

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Інститут високих технологій

Завідувач кафедри супрамолекулярної хімії
д.х.н., професор Ігор Володимирович Комаров
Протокол № _____ засідання кафедри
Від « ____ » _____ 2021 року

Бі- та три-функціональні білдинг блоки для створення ДНК кодованих бібліотек: порівняльний аналіз скафолдного різноманіття комерційно доступних молекул (World screening collection), віртуальної REAL-бази, та сполук отриманих безпосередньою гетероциклізацією на ДНК

Випускна кваліфікаційна робота магістра
студента напряму хемоінформатика
спеціальності 102 «Хімія»

Луценко Антон Олександрович

Науковий керівник, професор
кафедри супрамолекулярної хімії
Волочнюк Дмитро Михайлович

Оцінка захисту роботи

Київ - 2021 р.

Зміст

Вступ.....	3
Огляд літератури	5
Практична частина	26
Висновки	36
Перелік посилань.....	37

ВСТУП

Вивчення молекул, що зв'язуються з високомолекулярними мішенями, є серйозним завданням для хімії, біології та фармацевтичних наук. Після секвенування геному людини[1,2], досягнення досліджень протеомів[3,4] та транскриптоміки[5] було виявлено безліч біологічних мішеней, пов'язаних з відповідними процесами у здорових та хворих клітинах. З огляду на старіння населення та глибше розуміння механізмів захворювання на молекулярному рівні, вчені-біомедики стикаються з попитом на велику кількість покращених ліків. Крім того, для з'ясування біологічної функції білків у багатьох випадках потрібен доступ до певних лігандів (підхід, який часто називають «хімічна генетика» [4]). Навіть незважаючи на те, що специфічного зв'язування з біологічною мішенню само по собі недостатньо, щоб перетворити зв'язуючу молекулу в лікарський засіб, оскільки загальновизнано, що інші молекулярні властивості (такі як фармакокінетична поведінка та стабільність) сприяють дії препарату. Тим не менше, виділення специфічно зв'язуючих речовин з відповідними біологічними мішенями, як правило, є початковою точкою в процесі, що веде до нового препарату.[6] В даний час відсутні методи загального, швидкого, недорогого виділення дрібних органічних зв'язуючих сполук. В даний час сотні тисяч молекул, як правило, повинні проходити скринінг, щоб знайти підходящого кандидата.[6]. Високоєфективний скринінг (HTS) у певних випадках дозволяє проводити скринінг близько 100000 сполук на день. Однак HTS є громіздким як з точки зору витрат (на робототехнічне обладнання та споживання матеріалів), так і технічного розвитку (створення складних біоаналізів, зберігання та обробка хімічних архівів). Аналогічним чином, підготовка, зберігання та скринінг дуже великих синтетичних бібліотек органічних молекул можуть бути дуже вимогливими не тільки з синтетичної точки зору, але й з точки зору логістики. Хоча комбінаторні синтетичні підходи, такі як "split-&-pool"[7,8,9] та твердофазний синтез[10,11,12] сприяли побудові хімічних пулів сполук, неминуча складність пов'язана з конкретними зв'язуючими молекулами зростає разом із розмір хімічної бібліотеки, яку слід перевіряти, тоді як відносна концентрація кожного окремого члена в бібліотеці

зменшується. Отже, хімічні бібліотеки як пул сполук часто мають обмежений розмір через межі чутливості біохімічних аналізів та хімічних аналітичних методів для структурної характеристики. Протягом останнього десятиліття інтерес до розробки потужних та зручних технологій для побудови хімічних бібліотек і скринінг різко зріс. У цьому світлі було б корисно розробити стратегії ідентифікації малих органічних молекул, здатних зв'язуватися з білками-мішенями з високою спорідненістю та специфічністю, засновані на асоціації окремих хімічних сполук з унікальними фрагментами ДНК, що служать ідентифікаційними штрих-кодами. ДНК-кодовані бібліотеки органічних, синтезованих молекул - це нова технологія таргет-основного скринінгу сполук. В дизайні бібліотек перших поколінь, робився акцент на постійно зростаючій кількості складових, які були синтезовані з великих наборів вихідних матеріалів за допомогою всього декількох усталених відомих методів синтезу в той час нових ДНК-мічених сполук. За останні декілька років буквально стався вибух опублікованих наукових досліджень, які розширили набір інструментів реакцій для створення ДНК-кодованих бібліотек, особливо в галузі ДНК-сумісних реакцій гетероциклізації, які об'єктивно в рази дозволяють розширити хімічний простір даних сполук. Нові хімічні розробки мають потенціал для революції в технології, оскільки вони забезпечують доступ до безпрецедентного молекулярного різноманіття.

Ключові слова: Бі- та три-функціональні білдинг блоки, ДНК кодовані бібліотеки, World screening collection, віртуальна REAL-база.

Огляд літератури

Поняття кодування ДНК було вперше описано в теоретичній роботі Бреннера і Лернера в 1992 р., який передбачав комбінаторний синтез на основі так званого "розділення та об'єднання" (з англ. 'split and pool'), в якому мономерні хімічні сполуки та кодуєчі олігонуклеотидні мітки будуть прикріплені до сполук почергово (рис.1).[13] Незабаром після цього перша практична реалізація цього підходу була представлена С. Бреннером та К. Джанда[14], а також групою М. А. Галопа.[15] Бреннер і Джанда запропонували генерувати індивідуальні закодовані члени бібліотеки шляхом чергування паралельного комбінаторного синтезу гетерополімерної хімічної сполуки та відповідної олігонуклеотидної послідовності на тій самій гранулі на основі "розділення та об'єднання", використовуючи тверду підкладку як структурний лінкер між хімічною сполукою, що зароджується, та відповідною олігонуклеотидною міткою. Тому вони розробили як тест-систему синтез функціонально активного лейцин-енкефалінового пентапептиду з метою перевірки можливості чергування синтезу пептидів та олігонуклеотидів на гранулах. Всього вони здійснили п'ять чергувань синтезу пептидів та олігонуклеотидів. [14]

Пористе скло використовували як тверду матрицю для полегшення ефективного синтезу олігонуклеотидів. Тверду підложку обробили сукциніламіногексанол-саркозиновим додатком, що дозволяло легко відокремлювати кодований олігонуклеотидом пептид після синтезу (рис. 2a). Для того, щоб задовольнити вимоги до ортогональності, захищені O-DMT серинові та N-Fmoc захищені лізинові скафолди використовувались для прикріплення нових олігонуклеотидних та пептидних послідовностей, відповідно (рис. 2a). Пептиди, мічені олігонуклеотидом, були звільнені від гранул та секвенувані. Показано, що пентапептид лейцин-енкефалін (YGGFL), сконструйований таким чином (рис. 2b), зв'язується з анти-лейцин-енкефаліновим антитілом 3-E7 так само ефективно, як еталонний пептид[16] ($K_d = 7,1 \text{ нМ}$). Примітно, що коди виділених мічених олігонуклеотидом пептидів можуть бути посилені за допомогою стандартної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

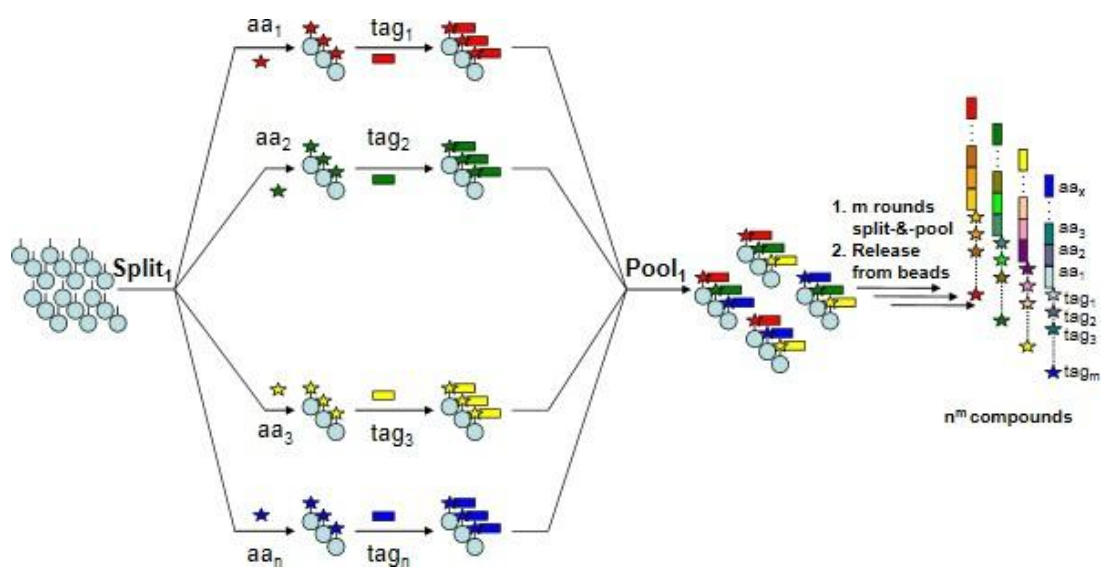


Рисунок 1: Схематичне зображення ДНК-кодуєчих пептидів на гранулах. Зв'язування амінокислот за допомогою реакції пептидного утворення до зростаючого пептидного ланцюга, чергується із поетапним синтезом ДНК-штрих-коду, до ДНК-кодованих гранул, що демонструють пептиди, які можна досліджувати для зв'язування з вибраним цільовим білком, що представляє інтерес. На рисунку "aa" позначає різні амінокислоти, тоді як "тег" відноситься до послідовності ДНК, що кодує відповідну амінокислоту, додану в процедурі розщеплення та пулу.

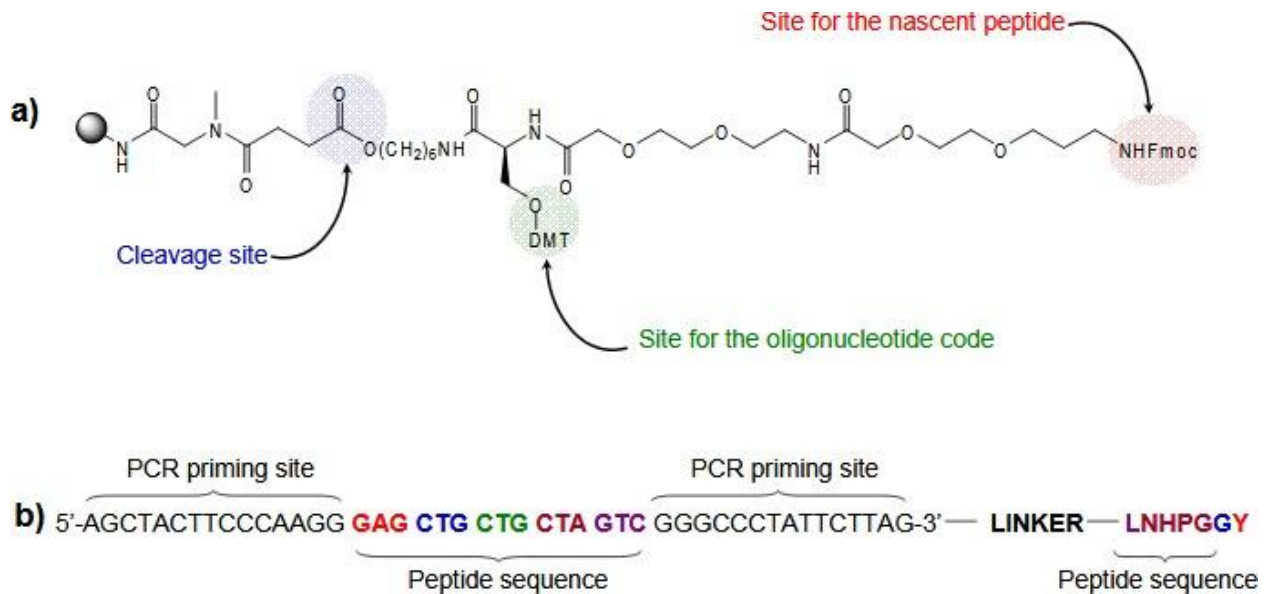


Рисунок 2: Тверда підложка дозволяє кодувати олігонуклеотидні послідовності зароджуваного пептиду. а) Схематичне зображення носія з розщеплюваним додатком сукциніламіногексанол-саркозину. Розщеплюваний лінкер забезпечує легке від'єднання кодованого олігонуклеотидом пептиду після синтезу, тоді як захищений O-DMT серин та захищений N-Fmoc лізин дозволяють двонаправлений синтез олігонуклеотидних та пептидних послідовностей. Останні підходи до кодованих ДНК хімічних бібліотек воліють опускати намистини і пов'язувати сполуки безпосередньо з ДНК. б) Олігонуклеотидний кон'югат лейцин-енкефалінового пентапептиду (YGGFL) після вивільнення з кульки. Коди вивільнених мічених олігонуклеотидом пептидів можуть бути посилені за допомогою стандартної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Було показано, що пентапептид лейцин-енкефалін зв'язується з анти-лейцин-енкефаліновим антитілом 3-E7 так само ефективно, як еталонний пептид ($K_d = 7,1$ нМ)

У тому ж році Галлоп та його співробітники створили 823 543-членовану ДНК-кодовану гептапептидну бібліотеку, виконуючи сім змінних циклів синтезу розділення та пулів на сферичних гранулах із використанням семи різних D- та L-амінокислотних будівельних блоків.[15] Кон'югований із сумішшю двох різних лінкерів, один з яких із захищеною DMT гідроксильною групою, що служить для поетапного додавання нуклеотидів, тоді як інший у 20-кратному

надлишку із захищеним Fmoc аміном був використаний для нарощування поліпептиду. Після видалення групи Fmoc відбувалося рівномірне розділення на сім пулів і реакція з одним із семи амінокислотних будівельних блоків. На гранулах окремих пулів синтезували мітку, що кодує динуклеотид, і цей процес повторювали до отримання гептапептиду. До всіх гранул приєднували додаткову олігонуклеотидну послідовність, щоб забезпечити декодування на основі ПЛР. Остаточне розщеплення олігонуклеотидів у трифтороцтовій кислоті призведе до знежирення дезоксигуанозину та дезоксиаденозину, які, таким чином, були навмисно виключені з олігонуклеотиду. Остаточну бібліотеку піддавали скринінгу на гранулах у взаємодії з флуоресцентними моноклональними антитілами, які специфічно пов'язують гептапептид RQFKVVT. Відповідна олігонуклеотидна послідовність може бути виявлена після сортування на основі FACS та ПЛР. Оскільки незахищена ДНК обмежена вузьким вікном звичайних реакційних умов, до кінця 1990-х років передбачався ряд альтернативних хімічних та фізичних стратегій кодування (тобто мічення сполук на основі MS, кодування пептидів, галоароматичне мічення, кодування вторинними амінами, напівпровідникових приладів.) [17], головним чином, щоб уникнути незручного твердофазного синтезу ДНК та створити легко відтворювані комбінаторні бібліотеки з високою пропускнуою здатністю.

Існує чимало доказів того, що для виділення зв'язуючих поліпептидів (наприклад, антитіл) потрібні бібліотеки, що містять принаймні більше, ніж 10^7 - 10^8 членів [18]. За повною аналогією, виглядає розумним припустити, що великі бібліотеки сприятимуть виділенню малих органічних зв'язуючих речовин до цікавого білка. Однак, використовуючи звичайні методи, навіть найбільші фармацевтичні компанії не можуть відстежувати понад кілька сотень тисяч сполук за допомогою вискоелективного скринінгу. Селективна ампліфікація ДНК значно полегшує скринінг бібліотек, і вона стає необхідною для кодування бібліотек органічних сполук такого безпрецедентного розміру. Отже, на початку 2000-х років кодована ДНК-кодована хімія пережила відродження.

