarp skirtingų donorų.

1 lentelė

Hepatocitų sistemos privalumai ir trūkumai (Brandon et al., 2003)

Privalumai	Trūkumai
Gerai charakterizuota sistema	Izoliacija sudėtingas ir ilgai užtrunkantis procesas
Aktyvumo išlaikymas iki 4 savaičių	Tirti galima tik iš anksto pasirinktas ląsteles
Įmanoma tirti mediatorius ir fermentų aktyvatorius	Izoliacijos metu ląstelės pažeidžiamos
Galimas praturtinimas aktyviomis ląstelėmis	Sunku tirti ląstelines sąveikas

Žmogaus kepenų mikrosomos yra populiariausia *in vitro* sistema, kuri gerai parodo pirmos metabolizmo fazės profilį. Kepenų mikrosomos yra sudarytos iš hepatocitų endoplazminio tinklo vezikulių. Jos paruošiamos diferenciškai centrifuguojant ląstelių lizata (Pelkonen et al., 1974), todėl iš metabolizme dalyvaujančių baltymų turi beveik vien citochromus ir glukuroniltransferazes. Kadangi mikrosomose, išgautose iš skirtingų donorų kepenų, esančių fermentų aktyvumas skiriasi, komerciškai parduodamuose sistemose yra pateikiamas pamatuotas citochromų aktyvumas (Bradford, 1976; Lowry et al., 1951; Peterson, 1977).

Vieni didžiausių mikrosominių sistemų privalumų yra pigumas, naudojimo lengvumas, jos yra viena iš geriausiai aprašytų *in vitro* sistemų skirtų vaistinių junginių metabolizmo tyrimams. Tačiau jos turi ir trūkumų (2 lentelė). Vienas didžiausių mikrosominių sistemų trūkumas yra didesnis metabolizmo greitis, dėl jose esančios padidintos fermentų koncentracijos, todėl mikrosomose išmatuoti metabolizmo puslaikiai visada bus mažesni, nei gyvame organizme (Sidelmann et al., 2008). Tačiau ši sistemos specifika vienodai veikia visus tiriamus junginius, tad žmogaus mikrosomos išlieka puikiai tinkamu metodu skirtingų junginių metabolizmo greičio palyginimui bei šio parametro optimizavimui konkrečiam junginiui, t.y., pokyčių tyrimui priklausomai nuo atliekamų struktūros modifikacijų. Taip pat tyrimo metu gaunami ne visi metabolitai, kadangi jose nėra kitų kepenų metabolizme dalyvaujančių fermentų ir citozolinių kofaktorių (Crommentuyn et al., 1998), tačiau tai kritinės reikšmės turi tik labai mažai junginių daliai.



Žmogaus kepenų mikrosomų privalumai ir trūkumai (Brandon et al., 2003)

Privalumai	Trūkumai
Lengva pritaikyti	Netinkami kiekybiniais matavimams
Prieinama kaina	Nepilnai atspindi <i>in vivo</i> metabolizmą
Galima tirti variaciją tarp skirtingų mėginių	Tik citochromai ir glukoroniltransferazės

Optimaliausiam vaisto kandidato parinkimui labai svarbus viso kūno klirensas ( $CL_{tot}$ ), kuris yra kraujotaka susietų kūno audinių klirensų suma. Kepenų ir inkstų klirensų nuspėjimas svarbus daugumos vaistinių junginių pašalinimo iš organizmo greičio įvertinimui (Ito et al., 1998). Inkstų klirensas yra sėkmingai modeliuojamas naudojanti duomenis gautus iš gyvūnų ir jie proporcingai perskaičiuojami alometriniu metodu (Huang & Isoherranen, 2018). Tačiau toks proporcingumas negali būti taikomas mėginant nuspėti kepenų klirensą, dėl didelių tarprūšinių skirtumų (Boxenbaum, 1980; Izumi et al., 1996; Lin, 1995). Nauji metodai skirti nuspėti *in vivo* žiurkių kepenų klirensui iš *in vitro* duomenų buvo sukurti Rane et al., 1977 ir Wilkinson, 1987, juose buvo panaudojami duomenys gauti iš kepenų mikrosomų ar izoliuotų hepatocitų, bei atsižvelgiant į kepenų kraujotakos greitį (angl. blood flow rate) nesurištą dalį medžiagos kraujyje (angl. unbound fraction in blood).

### 1.3. Ankstesnių darbų apžvalga

Vaistinių junginių metabolizmo stabilumo nuspėjimui naudojami mašininiai apmokymu paremti metodai. Dažniausiai naudojamas atsitiktinių miškų metodas (angl. random forest method, RF), kuris yra sudarytas iš bent kelių (dažniausiai kelių dešimčių) sprendimų medžių (angl. decision trees). Pavieniai medžiai apmokomi naudojant tik dalį viso duomenų rinkinio, o galutinis rezultatas apskaičiuojamas kaip visų sprendimų medžių spėjimo vidurkis. Tokiu būdu išvengiama gilesnių medžių persimokymo tendencijos (Breiman, 2001). Rečiau naudojami kintančio artimiausio kaimyno (angl. variable nearest neighbor, v-NN), grafų konvoliucinių neuroninių tinklų (angl. graph convolutional neural network, GCNN) ar atraminių vektorių klasifikatoriaus (angl. support vector machine, SVM) metodai. v-NN, kaip ir RF, yra paremti manymu, jog panašios struktūros bus metabolizuojamos panašiai, ir spėjimai yra daromi remiantis visai artimais kaimynais, kurie atitinka struktūrinio panašumo kriterijus (Liu et al., 2015). GCNN yra dirbtinių neuroninių tinklų variacija, naudojanti konvoliucijos principą informacijai iš skirtingų grafo viršūnių susieti (Duvenaud et al., 2015). SVM, tai grupė prižiūrimai apsimokančių metodų, kurie gali būti pritaikyti klasifikacijai ar regresijai (Ivanciuc O., 2007).

3 lentelėje pateikti keli literatūroje paskelbti modeliai, naudojantys aukščiau aprašytus metodus. Iš jos matyti, jog geriausia statistika pasiekama apjungiant kelis modeliavimo metodus (konsensuso metodas). Atliekant egzistuojančių modelių analizę pastebėta, jog daugumos modelių autoriai neviešina savo naudotų duomenų bazių, kurios dažnai būna iš farmacinių įmonių vidinių duomenų. Tokios duomenų bazės dažnai būna pritaikytos tos įmonės tiriamai cheminei erdvei, kas sumažina modelio spėjimąją galią kitos cheminės erdvės srities molekulėms. Tai gerai matyti Siramshetty et al. 2021 metais aprašomiems modeliams, išbandant juos su rinkoje esančių vaistų patikrinamuoju rinkiniu, kuomet statistiniai parametrai pastebimai suprastėjo.

Metabolinio stabilumo modelių suvestinė

Autoriai	Mokomasis rinkinys	Patikrinimo būdas	Modeliavimo metodas	Mikrosomų kilmė	Parametrai	Modelio statistika		
						Tikslumas	Jautrumas	Specifiškumas
Liu et al., 2015	2923	Kryžminė validacija	RF	Žmogus	Molekuliniai „pirštų antspaudai“ (ECFP-4)	82%	77%	85%
			V – NN			82%	73%	88%
			Konsensuso			85%	79%	89%
Lee et al., 2007	11646	Kryžminė validacija	RF	Žmogus	Fizikocheminiai (MOE)	80%	69-77%	81-88%
Siramshetty et al., 2021	25262	Kryžminė validacija	RF	Žiurkė	RDKit	80%	84%	75%
			GCNN			81%	84%	79%
	220 išleistų vaistų patikrinamasis rinkinys	RF	66%			79%	53%	
		GCNN	71%			80%	62%	
Aliagas et al., 2015	17802	7316 vėliau surinktų molekulių patikrinamasis rinkinys	SVM algoritmas	Žmogus	Fizikocheminiai ir žiediniai molekuliniai „piršto antspaudai“	72%	84%	54%

## 2. METODAI

### 2.1. Duomenų bazės kūrimas

Literatūrinės analizės metu identifikuoti vaistų pirmtakai (angl. *lead compound*), kuriems publikuoti metabolizmo puslaikio ( $t_{1/2}$ ) arba savitojo klirensa (angl. *intrinsic clearance*,  $CL_{int}$ ) parametrai. Dažniausiai šios savybės nustatomos skirtingų organizmų (žmonių, žiurkių, pelių, beždžionių ir šunų) kepenų mikrosomose arba hepatocituose. Naudojantis 1997 metais pasiūlyta formule (Obach et al., 1997), visas šias savybes galima susieti tarpusavyje:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{CL_{int}} \cdot \frac{V_{inc}}{m_{mic}} \cdot m_{mic/liv} \cdot m_{liv/body}, \quad (1)$$

čia  $CL_{int}$  – savitasis klirensas (ml/min/kg),

$V_{inc}$  – mišinio inkubacijos tūris (ml),

$m_{mic}$  – mikrosomų kiekis mišinyje (mg),

$m_{mic/liv}$  – mikrosominių baltymų kiekis kepenyse (45 mg iš žmonių ir žiurkių kepenų gramo) (Iwatsubo et al., 1997),

$m_{liv/body}$  – kepenų ir kūno masės santykis (21 g žmogui, 40 g žiurkei kilogramui kūno masės) (Davies & Morris, 1993),

Tokiu būdu buvo suvienodinti matavimo vienetai visiems duomenų bazės įrašams, kad būtų galima tiesiogiai juos palyginti.

Duomenų bazė užpildoma maksimaliai, t.y., jei straipsnyje pateiktos kelios reikšmės skirtingoms sistemoms, jos visos yra fiksuojamos, paliekant sprendimus dėl konkrečių duomenų praktinio panaudojimo vėlesniam etapui. Taip pat, priklausomai nuo originaliame šaltinyje naudojamo formato, cheminės junginių struktūros perpiešiamos, rekonstruojamos iš SMILES ar InChI užrašymų, arba sugeneruojamos iš junginio pavadinimo. Taip pat, struktūrinės formulės, pagal galimybes, patikrinamos pagal straipsniuose pateikiamus kitus identifikatorius (CAS numerius, junginių pavadinimus ir pan.).

