

Fragment-Based Drug Discovery : その概念と狙い

田中大輔

Fragment-based Drug Discovery: Concept and Aim

Daisuke TANAKA

*Chemistry Research Laboratories, Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.,
3-1-98 Kasugade-naka, Konohana-ku, Osaka 554-0022, Japan*

(Received September 1, 2009)

Fragment-Based Drug Discovery (FBDD) has been recognized as a newly emerging lead discovery methodology that involves biophysical fragment screening and chemistry-driven fragment-to-lead stages. Although fragments, defined as structurally simple and small compounds (typically <300 Da), have not been employed in conventional high-throughput screening (HTS), the recent significant progress in the biophysical screening methods enables fragment screening at a practical level. The intention of FBDD primarily turns our attention to weakly but specifically binding fragments (hit fragments) as the starting point of medicinal chemistry. Hit fragments are then promoted to more potent lead compounds through linking or merging with another hit fragment and/or attaching functional groups. Another positive aspect of FBDD is ligand efficiency. Ligand efficiency is a useful guide in screening hit selection and hit-to-lead phases to achieve lead-likeness. Owing to these features, a number of successful applications of FBDD to “undruggable targets” (where HTS and other lead identification methods failed to identify useful lead compounds) have been reported. As a result, FBDD is now expected to complement more conventional methodologies. This review, as an introduction of the following articles, will summarize the fundamental concepts of FBDD and will discuss its advantages over other conventional drug discovery approaches.

Key words—fragment-based drug discovery; fragment screening; lead-likeness; ligand efficiency; rule of three; chemical space

1. はじめに

Fragment-Based Drug Discovery (FBDD)^{1,2)} が実質的に誕生したのは、今から十数年ほど前のことである。その後、一部の海外製薬会社と医薬ベンチャーにより基盤技術と方法論が成熟化され、現在ではほとんどの大手製薬会社が FBDD の運用体制を整えている。FBDD の概念を一言で表すなら「薬理活性は弱い効率よく結合している小さな分子 (フラグメント) を見つけ出し、これを出発点とする創薬方法論」と考えられる。そしてその特徴として、1) 従来のリード探索手法が無効に終わった標的タンパクへの対応、2) 質のよいリードらしいリード化合物の取得、3) スピーディーな研究進捗、な

どが期待されている。その一方で、創薬現場で活用されている他の技術・方法論と同様に、FBDD は万能な「打ち出の小槌」ではなく、(少なくとも現時点では) その適用範囲などいくつかの制限がある。そういった意味からも、FBDD は high-throughput screening (HTS) など従来のリード探索手法を凌駕するものではなく、それらとは相補的な存在と捉えるべきである。従来のリード探索手法と同時平行的な FBDD の実施が推奨されており、多くの製薬会社が実際に選んだ運用体制でもある。

FBDD が持つ本来の力を十分に発揮させ、従来の手法とのシナジーによる有機的なリード探索を実行するためには、利点と弱点を含めた FBDD の本質を十分に理解することが非常に重要である。そこで本稿では、上述した FBDD の定義に含まれるいくつかのキーワードを切り口にして、以下に列挙した順序で FBDD の概念と狙いを解説する。この誌上シンポジウムでは、本稿に続いてフラグメントを

大日本住友製薬株式会社化学研究所 (〒554-0022 大阪市此花区春日出中 3-1-98)

e-mail: daisuke-tanaka@ds-pharma.co.jp

本総説は、日本薬学会第 129 年会シンポジウム S29 で発表したものを中心に記述したものである。

見出すための各種スクリーニング技術などについて詳しく解説される。本稿がそれらへの導入としての役割を果たし、FBDDを理解するための参考になれば幸いである。

- ◆ 薬理活性の弱い小さな分子であるフラグメントが、なぜ創薬の出発点として魅力的なのか。
- ◆ フラグメントの効率のよい結合とはどんなものなのか、そしてどうやって評価できるのか。
- ◆ 薬理活性の弱いフラグメントからリード化合物へのメディスナルケミストリーとはいかなるものか。