Близько 2002 року кілька груп зрозуміли, що приєднання хімічних сполук безпосередньо до олігонуклеотидів або фрагментів ДНК може зручно привести до дуже великих кодованих ДНК хімічних бібліотек. Було проведено створення кодованих ДНК хімічних бібліотек (DEL), розслідуючи абсолютно нові шляхи. Отримані бібліотеки можна згрупувати в бібліотеки, кодовані ДНК, представляючи одиночні або множинні олігонуклеотиди, що демонструють одну ковалентно пов'язану передбачувану зв'язуючу молекулу (рис. 3).

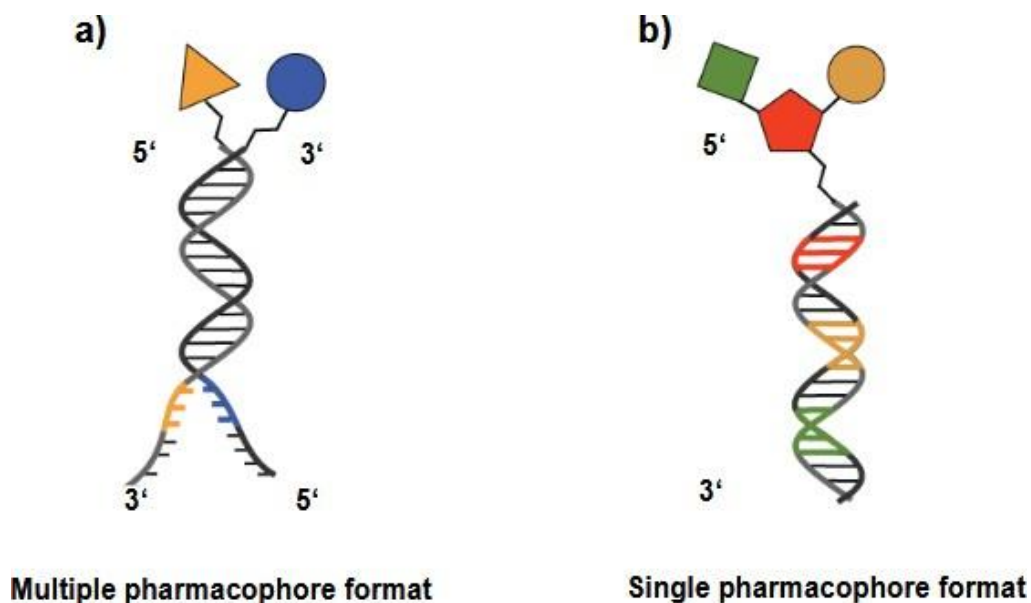


Рисунок 3: Схематичне зображення кодованої ДНК бібліотеки, що відображає хімічні сполуки, безпосередньо приєднані до олігонуклеотидів. а) ДНК-кодована бібліотека, що представляє кілька спарених олігонуклеотидів, кожен з яких демонструє ковалентно пов'язану зв'язуючу молекулу. б) ДНК-кодована бібліотека, що представляє один олігонуклеотид, ковалентно пов'язаний з передбачуваною молекулою, що зв'язується.

DELТ - це один із нових інструментів, що дозволяє переглядати великі хімічні простори молекул, структурно подібних до лікарських засобів та біологічно активних сполук. Стратегія побудови DEL спирається на пошук як ортогональних, так і сумісних з ДНК реакцій на етапі планування. Для цієї мети необхідні комерційні дво- та трифункціональні основні будівельні блоки. Аналіз доступних баз даних білдинг блоків показує, що двофункціональних молекул значно менше, ніж монофункціональних, а трифункціональних білдинг

блоків ще менше. Складені бібліотеки, що отримані на основі даних з eMolecules, Chemspace та Enamine database, взяті як тематичне дослідження, демонструють подібну схему розподілу хемотипів у наборах даних речовин як на рис. 3.

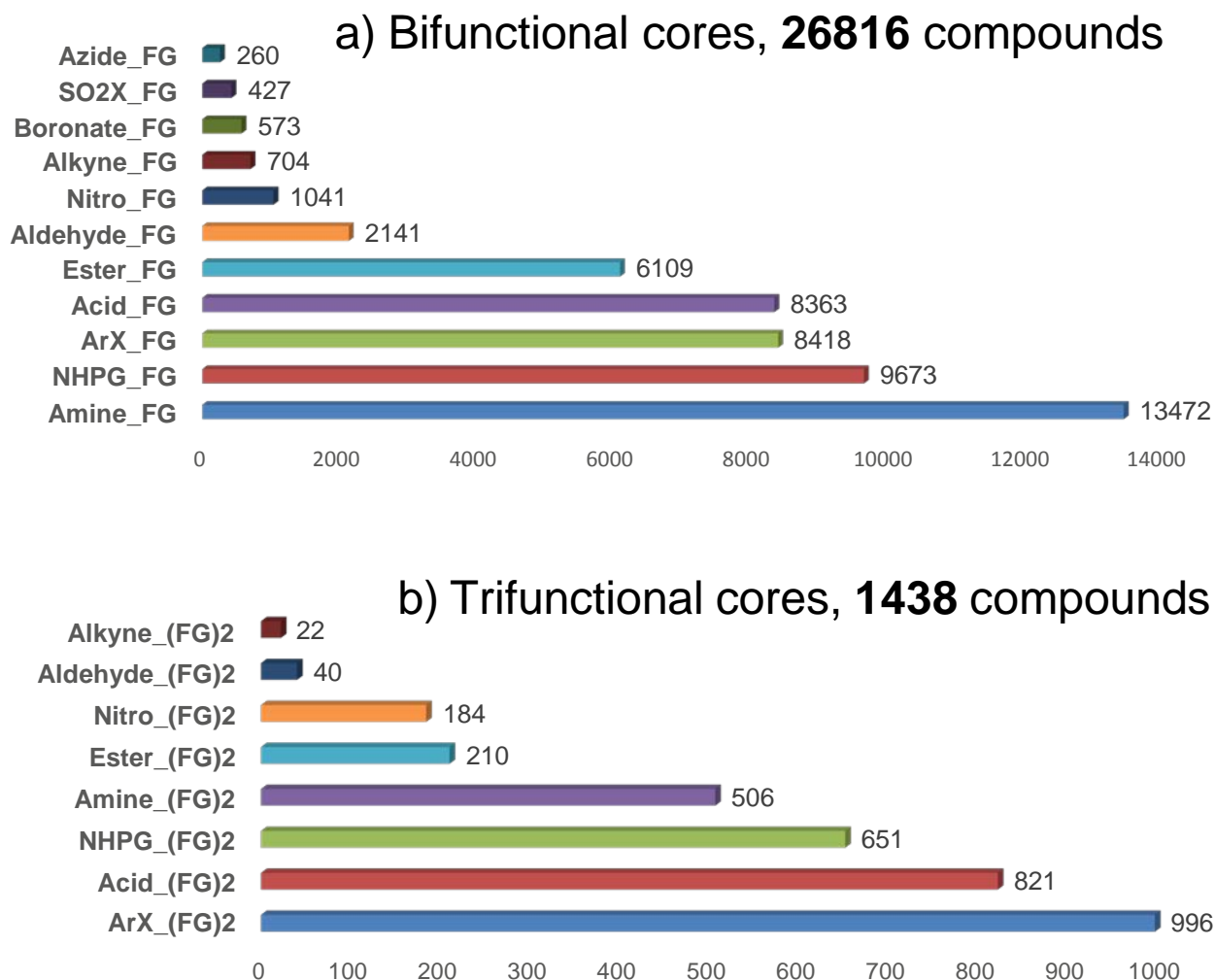


Рисунок 3. Графічне зображення розподілу двох функціональних(a) та трьох функціональних(b) блоків по категоріях функціональних груп.

DELТ являється привабливим методом для генерації хітів. Бібліотеки складених з DEL є результатом синтетичного підходу ‘split and pool’, який відомий вже багато років,[19] тоді як деталі кодування та декодування мільйонів малих молекул з’явилися лише з появою NGS та вдосконаленням DELТ.[13] Потужність DELТ-комбінаторного синтезу у виробництві великої кількості сполук очевидно простий, але разуче продемонстрований у таблиці 1.

Бібліотека x циклів	Cycle 1 input count	Cycle 2 input count	Cycle 3 input count	Cycle 4 input count	Number of library members
3	96	96	96	-	884,736
3	96	96	96	96	84,934,656
4	1000	1000	1000	-	1 billion
4	1000	1000	1000	1000	1 trillion

Таблиця 1. Кількість сполук, які можуть виникнути у 3- та 4-циклових комбінаторних бібліотеках.

Однак добре відомим науковцям-дослідникам лікарських засобів є правило Ліпінського[20], яке спрямовує конструкції малих молекул до пероральної біодоступності відповідно до верхніх меж маси молекули, slogP , а також кількість донорів та акцепторів водневих зв'язків. Без належної та ретельної уваги до вибору будівельних блоків, багатоциклові комбінаторні бібліотеки часто створюють молекули, які перевищують ці межі. Можуть бути виявлені високі спорідненості, але їх перетворення на корисні, перорально біодоступні, подібні до лікарських засобів речовин може бути складним або унеможливленим. Яскраво ілюструючи цей очевидний момент, документ у прикладі DELT від Clark et al. описує синтез 3- та 4-циклових DEL на основі триазинових скафолдів,[21] які потім використовували для відбору спорідненості до $\text{p38}\alpha$, що призводить до ідентифікації високоафінних влучень поза ДНК, як показано на рисунку 4. У таблиці 2, рядки 2 і 5 зображують молекулярну масу, яка була б отримана з досить низькомолекулярних будівельних блоків; Записи 3 і 6 із більш важких будівельних блоків. Блоки з найвищою молекулярною масою в цих бібліотеках перевищують 275 Da для декількох входів. Стає зрозумілим, що для 3-циклового DEL молекулярна маса будівельного блоку та ядра не може перевищувати 125 Da, щоб отримати молекули менше 500 Da; для DEL-b обмеження становить 105 Da. Виходячи з цього простого аналізу, повинно бути зрозуміло, що вибір будівельних блоків для DEL досить обмежений молекулярною масою. Як правило, будівельні блоки DEL і ядра з молекулярною вагою менше 125 Da є, як правило, найбільш корисними, якщо очікувати, що всі члени бібліотеки будуть менше 500 Da.

Часто бібліотеки DELT створюються хіміками з будівельними блоками, які доступні їм на той час та включають у себе, сполуки з молекулярною вагою, що перевищують 500 Da. Дослідження різноманітності продуктів з високою молекулярною масою є корисним для підбору, їх потенційна користь як відправних точок для відкриття малих молекул, незмінно негативно оцінюється щодо цих жорстких, критеріїв дизайну.

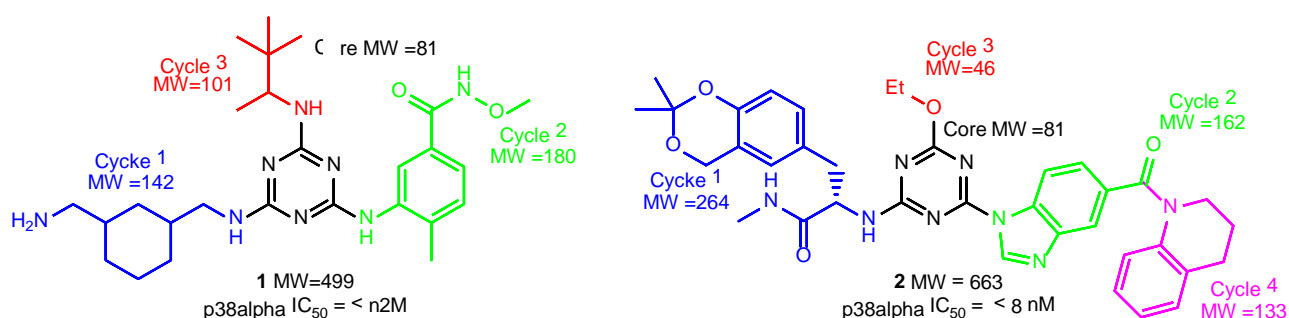


Рисунок 4. DEL-A та DEL-B, 3- та 4-циклові ДНК-кодовані бібліотеки були корисними для виявлення високоафінних звернень щодо p38 α .

Entry number	Component	Cycle-1	Cycle-2	Cycle-3	Cycle-4	core	product MW
1	DEL-A hit 1	142	180	101		81	499
2	DEL-A low	75	75	75		81	301
3	DEL-A high	200	200	200		81	676
4	DEL-B hit 2	264	162	47	133	81	663
5	DEL-B low	75	75	75	75	81	357
6	DEL-B high	200	200	200	200	81	875

Таблиця 2. Молекулярна маса сполук, які є результатом введення будівельних блоків для 3- і 4-циклу DEL.

До оптимізації властивостей сполуки, подібної до ліків, для використання в генеруванні хітів, два ключові аспекти включають розуміння нових та усталених хімічних реакцій, сумісних з форматом кодування ДНК, а також наявність будівельних блоків для прикладу такої реакції послідовності. Велика фармація, маючи тисячі невеликих молекулярних будівельних блоків у своїх

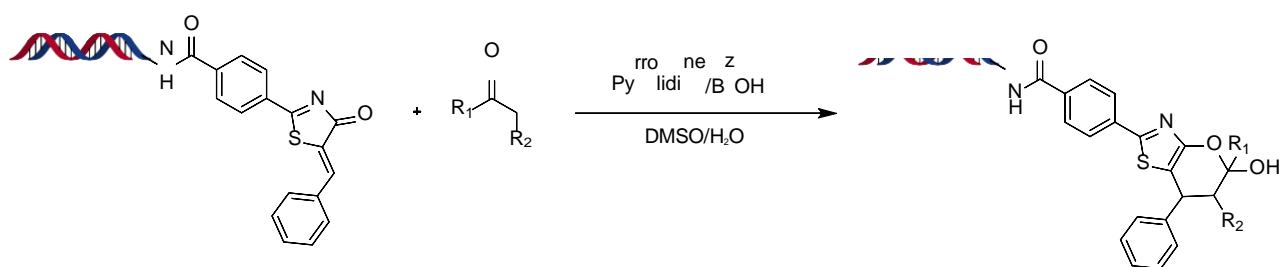
складських інвентарях, має значну перевагу з точки зору наявності малих, різноманітних та нових молекулярних сировинних ресурсів за вже поглиблених витрат. Для хіміків що вивчають DELT, які не мають доступу до таких «прихованих скарбів», комерційно доступні джерела будівельних блоків є наступним найкращим варіантом. У той час як вичерпний аналіз відповідних будівельних блоків може бути більш значущим для конкретного проекту та організації, що здійснює підготовку, все ж корисно мати огляд того, що доступно для практикуючого хіміка DELT. Хімія DEL по своїй сутті є комбінаторною хімією. Відповідно, не повинно бути несподіванкою, що її практика розвинулася на сьогоднішній день із застосуванням хімічних перетворень, які є надійними, високопродуктивними та для яких доступні необхідні будівельні блоки. DELT-сумісні хімічні речовини повинні не тільки відповідати трьом переліченим вище критеріям, але також повинні працювати в умовах сумісних з ДНК:

- розбавлення (0,1-1 мМ);
- водне середовище;
- рН від 4 до 14;
- при температурі від 25 до 90 ° С;
- реакції не повинні змінювати або погіршувати мітки, що кодують ДНК.

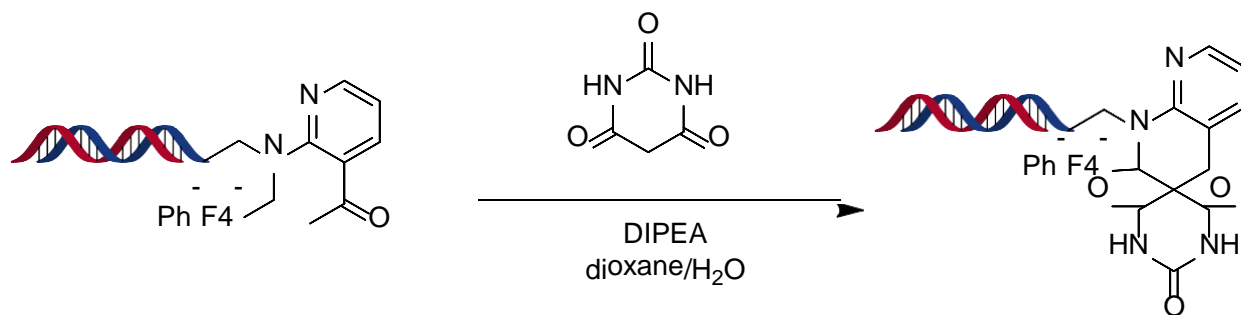
З цією метою, а також для розуміння можливостей розширення хімічного простору в DELT буде наведено огляд ДНК-сумісних реакцій гетероциклізацій за останні роки.