### 2.2. Programinė įranga

Modelis ir duomenų bazė kuriami Algorithm Builder<sup>®</sup> programoje (ACD/Labs, 2022; Japertas et al., 2002). Taip pat buvo naudotasi šioje programoje įdiegtu BPLS (angl. *binomial partial least squares*) paketu kokybinių duomenų statistinei analizei, bei GALAS (angl. *global adjusted locally, according to similarity*) modeliavimo metodika.

Pats modelis išmėgintas jį integruojant į ACD/Percepta<sup>®</sup> programą (ACD/Labs, 2021), kuri taip pat jau turi įdiegtą eilę kitų modelių aktualių šiam darbui (LogP, metabolinių centrų nuspėjimas).

Modelio tikslumo statistiniai parametrai apskaičiuoti Microsoft Excel programa (Microsoft Corporation, 2022).

### 2.3. Naudojami parametrai

#### 2.3.1. Struktūriniai fragmentai

Vaistinės molekulės metabolizmo greičiui didelės įtakos turi struktūra, nes tai lemia jos sąveikos stiprumą su kepenų fermentais, tad svarbu modeliuojant jį tai atsižvelgti. Algorithm

Builder<sup>®</sup> programa turi funkciją ieškoti fragmentų molekulėje tiek dinamiškai, remiantis įvairiomis jungčių nutraukimo taisyklėmis, tiek statiškai, t.y., pagal vartotojo pateiktą fragmentų sąrašą. Modeliui kurti panaudotas būtent pastarasis fragmentacijos tipas kartu su jau egzistuojančia dažniausiai organinėse molekulėse pasitaikančių fragmentų duomenų baze, sudaryta iš 379 fragmentų, kuri sukurta plečiant Platts et al., 1999 publikuotą fragmentų rinkinį.

### **2.3.2. Fizikocheminiai parametrai**

Pagrindinis fizikocheminis parametras naudotas modelio kūrimui ir tobulinimui buvo pasiskirstymo koeficientas tarp 1 – oktanolio ir vandens (LogP). Šis parametras naudojamas apibūdinant molekulės lipofiliškumą, todėl yra svarbus nuspėjant molekulės galimybes patekti į skirtingus audinius bei membranas.

### **2.3.3. Biocheminiai parametrai**

Organizmuose už molekulių metabolizmą atsakingi įvairūs fermentai, kurie specifiški tam tikriems molekuliniais fragmentams (metaboliniams centrams). Kadangi naudotoje ACD/Percepta<sup>®</sup> programoje jau yra modelis skirtas būtent tokiems centrams nustatyti, buvo bandoma šią informaciją panaudoti kaip papildomą parametą statistinėje analizėje, kadangi prielaida, jog cheminės medžiagos metabolinis stabilumas gali priklausyti nuo to kiek tokių fragmentų ji turi, yra nors ir labai supaprastinta, tačiau pakankamai logiška.

Naudojantis ACD/Percepta<sup>®</sup> programa atlikta galimų metabolinių centrų paieška molekulėse, esančiose duomenų bazėje. Programa pateikia galimas metabolinių centrų vietas su patikimumo koeficientais RI (angl. reliability index). Nuspręsta, jog bus naudojamas, tik metabolizmo vietų skaičius, kurių tikėtumo įvertis apskaičiuotas iš prognozuotos tikimybės ir minėto IR parametro buvo nemažesnis kaip 0,5, kiekvienoje molekulėje.

## **2.4. Statistiniai metodai**

### **2.4.1. Statistiniai modeliai**

Molekulės metaboliniam stabilumui prognozuoti buvo naudojamas GALAS, globalus pakoreguotas lokaliai atsižvelgiant į panašumą, metodas. Šis modelis yra sudarytas iš dviejų pagrindinių dalių: algoritmo skaičiuojančio bazinę prognozę (angl. baseline), ir galutinę vertę skaičiuojančio algoritmo, kuris pasiremdamas panašumo analize įveda pataisą bazinio modelio nuspėtai reikšmei.

Pirmoji dalis yra globalus modelis. Šiame darbe ji yra paremta BPLS, regresiniu binominiu dalinių mažiausių kvadratų metodu (BPLS), kuris, savo ruožtu, remiasi PLS, dalinio mažiausių kvadratų, arba kartais dar iššifruojamo kaip projekcijos į latentines struktūras, (angl. partial least squares arba projection to latent structures) metodu. Pastarasis buvo sukurtas specialiai cheminių sistemų statistinei analizei. PLS – tai metodas, kurio išskirtinis privalumas yra jo gebėjimas analizuoti dideles, turinčias daug tuščių tarpų ir tarpusavyje koreliuojančių kintamųjų, matricas. Pagrindinis šio metodo tikslas surasti „paslėptus“ (latentinius) kintamuosius, kurie, būdami principiniai vienos matricos komponentai, gerai aprašytų kitą matricą. BPLS yra PLS variacija skirta binominiams duomenims apdoroti. Abu šie metodai yra tiesiniai ir adityvūs. Ši globalioji modelio dalis išmoksta visuotines tendencijas modeliuojamoje savybėje ir apibrėžia panašumą, išrinkdama svarbiausius struktūrinius bruožus, nulemiančius panašumą tarp abiejų lyginamų junginių.

Antroji dalis yra lokali ir atlieka bazinio modelio spėjimų pataisymą analizuodama kiekvieno junginio panašiausius cheminės erdvės srities kaimynus, taip įvedant netiesinį

elementą, kuris beveik visada pasireiškia net ir pačiose paprasčiausiose savybėse ar aktyvumuose (Japertas, 2007).

#### 2.4.2. Statistiniai parametrai

Dažniausiai modelio nuspėjimų tikslumas tikrinamas atliekant visų to modelio nuspėjimų patikrinamajame rinkinyje, atsitiktinai sudarytame iš duomenų bazėje esančių duomenų, analizę, juos lyginant su pamatuotais ir suskirstant į keturias grupes: tikras teigiamas, toliau TT, (angl. true positive, TP), netikras neigiamas, toliau NN, (angl. false negative, FN), netikras teigiamas, toliau NT, (angl. false positive, FP) ir tikras neigiamas, toliau TN, (angl. true negative, TN). Šias grupes galima sudėti į vadinamąją klaidų lentelę (angl. confusion matrix) (4 lentelė), kurios stulpeliuose pateikti nuspėti duomenis, eilutėse – gauti iš eksperimentų.

4 lentelė

Modelio nuspėjimo tikslumo analizė klaidų lentelės pavidalu

Nusp. \ Eksp.	Teigiamas	Neigiamas
Teigiamas	TT	NN
Neigiamas	NT	TN

Toks rezultatų pateikimas yra skaitinis ir tinka tik modeliams padarytiems iš tokio pačio dydžio duomenų bazių. Todėl modeliams apibūdinti naudojami trys statistiniai parametrai: jautrumas (2 formulė), specifiškumas (3 formulė) ir tikslumas (4 formulė).

$$J = \frac{TT}{TT + NN} \quad (2)$$

$$S = \frac{TN}{NT + TN} \quad (3)$$

$$T = \frac{TT + TN}{TT + NN + NT + TN} \quad (4)$$

Čia, J – modelio jautrumas,

S – modelio specifiškumas,

T – tikslumas.

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. Duomenų bazės paruošimas ir analizė

Surinkus literatūroje aprašytas  $t_{1/2}$  ir  $Cl_{int}$  vertes skirtingiems junginiams gauta duomenų bazė suskirstoma į mažesnes kategorijas, pagal organizmą ir kur vertė pamatuota (pvz., viena grupė žmogaus mikrosomose, kita – žiurkės hepatocituose). Surinkti ne tik kiekybiniai bet ir kokybiniai (daugiau, mažiau) šių savybių įvertinimai.

Iš viso surinkta 1010 junginių duomenys iš įvairių literatūros šaltinių (žr. **Klaida! Nerastas nuorodos šaltinis.**). Atlikus analizę paaiškėjo, kad daugiausia duomenų yra iš žmogaus mikrosomų, visa statistika pateikta 5 lentelėje. Kadangi kiekybinius duomenis lengvai galima paversti kokybiniais buvo nuspręsta juos apjungti. Literatūroje dažniausiai junginiai kurių  $t_{1/2} > 30$  min yra laikomi stabiliais (Lee et al., 2007; Liu et al., 2015; Sakiyama et al., 2008), todėl ir šiame darbe taip klasifikuojami junginiai.

5 lentelė

Darbo metu surinktų duomenų apie  $t_{1/2}$  ir  $Cl_{int}$  vertes kiekis skirtingose gyvūnų rūšyse

Gyvūnas	Mikrosomose	Hepatocituose
Kiekybiniai duomenys		
Žmogus	400	49
Žiurkė	170	80
Pelė	206	9
Šuo	9	4
Beždžionė	3	0
Kokybiniai duomenys		
Žmogus	328	13
Žiurkė	175	3
Pelė	193	1
Šuo	6	6
Beždžionė	1	0

Modeliui kurti buvo pasirinkta duomenų bazė sudaryta iš kokybinių žmogaus mikrosomose pamatuotų duomenų, kurie yra aiškiai apibrėžiami stabiliais/nestabiliais, naudojant ribinę metabolizmo puslaikio reikšmę – 30 minučių. Gauta duomenų bazė yra sudaryta iš 728 naujų junginių. Duomenų bazėje sukauptus duomenis verčiant į dvejetainį formatą susidurta su keliais binariškai neapibrėžiamais duomenimis. Pavyzdžiui, kai junginio pusėjimo trukmė yra mažesnė nei 120 min, neįmanoma pasakyti ar ji yra mažesnė už 30 minučių ar didesnė. Norint pajavairinti bei praplėsti duomenų bazę, nauji duomenys buvo prijungti prie 2009 metais surinktų duomenų, sudarant 1930 junginių rinkinį. Išvalius pastarąjį nuo įrašų, kuriuose metabolinio pusėjimo puslaikis yra tiksliai lygus arba labai artimas pasirinktai klasifikavimo ribai ( $t_{1/2} = 30$  min) gauta galutinė modeliavimui skirta duomenų bazė susidedanti iš 1140 junginių.