2. 小さな分子に着目する理由

小さな分子であるフラグメントを集めた化合物ライブラリー(フラグメントライブラリー)をスクリーニングした場合、ケミカルスペース (chemical space)³⁾の網羅性が高いことが第一に挙げられる。ケミカルスペースは、元素の種類とそれらの数・組み合わせから導かれる仮想分子(実在の分子も含まれる)に満たされた三次元空間である。ここで、医薬品を考慮し数種の元素と分子量500以下の化合物に限定したケミカルスペースは、 10^{60} くらいの化合物で満たされる空間になると言われている。大手製薬会社のHTS用化合物ライブラリーは多くて数百万化合物すなわち 10^6 オーダー、CAS登録番号は最大で10桁すなわち 10^{10} となる。全く比較にならない小ささである。ケミカルスペースは、原子数すなわち分子量の増大に伴って指数関数的に膨れ上がる。逆に言えば、分子量を小さく制限すれば、そのケミカルスペースは非常に小さくなる。例えば、仮に医薬品の平均的な分子量である340に制限すると、そのケミカルスペースは 10^{27} 程度、分子量を150まで小さくすると 10^9 程度まで縮小すると言われている。これならば、通常取り扱うことのできるサイズ (10^3 - 10^6) の化合物ライブラリーでもケミカルスペースの網羅性はかなり高くなると考えられる。すなわち、小さな分子に限定すれば比較的小規模の化合物ライブラリーのスクリーニングでも、有効なヒットを得る可能性が高いことを示している。

小さくシンプルな分子は、タンパク質表面に存在する小さなポケットを丹念に探索することができるだろう。そして、タンパク質と結合親和性を示すものは、その小さな分子で目いっぱい相互作用をしていると想像できる (Fig. 1)。一方、リード探索

を目的にしているにもかかわらず、lead-like⁴⁾ というよりもむしろ drug-like⁴⁾ な化合物をスクリーニングしている従来のHTSでは、このようなタンパク質表面の丹念な探索や効率的な相互作用が見い出される確率は低いと想像できる。

やや抽象的な話になったが、Hannらはシミュレーション研究によって同様の見解を発表している。⁵⁾ それによると、化合物と任意のタンパク質の相互作用をスクリーニングによって検出できる確率は、分子が大きくなるにつれて高くなる (Fig. 2, line a)。一方、化合物がタンパク質と特異的な相互作用をする確率は小さくシンプルな分子サイズで極大を迎え、複雑で大きなサイズの分子ではその確率は低くなる (Fig. 2, line b)。これは、フラグメントは標的タンパク質と特異的な結合をする率が高く、逆に大きく複雑な分子は特異性の低い相互作用で結合親和性を担っている可能性が高いことを示している。

従来のリード探索法における中心的存在はHTSである。一般的にHTSで見い出される化合物は、分子量にして300前後から500前後、活性は数十マイクロMから数十ナノMといったところに分布す

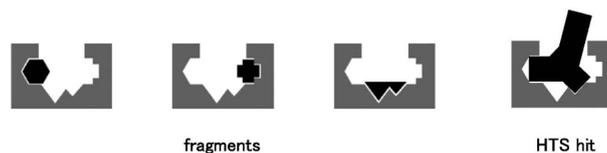


Fig. 1. Images of Interactions between Protein and Fragment or HTS Hit

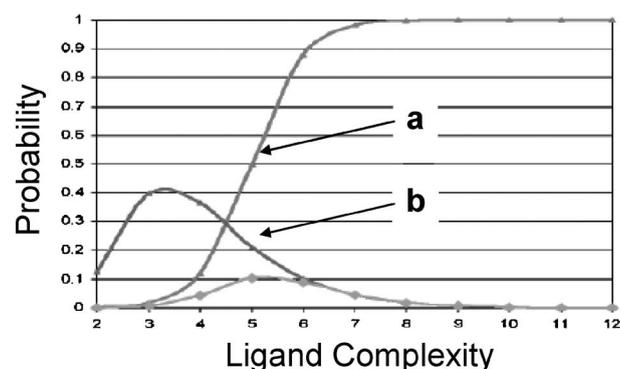


Fig. 2. Probability of Specific or Non-specific Interaction between Ligand and Protein

a) probability of measuring interaction; b) probability of specific interaction. (adapted from ref. 5 with permission, and altered)

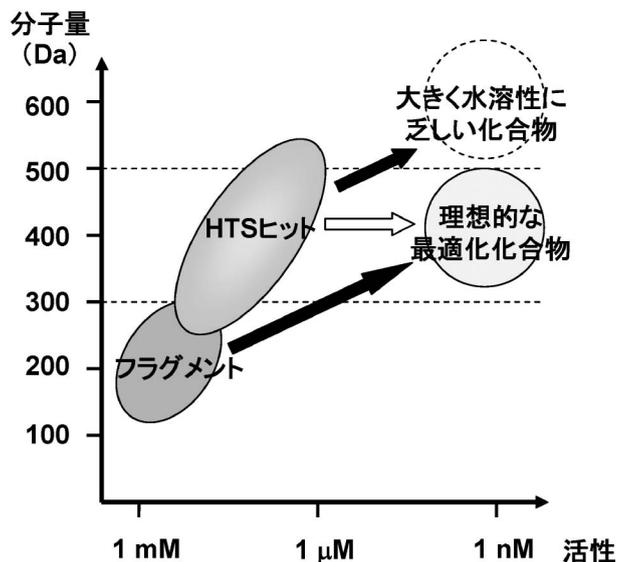


Fig. 3. Schematic Representation of the Relation between Biological Activity and Molecular Mass