ДНК-сумісні реакції гетероциклізації.

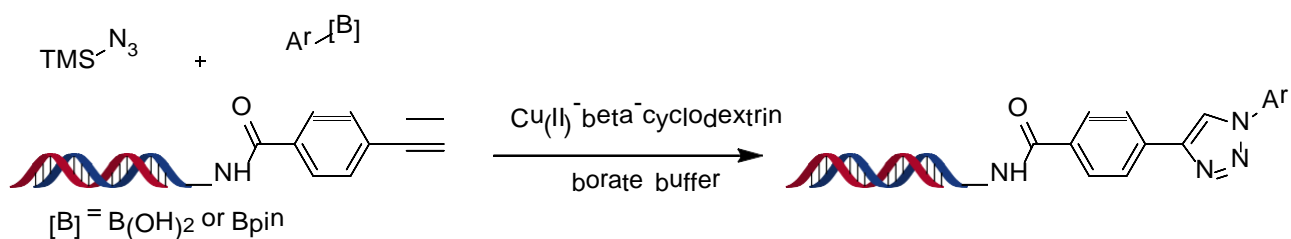
Дай та його колеги повідомили у 2020 році про нову реакцію [4 + 2] циклоприєднання для утворення різноманітних злитих тiazолом дигідропіранів із ДНК-сумісністю.[22] Молекули дигідропірану, що злилися з тiazолом, виявляють помітну біоактивність щодо різноманітних мішеней.[23, 24] Умови реакції для цієї реакції циклоприєднання становлять 200 еквівалентів альдегіду та 40 еквівалентів як піролідину, так і VzOH як промоторів, з ДМСО / H₂O як в якості розчинника, реакція протікає протягом ночі при кімнатній температурі. Ця трансформація проходить в м'яких умовах реакції без пошкодження ділянки ДНК і демонструє широкий спектр можливих отриманих речовин, використовуючи велику кількість альдегідів та кетонів з добрими виходами.



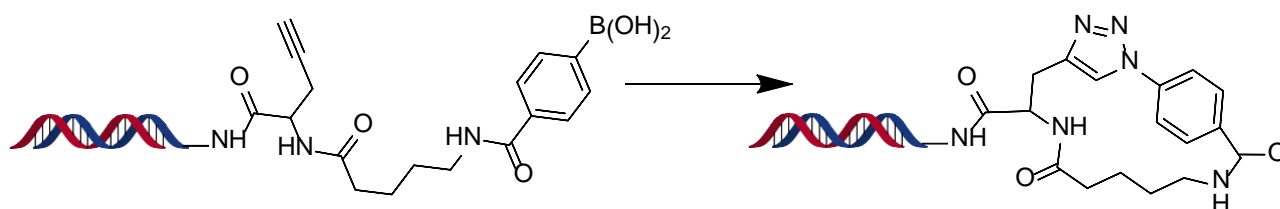
Тіан і співробітники повідомляли в 2016 році про каскадні реакції, які утворювали множинні вуглецеві зв'язки, сумісні з системами, що кодують ДНК.[25] Ця реакція дозволяє швидко збирати стереохімічний комплекс шляхом взаємодії орто-діалкіламіноарилового альдегіду з активованим метиленом. [26-29] Різні орто-діалкіламіноарильні альдегіди отримані шляхом SnAr-заміщення орто-фтороарильних альдегідів вторинними амінами. Каскадна реакція включає конденсацію Кновевенагеля, зсув гідриду [1,5] та циклізацію Манніха з утворенням різноманітних спіроциклів. Реакція працювала для активованих циклічних кетонів, амідів та складних ефірів і давала високі виходи. Автори назвали цю реакцію Т-реакцією (реакція третинного аміно ефекту).



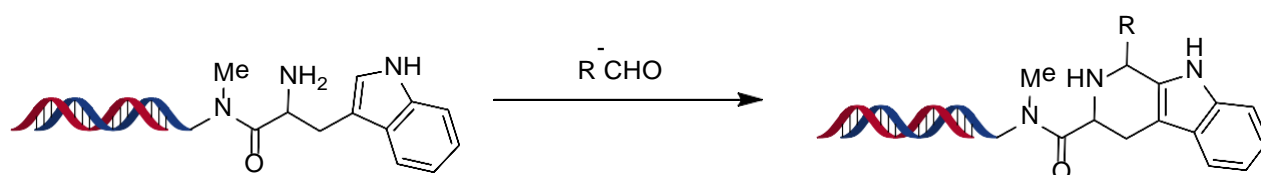
Кю та співробітники повідомили у 2020 році про ефективний опосередкований міддю синтез 1,2,3-триазолів, сумісних з ДНК, за допомогою реакції арильних боратів з TMS-N₃ з подальшою реакцією клік-циклоприєднання.[30] Реакція «клік» каталізованого мідним (I) алкініазидом циклоприєднання є важливою реакцією для утворення 1,2,3-триазолів,[31-38] важливих для природних продуктів та ліків.[39-45] Через їх високу ригідність, стабільність, інертність та свисоке значення дипольного моменту, 1,2,3-триазоли є перспективними біоізостерами амідів, ароматичних циклів та подвійних зв'язків при відкритті лікарських засобів.[46-50] Реакція протікає в м'яких умовах з високим перетворенням та високою толерантністю до різних функціональних групи. Ця реакція може застосовуватись для широкого спектру арильних та вінілових боратів в якості субстратів.



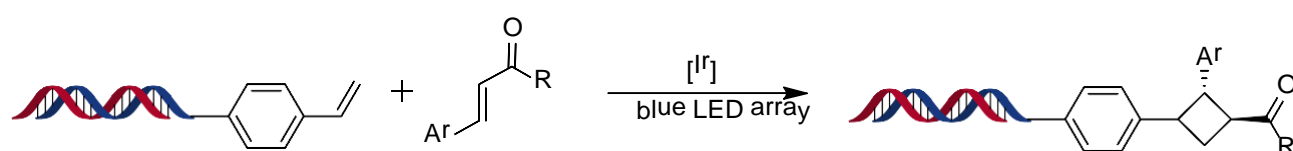
Також ця реакція може застосовуватися для створення різноманітних кон'югованих з ДНК макроциклів.



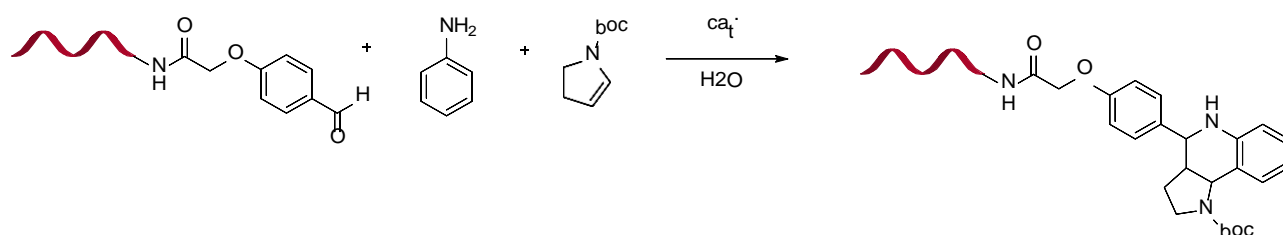
Лі та співробітники повідомили у 2020 році про ДНК-сумісну реакцію Пікте-Шпенглера для різноманітних альдегідів.[51] Полізаміщені оптично активні похідні триптоліну, класифіковані як неізопреноїди, є важливими структурними елементами алкалоїдів на основі індолу, також похідні триптоліну спостерігались у природних алкалоїдах індолу на основі продуктів та комерційних препаратів, таких як тадалафіл[52] та етодолак[53, 54]. Надання бажаних продуктів є складним завданням, оскільки зазвичай потрібні кислі умови.[55] Завдяки раціональній конструкції індольних субстратів на ДНК була розроблена перша ДНК-сумісна PS-реакція для різних альдегідів в оптимізованих умовах. Крім того, були визначені відповідні умови для різних комбінацій партнерів зчеплення. Цей результат демонструє утворення кон'югованого з ДНК продукту триптоліну і не показав зміщення продукту реакції Пікте-Шпенглера порівняно з реагентом, що вказує на відсутність зміни розміру ДНК в результаті реакції.



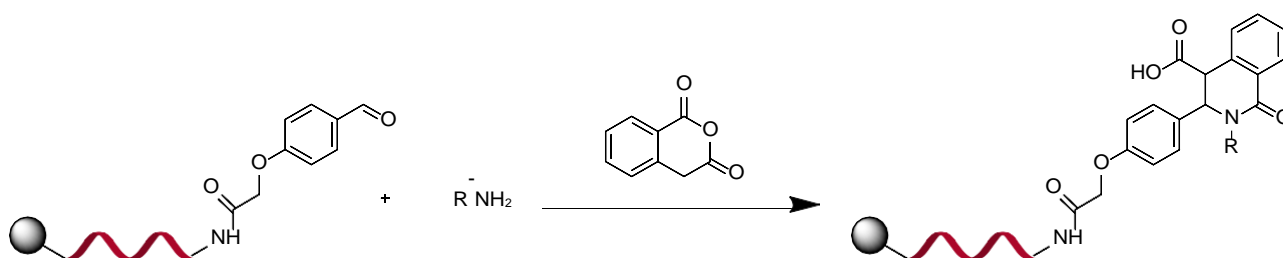
Колмель та його колеги повідомили у 2020 році про фотокаталітичну [2 + 2] реакцію циклоприєднання для утворення високозаміщених циклобутанів з ДНК-сумісністю. [56] Цей клас фотохімічних реакцій відомий давно і широко вивчався понад 50 років.[57-64] У цій реакції субстрат кон'югату ДНК реагував зі структурно різноманітними циннаматами у присутності фотокаталізатора на основі іридію у воді. Реакція протікала в м'яких умовах з широкою толерантністю до функціональних груп і без пошкоджень в секторі ДНК. Автори також показали, як отримані продукти циклоприєднання можуть бути згодом функціоналізовані амідним зчепленням або відновним амінуванням у потенційних бібліотеках трициклових бібліотек.



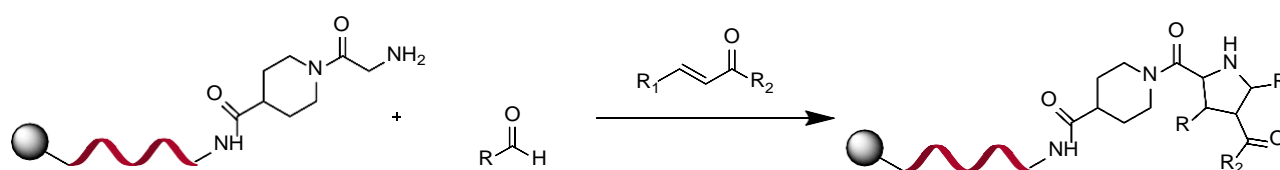
Бруншвайгер та його колеги повідомляли у 2019 році про міцелопосередковану реакцію Поварова на міченому ДНК субстраті у водному розчині.[65] Автори випробовують досліджені катализатори з сульфокислот на основі амфифільних блок-сополімерів для уникнення сильноокислих умов реакції, щоб уникнути пошкодження ДНК. Міцела, функціоналізована сульфоновною кислотою, може представляти в якості катализатора Бренстеда. Ці кислотні нанореактори дали можливість реакції кон'югованих ДНК альдегідів на різноманітні заміщені тетрагідрохіноліни та аміноімідазопіридини з хорошими виходами.



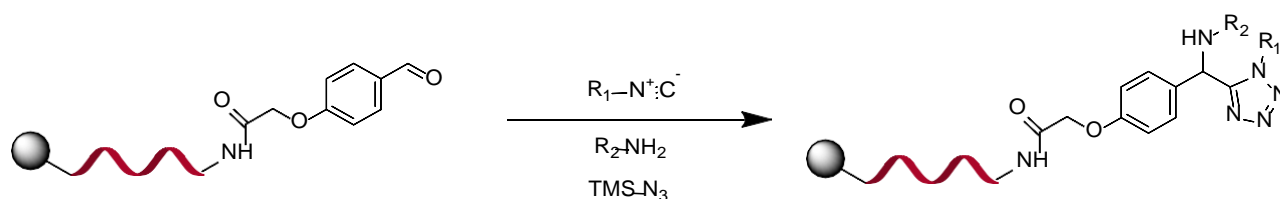
Потовський та його співробітники повідомили у 2019 р. про реакцію Кастаньолі-Кушмана, опосередковану Yb(III), для утворення мічених ДНК-ізохінолонів у м'яких безводних умовах реакції.[66] Реакція Кастаньолі-Кушмана - це добре відома універсальна трикомпонентна реакція, що утворює заміщені лактами з різних альдегідів, амінів та циклічних ангідридів.[67-69] Автори модифікували ДНК-олігонуклеотиди з лінкерною складовою за допомогою хімії фосфорамідиту на твердій пористій фазі, твердофазний матеріал, безпосередньо використовуваний для хімічної реакції. Продукт реакції Кастаньолі-Кушмана, отриманий з високою конверсією та мінімальними пошкодженнями ДНК у випадку різноманітних мета- та паразаміщених анілінів та простих амінів. Не спостерігалось утворення продукту із заступником в орто-позиції аніліну.



Потовський та його співробітники повідомили у 2019 році про аргентум ацетат опосередковану реакцію 1,3-диполярного циклоприєднання азометилін-ілід-алкенів, що забезпечує щільно заміщений кон'югований ДНК піролідин.[66] Реакції 1,3-диполярного циклоприєднання є одними з найпотужніших методів побудови п'ятичленних гетероциклічних сполук.[70-72] Особливий інтерес представляє 1,3-диполярне циклоприєднання азометилін-ілідів до електроннодефіцитних алкенів, що дає різні заміщені піролідини [73, 74], які раніше використовувались для заповнення скринінгових бібліотек.[75] Продукт, отриманий з високою конверсією та з мінімальним руйнуванням ДНК.