### 3.2. Egzistuojančio modelio nuspėjimo tikslumo patikrinimas

ACD/Percepta<sup>®</sup> programoje jau yra sukurtas kepenų metabolizmo modelis naudojantis 2009 metų duomenų baze. Buvo nuspręsta šio modelio nuspėjimo tikslumą patikrinti naudojantis naujai surinkta duomenų baze, tam kad būtų galima sekti ar naujai sukurtas modelis yra patikimesnis. Į programą įkeltos visos 1010 naujai surinktų struktūrų bei joms pamatuotas mikrosominis metabolizmo puslaikis (kadangi šis žingsnis atliktas prieš suvienodinant vienetus bei sudarant binomines struktūrų patikimumo analizę atlikta tik su 385 junginiais, iš kurių dalis negalėjo būti tiksliai apibūdinami binomiškai). Tuomet šioms molekulėms senuoju modeliu nuspėtas metabolinis stabilumas, kuris išreiškiamas tikimybe, kad molekulė bus nestabili kepenų mikrosomose (jos metabolizmo puslaikis mažesnis nei 30 minučių). Modelio spėjimai kategorizuoti į tris grupes: stabilūs ir nestabilūs junginiai žmogaus mikrosomose bei neapibrėžtos prognozės. Priskyrimas konkrečiai kategorijai vykdomas pagal prognozuotą tikimybę kad junginys bus nestabilus. Senojo modelio nuspėjimo galimybės naujai duomenų bazei buvo labai menkos ir patikimumo analizę buvo galima įvykdyti, tik tuo atveju, kai skirstymas vykdomas tik į dvi grupes: jei stabilumo tikimybė  $\leq 0,5$ , tuomet molekulė stabilus, jei  $> 0,5$  – nestabilus (t.y., eliminuojant neapibrėžtų prognozių kategoriją, kuri, jeigu naudojama, sudaro didžiąją dalį senojo modelio spėjimų naujos duomenų bazės junginiams). Naudojantis 6 lentelėje pateiktais tikslumo analizės duomenimis galima paskaičiuoti modelio jautrumą ir specifiškumą naujai surinktiems duomenims. Naudojant 2 ir 3 lygtis suskaičiuotas jautrumas ir specifiškumas šiems duomenims atitinkamai buvo 0,44 ir 0,67.

6 lentelė

Žmogaus kepenų mikrosominio metabolizmo nuspėjimo senuoju modelius, tikslumo analizė.

Nusp. \ Eksp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	35	45
Stabilus	88	178

### 3.3. Modelio, nuspėjančio molekulės stabilumą žmogaus mikrosomose, kūrimas

#### 3.3.1. Bazinio modelio kūrimas ir tobulinimas

Algoritmo kūrimo pradžioje pagrindinė 1140 junginių bazė atsitiktiniu būdu suskirstyta į mokomąjį ir patikrinamąjį rinkinius, kuriuos atitinkamai sudarė 798 (70%) ir 342 (30%) junginių. Mokomajam rinkiniui buvo atliekamas BPLS savirankos (angl. bootstrap) metodas, kuris sustabdomas pasiekus optimalų statistiškai reikšmingų kintamųjų kiekį, geriausiai aprašantį modeliuojamą dydį, bet dar nepasiekiantį modelio persimokymo (angl. overfitting). Šiuo atveju sistema parinko 8 statistiškai reikšmingus komponentus. Atliekama šio modelio (bazinio (angl. baseline) modelio) tikslumo analizė mokomajam rinkiniui, kurios rezultatai pateikiami 7 lentelėje. Pasinaudojus 2 ir 3 formulėmis, paskaičiuota, kad šio modelio jautrumas yra 0,69, o specifiškumas – 0,81. Taip pat naudojantis 4 formule apskaičiuotas modelio nuspėjamų rezultatų tikslumas, kuris yra 0,76.

Naujai sukurto bazinio modelio tikslumo analizės duomenys mokomajam rinkiniui

Nusp. \ Eksp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	234	105
Stabilus	87	372

Tuomet mėginta patobulinti šį bazinį modelį nepriklausomais kintamaisiais pridendant LogP arba metabolinių centrų skaičių. Apmokius algoritmą, Algorithm Builder<sup>®</sup> programoje pateikiami kiekvieno kintamojo koeficientai su standartiniu nuokrypiu. Iš to pastebėta, jog metabolinių centrų skaičius, kurių kintamojo koeficientas buvo  $4,94 \cdot 10^{-2} \pm 8,97 \cdot 10^{-2}$ , nėra reikšmingi žmogaus mikrosomų metabolizmo greičiui, nes standartinis nuokrypis didesnis nei koeficientas, dėl ko statistiškai koeficientas nesiskiria nuo 0. Tačiau LogP turi reikšmingą įtaką modeliui, nes jo koeficientas yra  $0,61 \pm 0,16$ . Todėl buvo sukurtas patobulintas bazinis modelis, kurio statistika mokomajam rinkiniui: jautrumas – 0,69, specifiškumas – 0,84, o tikslumas – 0,77, o analizė pateikta 8 lentelėje.

Metabolinio stabilumo bazinio modelio su LogP kintamuoju tikslumo analizė mokomajam rinkiniui

Nusp. \ Eksp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	233	106
Stabilus	74	385

Šis modelis buvo išmėgintas su patikrinamuoju rinkiniu, bei atlikta tikslumo analizė (9 lentelė). Šiam rinkiniui statistika nežymiai prastesnė nei mokomajam rinkiniui (jautrumas – 0,66, specifiškumas – 0,81, tikslumas – 0,74), tačiau ne tiek kad tai galima būtų traktuoti kaip bazinio modelio persimokymą ir per didelę adaptaciją prie mokomojo rinkinio.

Metabolinio stabilumo bazinio modelio su LogP kintamuoju tikslumo analizė patikrinamajam rinkiniui

Nusp. \ Eksp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	103	53
Stabilus	36	150



### 3.3.2. GALAS modelio kūrimas

Toliau mėginta modelį gerinti pridodant taisyką pagal panašumą (antroji GALAS metodo pakopa). Šis modelis yra skirtas patikslinti reikšmių nuspėjimą, kas ir stebima atlikus tikslumo analizę naudojantis 10 lentelė. Matome, jog tokio modelio jautrumas yra 0,65, specifiškumas – 0,85, o tikslumas – 0,76.

10 lentelė

GALAS metabolinio stabilumo modelio su LogP kintamuoju tikslumo analizė patikrinamajam rinkiniui

Nusp. \ Eksp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	102	54
Stabilus	28	158

GALAS modelis be tikimybės prognozės pateikia patikimumo indeksą (RI), kuris parodo, spėjimo patikimumą pagal mokomajame rinkinyje esančių molekulių panašumą bei joms stebimų eksperimentinių savybės verčių atitikimo bazinio modelio prognozėms laipsnį. Suskirsčius mokomąjį rinkinį pagal modelio spėjimų patikimumo parametą, matyti, jog kuomet  $RI > 0,3$  padengiama 72,5% patikrinamojo rinkinio (248 įrašai), esant  $RI > 0,5$  padengiama 48,0% duomenų (164 įrašai), o esant  $RI > 0,75$  padengiama 12,6% (43 įrašai) duomenų rinkinio. 11 lentelė pateiktas spėjimų pasiskirstymas atsižvelgiant į patikimumo indeksą. Iš šių rezultatų išvestos statistikos:

- Kuomet  $RI > 0,3$ , jautrumas – 0,71, specifiškumas – 0,90, tikslumas – 0,81;
- Kuomet  $RI > 0,5$ , jautrumas – 0,82, specifiškumas – 0,93, tikslumas – 0,88;
- Kuomet  $RI > 0,75$ , jautrumas – 0,83, specifiškumas – 1,00, tikslumas – 0,95.

Ši statistika iliustruota 2 pav., kas aiškiai parodo, jog visi statistiniai parametrai gerėja, esant didesniau patikimumo indeksui.

GALAS metabolinio stabilumo modelio su LogP kintamuoju tikslumo analizės  
atsižvelgiant į RI vertes patikrinamajam rinkiniui

$RI > 0,3$

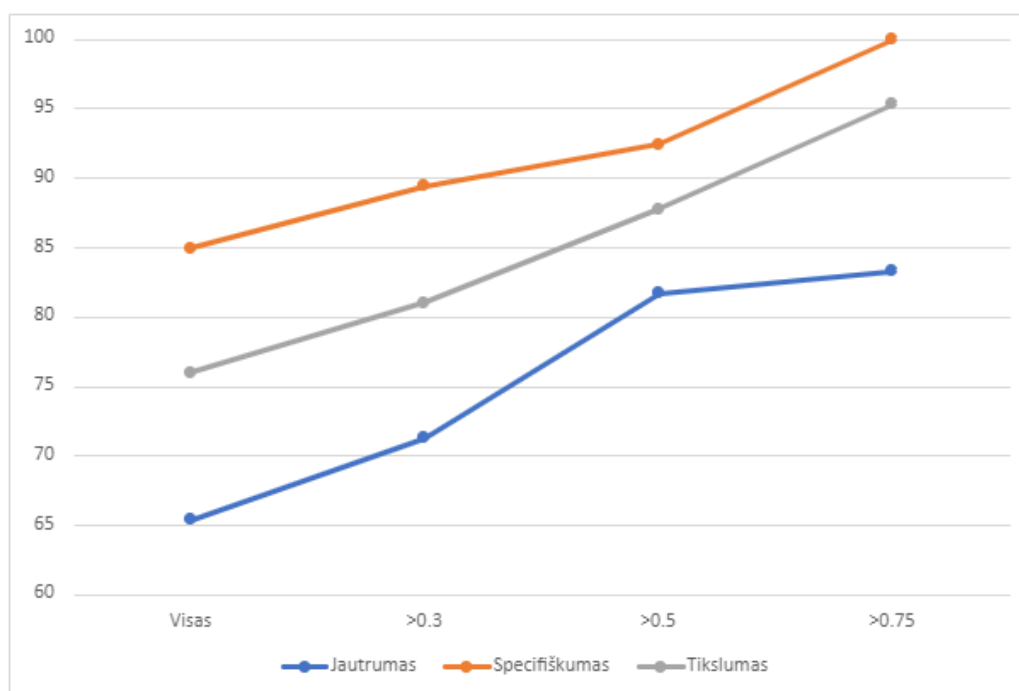
Eksp. \ Nusp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	82	33
Stabilus	14	119