るだろう (Fig. 3). その中でも、分子量がより大きなところに薬理活性の強いヒット化合物が見い出されることが多いのが実情である。そしてここから、構造修飾をデザインし、それを合成することによって、薬理活性や選択性の向上を試みることになる。しかし、この過程では多くのケースで分子量と脂溶性 (lipophilicity) の増大が伴うことが知られており、結果的に医薬品として (あるいはそのリードとして) 好ましくない「分子サイズが大きく、脂溶性が著しく高く、水溶性の乏しい化合物」に行き着き易い。Lipinskiによって警鐘が鳴らされているように、これらは経口吸収性低下のリスク要因である (Rule of Five)⁶⁾。さらには、脂溶性の高い化合物は、生体内の様々な分子に作用し、思わぬ副作用リスクを高めてしまうことも知られている。⁷⁾ また、合理的な考察から実際に合成する化合物数の抑制に寄与する Structure-Based Drug Design (SBDD) であっても、多くの場合、新たな相互作用の獲得すなわち分子サイズを増大する方向の提案が多いのが現実である。それならば、もっと小さな分子からメディシナルケミストリーを始めればよさそうである。上述した小さな分子の利点を活かしつつ、分子量の増大が許された自由度の高いメディシナルケミストリーによって、効率的な活性増大が期待できる (Fig. 3)。

では、フラグメントとは実際にどういったものを

Table 1. Comparison of Rule of Five and Rule of Three

	Rule of Five	Rule of Three
分子量	< 500	< 300
水素結合供与体数	≤ 5	≤ 3
水素結合受容体数	≤ 10	≤ 3
cLogP	≤ 5	≤ 3
回転可能結合数	≤ 10	≤ 3
極性表面積 (Å ²)	≤ 140	≤ 60

指すのか紹介したい。フラグメントは、Rule of Five に模した Rule of Three⁸⁾ で定義されるのが一般的である (Table 1)。Rule of Five と比較すると小さく脂溶性を抑えたものであることがわかる。しかし、フラグメントとは、この Rule of Three のみに限定定義されることなく、分子量が小さく、構造的にシンプルで、ある程度の水溶性のある分子と理解しても差し支えないだろう。ここでフラグメントの水溶性だが、これを実測しライブラリー構築のための重要なクライテリアにする傾向が強まっている。この水溶性に関する強い意識は、第一にはフラグメントスクリーニング (後述) のためだが、医薬品分子のコア構造となり得るフラグメントに水溶性があること、少なくとも過度の脂溶性がはじめから避けられているのは、FBDD の隠れた利点の 1 つと考えられる。

3. 弱い結合親和性から結合の効率を判断するには

次のグラフは、化合物が発揮し得る最大限の阻害活性が、その分子サイズ (ここでは重原子数で表現) に依存することを示している (Fig. 4)。Reynoldsらは、さまざまな標的タンパクに対する阻害剤を重原子数毎に分類し、それぞれで最も強い阻害活性 (IC₅₀) をグラフに示した。⁹⁾ 重原子数で 20 から 40 個くらいの分子サイズ (lead-like から drug-like な化合物サイズ) ではナノ M の強い阻害活性が期待できる。しかし、フラグメントに対応する分子サイズ (重原子数で 20 個未満) を見ると、それよりも大きな分子に比べて急激に活性が低下することがわかる。このデータは知られている最大の阻害強度に基づいており、実際のスクリーニングでは遥かに低値の化合物を対象にしなければならないことは容易に予想できる。小さな分子であるフラグメントは、

標的タンパクに特異的に効率よく結合するだろうが、通常その結合親和性は非常に弱いことを当然のこととして覚悟しておかなければならない。

実際、フラグメントの薬理活性は弱く、解離定数 (K_d) や IC_{50} にして数ミリ M から数十マイクロ M 程度である。このような弱い活性を従来の生化学的なスクリーニングで検出するには高濃度の化合物溶液 (水-ジメチルスルホキシド系) を用いる必要が