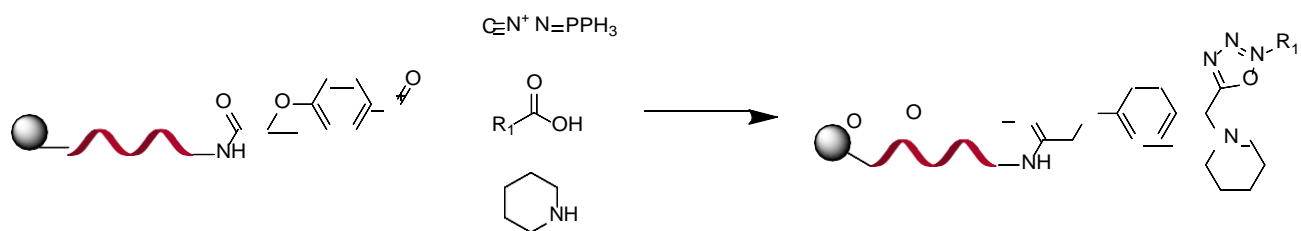


Куніг та його співробітники повідомили у 2019 році про чотирьохкомпонентну реакцію угі-азиду для утворення кон'югатних ДНК тетразолів.[76] Цільові молекули, що генеруються з високим перетворенням та без утворення побічних продуктів та побічних ефектів. Ортозаміщені аніліни менш толерантні по відношенню до різних функціональних груп. Введення в позицію для подальшого синтезу бібліотеки було досягнуто із захищеним Вос-піперазином.[77]

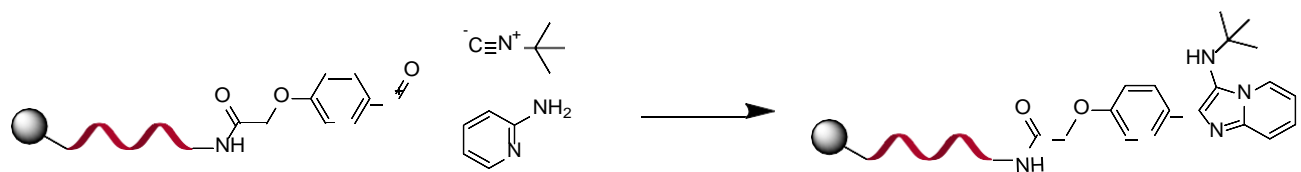


Також подібна реакція застосовується для отримання оксадіазолового ядра. Чотирикомпонентна реакція Угі/аза-Віттіга дає доступ до різноманітних заміщених оксадіазолів. Ядро оксадіазолу вважається дуже привабливим скафолдом для використання в медичній хімії. Він був описаний як метаболічно більш стабільний амідний біоізостер.[78,79] Трансляція цієї реакції до альдегіду ДНК не вдалася через супутнє відщеплення пуринових основ від

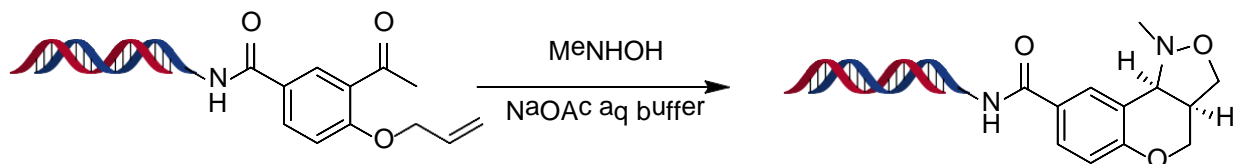
олігомеру. Було вирішено, що для цієї реакції потрібна стратегія штрих-кодуння "hexT"[80]. Мета- та всі пара-заміщені ароматичні карбонові кислоти дають високі конверсії та утворення лише незначних кількостей побічних продуктів. Однак усі випробувані ортозаміщені бензойні кислоти, а також мета-гідроксибензойна кислота давали оксадіазоли з низькою конверсією і мали кілька побічних продуктів, які видаляли очищенням ВЕРХ.



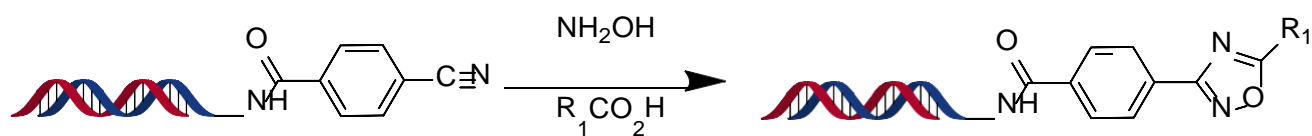
Аналогічно проводилась оптимізація трикомпонентної реакції Грубка-Блекберна-Бієнайме на кон'югаті hexT-альдегіду. Це породжує біциклічні гетероароматичні структури, присутні в багатьох біоактивних молекулах. [81]



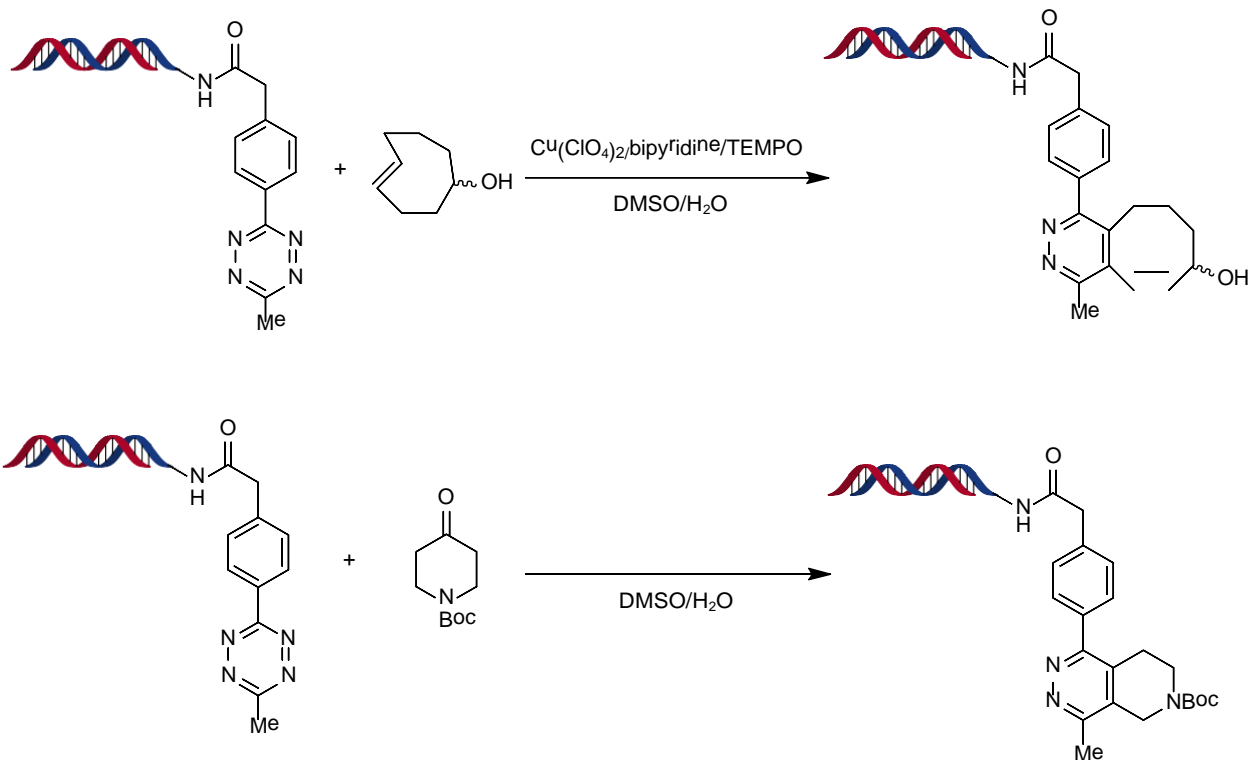
Шрайбер та його колеги повідомили у 2019 році про реакцію [3 + 2] нітрон-олефінового циклоприєднання для генерування кон'югованих з ДНК поліциклічних ізоксазолідинів.[82] Раніші звіти показали, що ця реакція сумісна з водою та ДНК, хоча вона ніколи не використовувалась для синтезу DEL,[83,84] а попередні приклади, сумісні з ДНК, проводились із використанням синтезованого за ДНК синтезу з активованими олефінами та попередньо утвореними нітронами.[84] Ізоксазолідиновий мотив присутній у декількох природних алкалоїдних продуктах та інших біоактивних сполуках. [85,86] Ця реакція протікає з різноманітними N-алкілгідроксиламинами та олефінодержачими субстратами. Реакція проходить за м'яких умов і не пошкоджує фрагменти ДНК молекул, що робить його привабливим для побудови DEL.



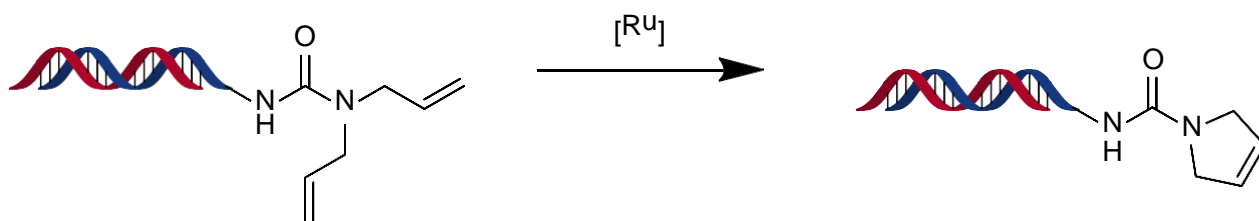
Ду та його колеги повідомили у 2019 році про синтез різноманітних 3,5-дизаміщених 1,2,4-оксадіазолів на міченому ДНК субстраті арилнітрилу.[87] Оксадіазоли - це особливий клас гетероциклів, які часто зустрічаються у колекціях скринінгових бібліотек,[78,88] присутні у різноманітних фармацевтичних препаратах[89,90] і мають різноманітні методи розчинного та твердофазного синтезу. [91-99] Арилнітрили, перетворені в 1,2,4-оксадіазоли, шляхом перетворення в амідоксим, амідоксимове О-ацилювання за допомогою різноманітних арильних та аліфатичних карбонових кислот та циклодегідратацію проміжних речовин дають О-ациламідоксим. Утворення 1,2,4-оксадіазолів є привабливою комбінаторною методологією DEL, однак 1,2,4-оксадіазоли можуть бути побудовані з нітрилів та карбонових кислот, за допомогою будууючі блоки, що мають широку комерційну доступність.



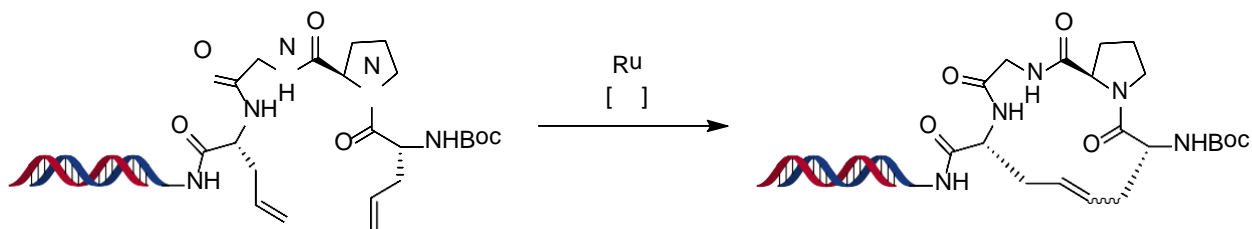
Лі та співробітники повідомили у 2018 р. про реакції Ділса-Альдера з зворотним попитом на електрони для генерування ДНК-кон'югованих піридазинів. [100] Раніше цю реакцію використовували для маркування ДНК шляхом утворення (дигідро)-піридазинів як зв'язку між ДНК та флуоресцентними або радіоактивними групами.[101-105] Піримідини були знайдені в біологічно активних природних продуктах, ліках і розглядаються як привілейована структура в медична хімія.[106,107] Піридазини синтезують із олефінів або карбонільних сполук із ДНК-мічених 1,2,4,5-тетразинів. Процес виконується при низьких концентраціях у водному середовищі та у м'яких умовах.



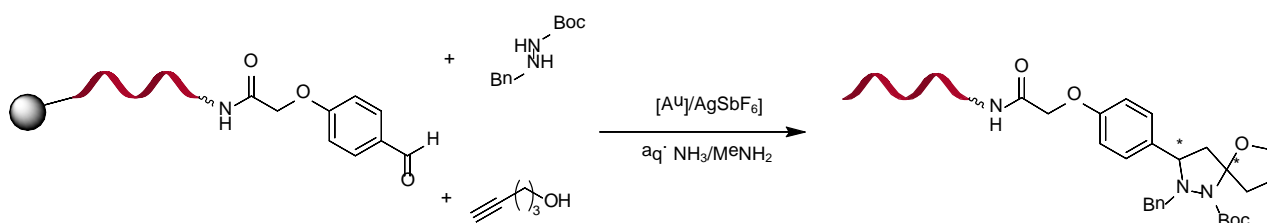
Лю та співробітники повідомили у 2017 році про першу реакцію метатезису, що замикає кільце, на кон'югованих з ДНК сполуках в системі співрозчинників вода/т-бутанол.[108] Раніше повідомлялося про перехресні метатези щодо модифікації білка у воді.[109-112] Реакція, реалізована реагентами Грабса. Для запобігання взаємодії між рутеній-вмісним реагентом і пептидом в ДНК використовували хлорид магнію, він захищав сполуки ДНК від розкладання. Ефект Mg^{2+} до кінця не вивчений, але передбачається, що захист ДНК можна досягти поглинанням фосфатного фрагмента бідентатними катіонами Mg^{2+} , тим самим запобігаючи його взаємодії з рутенієвими елементами.



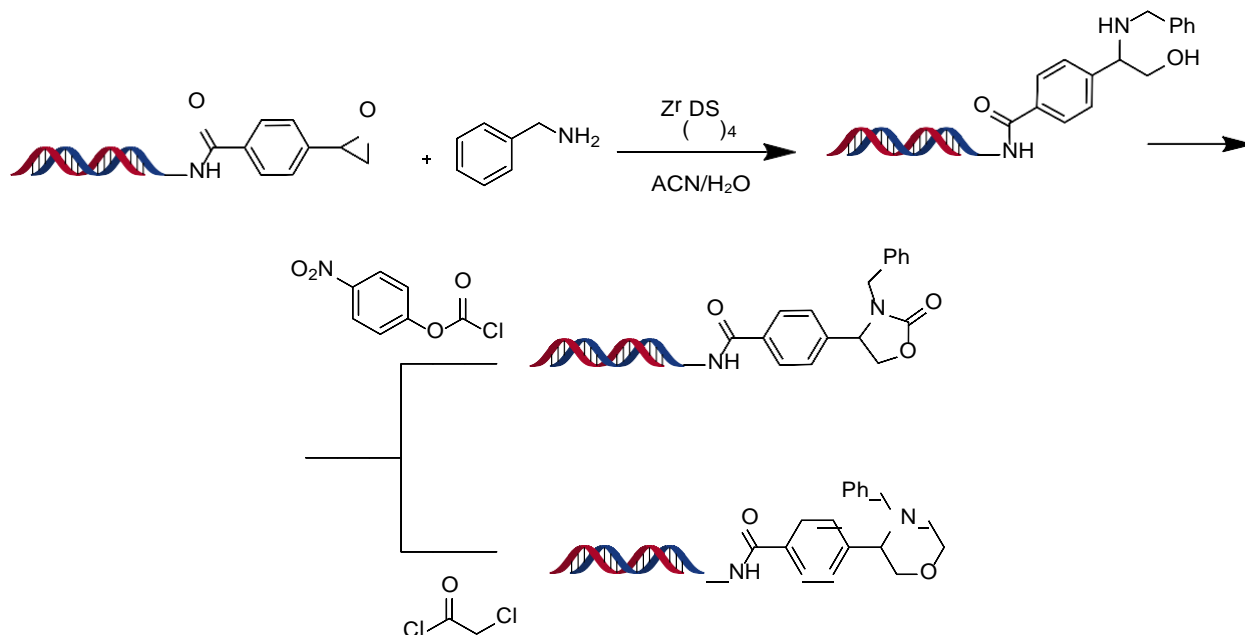
Також автори повідомляють, що застосовували цю реакцію для генерування малих 5-, 6-, 7-, 8-членних циклі та більших макроциклів, таких як 14- і 16-членні макроцикли з високою конверсією.