$RI > 0,5$

Eksp. \ Nusp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	58	13
Stabilus	7	86

$RI > 0,75$

Eksp. \ Nusp.	Nestabilus	Stabilus
Nestabilus	10	2
Stabilus	0	31



2 pav. Grafikas vaizduojantis statistinių parametų pasikeitimą priklausomai nuo prognozių patikimumo indekso

## IŠVADOS

- Iš publikuotų duomenų sukurta 728 junginių duomenų bazė su junginių metabolinio stabilumo duomenimis žmogaus kepenų mikrosomose, kuri vėliau prijungta prie analogiškos 2009 metų duomenų bazės, sudarant bendrą 1930 junginių rinkinį tolesnei analizei. Šis rinkinys nėra didžiausias, lyginant su kitų autorių darbais, tačiau padengia plačią cheminę erdvę.
- Sukūrus bazinius modelius papildytus LogP ir metabolinių centrų skaičiumi kaip kintamaisiais statistinėje analizėje, pastebėta, jog antrasis parametras nėra statistiškai reikšmingas modeliui (koeficiento vertė –  $4,94 \cdot 10^{-2} \pm 8,97 \cdot 10^{-2}$ ), tuo tarpu LogP pasižymėjo tiek statistiniu reikšmingumu (koeficiento vertė –  $0,61 \pm 0,16$ ), tiek teigiama įtaka modelio tikslumui. Tokie rezultatai pagrindžia hipotezę, jog LogP aprašo molekulės gebėjimą įsiskverbti į membraną, kurioje yra kepenų mikrosomų metabolinių fermentų aktyvieji centrai.
- Geriausi rezultatai pasiekti naudojantis pilna GALAS modeliavimo metodika, kuomet tarp bazinio algoritmo kintamųjų yra pridėtas LogP. Tokio modelio statistika pilnam patikrinamajam rinkiniui: jautrumas yra 0,65, specifiškumas – 0,85, o tikslumas – 0,76.
- Prognozės patikimumo indekso (RI) parametras apskaičiuojamas GALAS modeliuose, kaip ir ankstesniuose šio metodo taikymo pavyzdžiuose (Dapkunas et al., 2009; Didziapetris et al., 2010; Sazonovas et al., 2010), pademonstravo savo veiksmingumą ir vertę. Be to, kad leido atmesti junginius akivaizdžiai nepatenkančius į nagrinėjamo modelio pritaikomumo sritį, jis leido atlikti atskirą analizę tik patiems patikimiausiems modelio nuspėjimams, kurių atveju pasiekama statistika gerokai lenkia visus literatūros apžvalgoje pateiktus ankstesnius rezultatus, pvz.,  $RI > 0,5$ : jautrumas – 0,82, specifiškumas – 0,93, tikslumas – 0,88.

## LITERATŪROS SARAŠAS

- Microsoft Excel (2022). Microsoft Corporation, Redmond WA, United States, <https://office.microsoft.com/excel>
- ACD/Percepta® 2021.2 (2021). ACD/Labs, Inc., Toronto ON, Canada, <http://www.acdlabs.com/>
- Algorithm Builder® 2.3 (2022). ACD/Labs, Inc., Toronto ON, Canada, <http://www.acdlabs.com/>
- Aliagas, I., Gobbi, A., Heffron, T., Lee, M. L., Ortwine, D. F., Zak, M., & Khojasteh, S. C. (2015). A probabilistic method to report predictions from a human liver microsomes stability QSAR model: A practical tool for drug discovery. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 29(4), 327–338. <https://doi.org/10.1007/S10822-015-9838-3/FIGURES/11>
- Boxenbaum, H. (1980). Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance: Extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 8(2), 165–176. <https://doi.org/10.1007/BF01065191>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brandon, E. F. A., Raap, C. D., Meijerman, I., Beijnen, J. H., & Schellens, J. H. M. (2003). An update on in vitro test methods in human hepatic drug biotransformation research: Pros and cons. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 189(3), 233–246. [https://doi.org/10.1016/S0041-008X\(03\)00128-5](https://doi.org/10.1016/S0041-008X(03)00128-5)
- Breiman, L. (2001). Random Forests. *Machine Learning 2001* 45:1, 45(1), 5–32. <https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>
- Crommentuyn, K. M. L., Schellens, J. H. M., Van Den Berg, J. D., & Beijnen, J. H. (1998). In-vitro metabolism of anti-cancer drugs, methods and applications: paclitaxel, docetaxel, tamoxifen and ifosfamide. *Cancer Treatment Reviews*, 24(5), 345–366. [https://doi.org/10.1016/S0305-7372\(98\)90057-3](https://doi.org/10.1016/S0305-7372(98)90057-3)
- Dapkunas, J., Sazonovas, A., & Japertas, P. (2009). Probabilistic prediction of the human CYP3A4 and CYP2D6 metabolism sites. *Chemistry & Biodiversity*, 6(11), 2101–2106. <https://doi.org/10.1002/CBDV.200900078>
- Davies, B., & Morris, T. (1993). Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharmaceutical Research*, 10(7).
- Didziapetris, R., Dapkunas, J., Sazonovas, A., & Japertas, P. (2010). Trainable structure-activity relationship model for virtual screening of CYP3A4 inhibition. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 24(11), 891–906. <https://doi.org/10.1007/S10822-010-9381-1>
- Duvenaud, D., Maclaurin, D., Aguilera-Iparraguirre, J., Gómez-Bombarelli, R., Hirzel, T., Aspuru-Guzik, A., & Adams, R. P. (2015). Convolutional Networks on Graphs for Learning Molecular Fingerprints. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 2224–2232.

- Huang, W., & Isoherranen, N. (2018). Development of a Dynamic Physiologically Based Mechanistic Kidney Model to Predict Renal Clearance. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 7(9), 593–602. <https://doi.org/10.1002/PSP4.12321>
- Ito, K., Iwatsubo, T., Kanamitsu, S., Nakajima, Y., & Sugiyama, Y. (1998). Quantitative prediction of in vivo drug clearance and drug interactions from in vitro data on metabolism, together with binding and transport. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 38, 461–499. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.461>
- Ivanciuc O. (2007). *Applications of support vector machines in chemistry*. Reviews in Computational Chemistry. [https://books.google.lt/books?hl=lt&lr=&id=TrlRyTB8kJ0C&oi=fnd&pg=PA291&ots=RGnFfeoLcm&sig=uyyguzi85uZL6kVIP4onaOsOvUg&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.lt/books?hl=lt&lr=&id=TrlRyTB8kJ0C&oi=fnd&pg=PA291&ots=RGnFfeoLcm&sig=uyyguzi85uZL6kVIP4onaOsOvUg&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Iwatsubo, T., Suzuki, H., & Sugiyama, Y. (1997). Prediction of Species Differences ( Rats , Dogs , Humans ) in the In Vivo Metabolic Clearance of YM796 by the Liver from In Vitro Data. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 283(2), 462–469.
- Izumi, T., Enomoto, S., Hosiyama, K., Sasahara, K., Shibukawa, A., Nakagawa, T., & Sugiyama, Y. (1996). Prediction of the human pharmacokinetics of troglitazone, a new and extensively metabolized antidiabetic agent, after oral administration, with an animal scale-up approach. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 277(3).
- Japertas, P. (2007). *Fragmentinių ir statistinių metodų naudojimas biologiškai aktyvių junginių struktūros-aktyvumo sąryšio tyrimuose*. Vilniaus Universitetas.
- Japertas, P., Didziapetris, R., & Petrauskas, A. (2002). Fragmental Methods in the Design of New Compounds. Applications of The Advanced Algorithm Builder. *Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 7(9), 593–602. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/1521-3838%28200205%2921%3A1%3C23%3A%3AAID-QSAR23%3E3.0.CO%3B2-E>
- Lee, P. H., Cucurull-Sanchez, L., Lu, J., & Du, Y. J. (2007). Development of in silico models for human liver microsomal stability. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 21(12), 665–673. <https://doi.org/10.1007/S10822-007-9124-0/FIGURES/10>
- Lin, J. H. (1995). Species similarities and differences in pharmacokinetics. *Drug Metabolism and Disposition*, 23(10), 1008–1021.
- Liu, R., Schyman, P., & Wallqvist, A. (2015). Critically Assessing the Predictive Power of QSAR Models for Human Liver Microsomal Stability. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55(8), 1566–1575. [https://doi.org/10.1021/ACS.JCIM.5B00255/SUPPL\\_FILE/CI5B00255\\_SI\\_001.XLSX](https://doi.org/10.1021/ACS.JCIM.5B00255/SUPPL_FILE/CI5B00255_SI_001.XLSX)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Obach, R. S., Baxter, J. G., Liston, T. E., Silber, B. M., Jones, B. C., Macintyre, F., Rance, D. J., & Wastall, P. (1997). The prediction of human pharmacokinetic parameters from preclinical and in vitro metabolism data. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 283(1), 46–58.
- Pelkonen, O., Kaltiala, E. H., Larmi, T. K. I., & Kärki, N. T. (1974). Cytochrome P-450-linked