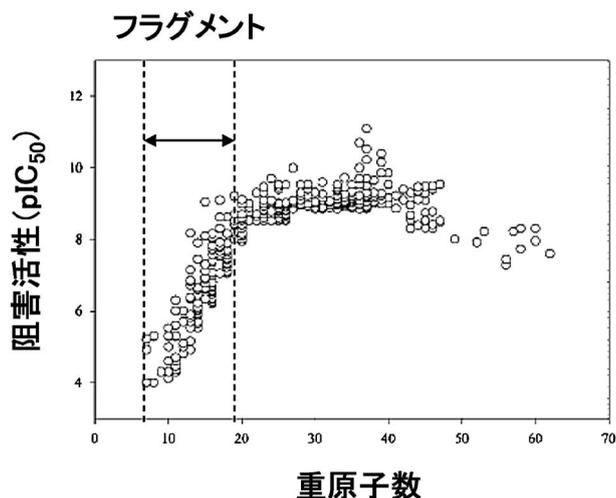


Fig. 4. Relation between Molecular Size and Biological Activity

Only the most potent inhibitors at each molecular size are plotted. (adapted from ref. 9 with permission, and altered)

ある。しかし、化合物の水溶性不足による析出・沈殿、化学凝集、¹⁰⁾ 化合物自体の吸光性や蛍光性、あるいは多量のジメチルスルホキシドの影響などにより評価の信頼性を損なってしまう。そこで FBDD では、より鋭敏な生物物理学的な観測機器を用いた評価法を活用し、化合物による標的タンパク質の機能修飾 (例えば阻害能) ではなく、化合物と標的タンパク質の結合親和性を評価する (affinity-based screening)。代表的な手法を Fig. 5 にまとめたが、実測のスクリーニング法 (*in silico* を除く) は、いずれも水系のメディアで測定が行われる。したがって、生化学的な手法よりも評価濃度を低めに設定できるものの、フラグメントには最低限の水溶性が求められ、スクリーニングの精度を確保するための重要な要素となる。また、これらのスクリーニングには精製されたタンパク質の安定入手が必要であり、選択するスクリーニング手法によってはその消費量が大きい。したがって、安定入手ができない標的タンパク質では、FBDD の実施が困難となる (FBDD の弱点)。各スクリーニング手法に関連した近年の著しい技術進歩が FBDD を可能にしたと言えるが、それぞれが一長一短を持つためフラグメントスクリーニングでは複数をもよく組み合わせることが重要である。それらの詳細に関しては、後続の解説

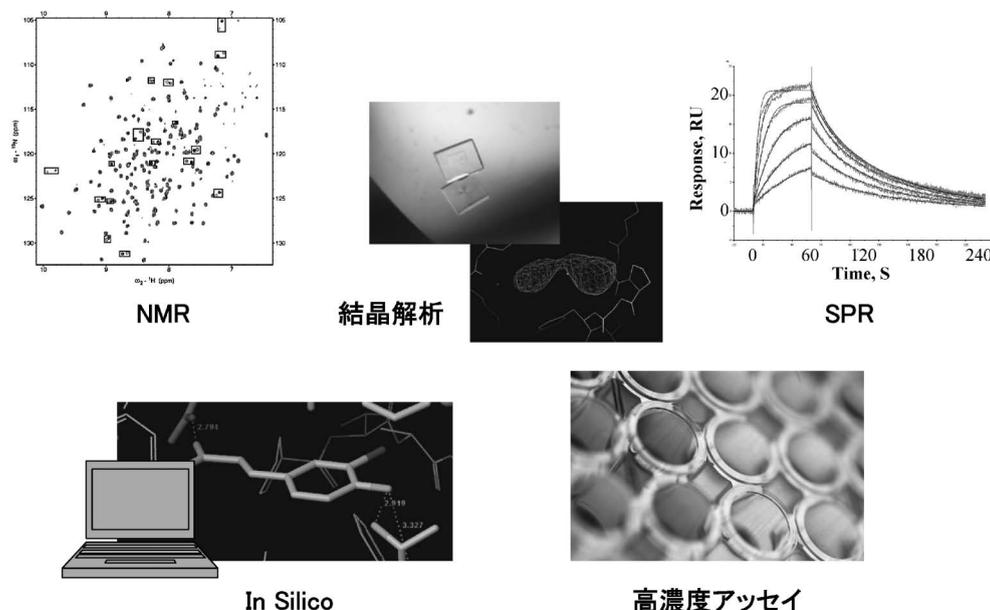


Fig. 5. Representatives of Fragment Screening Methods

NMR, crystallography, and surface plasmon resonance (SPR) are the biophysical ones. *In silico* virtual screening is also frequently used, prior to the biophysical actual measurements, to construct focused fragment library. High-concentration bioassay may be used for targets to which the biophysical methods are inapplicable, albeit risks for high frequency of false positive and negative.