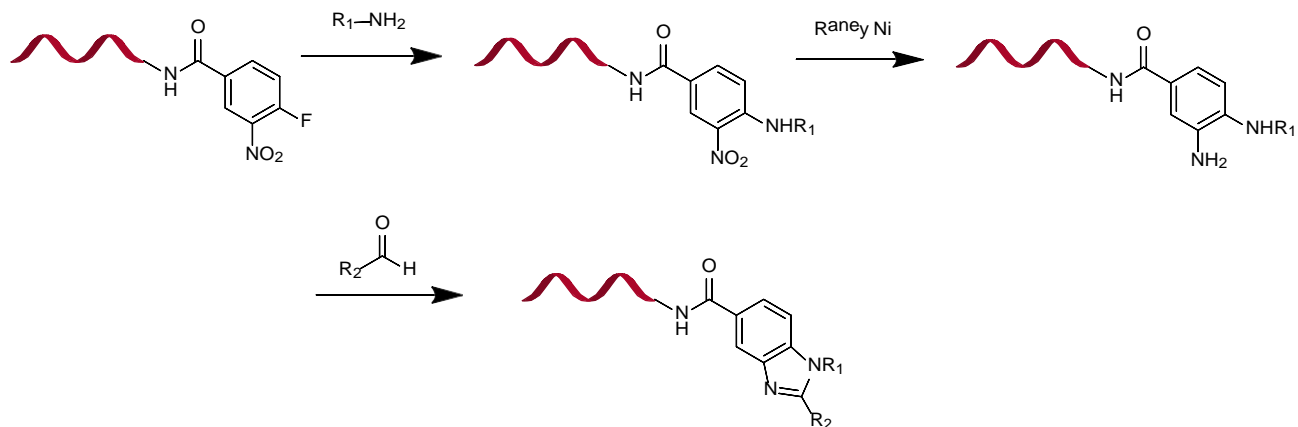
Браншвейгер та його колеги повідомляли у 2017 році про опосередковану Au (I) трикомпонентну реакцію мічених ДНК для генерування високозаміщених спірогетероциклів.[113] Різноманітні насичені скафолди є привабливими сполуками для створення різноманітних бібліотек.[114, 115] Реакція працювала з альдегідами, гідрозидами та алкінолами на ДНК. Крім того, реакція несумісна з гуаніновмісною ДНК, сполуки гуаніну, розкладаються в умовах реакції, на відміну від тимін-, цитозин- і аденинсодержачей ДНК.



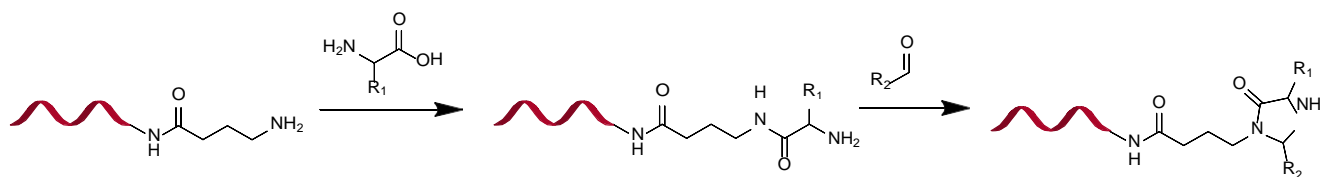
Фан та його колеги повідомили у 2017 році про перший сумісний з водою аміноліз епоксидів на ДНК з отриманням β -аміноспиртів за допомогою цирконієвого каталізу.[116] Використовуючи цей підхід, автори можуть генерувати на ДНК різноманітні біологічно цікаві неароматичні гетероцикли: оксазолідин-2-они та морфолін-3-они. Повідомлялося, що різноманітні каталізатори епоксидного амінолізу покращують ефективність реакції та стереоселективність[117,118], але більшість з них не можна використовувати для реакцій ДНК через їх несумісність з водою та/або тенденцію до деградації ДНК-сектору. Лише декілька металевих каталізаторів були описані в синтезі DEL.[119] Різні форми солей Zr(IV) використовувались як кислоти Льюїса для кількох перетворень.[120] За допомогою цих умов було зібрано бібліотеку із 137 мільйонами β -амінових спиртів на ДНК та продуктів їх циклізації.



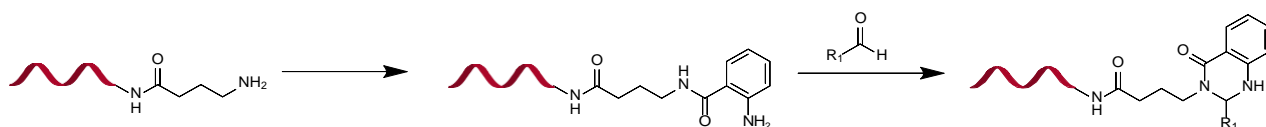
У 2015 році Сатц та його колеги повідомляли детальні протоколи багаступеневого синтезу високофункціоналізованих бензimidазолів, імідазолідіонів, хіназоліонів, ізоіндоліонів, тiazолів та імідазопіридинів [121]. 2-амінобензimidазол є важливим структурним елементом і широко поширюється у сполуках з різними фармацевтичними властивостями.[122] Раніше пропонувалось генерувати кон'югований з ДНК бензimidазол, але жодних методів та експериментальних деталей не було надано.[123] Було показано, що синтез бензimidазолу можливий у водному розчині і не вимагає присутності додаткового окислювача.[124] Формування бензimidазолу здійснювали з 4-фтор-3-нітробензойної кислоти шляхом відновлення нітрогрупи до аміно, нуклеофільного заміщення фтору аніліном та наступної циклізації. Також Дінг та його колеги повідомляли у 2018 році про синтез кодованої ДНК бібліотеки бензimidазолу.[125] Автори синтезували бібліотеку бензimidазолу, кодовану ДНК із 320 мільйонами членів, використовуючи захищені Fmoc амінокислоти, аміни та альдегіди як елемент різноманітності. Після того, як Лю та його колеги повідомили у 2020 році про стратегію побудови на ДНК багатофункціонального розмаїття 2-амінобензimidазолів за допомогою йоду, стимульованого циклізації в м'яких умовах.



Імідазолідинони є важливими драглайк скафолдами та доступними для проведення паралельного синтезу.[127,128] Вибір амінокислоти суттєво впливає на вихід циклізації. Аланін дає високі конверсії бажаного імідазолідинону, тоді як гліцин не дає такої високої конверсії у продукт. Амінокислоти з об'ємними бічними ланцюгами, такі як фенілаланін, також дають високу конверсію продукту. Розчинник також впливає на циклізацію, і в якості співрозчинника важливим є наявність метанолу.

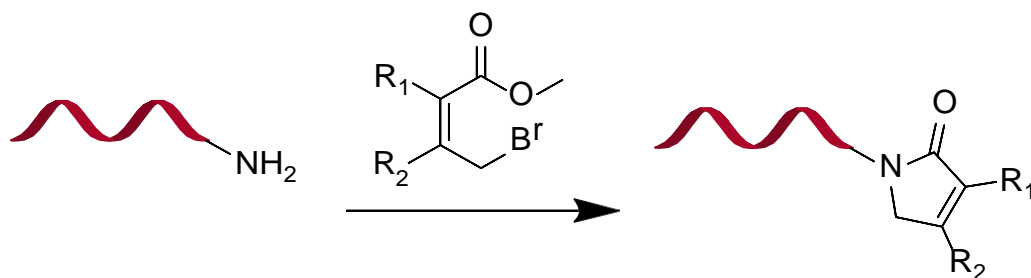


Раніше повідомлялося про внутрішньомолекулярну циклізацію орто-ацетамідобензаміду в основних умовах з утворенням некон'югованих з ДНК-хіназолінонів.[129] Кон'юговані з ДНК орто-амінобензаміди можуть бути ацильовані будівельними блоками карбонової кислоти з отриманням орто-ацетамідобензамідних проміжних продуктів, які потім можуть циклізуватися. Встановлено, що субстрати, мічені ДНК, стабільні при сильно основних умовах та при нагріванні.

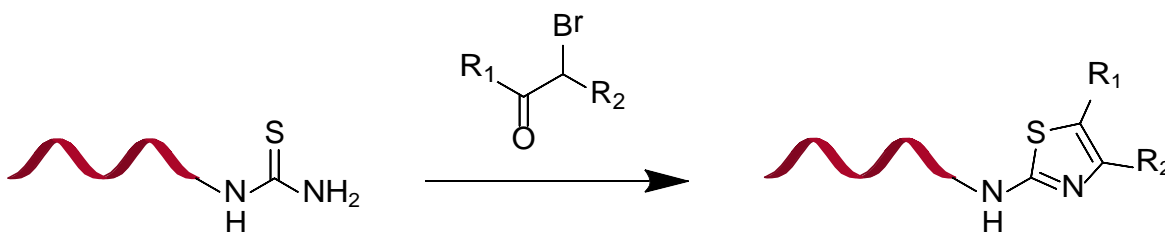


Реакція орто-бромометилбензолів з первинними амінами з утворенням ізоіндолінону за основних умов відома і виявилася потенційно застосовною для

кон'югованих з ДНК.[130] Орто-бромметилбензоати легко піддаються реакції Sn2 з міченим ДНК аміном. Біс-алкілювання не спостерігалось, оскільки моноалкільований проміжний продукт легко циклізується, забезпечуючи бажаний ізоіндолінон. На відміну від раніше обговорюваних прикладів кон'югованих з ДНК циклізацій, цю реакцію можна контролювати за допомогою LCMS. Похідні бензоату та піридин-кабоксилату забезпечують високу конверсію до бажаного продукту.



Докладніше було відомо, що галокетони в м'яких умовах реагують з тіомочевиною з утворенням тіазолів.[131] Реакція 2-галокетонів з кон'югованою з ДНК тіосечовиною проходить при рН 9,4 при кімнатній температурі, щоб забезпечити бажані тіазоли у високих конверсіях.



Практична частина

В якості предмету дослідження був взятий аналіз хімічного простору ДЕЛ та можливості його гіпотетичного розширення на основі різноманітних реакцій гетероциклізації. За основу були взяті нові реакції досліджені науковцями з усіх куточків світу за останні декілька років які всі були оглянуті та досліджені нами (інформація щодо цього надана з посиланнями в літературному огляді). Стратегія побудови DEL спирається на пошук ортогональних, та сумісних з ДНК реакцій. Для цієї мети, як нам уже стало відомо, необхідні комерційні дво- та трифункціональні основні будівельні блоки. Аналіз доступних баз даних білдинг блоків показує, що двофункціональних молекул значно менше, ніж монофункціональних, а трифункціональних білдинг блоків ще менше. Складені бібліотеки, що отримані на основі даних з eMolecules, Chemspace та Enamine database показують наявність:

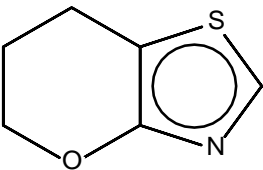
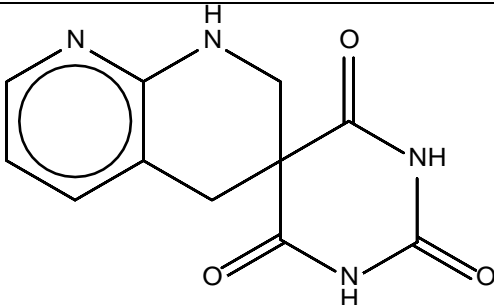
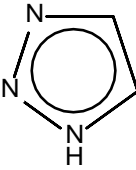
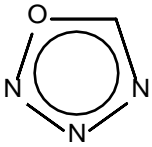
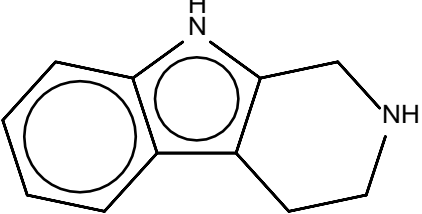

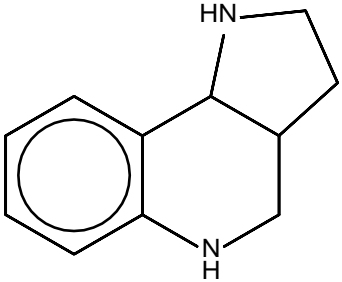
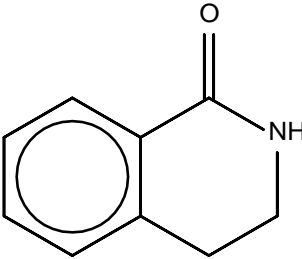
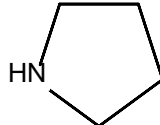
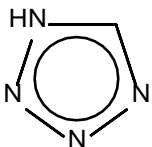
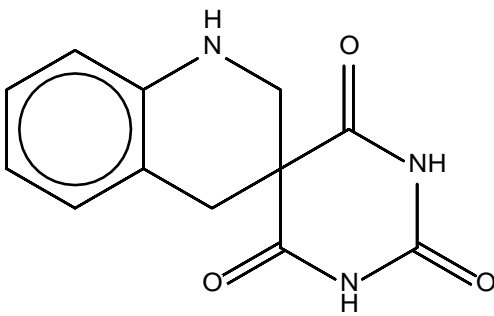
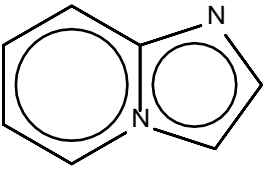
- 45 250 144 двохфункціональних білдинг блоків в 33 різноманітних підкласах;
- 3 219 650 трьохфункціональних білдинг блоків представлені в 25 підкласах хімічних речовин.

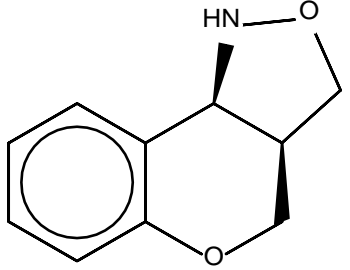
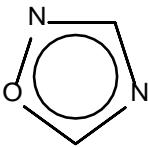
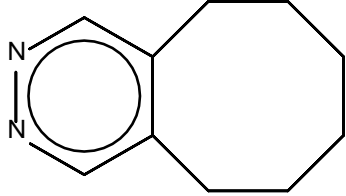
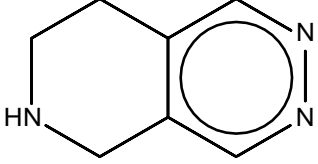
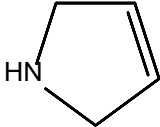
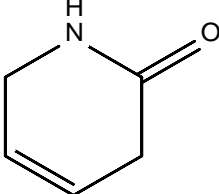
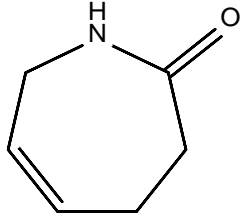
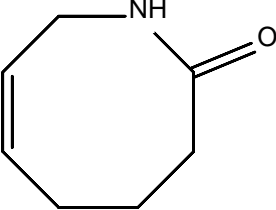
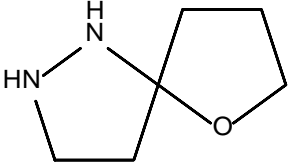
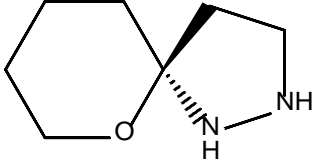
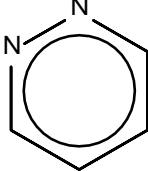
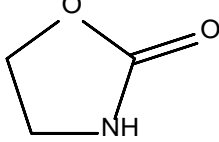
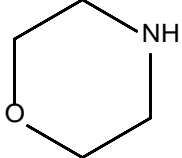
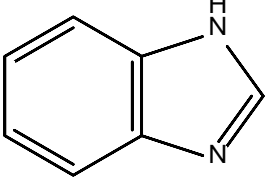
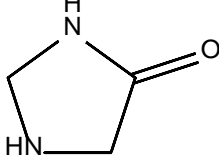
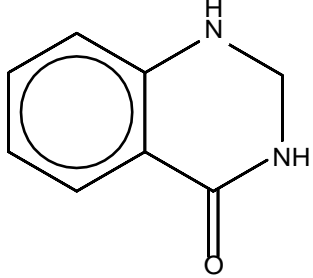
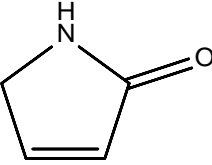
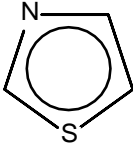
В даний масив даких входять всі наявні сполуки так звані інсток, а також сполуки які можуть бути без особливих проблем синтезовані в короткі строки, ті які знаходяться в віртуальних базах (віртуал) та price on asking (разом з virtual price on asking), останні були вилучені нами з обох файлів для більшої об'єктивності результатів. В результаті даного вилучення за підсумком було отримано:

- 43 848 442 – двох функціональних virtual building blocks;
- 3 119 488 – трьох функціональних virtual building blocks;
- 26 348 – двох функціональних instock building blocks;
- 1 538 – трьох функціональних instock building blocks.