- monooxygenase system and drug-induced spectral interactions in human liver microsomes. *Chemico-Biological Interactions*, 9(3), 205–216. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(74\)80005-0](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(74)80005-0)
- Peterson, G. L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83(2), 346–356. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4)
- Platts, J. A., Butina, D., Abraham, M. H., & Hersey, A. (1999). Estimation of Molecular Linear Free Energy Relation Descriptors Using a Group Contribution Approach. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 39(5), 835–845. <https://doi.org/10.1021/CI980339T>
- Rane, A., Wilkinson, G. R., & Shand, D. G. (1977). Prediction of hepatic extraction ratio from in vitro measurement of intrinsic clearance. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 200(2).
- Sakiyama, Y., Yuki, H., Moriya, T., Hattori, K., Suzuki, M., Shimada, K., & Honma, T. (2008). Predicting human liver microsomal stability with machine learning techniques. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 26(6), 907–915. <https://doi.org/10.1016/J.JMGM.2007.06.005>
- Sazonovas, A., Japertas, P., & Didziapetris, R. (2010). Estimation of reliability of predictions and model applicability domain evaluation in the analysis of acute toxicity (LD50). *SAR and QSAR in Environmental Research*, 21(1), 127–148. <https://doi.org/10.1080/10629360903568671>
- Sidelmann, U. G., Cornett, C., Tjørnelund, J., & Hansen, S. H. (2008). A comparative study of precision cut liver slices, hepatocytes, and liver microsomes from the Wistar rat using metronidazole as a model substance. [Http://Dx.Doi.Org/10.3109/00498259609046744](http://Dx.Doi.Org/10.3109/00498259609046744), 26(7), 709–722. <https://doi.org/10.3109/00498259609046744>
- Siramshetty, V., Williams, J., Nguyễn, Đ. T., Neyra, J., Southall, N., Mathé, E., Xu, X., & Shah, P. (2021). Validating ADME QSAR Models Using Marketed Drugs. *SLAS Discovery*, 26(10), 1326–1336. <https://doi.org/10.1177/24725552211017520>
- Wilkinson, G. R. (1987). Clearance approaches in pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 39(1).

## SANTRAUKA

### VILNIAUS UNIVERSITETAS CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS

EDITA SKINDERYTĖ

#### ***In silico* metodais paremtas vaistinių junginių metabolizmo puslaikio tyrimas**

Vaisto dozei, toksiškumui nustatyti svarbu žinoti molekulės metabolinį stabilumą. Norint sumažinti vaisto kūrimo kaštus svarbu šiuos duomenis žinoti kuo anksčiau. Todėl vis populiarėja molekulės savybių spėjimas naudojantis kompiuteriniais modeliais. Šiuo metu rinkoje esantys ar literatūroje aprašyti metabolinio stabilumo modeliai sukurti naudojantis komercinių įmonių duomenų bazėmis, kurios yra specifinės jų tiriamai cheminei erdvei.

Šiame darbe sukurtas modelis, nors nėra paremtas didele duomenų baze, bet padengia plačią cheminę erdvę. Tobulinant modelį pastebėta, jog galimų metabolinių centrų kiekis molekulėje nėra reikšmingas tos molekulės metaboliniam stabilumui, o LogP atvirkščiai – turi įtakos molekulės pusėjimo trukmės organizme prognozės tikslumui.

## SUMMARY

VILNIUS UNIVERSITY  
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES

EDITA SKINDERYTĖ

### ***In Silico* Based Analysis of Metabolic Half-life for Drug-like Compounds**

Metabolic stability of a drug-candidate molecule is an essential property in the assessment of the required dosage and potential toxicity to the humans. Ideally, this information should be acquired as early as possible to lower the cost of the drug development process. For these purposes the use of computer models for molecular property prediction is getting increasingly popular. Metabolic stability models commercially available today or published in the literature up to date are usually created using proprietary databases of commercial companies, hence are specific for the chemical space of their research interest.

The model described in this work is based on a relatively small yet diverse database, covering a wide chemical space. A notable finding during the model development was the fact that the predicted number of metabolic soft-spots for a compound isn't descriptive of its metabolic half-life in any way. On the other hand, LogP did have a statistically significant impact on the accuracy of the model predicting molecule's metabolic stability.



## **PRIEDAI**

1. 1 priedas. Duomenų bazei naudota literatūra

- Agarwal, S., Sasane, S., Deshmukh, P., Rami, B., Bandyopadhyay, D., Giri, P., Giri, S., Jain, M., & Desai, R. C. (2016). Identification of an Orally Efficacious GPR40/FFAR1 Receptor Agonist. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 7(12), 1134–1138. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00331>
- Alvarez, C. N., Park, J. E., Toti, K. S., Xia, Y., Krausz, K. W., Rai, G., Bang, J. K., Gonzalez, F. J., Jacobson, K. A., & Lee, K. S. (2020). Identification of a New Heterocyclic Scaffold for Inhibitors of the Polo-Box Domain of Polo-like Kinase 1. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(22), 14087–14117. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01669>
- Amaradhi, R., Banik, A., Mohammed, S., Patro, V., Rojas, A., Wang, W., Motati, D. R., Dingledine, R., & Ganesh, T. (2020). Potent, Selective, Water Soluble, Brain-Permeable EP2 Receptor Antagonist for Use in Central Nervous System Disease Models. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(3), 1032–1050. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01218>
- Ang, C. W., Tan, L., Sykes, M. L., Abugharbiyeh, N., Debnath, A., Reid, J. C., West, N. P., Avery, V. M., Cooper, M. A., & Blaskovich, M. A. T. (2020). Antitubercular and Antiparasitic 2-Nitroimidazopyrazinones with Improved Potency and Solubility. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(24), 15726–15751. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01372>
- Atkinson, B. N., Steadman, D., Mahy, W., Zhao, Y., Siphthorp, J., Bayle, E. D., Svensson, F., Papageorgiou, G., Jeganathan, F., Frew, S., Monaghan, A., Bictash, M., Jones, E. Y., & Fish, P. V. (2020). Scaffold-hopping identifies furano[2,3-d]pyrimidine amides as potent Notum inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(3), 126751. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126751>
- Bachovchin, K. A., Sharma, A., Bag, S., Klug, D. M., Schneider, K. M., Singh, B., Jalani, H. B., Buskes, M. J., Mehta, N., Tanghe, S., Momper, J. D., Sciotti, R. J., Rodriguez, A., Mensa-Wilmot, K., Pollastri, M. P., & Ferrins, L. (2019). Improvement of Aqueous Solubility of Lapatinib-Derived Analogues: Identification of a Quinolinimine Lead for Human African Trypanosomiasis Drug Development [Research-article]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(2), 665–687. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01365>
- Bae, I., Kim, D., Choi, J., Kim, J., Kim, M., Park, B., Kim, Y. H., Ahn, Y. G., Hyung Kim, H., & Kim, D. K. (2021). Design, synthesis and biological evaluation of new bivalent quinazoline analogues as IAP antagonists. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 34, 127676. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127676>
- Bandarage, U. K., Court, J., Gao, H., Nanthakumar, S., Come, J. H., Giroux, S., & Green, J. (2021). ROCK inhibitors 4: Structure-activity relationship studies of 7-azaindole-based rho kinase (ROCK) inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 33(November 2020), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127721>
- Barlaam, B., Casella, R., Cidado, J., Cook, C., De Savi, C., Dishington, A., Donald, C. S., Drew, L., Ferguson, A. D., Ferguson, D., Glossop, S., Grebe, T., Gu, C., Hande, S., Hawkins, J., Hird, A. W., Holmes, J., Horstick, J., Jiang, Y., ... Yao, T. (2020). Discovery of AZD4573, a Potent and Selective Inhibitor of CDK9 That Enables Short Duration of Target Engagement for the Treatment of Hematological Malignancies. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(24), 15564–15590.