を参照願いたい。

フラグメントの効率的な結合を模式図で示したが (Fig. 1), 効率性の定量法が提案されている。ある同一タンパク質に結合することが見出された2つのフラグメント (1 及び 2) は構造的な違いにもかかわらず共通の結合ポケットに類似の様式で結合することが確認されていた (Fig. 6).¹¹⁾ 阻害活性 (IC_{50}) はそれぞれ $185 \mu\text{M}$, $120 \mu\text{M}$ で、若干だがスルホンアミド 2の方が強い阻害活性を示している。スクリーニングヒットのバリデーション段階では、この活性差が有意なものとは判断しないのが通常だが、活性値を一見しただけではやはり 2 に興味が惹かれるかもしれない。しかし、この両者の比較において、結合の効率を定量する「LEI」を算出した結果、より優れたフラグメントは阻害活性の弱いベンズピラゾール 1 となり、実際にメディシナルケミストリーの出発物質として選択された。

結合の効率の定量には、リガンド効率 (ligand efficiency) が提唱されている。ヒットフラグメントの活性と分子サイズを比較し、結合の効率を評価するものである。薬理活性 (結合親和性) を表現する記述子と化合物の大きさを示す記述子の比で表される。これをヒットフラグメント間で相対評価することにより、効率よく結合しているフラグメントを見定めることができる。用いる記述子の違いによっていくつか提案されているが、最も汎用されるのがリガンド効率指数 (ligand efficiency index, LEI) である。¹²⁾ 結合自由エネルギー (ΔG) と重原子数 (分子に含まれる水素以外の原子数) を記述子として用いる。結合自由エネルギーは K_d や IC_{50} 値から近似的に計算されるのが一般的であるが、結合自由

エネルギーよりももっと身近な記述子で表現する提案もなされている。¹³⁾ それらが下記のパーセント阻害効率指数 (percent efficiency index, PEI), 結合効率指数 (binding efficiency index, BEI), 表面結合効率指数 (surface-binding efficiency index, SEI) である。使用される場面や注目したい特性を考え、使用する記述子を選んでよいだろう。

- リガンド効率指数 (Ligand Efficiency Index) :

$$LEI = \frac{\text{自由エネルギー } (\Delta G)}{\text{水素以外の原子数}}$$

- パーセント効率指数 (Percent Efficiency Index) :

$$PEI = \frac{\text{阻害活性 } (\% \text{ inhibition})}{\text{分子量 (kDa)}}$$

- 結合効率指数 (Binding Efficiency Index) :

$$BEI = \frac{\text{活性 } (pK_i, pK_d, pIC_{50})}{\text{分子量 (kDa)}}$$

- 表面結合効率指数 (Surface-binding Efficiency Index) :

$$SEI = \frac{\text{活性 } (pK_i, pK_d, pIC_{50})}{\text{極性表面積 } (\text{\AA}^2)}$$

ここでは詳しくは述べないが、最近リガンド効率をもとにした様々な発展型が考案され、それぞれの有用性が議論されている。例えば、分子量と薬理活性 (結合親和性) から表される BEI と極性表面積を用いることにより細胞膜透過性が加味された SEI, この両者のバランスの重要性を訴える提案がある。¹³⁾ ほかにも、LEI が分子サイズの影響を受ける弱点を指摘し、これを補正した fit quality,⁹⁾ そしてこの fit quality よりも実際のデータによく合致する percentage LEI¹⁴⁾ などが提案されている。いずれを使用するにせよ、高い指数が有望なヒットフラグメントを見極める重要な判断基準の1つになる。

「薬理活性は弱い効率的に結合している小さな分子に注目する」という FBDD の最も重要なエッセンスは、このリガンド効率なしには語ることができない。薬理活性の弱いフラグメントを見つけ出す技術論やフラグメント同士をつなぎ合わせる手法だけで FBDD が議論されることもあるが、上記のエッセンスはリガンド効率という概念に支えられていると筆者は考えている。また、この考え方は FBDD のみに止まらず、メディシナルケミストリー全般で活用できる概念である。

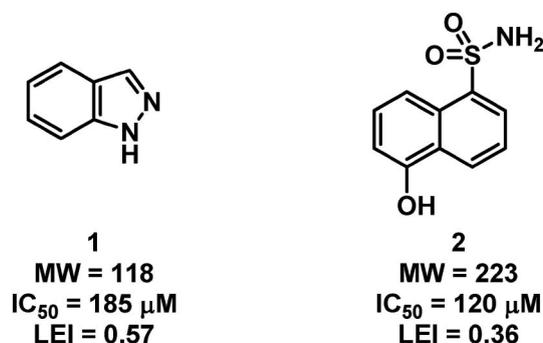


Fig. 6. Comparison of Biological Activity and Ligand Efficiency of Hit Fragments

4. フラグメントからリードへ

こうして厳選されたフラグメントをメディシナルケミストリーの出発点とする。この行程ではフラグメントとタンパクの結合に関する構造情報に基づく展開、すなわち SBDD による合理的展開が有用であり、FBDD の特徴の 1 つである「スピーディーな研究の進捗」は SBDD の支援によるものが大きい。逆に言えば、SBDD の支援が得られ難い場合、この FBDD の特徴が発揮され難いと予想でき、FBDD の適用限界とも言えるだろう。