Основною ідеєю роботи є аналіз входження структур, які можливо створити за допомогою сучасних підходів синтезу ДНК-сумісних сполук в даний масив

молекул, щоб наглядно продемонструвати ймовірне розширення хімічного простору в ДЕЛ. Для цього з оглянутих нами реакцій ми повиягували цікаві(у нашому розумінні) скафолди(таблиця 3), та за допомогою хемоінформатичних комп'ютерних підходів порахували входження даних скафолдів в бібліотеку уже отриманих та віртуальних сполук.

Таблиця 3. Скафолди взяті на основі оглянутих реакцій.

Маючи дані скафолди нами був вподальшому проведений скафолдний аналіз включення цих молекул в загальний масив по підкласам, дані наведені в таблиці 4 для біфункціональних гетеро циклів та в таблиці 5 для трифункціональних. 1-ша колонка – порядковий номер; 2-га скорочена назва підкласу(з указаною кількістю вихідних молекул); 3-тя – scaffolds in ref – це скільки разів наші із гетероциклізацій(їх було 30 штук), входять в якості підструктур та повних структур в скафолди підкласу з підкласу; 4-та – показує скільки молекул з підкласу розділяють скафолди, які повністю або частково співпадають зі скафолдами з гетероциклізацій; 5-та – скільки залишається унікальних скафолдів в данному підкласі; 6-та – скільки молекул мають так звані “унікальні” скафолди з 5-ої категорії; 7-ма – загальна кількість скафолдів у підкласі.

#	Class	Scaffolds in ref	Molecules in ref	Unique scaffolds	Unique molecules
1	Acid_Aldehyde	6	12	55	331
2	Acid_Alkyne	6	10	25	141
3	Acid_ArX	79	234	311	2440
4	Acid_Azide	13	24	21	71
5	Acid_Ester	23	71	95	521
6	Acid_Nboc	257	806	349	1919
7	Acid_Ncbz	10	28	23	84
8	Acid_NCS	0	0	2	7
9	Acid_Nfmoc	179	437	247	1509
10	Acid_Nitro	29	46	119	781
11	Aldehyde_ArX	20	54	92	820
12	Aldehyde_Azide	0	0	6	8
13	Aldehyde_Ester	11	37	68	368
14	Aldehyde_Nboc	53	115	86	262
15	Aldehyde_Nitro	7	11	46	222
16	Aldehyde_SO2X	0	0	4	12
17	Amino_Alkyne	23	63	59	430
18	Amino_ArX	177	422	577	3352
19	Amino_Azide	7	16	21	54
20	Amino_Ester	267	878	523	4047
21	ArX_AlkyneCH	2	4	18	108
22	ArX_ArX	57	168	232	1227
23	Azide_ArX	4	8	11	80
24	Azide_SO2X	0	0	3	17
25	Diamines_Nbn	67	131	75	205

26	Diamines_Nboc	302	807	469	1761
27	Diamines_Ncbz	11	18	19	46
28	Diamines_Nfmoc	3	7	9	11
29	Ester_Isocyanates	1	2	6	31
30	Ester_SO2X	9	29	43	372
31	Functional tetrazine	0	0	2	8
32	Functional_Boronates	21	40	90	562
33	Functional_BF3K	8	12	18	51

Таблиця 4. Скафолдна різноманітність вибраних біфункціональних гетероциклів.

#	Class	Scaffolds in ref	Molecules in ref	Unique scaffolds	Unique molecules
1	1,3,5-Trisubstituted_benzenes	12	15	20	257
2	Acid_Aldehyde_AlkyneCH	0	0	1	1
3	Acid_Aldehyde_ArX	1	3	6	23
4	Acid_Aldehyde_Nitro	0	0	1	4
5	Acid_ArX_Ester	0	0	5	16
6	Acid_ArX_Nitro	0	0	9	71
7	Acid_Ester_Nitro	0	0	2	5
8	Amino_ArX_ArX	3	10	35	172
9	Amino_ArX_Nitro	0	0	13	102
10	ArX_ArX_ArX	3	4	27	93
11	ArX_ArX_Carboxy	9	27	27	201
12	Azide_ArX_Carboxy	0	0	0	0
13	NbocAA_AlkyneCH	1	2	4	16
14	NbocAA_ArX	4	6	18	69
15	NbocAA_Ester	4	10	4	30
16	NbocAA_Nitro	0	0	1	4
17	NbocArX_Amino	10	11	29	40
18	NbocEsterAA_Aldehyde	3	3	7	10
19	NbocEsterAA_Amino	23	41	24	57
20	NbocNCbzAA	2	2	4	8
21	NbocNfmocAA	21	34	23	75
22	NfmocAA_alkyneCH	1	1	3	7
23	NfmocAA_ArX	17	20	15	54
24	NfmocAA_Ester	1	4	5	27
25	NfmocAA_Nitro	0	0	1	3

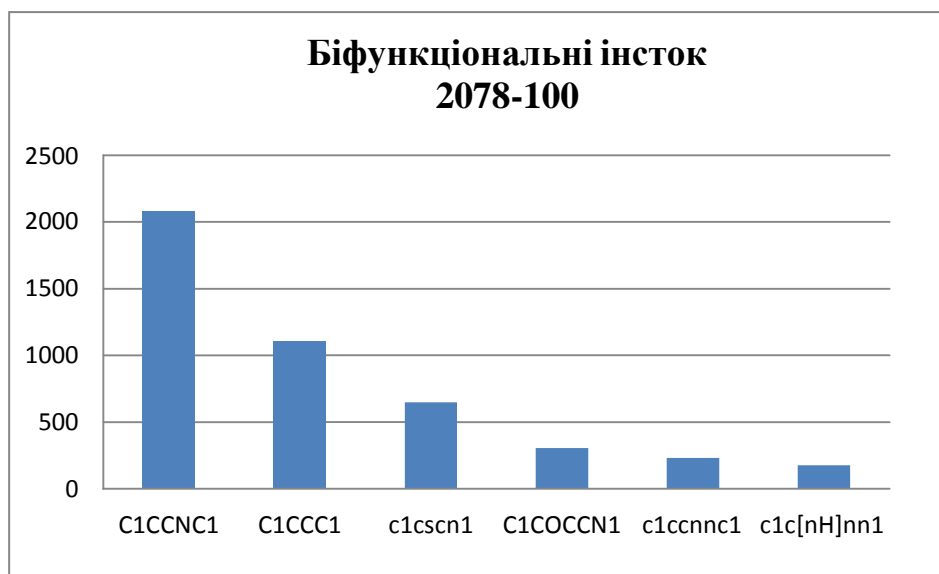
Таблиця 5. Скафолдна різноманітність вибраних трифункціональних гетероциклів.

Для повного аналізу нам потребувалось розбивати окремо по кожному із 30 гетероциклічних скафолдів і рахувати їх включення по підкласам і в цілому по класам - скільки їх в стокових 2 і 3-х функціональних і в віртуальних 2 і 3-х функціональних. Тож, ми вирішили порахувати взагалі скільки кожного скафолду включається в ці категорії, дані зображенні в таблиці 6.

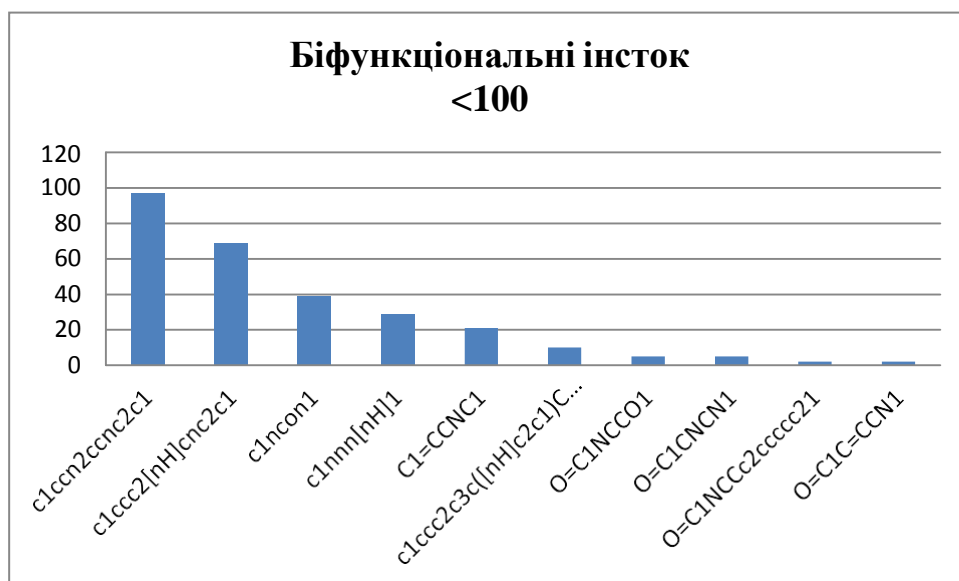
скафолд	біфункціональні		трифункціональні	
	інсток	віртуал	інсток	віртуал
C1CCNC1	2078	7871461	109	485045
C1CCC1	1104	5941890	27	312303
c1cscn1	648	1533087	15	75218
C1COCCN1	305	939622	3	51623
c1c[nH]nn1	175	660222	2	53908
c1ccnnc1	232	573015	33	52826
c1ccc2[nH]enc2c1	69	175965	0	3524
c1ncon1	39	156634	0	5888
c1nnn[nH]1	29	103910	3	5056
C1=CCNC1	21	57571	0	4304
c1ccn2ccnc2c1	97	50346	5	1530
O=C1NCCO1	5	15795	0	756
O=C1CNCN1	5	4651	0	133
c1nncc2c1CCNC2	0	2694	0	16
O=C1NCCc2ccccc21	2	274	0	5
O=C1C=CCN1	2	253	0	11
c1ccc2c3c([nH]c2c1)CNCC3	10	220	0	2
O=C1CC=CCN1	0	96	0	12
O=C1NCNc2ccccc21	0	11	0	0
C1CC[C@@]2(CCN2)OC1	0	0	0	0
c1ccc2c(c1)NCC1CCNC21	0	0	0	0
c1ccc2c(c1)OC[C@@H]1CON[C@H]21	0	0	0	0
C1COC2(C1)CCNN2	0	0	0	0
c1nc2c(s1)CCCO2	0	0	0	0
c1nncc2c1CCCCC2	0	0	0	0
c1nnno1	0	0	0	0
O=C1CCC=CCN1	0	0	0	0
O=C1CCCC=CCN1	0	0	0	0
O=C1NC(=O)C2(CNc3ccccc3C2)C(=O)N1	0	0	0	0
O=C1NC(=O)C2(CNc3ncccc3C2)C(=O)N1	0	0	0	0

Таблиця 6. Загальна кількість молекул згенерованих нами скафолдів включених по категоріях інсток та віртуал.

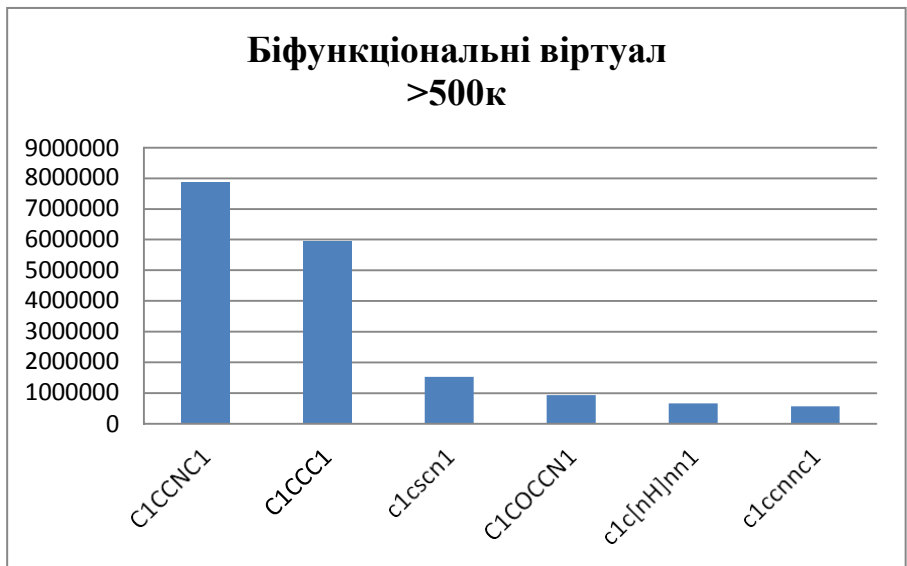
Задля кращої візуалізації ми склали графіки, які наглядно передають одночасно важливість впровадження даних підходів, а також можливі напрямки для розширення хімічного простору методи до яких є доступними уже зараз. Для цього ми відсортували в кожному категорії біфункціональні/три функціональні інсток/віртуал по кількості молекул та зобразили їх відносно їхньої 'ваги' у різних класах (графіки 1-9).



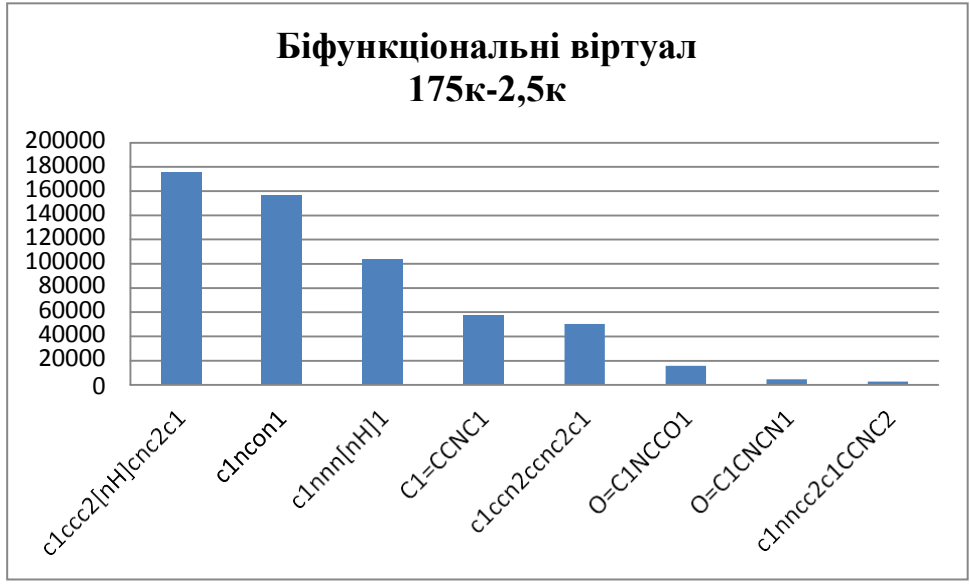
Графік 1.



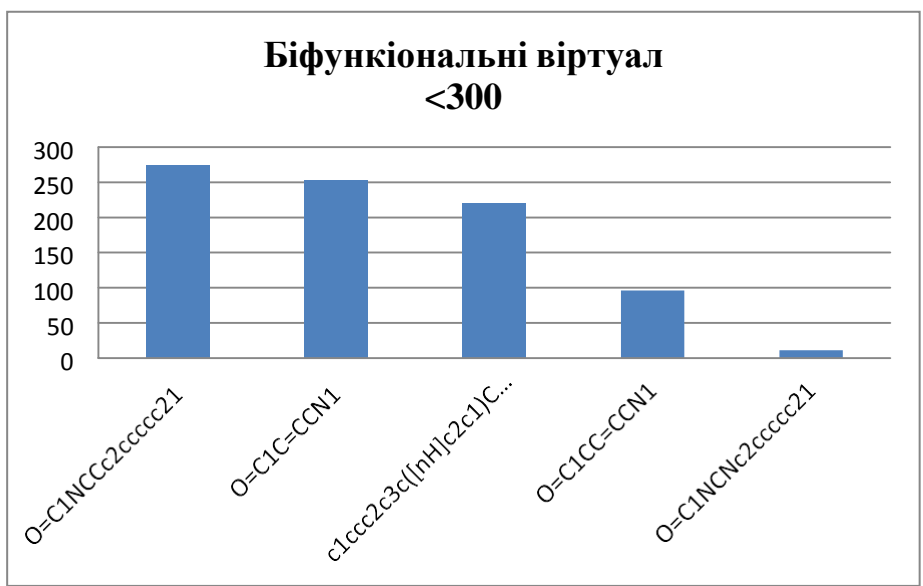
Графік 2.