<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01754>

- Bellenie, B. R., Cheung, K. M. J., Varela, A., Pierrat, O. A., Collie, G. W., Box, G. M., Bright, M. D., Gowan, S., Hayes, A., Rodrigues, M. J., Shetty, K. N., Carter, M., Davis, O. A., Henley, A. T., Innocenti, P., Johnson, L. D., Liu, M., De Klerk, S., Le Bihan, Y. V., ... Hoelder, S. (2020). Achieving in Vivo Target Depletion through the Discovery and Optimization of Benzimidazolone BCL6 Degraders. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(8), 4047–4068. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02076>
- Bogen, S. L., Pan, W., Gibeau, C. R., Lahue, B. R., Ma, Y., Nair, L. G., Seigel, E., Shipps, G. W., Tian, Y., Wang, Y., Lin, Y., Liu, M., Liu, S., Mirza, A., Wang, X., Lipari, P., Seidel-Dugan, C., Hicklin, D. J., Bishop, W. R., ... Doll, R. J. (2016). Discovery of Novel 3,3-Disubstituted Piperidines as Orally Bioavailable, Potent, and Efficacious HDM2-p53 Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 7(3), 324–329. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5b00472>
- Bonazzi, S., Goold, C. P., Gray, A., Thomsen, N. M., Nunez, J., Karki, R. G., Gorde, A., Biag, J. D., Malik, H. A., Sun, Y., Liang, G., Lubicka, D., Salas, S., Labbe-Giguere, N., Keaney, E. P., McTighe, S., Liu, S., Deng, L., Piizzi, G., ... Murphy, L. O. (2020). Discovery of a Brain-Penetrant ATP-Competitive Inhibitor of the Mechanistic Target of Rapamycin (mTOR) for CNS Disorders. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(3), 1068–1083. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01398>
- Caputo, S., Di Martino, S., Cilibrasi, V., Tardia, P., Mazzonna, M., Russo, D., Penna, I., Summa, M., Bertozzi, S. M., Realini, N., Margaroli, N., Migliore, M., Ottonello, G., Liu, M., Lansbury, P., Armirotti, A., Bertorelli, R., Ray, S. S., Skerlj, R., & Scarpelli, R. (2020). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of a Series of Oxazolone Carboxamides as a Novel Class of Acid Ceramidase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(24), 15821–15851. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01561>
- Cherney, R. J., Cornelius, L. A. M., Srivastava, A., Weigelt, C. A., Marcoux, D., Duan, J. J. W., Shi, Q., Batt, D. G., Liu, Q., Yip, S., Wu, D. R., Ruzanov, M., Sack, J., Khan, J., Wang, J., Yarde, M., Cvijic, M. E., Mathur, A., Li, S., ... Dhar, T. G. M. (2020). Discovery of BMS-986251: A Clinically Viable, Potent, and Selective ROR $\gamma$ t Inverse Agonist. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 11(6), 1221–1227. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.0c00063>
- Childress, E. S., Wieting, J. M., Felts, A. S., Breiner, M. M., Long, M. F., Luscombe, V. B., Rodriguez, A. L., Cho, H. P., Blobaum, A. L., Niswender, C. M., Emmitte, K. A., Conn, P. J., & Lindsley, C. W. (2019). Discovery of Novel Central Nervous System Penetrant Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 2 (mGlu 2 ) Negative Allosteric Modulators (NAMs) Based on Functionalized Pyrazolo[1,5- a]pyrimidine-5-carboxamide and Thieno[3,2- b]pyridine-5-carboxamide Cores. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(1), 378–384. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01266>
- Crawford, J. J., Lee, W., Johnson, A. R., Delatorre, K. J., Chen, J., Eigenbrot, C., Heidmann, J., Kakiuchi-Kiyota, S., Katewa, A., Kiefer, J. R., Liu, L., Lubach, J. W., Misner, D., Purkey, H., Reif, K., Vogt, J., Wong, H., Yu, C., & Young, W. B. (2020). Stereochemical Differences in Fluorocyclopropyl Amides Enable Tuning of Btk Inhibition and Off-Target Activity. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 11(8), 1588–1597. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.0c00249>
- Dong, J., Huang, J., Zhou, J., Tan, Y., Jin, J., Tan, X., Wang, B., Yu, T., Wu, C., Chen, S., &

- Wang, T. L. (2020). Discovery of 3-Quinazolin-4(3 H)-on-3-yl-2, N-dimethylpropanamides as Orally Active and Selective PI3K $\alpha$  Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 11(7), 1463–1469. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.0c00239>
- Elwaie, T. A., Abbas, S. E., Aly, E. I., George, R. F., Ali, H., Kraiouchkine, N., Abdelwahed, K. S., Fandy, T. E., El Sayed, K. A., Abd Elmageed, Z. Y., & Ali, H. I. (2020). HER2 Kinase-Targeted Breast Cancer Therapy: Design, Synthesis, and in Vitro and in Vivo Evaluation of Novel Lapatinib Congeners as Selective and Potent HER2 Inhibitors with Favorable Metabolic Stability. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(24), 15906–15945. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01647>
- Erra, M., Taltavull, J., Greco, A., Bernal, F. J., Caturla, J. F., Gracia, J., Domínguez, M., Sabate, M., Paris, S., Soria, S., Hernandez, B., Armengol, C., Cabedo, J., Bravo, M., Calama, E., Miralpeix, M., & Lehner, M. D. (2017). Discovery of a potent, selective, and orally available PI3K $\delta$  inhibitor for the treatment of inflammatory diseases. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 8(1), 118–123. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.6b00438>
- Fader, L., Brault, M., Desjardins, J., Dansereau, N., Lamorte, L., Tremblay, S., Bilodeau, F., Bordeleau, J., Duplessis, M., Gorys, V., Gillard, J., Gleason, J. L., James, C., Joly, M. A., Kuhn, C., Llinas-Brunet, M., Luo, L., Morency, L., Morin, S., ... Franti, M. (2016). Discovery of Potent, Orally Bioavailable Inhibitors of Human Cytomegalovirus. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 7(5), 525–530. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.6b00064>
- Feng, Y., Park, H., Bauer, L., Ryu, J. C., & Yoon, S. O. K. (2021). Thiophene-Pyrazolourea Derivatives as Potent, Orally Bioavailable, and Isoform-Selective JNK3 Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 12(1), 24–29. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.0c00533>
- Fromont, C., Atzori, A., Kaur, D., Hashmi, L., Greco, G., Cabanillas, A., Nguyen, H. Van, Jones, D. H., Garzón, M., Varela, A., Stevenson, B., Iacobini, G. P., Lenoir, M., Rajesh, S., Box, C., Kumar, J., Grant, P., Novitskaya, V., Morgan, J., ... Butterworth, S. (2020). Discovery of Highly Selective Inhibitors of Calmodulin-Dependent Kinases That Restore Insulin Sensitivity in the Diet-Induced Obesity in Vivo Mouse Model. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(13), 6784–6801. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01803>
- Garai, S., Kulkarni, P. M., Schaffer, P. C., Leo, L. M., Brandt, A. L., Zagzoog, A., Black, T., Lin, X., Hurst, D. P., Janero, D. R., Abood, M. E., Zimmowitch, A., Straiker, A., Pertwee, R. G., Kelly, M., Szczesniak, A. M., Denovan-Wright, E. M., Mackie, K., Hohmann, A. G., ... Thakur, G. A. (2020). Application of Fluorine- And Nitrogen-Walk Approaches: Defining the Structural and Functional Diversity of 2-Phenylindole Class of Cannabinoid 1 Receptor Positive Allosteric Modulators. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(2), 542–568. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01142>
- Garland, K., Pantua, H., Braun, M. G., Burdick, D. J., Castanedo, G. M., Chen, Y. C., Cheng, Y. X., Cheong, J., Daniels, B., Deshmukh, G., Fu, Y., Gibbons, P., Gloor, S. L., Hua, R., Labadie, S., Liu, X., Pastor, R., Stivala, C., Xu, M., ... Hanan, E. J. (2020). Optimization of globomycin analogs as novel gram-negative antibiotics. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(20), 127419. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127419>

- Giardina, S. F., Werner, D. S., Pingle, M., Feinberg, P. B., Foreman, K. W., Bergstrom, D. E., Arnold, L. D., & Barany, F. (2020). Novel, Self-Assembling Dimeric Inhibitors of Human  $\beta$  Tryptase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(6), 3004–3027. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01689>
- Han, W., Ding, Y., Chen, Z., Langowski, J. L., Bellamacina, C., Rico, A., Nishiguchi, G. A., Lan, J., Atallah, G., Lindvall, M., Lin, S., Zang, R., Feucht, P., Zavorotinskaya, T., Dai, Y., Garcia, P., & Burger, M. T. (2020). Synthesis and Structure-Activity Relationship of Tetra-Substituted Cyclohexyl Diol Inhibitors of Proviral Insertion of Moloney Virus (PIM) Kinases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14885–14904. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01279>
- He, Y., Hwang, D. J., Ponnusamy, S., Thiagarajan, T., Mohler, M. L., Narayanan, R., & Miller, D. D. (2020). Pyrazol-1-yl-propanamides as SARD and Pan-Antagonists for the Treatment of Enzalutamide-Resistant Prostate Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(21), 12642–12665. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00943>
- Homerin, G., Jawhara, S., Dezitter, X., Baudelet, D., Dufrénoy, P., Rigo, B., Millet, R., Furman, C., Ragé, G., Lipka, E., Farce, A., Renault, N., Sendid, B., Charlet, R., Leroy, J., Phanithavong, M., Richeval, C., Wiart, J. F., Allorge, D., ... Ghinet, A. (2020). Pyroglutamide-Based P2X7 Receptor Antagonists Targeting Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(5), 2074–2094. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00584>
- Huard, K., Smith, A. C., Cappon, G., Dow, R. L., Edmonds, D. J., El-Kattan, A., Esler, W. P., Fernando, D. P., Griffith, D. A., Kalgutkar, A. S., Ross, T. T., Bagley, S. W., Beebe, D., Bi, Y. A., Cabral, S., Crowley, C., Doran, S. D., Dowling, M. S., Liras, S., ... Yang, X. (2020). Optimizing the Benefit/Risk of Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors through Liver Targeting. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(19), 10879–10896. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00640>
- Johnson, B. M., Shu, Y. Z., Zhuo, X., & Meanwell, N. A. (2020). Metabolic and Pharmaceutical Aspects of Fluorinated Compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(12), 6315–6386. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01877>
- Kahl, D. J., Hutchings, K. M., Lisabeth, E. M., Haak, A. J., Leipprandt, J. R., Dexheimer, T., Khanna, D., Tsou, P. S., Campbell, P. L., Fox, D. A., Wen, B., Sun, D., Bailie, M., Neubig, R. R., & Larsen, S. D. (2019). 5-Aryl-1,3,4-oxadiazol-2-ylthioalkanoic Acids: A Highly Potent New Class of Inhibitors of Rho/Myocardin-Related Transcription Factor (MRTF)/Serum Response Factor (SRF)-Mediated Gene Transcription as Potential Antifibrotic Agents for Scleroderma. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(9), 4350–4369. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01772>
- Kamakolanu, U. G., Meyer, M. E., Yasuda, D., Polgar, W. E., Marti, M., Mercatelli, D., Pisanò, C. A., Brugnoli, A., Morari, M., & Zaveri, N. T. (2020). Discovery and Structure-Activity Relationships of Nociceptin Receptor Partial Agonists That Afford Symptom Ablation in Parkinson's Disease Models. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(5), 2688–2704. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02134>
- Karki, A., Juarez, R., Namballa, H. K., Alberts, I., & Harding, W. W. (2020). Identification of C10 nitrogen-containing aporphines with dopamine D1 versus D5 receptor selectivity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(8), 127053. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127053>