フラグメントからリードへの合成展開には大きく分けて 3 つの手法がある。Fragment-linking は、互いに近傍に位置するポケットに同時に結合し得るフラグメントを見出し、それらを適切なリンカーでつなぎ合わせる手法である (Fig. 7)。Fragment-merging は、一見 fragment-linking に似ているが、2 つのフラグメントはその結合部位を一部共有するため、結合に関して互いに拮抗し、同時に結合することはない。そのため両者の構造の一部を重ね合わせたドラッグデザインを行うものである。Fragment growth は、フラグメントから通常のメディシナルケミストリーを展開するものだが、効率よく結合し水溶性も意識されているフラグメントはリード骨格のコア構造として好ましく、クオリティーの高いリードへ展開し易いと考えられている。これらを厳密に区別することには大きな意味はなく、これらを効果的に組み合わせることを考察すべきである。また、ヒットフラグメントの最適化はかならず必要

Fragment-linking



Fragment-merging



Fragment growth

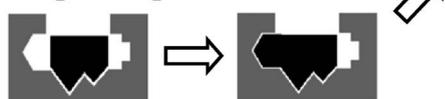


Fig. 7. Schematic Explanation of Fragment-to-lead Tactics

で fragment growth は FBDD に常に包含されている。

Hajduk らによって報告された matrix metalloproteinase stromelysin (MMP-3) 阻害剤研究では、ヒドロキサム酸 **3** とビフェニル **4** とをメチレンをリンカーとした fragment-linking を行うことにより大きな活性向上を実現している [Fig. 8(a)].¹⁵⁾ このためには、フラグメントの結合様式に関する詳細な構造情報をつかむことが鍵となる。この fragment-linking をもって、FBDD が語られることが多いのだが、実はこのアプローチは言うほど簡単ではない。なぜなら、同時に結合し得るフラグメントペアの結合様式を変えずリンカーでつなぎ合わせるものが、なかなか難しいことが挙げられる。実際、報告されている FBDD 研究の中で fragment-linking の数は多くない。筆者ら独自の研究においても、同時に結合するフラグメントペアを見出すことはできたが、それらの fragment-linking は断念した経験がある。¹⁶⁾ この難題の克服への取り組みは、このあとの古谷らによる解説を参照願いたい。

一方、fragment-merging は、fragment-linking に比べるとより実現的な手法であろう。結合ポケットを共有する分子は、その部分で構造的な相似を伴う場合が比較的多くみられ、マーキング (merging) すなわちハイブリッド化デザインがし易いと言える。また、マーキングはフラグメントペアとだけではなく、HTS ヒットなど既知のリガンドなどと実施することが非常に有効な手段となり得る。筆者ら独自の試みにおいても、ヒットフラグメントと既知の阻害剤との fragment-merging が非常に効果的に機能し、非常に短期間のうちに強力な阻害活性と構造的新規性を持った化合物を手にすることができた。¹⁶⁾ 例示した urokinase 阻害剤のケースでは、フラグメント **6** のキノリン部と **7** のナフタレン部を重ね合わせる fragment-merging によって生物学的利用能 (bioavailability) の改善が行われており、活性向上のほか薬物動態改善にも FBDD が寄与できる一例である [Fig. 8(b)].¹⁷⁾

最も報告例が多く現実的なアプローチは、fragment growth である。上述したように、フラグメントから通常のメディシナルケミストリーを展開する。p38 kinase 阻害剤の例では、1 mM 程度の弱いフラグメント **9** から、5 員環の構造を微妙に変化させながら、官能基を付加し、サブマイクロ M のリード