Графік 3.



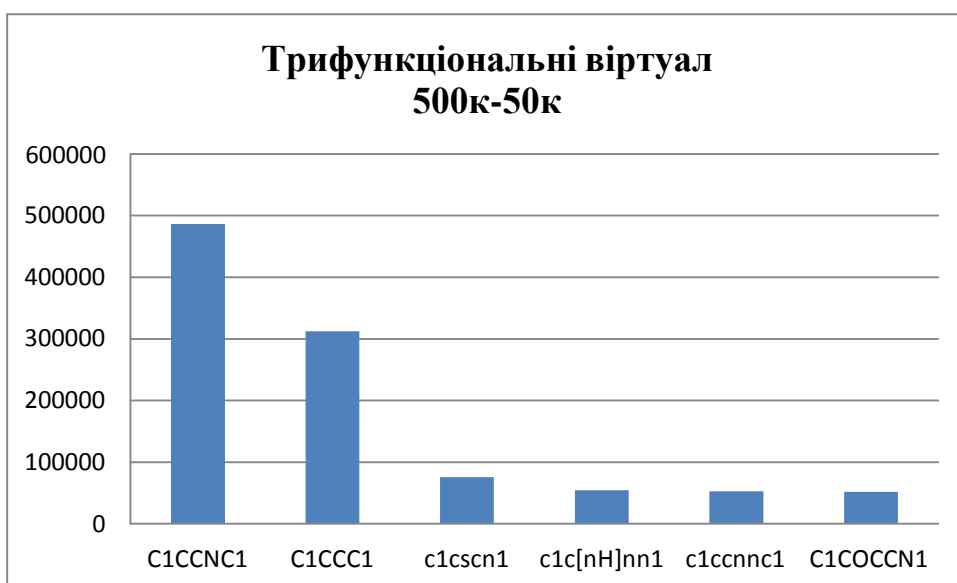
Графік 4.



Графік 5.



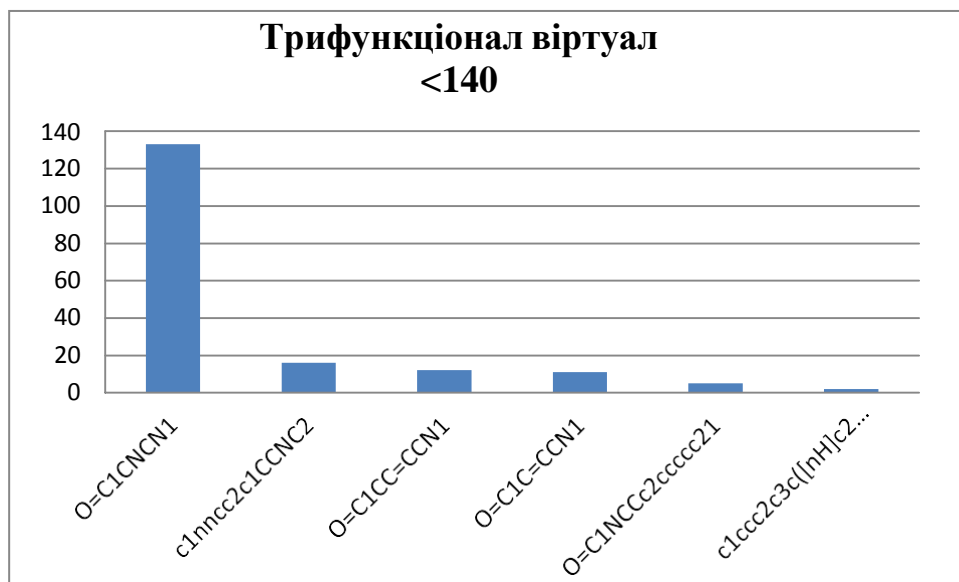
Графік 6.



Графік 7.



Графік 8.



Графік 9.

Висновки

Хімія ДНК-кодованих бібліотек, є надзвичайно важливим кроком для подальшого розвитку сучасної науки. В роботі наглядно представлені передові підходи щодо розвитку нової гілки хімії. В ході аналізу скафолдної різноманітності сполук, які можуть бути утвореними за допомогою реакцій, що були нами оглянуті, були показані надзвичайно наглядні та яскраві результати, а саме, що понад 30 відсотків скафолдів, які можуть бути напрацьовані уже сьогодні, не є включеними в один з найбільших нині доступних масивів хімічних біфункціональних та трифункціональних інсток та віртуальних сполук, а також понад 60 відсотків є невідомими для три функціональних інсток сполук. Даний результат нашоєхує на думку про важливість уже зараз впроваджувати нові підходи для напрацювання, як ми також показали надзвичайно важливих компонентів, що в перспективі можуть показати біологічну активність по відношенню до найрізноманітніших таргетів, задля подальшого розвитку медичної хімії та вирішення її сучасних проблем та викликів. Отримані таким чином результати можна використовувати для створення найрізноманітніших бібліотек, для самих неочікуваних задач в області медичної хімії. Також хочеться звернути увагу, на можливість подальшого розвитку даних реакцій, подальша розробка хіміками підходів до синтезу ДНК-сумісних субстратів, нові хімічні розробки мають потенціал для революції в технології, оскільки вони забезпечують доступ до безпрецедентного молекулярного різноманіття.

Перелік посилань

- [1] E.S. Lander, et al., Initial sequencing and analysis of the human genome, *Nature* 409 (2001), 860–921.
- [2] J.C. Venter, G.G. Sutton, H.O. Smith, M. Yandell and C.A. Evans et al., The sequence of the human genome, *Science* 291 (2001), 1304–1351.
- [3] S.D. Patterson and R.H. Aebersold, Proteomics: the first decade and beyond, *Nat. Genet.* 33 (2003), 311–323.
- [4] Robert L. Strausberg and Stuart L. Schreiber, From Knowing to Controlling: A Path from Genomics to Drugs Using Small Molecule Probes, *Science* 300 (2003), 294-295.
- [5] Stoughton RB, Applications of DNA Microarrays in Biology, *Annu Rev Biochem* 74 (2005), 53-82.
- [6] Drews J. Drug discovery: a historical perspective. *Science* 287 (2000), 1960-1964.
- [7] A. Furka, et al., General method for rapid synthesis of multicomponent peptide mixtures, *Int. J. Pept. Protein Res.* 37 (1991), 487–493.
- [8] R.A. Houghten, et al., Generation and use of synthetic peptide combinatorial libraries for basic research and drug discovery, *Nature* 354 (1991), 84–86.
- [9] K.S. Lam, et al., A new type of synthetic peptide library for identifying ligand-binding activity, *Nature* 354 (1991), 82–84.
- [10] R.B. Merrifield, Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide, *J. Am. Chem. Soc.* 85 (1963), 2149–2154.
- [11] R. Frank, W. Heikens, G. Heisterberg-Moutsis and H. Blocker, A new general approach for the simultaneous chemical synthesis of large numbers of oligonucleotides: segmental solid supports, *Nucl. Acids Res.* 11 (1983), 4365–4377.

- [12] R.A. Houghten, General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 82 (1985), 5131–5135.
- [13] S. Brenner and R.A. Lerner, Encoded combinatorial chemistry, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89 (1992), 5381–5383.
- [14] J. Nielsen, S. Brenner and K.D. Janda, Synthetic methods for the implementation of encoded combinatorial chemistry, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993), 9812–9813.
- [15] M.C. Needels, D.G. Jones, E.H. Tate, G.L. Heinkel, L.M. Kochersperger, W.J. Dower, R.W. Barrett and M.A. Gallop, Generation and screening of an oligonucleotide-encoded synthetic peptide library, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90 (1993), 10700–10704.
- [16] Meo T, Gramsch C, Inan R, Holtt V, Weber E, Herz A, Riethmuller G, Monoclonal antibody to the message sequence Tyr-Gly-Gly-Phe of opioid peptides exhibits the specificity requirements of mammalian opioid receptors, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80 (1983), 4084-4088.
- [17] Mukund S. Chorghade, *Drug Discovery and Development – Combinatorial Chemistry in the Drug Discovery Process* ISBN: 9780471398486 Ed. 2006 John Wiley & Sons, Inc., 129-167.
- [18] K. Fitz Gerald, *In vitro display technologies – new tools for drug discovery*, *Drug Discov.* (2000), 253–258.
- [19] Furka, A., Sebestyen, F., Asgedom, M., Dibo, G. *Proc. 10th int. Symp. Med. Chem.*, **1988**, Budapest, 288.
- [20] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **1997**, 23, 3–25.
- [21] Clark, M.A., Acharya, (2009). Design, synthesis and selection of DNA-encoded small-molecule libraries. *Nature Chem. Biol.*, 5, 647-654.
- [22] Wu, W., et al., Construction of Thiazole-Fused Dihydropyrans via Formal [4+2] Cycloaddition Reaction on DNA. *Organic Letters*, 2020. 22(8): p. 3239-32.

- [23] Joachim Rudolph, et al., Indanylacetic Acid Derivatives Carrying 4-Thiazolylphenoxy Tail Groups, a New Class of Potent Agonists: Synthesis, Structure-Activity Relationship, and In Vivo Efficacy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2007. 50: p. 984-1000.
- [24] Abdelhamid, A.O., et al., Utility of 5-(furan-2-yl)-3-(p-tolyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbothioamide in the synthesis of heterocyclic compounds with antimicrobial activity. *BMC Chemistry*, 2019. 13(1).
- [25] Tian, X., et al., Development and design of the tertiary amino effect reaction for DNA-encoded library synthesis. *MedChemComm*, 2016. 7(7): p. 1316-1322.
- [26] A. Yu. Platonova¹, T.V.G., O. A. Zimovets, and Yu. Yu. Morzherin, tert-AMINO EFFECT: THE METH-COHN AND REINHOUDT REACTIONS. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 2013. 49.
- [27] Mátyus, P., Éliás, O., Tapolcsányi, P., Polonka-Bálint, Á., & Halász-Dajka, B. , Ring-Closure Reactions of ortho-Vinyl-tert-anilines and (Di)Aza-Heterocyclic Analogues via the tert-Amino Effect: Recent Developments. *Synthesis*, 2006. 16: p. 2625-2639.
- [28] Visser, G.W., Verboom, W., Benders, P. H., & Reinhoudt, D. N., Pyrrolidin-1-ylbuta-1,3-dienes as potential 1,5-dipoles; synthesis of pyrrolizines. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1982. 12.
- [29] Meth-Cohn, O. and H. Suschitzky, Heterocycles by Ring Closure of Ortho-Substituted t-Anilines (The t-Amino Effect). 1972. p. 211-278.
- [30] Qu, Y., et al., Copper-Mediated DNA-Compatible One-Pot Click Reactions of Alkynes with Aryl Borates and TMS-N₃. *Organic Letters*, 2020. 22(11): p. 4146-4150.
- [31] Rostovtsev, V.V., et al., A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(i)-Catalyzed Regioselective TMLigation of Azides and Terminal Alkynes*. 2002: p. 4.

- [32] Tornøe, C.W., C. Christensen, and M. Meldal, Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *The Journal of Organic Chemistry*, 2002. 67(9): p. 3057-3064.
- [33] Lee, L.V., et al., A Potent and Highly Selective Inhibitor of Human α -1,3-Fucosyltransferase via Click Chemistry. *Journal of the American Chemical Society*, 2003. 125(32): p. 9588-9589.
- [34] Wang, Q., et al., Bioconjugation by Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne [3 + 2] Cycloaddition. *Journal of the American Chemical Society*, 2003. 125(11): p. 3192-3193.
- [35] Manetsch, R., et al., In Situ Click Chemistry: Enzyme Inhibitors Made to Their Own Specifications. *Journal of the American Chemical Society*, 2004. 126(40): p. 12809-12818.
- [36] Himo, F., et al., Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. *Journal of the American Chemical Society*, 2005. 127(1): p. 210-216.
- [37] Mannocci, L., DNA-encoded chemical libraries. 2009, ETH Zurich.
- [38] Worrell, B.T., J.A. Malik, and V.V. Fokin, Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science*, 2013. 340(6131): p. 457-460.
- [39] Meng, G., et al., Modular click chemistry libraries for functional screens using a diazotizing reagent. *Nature*, 2019. 574(7776): p. 86-89.
- [40] Dheer, D., V. Singh, and R. Shankar, Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. *Bioorganic Chemistry*, 2017. 71: p. 30-54.
- [41] Kacprzak, K., et al., Alkaloids and Isoprenoids Modification by Copper(I)-Catalyzed Huisgen 1,3-Dipolar Cycloaddition (Click Chemistry): Toward New Functions and Molecular Architectures. *Chemical Reviews*, 2016. 116(10): p. 5689-5743.

- [42] Thirumurugan, P., D. Matosiuk, and K. Jozwiak, Click Chemistry for Drug Development and Diverse Chemical–Biology Applications. *Chemical Reviews*, 2013. 113(7): p. 4905-4979.
- [43] Kharb, R., P.C. Sharma, and M.S. Yar, Pharmacological significance of triazole scaffold. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2011. 26(1): p. 1-21.
- [44] Agalave, S.G., S.R. Maujan, and V.S. Pore, Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores. *Chemistry - An Asian Journal*, 2011. 6(10): p. 2696-2718.
- [45] Hein, C.D., X.-M. Liu, and D. Wang, Click Chemistry, A Powerful Tool for Pharmaceutical Sciences. *Pharmaceutical Research*, 2008. 25(10): p. 2216-2230.
- [46] Alvarez, R., et al., 1,2,3-Triazole-[2,5-Bis-O-(tert-butyldimethylsilyl)-.beta.-D-ribofuranosyl. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1994. 37: p. 10.
- [47] Bochis, R.J., et al., Benzylated 1,2,3-Triazoles as Anticoccidiostats. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1991. 34: p. 10.
- [48] Palmer, M.H., R.H. Findlay, and A.J. Gaskell, Electronic charge distribution and moments of five- and six-membered heterocycles. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 1974(4): p. 420.
- [49] Pagliai, F., et al., Rapid Synthesis of Triazole-Modified Resveratrol Analogues via Click Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006. 49(2): p. 467-470.
- [50] Bakunov, S.A., et al., Synthesis and Antiprotozoal Activity of Cationic 1,4-Diphenyl-1 H -1,2,3-triazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010. 53(1): p. 254-272.
- [51] Li, K., et al., Solution-Phase DNA-Compatible Pictet-Spengler Reaction Aided by Machine Learning Building Block Filtering. *iScience*, 2020. 23(6): p. 101142.
- [52] Yamamura, A., et al., Tadalafil induces antiproliferation, apoptosis, and phosphodiesterase type 5 downregulation in idiopathic pulmonary arterial hypertension in vitro. *European Journal of Pharmacology*, 2017. 810: p. 44-50.