- Kotoku, M., Maeba, T., Fujioka, S., Yokota, M., Seki, N., Ito, K., Suwa, Y., Ikenogami, T., Hirata, K., Hase, Y., Katsuda, Y., Miyagawa, N., Arita, K., Asahina, K., Noguchi, M., Nomura, A., Doi, S., Adachi, T., Crowe, P., ... Shiozaki, M. (2019). Discovery of Second Generation ROR $\gamma$  Inhibitors Composed of an Azole Scaffold. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(5), 2837–2842. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01567>
- Kwiatkowski, J., Liu, B., Pang, S., Ahmad, N. H. B., Wang, G., Poulsen, A., Yang, H., Poh, Y. R., Tee, D. H. Y., Ong, E., Retna, P., Dinie, N., Kwek, P., Wee, J. L. K., Manoharan, V., Low, C. B., Seah, P. G., Pendharkar, V., Sangthongpitag, K., ... Hung, A. W. (2020). Stepwise Evolution of Fragment Hits against MAPK Interacting Kinases 1 and 2. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(2), 621–637. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01582>
- Larsen, J., Lambert, M., Pettersson, H., Vifian, T., Larsen, M., Ollerstam, A., Hegardt, P., Eskilsson, C., Laursen, S., Soehoel, A., Skak-Nielsen, T., Hansen, L. M., Knudsen, N., Eirefelt, S., Sørensen, M. D., Stilou, T. G., & Nielsen, S. F. (2020). Discovery and Early Clinical Development of Isobutyl 1-[8-Methoxy-5-(1-oxo-3 H-isobenzofuran-5-yl)-[1,2,4]triazolo[1,5- a]pyridin-2-yl]cyclopropanecarboxylate (LEO 39652), a Novel “dual-Soft” PDE4 Inhibitor for Topical Treatment of Atopic Dermatitis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14502–14521. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00797>
- Lei, Y., Zhang, B., Liu, D., Zhao, J., Dai, X., Gao, J., Mao, Q., Feng, Y., Zhao, J., Lin, F., Duan, Y., Zhang, Y., Bao, Z., Yang, Y., Mou, Y., & Wang, S. (2020). Switching a Xanthine Oxidase Inhibitor to a Dual-Target Antagonist of P2Y1 and P2Y12 as an Oral Antiplatelet Agent with a Wider Therapeutic Window in Rats than Ticagrelor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(24), 15752–15772. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01524>
- Lewis, A., Beresford, A., Chambers, M. S., Clark, G., Hartley, D. C., Hirst, K. L., Higashino, M., Kawahadara, S., Nakanishi, M., Saito, T., Imagawa, A., Habashita, H., Maidment, S., Macleod, A. M., Owens, A. P., Rae, A., Rouse, C., & Wishart, G. (2020). Discovery of ONO-8590580: A novel, potent and selective GABAA  $\alpha 5$  negative allosteric modulator for the treatment of cognitive disorders. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(22), 127536. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127536>
- Li, X., Payne, D. T., Ampolu, B., Bland, N., Brown, J. T., Dutton, M. J., Fitton, C. A., Gulliver, A., Hale, L., Hamza, D., Jones, G., Lane, R., Leach, A. G., Male, L., Merisor, E. G., Morton, M. J., Quy, A. S., Roberts, R., Scarll, R., ... Agathangelou, A. (2019). Derivatisation of parthenolide to address chemoresistant chronic lymphocytic leukaemia. *MedChemComm*, 10(8), 1379–1390. <https://doi.org/10.1039/c9md00297a>
- Liu, Y. A., Jin, Q., Zou, Y., Ding, Q., Yan, S., Wang, Z., Hao, X., Nguyen, B., Zhang, X., Pan, J., Mo, T., Jacobsen, K., Lam, T., Wu, T. Y. H., Petrassi, H. M., Bursulaya, B., Didonato, M., Gordon, W. P., Liu, B., ... Loren, J. (2020). Selective DYRK1A Inhibitor for the Treatment of Type 1 Diabetes: Discovery of 6-Azaindole Derivative GNF2133. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(6), 2958–2973. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01624>
- Nakai, T., Perl, N. R., Barden, T. C., Carvalho, A., Fretzen, A., Germano, P., Im, G. Y. J., Jin, H., Kim, C., Lee, T. W. H., Long, K., Moore, J., Rohde, J. M., Sarno, R., Segal, C., Solberg, E. O., Tobin, J., Zimmer, D. P., & Currie, M. G. (2016). Discovery of IWP-051, a Novel Orally Bioavailable sGC Stimulator with Once-Daily Dosing Potential in

- Humans. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 7(5), 465–469.  
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.5b00479>
- Naveen Sadhu, M., Sivanandhan, D., Gajendran, C., Tantry, S., Dewang, P., Murugan, K., Chickamunivenkatappa, S., Zainuddin, M., Nair, S., Vaithilingam, K., & Rajagopal, S. (2021). Novel dual LSD1/HDAC6 inhibitors for the treatment of multiple myeloma. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 34(December 2020), 127763.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127763>
- Nishimura, Y., Esaki, T., Isshiki, Y., Furuta, Y., Mizutani, A., Kotake, T., Emura, T., Watanabe, Y., Ohta, M., Nakagawa, T., Ogawa, K., Arai, S., Noda, H., Kitamura, H., Shimizu, M., Tamura, T., & Sato, H. (2020). Lead Optimization and Avoidance of Reactive Metabolite Leading to PCO371, a Potent, Selective, and Orally Available Human Parathyroid Hormone Receptor 1 (hPTHr1) Agonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(10), 5089–5099. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01743>
- Priebbenow, D. L., Leaver, D. J., Nguyen, N., Cleary, B., Lagiakos, H. R., Sanchez, J., Xue, L., Huang, F., Sun, Y., Mujumdar, P., Mudududdla, R., Varghese, S., Teguh, S., Charman, S. A., White, K. L., Shackelford, D. M., Katneni, K., Cuellar, M., Strasser, J. M., ... Baell, J. B. (2020). Discovery of acylsulfonohydrazide-derived inhibitors of the lysine acetyltransferase, kat6a, as potent senescence-inducing anti-cancer agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(9), 4655–4684.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02071>
- Purkey, H. E., Robarge, K., Chen, J., Chen, Z., Corson, L. B., Ding, C. Z., Dipasquale, A. G., Dragovich, P. S., Eigenbrot, C., Evangelista, M., Fauber, B. P., Gao, Z., Ge, H., Hitz, A., Ho, Q., Labadie, S. S., Lai, K. W., Liu, W., Liu, Y., ... Zhou, A. (2016). Cell Active Hydroxylactam Inhibitors of Human Lactate Dehydrogenase with Oral Bioavailability in Mice. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 7(10), 896–901.  
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.6b00190>
- Quancard, J., Simic, O., Pissot Soldermann, C., Aichholz, R., Blatter, M., Renatus, M., Erbel, P., Melkko, S., Endres, R., Sorge, M., Kieffer, L., Wagner, T., Beltz, K., McSheehy, P., Wartmann, M., Régnier, C. H., Calzascia, T., Radimerski, T., Bigaud, M., ... Schlapbach, A. (2020). Optimization of the in Vivo Potency of Pyrazolopyrimidine MALT1 Protease Inhibitors by Reducing Metabolism and Increasing Potency in Whole Blood. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14594–14608.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01246>
- Richard-Bildstein, S., Aissaoui, H., Pothier, J., Schäfer, G., Gnerre, C., Lindenberg, E., Lehembre, F., Pouzol, L., & Guerry, P. (2020). Discovery of the Potent, Selective, Orally Available CXCR7 Antagonist ACT-1004-1239. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(24), 15864–15882. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01588>
- Scott, J. S., Moss, T. A., Balazs, A., Barlaam, B., Breed, J., Carbajo, R. J., Chiarparin, E., Davey, P. R. J., Delpuech, O., Fawell, S., Fisher, D. I., Gagrica, S., Gangl, E. T., Grebe, T., Greenwood, R. D., Hande, S., Hatoum-Mokdad, H., Herlihy, K., Hughes, S., ... Yang, W. (2020). Discovery of AZD9833, a Potent and Orally Bioavailable Selective Estrogen Receptor Degradator and Antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14530–14559. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01163>
- Seal, J. T., Atkinson, S. J., Aylott, H., Bamborough, P., Chung, C. W., Copley, R. C. B., Gordon, L., Grandi, P., Gray, J. R. J., Harrison, L. A., Hayhow, T. G., Lindon, M.,