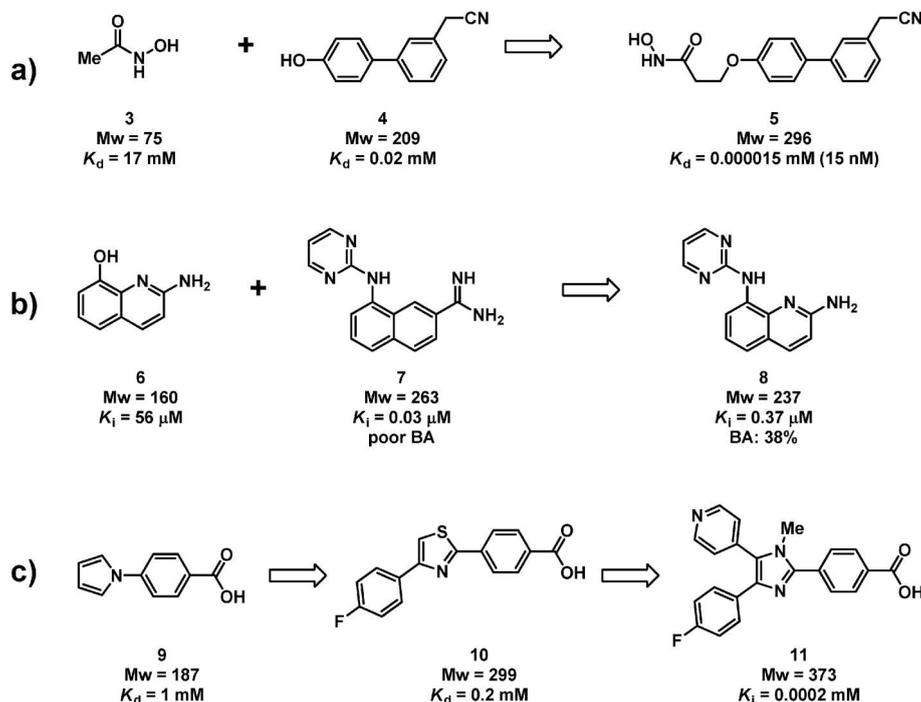


Fig. 8. Examples of Each Fragment-to-lead Tactic

a) fragment-linking; b) fragment-merging; c) fragment growth.

11を得ている [Fig. 8(c)].¹⁸⁾ フラグメントは構造的にシンプルなため、市販品や簡便な合成により類縁化合物を入手し易い。この例にもあるように、ヒットフラグメントの薬理活性は弱いですが、そこから2, 3桁の活性向上が非常に素早く実現できるケースは珍しくない。

最後に、実際のFBDD研究ではこれらの手法を織り交ぜて実施されるという例を紹介しておきたい (Fig. 9)。Howardらによるトロンピン阻害剤への適用例では、まず最初にフラグメントスクリーニングで得られたアミノアルコール **12** から、fragment growthによって活性が高められた **13** が得られている。¹⁹⁾ 続いて、トロンピンのリガンド結合部位でこの **13** とともに近傍に結合するフラグメント **14** 及び **15** から展開された。 **13** と **14** からは互いのアミノ基を重ね合わせる fragment-merging が施され **16** が、 **13** と **15** からはメチレンをリンカーとする fragment-linking によって **17** が得られている。創薬難度の高い標的タンパク質のため分子サイズが若干大きくなったのは残念だが、 **13** と比較してそれぞれ55倍、8600倍の活性向上を実現している。この例では結晶解析によるわずか80個のフラグメントスクリーニングと40個未満の化合物合成により、100

μM程度の弱い阻害活性を1.4 nMにまで引き上げたと強調されており、その効率のよさには目を見張るものがある。

5. まとめ

FBDDの背景にある基盤概念をまとめると以下のようなになる。

- ◆ 比較的小規模のライブラリーであっても、フラグメントスクリーニングによるケミカルスペースの網羅性はHTSによるそれと比べて高い。
- ◆ 標的タンパク質に対するフラグメントの結合親和性は弱いですが、結合自体の効率をよく、これはリガンド効率で評価できる。
- ◆ 薬理活性の弱いフラグメントを出発点にしても、自由度の高いメディシナルケミストリーによって活性の向上をスピーディーに実現できる。

各種スクリーニング手法など現代の創薬現場にあるあらゆる技術、SBDDなど汎用される各種創薬方法論、リガンド効率や結合様式などフラグメントから得られる情報、Rule of FiveやHannの解析など統計学的に解析された経験、FBDDはこれらの統合により推進されるリード探索手法である。また