- [53] LaPlante, S.R., et al., Compound Aggregation in Drug Discovery: Implementing a Practical NMR Assay for Medicinal Chemists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2013. 56(12): p. 5142-5150.
- [54] Maity, P., D. Adhikari, and A.K. Jana, An overview on synthetic entries to tetrahydro- β -carbolines. *Tetrahedron*, 2019. 75(8): p. 965-1028.
- [55] Yokoyama, A., T. Ohwada, and K. Shudo, Prototype Pictet–Spengler Reactions Catalyzed by Superacids. Involvement of Dicationic Superelectrophiles. *The Journal of Organic Chemistry*, 1999. 64(2): p. 611-617.
- [56] Kölmel, D.K., et al., Photocatalytic [2 + 2] Cycloaddition in DNA-Encoded Chemistry. *Organic Letters*, 2020. 22(8): p. 2908-2913.
- [57] Sarkar, D., N. Bera, and S. Ghosh, [2+2] Photochemical Cycloaddition in Organic Synthesis: [2+2] Photochemical Cycloaddition in Organic Synthesis. *European Journal of Organic Chemistry*, 2020. 2020(10): p. 1310-1326.
- [58] Lei, T., et al., Construction of Cyclobutanes by Multicomponent Cascade Reactions in Homogeneous Solution through Visible-Light Catalysis. *Chemistry – A European Journal*, 2019. 25(3): p. 879-884.
- [59] Daub, M.E., et al., Enantioselective [2+2] Cycloadditions of Cinnamate Esters: Generalizing Lewis Acid Catalysis of Triplet Energy Transfer. *Journal of the American Chemical Society*, 2019. 141(24): p. 9543-9547.
- [60] Zhang, L., et al., Caged circular siRNAs for photomodulation of gene expression in cells and mice. *Chemical Science*, 2018. 9(1): p. 44-51.
- [61] Pagire, S.K., et al., Photosensitised regioselective [2+2]-cycloaddition of cinnamates and related alkenes. *Chemical Communications*, 2017. 53(89): p. 12072-12075.
- [62] Lei, T., et al., General and Efficient Intermolecular [2+2] Photodimerization of Chalcones and Cinnamic Acid Derivatives in Solution through Visible-Light Catalysis. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017. 56(48): p. 15407-15410.

- [63] Poplata, S., et al., Recent Advances in the Synthesis of Cyclobutanes by Olefin [2 + 2] Photocycloaddition Reactions. *Chemical Reviews*, 2016. 116(17): p. 9748-9815.
- [64] Lu, Z. and T.P. Yoon, Visible Light Photocatalysis of [2+2] Styrene Cycloadditions by Energy Transfer. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012. 51(41): p. 10329-10332.
- [65] Škopić, M.K., et al., Micellar Brønsted Acid Mediated Synthesis of DNA-Tagged Heterocycles. *Journal of the American Chemical Society*, 2019. 141(26): p. 10546-10555.
- [66] Marco Potowski, et al., Synthesis of DNA-coupled isoquinolones and pyrrolidines by solid phase ytterbium- and silver-mediated imine chemistry. *MedChemComm*, 2019.
- [67] Lepikhina, A., The first solvent-free synthesis of privileged γ - and δ -lactams via the Castagnoli–Cushman reaction. *RSC Advances*, 2016: p. 6.
- [68] Lepikhina, A., et al., Skeletal Diversity in Combinatorial Fashion: A New Format for the Castagnoli–Cushman Reaction. *ACS Combinatorial Science*, 2017. 19(11): p. 702-707.
- [69] Chizhova, M., et al., Unusually Reactive Cyclic Anhydride Expands the Scope of the Castagnoli–Cushman Reaction. *The Journal of Organic Chemistry*, 2018. 83(20): p. 12722-12733.
- [70] Hashimoto, T. and K. Maruoka, Recent Advances of Catalytic Asymmetric 1,3-Dipolar Cycloadditions. *Chemical Reviews*, 2015. 115(11): p. 5366-5412.
- [71] Bakulev, V.A., et al., The Rich Chemistry Resulting from the 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions of Enamines and Azides. *European Journal of Organic Chemistry*, 2018. 2018(3): p. 262-294.
- [72] Roscales, S. and J. Plumet, Metal-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition reactions of nitrile oxides. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2018. 16(44): p. 8446-8461.

- [73] Arrastia, I., A. Arrieta, and F.P. Cossío, Application of 1,3-Dipolar Reactions between Azomethine Ylides and Alkenes to the Synthesis of Catalysts and Biologically Active Compounds. *European Journal of Organic Chemistry*, 2018. 2018(43): p. 5889-5904.
- [74] Fang, X. and C.-J. Wang, Catalytic asymmetric construction of spiropyrrolidines via 1,3-dipolar cycloaddition of azomethine ylides. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2018. 16(15): p. 2591-2601.
- [75] Maclean, D., et al., Encoded combinatorial chemistry: Synthesis and screening of a library of highly functionalized pyrrolidines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997: p. 6.
- [76] Kunig, V.B.K., et al., Isocyanide Multicomponent Reactions on Solid-Phase-Coupled DNA Oligonucleotides for Encoded Library Synthesis. *Organic Letters*, 2019. 21(18): p. 7238-7243.
- [77] Usanov, D.L., et al., Second-generation DNA-templated macrocycle libraries for the discovery of bioactive small molecules. *Nature Chemistry*, 2018. 10(7): p. 704-714.
- [78] Bostro, J., Oxadiazoles in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.*, 2012: p. 14.
- [79] Borg, S., et al., Synthesis of 1,2,4-Oxadiazole-, 1,3,4-Oxadiazole-, and 1,2,4-Triazole-Derived Dipeptidomimetics. *The Journal of Organic Chemistry*, 1995. 60(10): p. 3112-3120.
- [80] Škopić, M.K., et al., Acid- and Au(i)-mediated synthesis of hexathymidine-DNA-heterocycle chimeras, an efficient entry to DNA-encoded libraries inspired by drug structures. *Chemical Science*, 2017. 8(5): p. 3356-3361.
- [81] Shaaban, S. and B.F. Abdel-Wahab, Groebke–Blackburn–Bienaymé multicomponent reaction: emerging chemistry for drug discovery. *Molecular Diversity*, 2015. 20(1): p. 233-254.

- [82] Gerry, C.J., et al., DNA-Compatible [3 + 2] Nitron–Olefin Cycloaddition Suitable for DEL Syntheses. *Organic Letters*, 2019. 21(5): p. 1325-1330.
- [83] Gholami, M.R. and A.H. Yangjeh, Kinetics of 1,3-dipolar cycloaddition reaction between C,N-diphenylnitron and dimethyl fumarate in various solvents and aqueous solutions. 2000: p. 4.
- [84] Gartner, Z.J., M.W. Kanan, and D.R. Liu, Multistep Small-Molecule Synthesis Programmed by DNA Templates. *Journal of the American Chemical Society*, 2002. 124(35): p. 10304-10306.
- [85] Xie, J., et al., A visible-light-promoted aerobic C–H/C–N cleavage cascade to isoxazolidine skeletons. *Chemical Science*, 2013. 4(3).
- [86] Berthet, M., et al., Isoxazolidine: A Privileged Scaffold for Organic and Medicinal Chemistry. *Chemical Reviews*, 2016. 116(24): p. 15235-15283.
- [87] Du, H.-C., et al., Multistep Synthesis of 1,2,4-Oxadiazoles via DNA-Conjugated Aryl Nitrile Substrates. *Bioconjugate Chemistry*, 2019. 30(5): p. 1304-1308.
- [88] Ozcan, S., et al., Oxadiazole-isopropylamides as Potent and Noncovalent Proteasome Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2013. 56(10): p. 3783-3805.
- [89] Gaulton, A., et al., ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery. *Nucleic Acids Research*, 2011. 40(D1): p. D1100-D1107.
- [90] Law, V., et al., DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism. *Nucleic Acids Research*, 2014. 42(D1): p. D1091-D1097.
- [91] de Oliveira, C.S., et al., Synthetic Approaches and Pharmacological Activity of 1,3,4-Oxadiazoles: A Review of the Literature from 2000–2012. *Molecules*, 2012. 17(9): p. 10192-10231.
- [92] Khalilullah, H., et al., 1,3,4-Oxadiazole: A Biologically Active Scaffold. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2012. 12(8): p. 789-801.
- [93] Quadrelli, P. and P. Caramella, Synthesis and Synthetic Applications of 1,2,4-Oxadiazole-4-Oxides. *Current Organic Chemistry*, 2007. 11(11): p. 29.

- [94] Kayukova, L.A., Synthesis of 1,2,4-oxadiazoles. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2005. 39(10): p. 9.
- [95] Abdildinova, A. and Y.-D. Gong, Current Parallel Solid-Phase Synthesis of Drug-like Oxadiazole and Thiadiazole Derivatives for Combinatorial Chemistry. *ACS Combinatorial Science*, 2018. 20(6): p. 309-329.
- [96] Augustine, J.K., et al., PTSA–ZnCl₂: An Efficient Catalyst for the Synthesis of 1,2,4-Oxadiazoles from Amidoximes and Organic Nitriles. *The Journal of Organic Chemistry*, 2009. 74(15): p. 5640-5643.
- [97] Tolmachev, A., et al., Expanding Synthesizable Space of Disubstituted 1,2,4-Oxadiazoles. *ACS Combinatorial Science*, 2016. 18(10): p. 616-624.
- [98] Baykov, S., et al., The first one-pot ambient-temperature synthesis of 1,2,4-oxadiazoles from amidoximes and carboxylic acid esters. *Tetrahedron*, 2017. 73(7): p. 945-951.
- [99] Sharonova, T., et al., Facile room-temperature assembly of the 1,2,4-oxadiazole core from readily available amidoximes and carboxylic acids. *Tetrahedron Letters*, 2018. 59(29): p. 2824-2827.
- [100] Li, H., et al., Inverse-Electron-Demand Diels–Alder Reactions for the Synthesis of Pyridazines on DNA. *Organic Letters*, 2018. 20(22): p. 7186-7191.
- [101] Schoch, J., et al., Site-Specific One-Pot Dual Labeling of DNA by Orthogonal Cycloaddition Chemistry. *Bioconjugate Chemistry*, 2012. 23(7): p. 1382-1386.
- [102] Šečkutė, J., J. Yang, and N.K. Devaraj, Rapid oligonucleotide-templated fluorogenic tetrazine ligations. *Nucleic Acids Research*, 2013. 41(15): p. e148-e148.
- [103] Asare-Okai, P.N., et al., Site-specific fluorescence labelling of RNA using bio-orthogonal reaction of trans-cyclooctene and tetrazine. *Chem. Commun.*, 2014. 50(58): p. 7844-7847.
- [104] Rieder, U. and N.W. Luedtke, Alkene-Tetrazine Ligation for Imaging Cellular DNA. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014. 53(35): p. 9168-9172.

- [105] George, J.T. and S.G. Srivatsan, Vinyluridine as a Versatile Chemoselective Handle for the Post-transcriptional Chemical Functionalization of RNA. *Bioconjugate Chemistry*, 2017. 28(5): p. 1529-1536.
- [106] Wermuth, C.G., Are pyridazines privileged structures? *MedChemComm*, 2011. 2(10): p. 935-941.
- [107] Jaballah, M., R. Serya, and K. Abouzid, Pyridazine Based Scaffolds as Privileged Structures in anti-Cancer Therapy. *Drug Research*, 2017. 67(03): p. 138-148.
- [108] Lu, X., et al., Ruthenium Promoted On-DNA Ring-Closing Metathesis and Cross-Metathesis. *Bioconjugate Chemistry*, 2017. 28(6): p. 1625-1629.
- [109] Lin, Y.A. and B.G. Davis, The allylic chalcogen effect in olefin metathesis. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2010. 6: p. 1219-1228.
- [110] Lin, Y.A., et al., Rapid Cross-Metathesis for Reversible Protein Modifications via Chemical Access to Se-Allyl-selenocysteine in Proteins. *Journal of the American Chemical Society*, 2013. 135(33): p. 12156-12159.
- [111] Lin, Y.A., et al., Allyl Sulfides Are Privileged Substrates in Aqueous Cross-Metathesis: Application to Site-Selective Protein Modification. *Journal of the American Chemical Society*, 2008. 130(30): p. 9642-9643.
- [112] Lin, Y.A., J.M. Chalker, and B.G. Davis, Olefin Cross-Metathesis on Proteins: Investigation of Allylic Chalcogen Effects and Guiding Principles in Metathesis Partner Selection. *Journal of the American Chemical Society*, 2010. 132(47): p. 16805-16811.
- [113] Klika Škopić, M., et al., Exploration of a Au(i)-mediated three-component reaction for the synthesis of DNA-tagged highly substituted spiroheterocycles. *Org. Biomol. Chem.*, 2017. 15(40): p. 8648-8654.

- [114] Galloway, W.R.J.D., A. Isidro-Llobet, and D.R. Spring, Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules. *Nature Communications*, 2010. 1(1).
- [115] Kodadek, T., The rise, fall and reinvention of combinatorial chemistry. *Chemical Communications*, 2011. 47(35).
- [116] Fan, L. and C.P. Davie, Zirconium(IV)-Catalyzed Ring Opening of on-DNA Epoxides in Water. *ChemBioChem*, 2017. 18(9): p. 843-847.
- [117] Jacobsen, E.N., Asymmetric Catalysis of Epoxide Ring-Opening Reactions. *Accounts of Chemical Research*, 2000. 33(6): p. 421-431.
- [118] Moghadam, M., et al., Highly Efficient Aminolysis of Epoxides Catalyzed by Reusable Zirconyl Triflate, ZrO(OTf)₂. *Synthetic Communications*, 2009. 39(3): p. 552-561.
- [119] Ding, Y., et al., Design and Synthesis of Biaryl DNA-Encoded Libraries. *ACS Combinatorial Science*, 2016. 18(10): p. 625-629.
- [120] Vaccaro, L., et al., Zr(DS)₄ as an Efficient Catalyst for the Aminolysis of Epoxides in Water. *Synlett*, 2007. 2007(17): p. 2683-2686.
- [121] Satz, A.L., et al., DNA Compatible Multistep Synthesis and Applications to DNA Encoded Libraries. *Bioconjugate Chemistry*, 2015. 26(8): p. 1623-1632.
- [122] Chong, C.R., et al., A clinical drug library screen identifies astemizole as an antimalarial agent. *Nature Chemical Biology*, 2006. 2(8): p. 415-416.
- [123] Mandal, P., et al., RIP3 Induces Apoptosis Independent of Pronecrotic Kinase Activity. *Molecular Cell*, 2014. 56(4): p. 481-495.
- [124] Mukhopadhyay, C. and P.K. Tapaswi, Dowex 50W: A highly efficient and recyclable green catalyst for the construction of the 2-substituted benzimidazole moiety in aqueous medium. *Catalysis Communications*, 2008. 9(14): p. 2392-2394.
- [125] Ding, Y., et al., Development and Synthesis of DNA-Encoded Benzimidazole Library. *ACS Combinatorial Science*, 2018. 20(5): p. 251-255.

- [126] Su, L., et al., Synthesis of Multifunctional 2-Aminobenzimidazoles on DNA via Iodine-Promoted Cyclization. *Organic Letters*, 2020. 22(4): p. 1290-1294.
- [127] Wang, X.-J., et al., Asymmetric Synthesis of LFA-1 Inhibitor BIRT2584 on Metric Ton Scale. *Organic Process Research & Development*, 2011. 15(5): p. 1185-1191.
- [128] Barrow, J.C., et al., Design and Synthesis of 2,3,5-Substituted Imidazolidin-4-one Inhibitors of BACE-1. *ChemMedChem*, 2007. 2(7): p. 995-999.
- [129] Bergman, A.W.a.J., Synthesis and Reactions of some 2-Vinyl-3H-quinazolin-4-ones. *Tetrahedron Letters*, 2000. 56: p. 7245–7253.
- [130] Chaulet, C., et al., Design, synthesis and biological evaluation of new thalidomide analogues as TNF- α and IL-6 production inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2011. 21(3): p. 1019-1022.
- [131] Potewar, T.M., S.A. Ingale, and K.V. Srinivasan, Catalyst-free efficient synthesis of 2-aminothiazoles in water at ambient temperature. *Tetrahedron*, 2008. 64(22): p. 5019-5022.