- Messenger, C., Michon, A. M., Mitchell, D., Preston, A., Prinjha, R. K., Rioja, I., Taylor, S., ... Demont, E. H. (2020). The Optimization of a Novel, Weak Bromo and Extra Terminal Domain (BET) Bromodomain Fragment Ligand to a Potent and Selective Second Bromodomain (BD2) Inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(17), 9093–9126. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00796>
- Seleem, M. A., Rodrigues De Almeida, N., Chhonker, Y. S., Murry, D. J., Guterres, Z. D. R., Blocker, A. M., Kuwabara, S., Fisher, D. J., Leal, E. S., Martinefski, M. R., Bollini, M., Monge, M. E., Ouellette, S. P., & Conda-Sheridan, M. (2020). Synthesis and Antichlamydial Activity of Molecules Based on Dysregulators of Cylindrical Proteases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(8), 4370–4387. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00371>
- Serafini, M., Cordero-Sanchez, C., Di Paola, R., Bhela, I. P., Aprile, S., Purghè, B., Fusco, R., Cuzzocrea, S., Genazzani, A. A., Riva, B., & Pirali, T. (2020). Store-Operated Calcium Entry as a Therapeutic Target in Acute Pancreatitis: Discovery and Development of Drug-Like SOCE Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14761–14779. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01305>
- Shi, Q., Xiao, Z., Yang, M. G., Marcoux, D., Cherney, R. J., Yip, S., Li, P., Wu, D. R., Weigelt, C. A., Sack, J., Khan, J., Ruzanov, M., Wang, J., Yarde, M., Ellen Cvijic, M., Li, S., Shuster, D. J., Xie, J., Sherry, T., ... Dhar, T. G. M. (2020). Tricyclic sulfones as potent, selective and efficacious ROR $\gamma$ t inverse agonists – Exploring C6 and C8 SAR using late-stage functionalization. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(23), 127521. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127521>
- Shi, X., Quan, Y., Wang, Y., Wang, Y., & Li, Y. (2021). Design, synthesis, and biological evaluation of 2,6,7-substituted pyrrolo[2,3-d]pyrimidines as cyclin dependent kinase inhibitor in pancreatic cancer cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 33(December 2020), 127725. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127725>
- Shukla, M. R., Patra, S., Verma, M., Sadasivam, G., Jana, N., Mahangare, S. J., Vidhate, P., Lagad, D., Tarage, A., Cheemala, M., Kulkarni, C., Bhagwat, S., Chaudhari, V. D., Sayyed, M., Pachpute, V., Phadtare, R., Gole, G., Phukan, S., Sunkara, B., ... Palle, V. P. (2020). Discovery of a Potent and Selective PI3K $\delta$ Inhibitor (S)-2,4-Diamino-6-((1-(7-fluoro-1-(4-fluorophenyl)-4-oxo-3-phenyl-4 H-quinolizin-2-yl)ethyl)amino)pyrimidine-5-carbonitrile with Improved Pharmacokinetic Profile and Superior Efficacy in Hematological Cancer Models. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14700–14723. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01264>
- Sinha, N., Karche, N. P., Verma, M. K., Walunj, S. S., Nigade, P. B., Jana, G., Kurhade, S. P., Hajare, A. K., Tilekar, A. R., Jadhav, G. R., Thube, B. R., Shaikh, J. S., Balgude, S., Singh, L. B., Mahimane, V., Adurkar, S. K., Hatnapure, G., Raje, F., Bhosale, Y., ... Palle, V. P. (2020). Discovery of Novel, Potent, Brain-Permeable, and Orally Efficacious Positive Allosteric Modulator of  $\alpha$ 7 Nicotinic Acetylcholine Receptor [4-(5-(4-Chlorophenyl)-4-methyl-2-propionylthiophen-3-yl)benzenesulfonamide]: Structure-Activity Relationship and Preclinical Characterization. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(3), 944–960. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01569>
- Smithen, D. A., Leung, L. M. H., Challinor, M., Lawrence, R., Tang, H., Niculescu-Duvaz, D., Pearce, S. P., McLeary, R., Lopes, F., Aljarah, M., Brown, M., Johnson, L., Thomson, G., Marais, R., & Springer, C. (2020). 2-Aminomethylene-5-sulfonylthiazole Inhibitors of Lysyl Oxidase (LOX) and LOXL2 Show Significant Efficacy in Delaying



- Tumor Growth. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(5), 2308–2324.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01112>
- Sun, L. Q., Mull, E., D'Andrea, S., Zheng, B., Hiebert, S., Gillis, E., Bowsher, M., Kandhasamy, S., Baratam, V. R., Puttaswamy, S., Pulicharla, N., Vishwakrishnan, S., Reddy, S., Trivedi, R., Sinha, S., Sivaprasad, S., Rao, A., Desai, S., Ghosh, K., ... Scola, P. M. (2020). Discovery of BMS-986144, a Third-Generation, Pan-Genotype NS3/4A Protease Inhibitor for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14740–14760. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01296>
- Sun, S., Jia, Q., Zenova, A. Y., Wilson, M. S., Chowdhury, S., Focken, T., Li, J., Decker, S., Grimwood, M. E., Andrez, J. C., Hemeon, I., Sheng, T., Chen, C. A., White, A., Hackos, D. H., Deng, L., Bankar, G., Khakh, K., Chang, E., ... Dehnhardt, C. M. (2019). Identification of Selective Acyl Sulfonamide-Cycloalkylether Inhibitors of the Voltage-Gated Sodium Channel (Na<sup>v</sup>) 1.7 with Potent Analgesic Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(2), 908–927. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01621>
- Thompson, A. M., O'Connor, P. D., Marshall, A. J., Yardley, V., Maes, L., Gupta, S., Launay, D., Braillard, S., Chatelain, E., Wan, B., Franzblau, S. G., Ma, Z., Cooper, C. B., & Denny, W. A. (2021). Heteroaryl ether analogues of an antileishmanial 7-substituted 2-nitroimidazooxazine lead afford attenuated hERG risk: In vitro and in vivo appraisal. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112914. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112914>
- Tora, G., Kim, S. H., Pi, Z., Johnson, J. A., Jiang, J., Phillips, M., Lloyd, J., Abell, L. M., Lu, H., Locke, G., Adam, L. P., Taylor, D. S., Yin, X., Behnia, K., Zhao, L., Yang, R., Basso, M., Caporuscio, C., Chen, A. Y., ... Finlay, H. J. (2020). Identification of Reversible Small Molecule Inhibitors of Endothelial Lipase (EL) That Demonstrate HDL-C Increase in Vivo. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(4), 1660–1670. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01831>
- Tresadern, G., Velter, I., Trabanco, A. A., Van Den Keybus, F., MacDonald, G. J., Somers, M. V. F., Vanhoof, G., Leonard, P. M., Lamers, M. B. A. C., Van Roosbroeck, Y. E. M., & Buijnsters, P. J. J. A. (2020). Triazolo[1,5-a]pyrimidine Phosphodiesterase 2A Inhibitors: Structure and Free-Energy Perturbation-Guided Exploration. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(21), 12887–12910. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01272>
- Ulven, E. R., Quon, T., Sergeev, E., Barki, N., Brvar, M., Hudson, B. D., Dutta, P., Hansen, A. H., Bielefeldt, L. O., Tobin, A. B., McKenzie, C. J., Milligan, G., & Ulven, T. (2020). Structure-Activity Relationship Studies of Tetrahydroquinolone Free Fatty Acid Receptor 3 Modulators. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(7), 3577–3595. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02036>
- Vekariya, R. H., Lei, W., Ray, A., Saini, S. K., Zhang, S., Molnar, G., Barlow, D., Karlage, K. L., Bilsky, E. J., Houseknecht, K. L., Largent-Milnes, T. M., Streicher, J. M., & Ananthan, S. (2020). Synthesis and Structure-Activity Relationships of 5'-Aryl-14-alkoxypyridomorphinans: Identification of a  $\mu$  Opioid Receptor Agonist/ $\delta$ Opioid Receptor Antagonist Ligand with Systemic Antinociceptive Activity and Diminished Opioid Side Effects. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(14), 7663–7694. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00503>
- Wang, H., Ren, B., Liu, Y., Jiang, B., Guo, Y., Wei, M., Luo, L., Kuang, X., Qiu, M., Lv, L.,

- Xu, H., Qi, R., Yan, H., Xu, D., Wang, Z., Huo, C. X., Zhu, Y., Zhao, Y., Wu, Y., ... Zhou, C. (2020). Discovery of Pamiparib (BGB-290), a Potent and Selective Poly (ADP-ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor in Clinical Development. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(24), 15541–15563. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01346>
- Wang, L., Jiang, J., Zhang, L., Zhang, Q., Zhou, J., Li, L., Xu, X., & You, Q. (2020). Discovery and Optimization of Small Molecules Targeting the Protein-Protein Interaction of Heat Shock Protein 90 (Hsp90) and Cell Division Cycle 37 as Orally Active Inhibitors for the Treatment of Colorectal Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(3), 1281–1297. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01659>
- Wang, X., Cal, M., Kaiser, M., Buckner, F. S., Lepesheva, G. I., Sanford, A. G., Wallick, A. I., Davis, P. H., & Vennerstrom, J. L. (2020). A new chemotype with promise against *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(1), 126778. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126778>
- Wellaway, C. R., Amans, D., Bamborough, P., Barnett, H., Bit, R. A., Brown, J. A., Carlson, N. R., Chung, C. W., Cooper, A. W. J., Craggs, P. D., Davis, R. P., Dean, T. W., Evans, J. P., Gordon, L., Harada, I. L., Hirst, D. J., Humphreys, P. G., Jones, K. L., Lewis, A. J., ... Prinjha, R. K. (2020). Discovery of a Bromodomain and Extraterminal Inhibitor with a Low Predicted Human Dose through Synergistic Use of Encoded Library Technology and Fragment Screening. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(2), 714–746. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01670>
- Wu, J., Wang, X., Chiu, F. C. K., Häberli, C., Shackelford, D. M., Ryan, E., Kamaraj, S., Bulbule, V. J., Wallick, A. I., Dong, Y., White, K. L., Davis, P. H., Charman, S. A., Keiser, J., & Vennerstrom, J. L. (2020). Structure-Activity Relationship of Antischistosomal Ozonide Carboxylic Acids. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(7), 3723–3736. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00069>
- Xiao, H. Y., Li, N., Duan, J. J. W., Jiang, B., Lu, Z., Ngu, K., Tino, J., Kopcho, L. M., Lu, H., Chen, J., Tebben, A. J., Sheriff, S., Chang, C. Y., Yanchunas, J., Calambur, D., Gao, M., Shuster, D. J., Susulic, V., Xie, J. H., ... Dhar, T. G. M. (2020). Biologic-like in Vivo Efficacy with Small Molecule Inhibitors of TNF $\alpha$  Identified Using Scaffold Hopping and Structure-Based Drug Design Approaches. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 15050–15071. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01732>
- Xu, J. W., Qi, Y. L., Wu, J. W., Yuan, R. X., Chen, X. W., & Li, J. Q. (2021). Synthesis and biological evaluation of novel antipsychotic trans-4-(2-(1,2,4,5-tetrahydro-3H-benzo[d]azepin-3-yl)ethyl)cyclohexan-1-amine derivatives targeting dopamine/serotonin receptor subtypes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 31, 127681. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127681>
- Zhai, W., Lu, Y., Zhu, Y., Zhou, M., Ye, C., Shi, Z. Z., Qian, W., Hu, T., & Chen, L. (2021). Discovery and optimization of a potent and selective indazolamine series of IRAK4 inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 31, 127686. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127686>