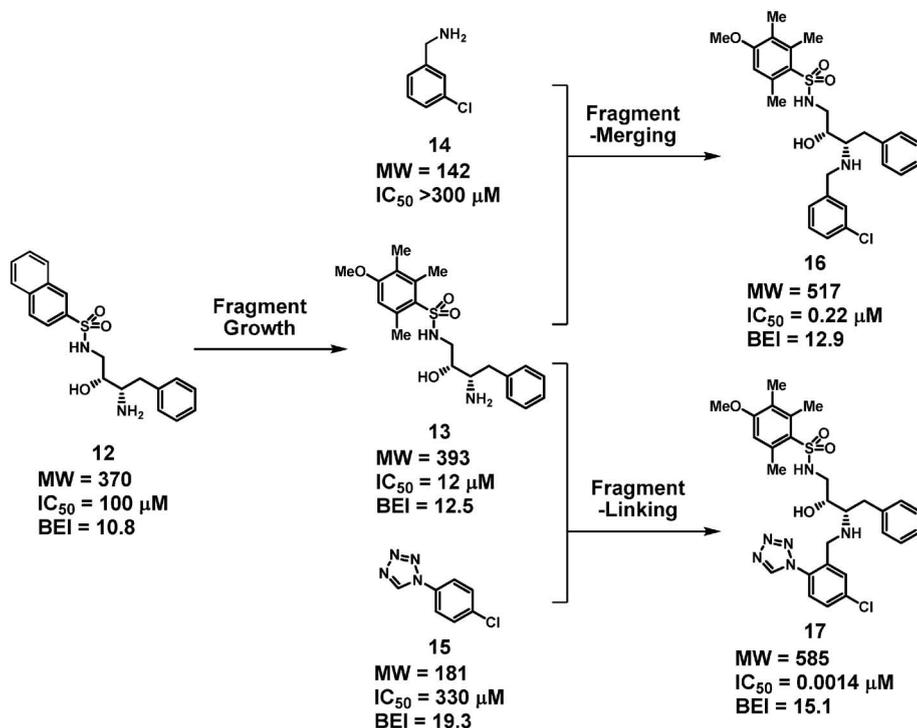


Fig. 9. Fragment-to-lead Tactics in Practice

冒頭にも述べたように、FBDDは従来のリード探索手法と相補的なものであり、それらとのシナジーを模索すべきものである。FBDDが独善的に存在するのではなく、従来のリード探索手法への付加として総合力を高め、これからの創薬研究の加速と成功確度の向上を図る、これがFBDDの狙いである。

REFERENCES

- 1) "Fragment-based Approaches in Drug Discovery," ed. by Jahnke W., Erlanson D. A., Wiley-VCH, Weinheim, 2006.
- 2) de Kloe G. E., Bailey D., Leurs R., de Esch I. J. P., *Drug Discov. Today*, **14**, 630–646 (2009).
- 3) Bohacek R. S., McMartin C., Guida W. C., *Med. Res. Rev.*, **16**, 3–50 (1996).
- 4) Hann M. M., Oprea T. I., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **8**, 255–263 (2004).
- 5) Hann M. M., Leach A. R., Harper G., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **41**, 856–864 (2001).
- 6) Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeny P. J., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **46**, 3–26 (2001).
- 7) Leeson P. D., Springthorpe B., *Nature Rev. Drug Discov.*, **6**, 881–890 (2007).
- 8) Congreve M., Carr R., Murry C., Jhoti H., *Drug Discov. Today*, **8**, 876–877 (2003).
- 9) Reynolds C. H., Tounge B. A., Bembenek S. D., *J. Med. Chem.*, **51**, 2432–2438 (2008).
- 10) Coan K. E. D., Shoichet B. K., *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 9606–9612 (2008).
- 11) Wyatt P. G., Woodhead A. J., Berdini V., Boulstridge J. A., Carr M. G., Cross D. M., Davis D. J., Devine L. A., Early T. R., Feltell R. E., Lewis E. J., McMenamin R. L., Navarro E. F., O'Brien M. A., O'Reilly M., Reule M., Saxty G., Seavers L. C. A., Smith D.-M., Squires M. S., Trewartha G., Walker M. T., Woolford A. J.-A., *J. Med. Chem.*, **51**, 4986–4999 (2008).
- 12) Hopkins A. L., Groom C. R., Alex A., *Drug Discov. Today*, **9**, 430–431 (2004).
- 13) Abad-Zapatero C., Metz J. T., *Drug Discov. Today*, **10**, 464–469 (2005).
- 14) Orita M., Ohno K., Niimi T., *Drug Discov. Today*, **14**, 321–328 (2009).
- 15) Hajduk P. J., Sheppard G., Nettlesheim D. G., Olejniczak E. T., Shuker S. B., Meadows R. P., Steinman D. H., Carrera Jr. G. M., Marcotte P. A., Severin J., Walter K., Smith H., Gubbins E., Simmer R., Holzman T. F., Mor-

- gan D. W., Davidsen S. K., Summers J. B., Fesik S. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 5818–5827 (1997).
- 16) unpublished data.
- 17) Nienaber V. L., Richardson P. L., Klighofer V., Bouska J. J., Giranda V. L., Greer J., *Nat. Biotechnol.*, **18**, 1105–1108 (2000).
- 18) Fejzo J., Lepre C. A., Peng J. W., Bemis G. W., Ajay, Murcko M. A., Moore J. M., *Chem. Biol.*, **6**, 755–769 (1999).
- 19) Howard N., Abell C., Blakemore W., Chesari G., Congreve M., Howard S., Jhoti H., Murray C. W., Seavers L. C. A., van Montfort R. L. M., *J. Med. Chem.*, **49**, 1346–1355 (2006).