

コンビナトリアル化学

Combinatorial Chemistry

工 藤 一 秋*

Kazuaki KUDO

最近の製薬化学の分野では、リード化合物を発見したりそれを最適化したりするための簡便な方法として、コンビナトリアル化学への関心が急速に高まってきている。コンビナトリアル化学とは、類似構造を持つ化合物の集合体である化学ライブラリを合成し、活性を調べ、構造を解析する方法論についての化学である。本稿では、ペプチドおよび非ペプチド低分子のライブラリに関する研究から、製薬化学以外の分野へのコンビナトリアル化学の展開までを、いくつかのトピックスを交えて解説する。

1. はじめに

最近の新薬の創成研究における興味を中心は、リード化合物(目的とする薬理活性をもつ化合物)を見いだすための化学ライブラリをいかに作り出すか、というところにある。化学ライブラリとは、活性のスクリーニングに供することを目的として化学的ないしは生化学的に作られた、いくつかのビルディングブロックが連結した構造を持つ化合物の集合体のことであり、同一骨格であるが異なる置換基を持った多数の化合物よりなる。

これに関して、1990年代に入ってから論文等でよく目にするようになってきた術語に、コンビナトリアル化学(combinatorial chemistry)というものがある。これは、いかに秩序立って種々のビルディングブロックをつなぎあわせ、すべての組み合わせの化学種をあまねく含んだライブラリを効率よく合成するか、またそれらの活性の評価や構造解析をどのようにおこなうか、といったことに関する方法論や技術を指すことばである。

これまで医薬品は、微生物の代謝物や植物の抽出物などから単離されたリード化合物をもとにして、その類縁化合物の合成と活性試験を繰り返し行なうことでもっとも高活性のものに到達する、というやり方で作られてきた。また最近では、作用機作や構造などに基づいたコンピュータによる分子設計も実用段階を迎えている。しかしながら、これらの方法は決して効率の良いものではなく、より簡便で経済的なリード化合物の発見法が求められている。コンビナトリアル化学はこのような要請に応えるべく登場した方

法論である。

化学文献検索データベースである CAS online でコンビナトリアル化学に関連するキーワードで検索してヒットした論文数を年別に集計したグラフを示す(図1)。96年には伸びが少なくなっているものの、90年以降幾何級数的にその数が増えていることから、この分野への関心が急速に高まってきていることがわかる。すでに数多くの総説も発表されており¹⁾、アメリカ化学会発行の総説誌である Accounts of Chemical Research の1996年の第3号はコンビナトリアル化学の特集号になっている。

コンビナトリアル化学は1)ライブラリの合成、2)ライブラリのアッセイ(活性試験)、3)構造解析の3つの要素より成り立つ。従来の方法が、合成、構造解析、アッセイの順で行なわれ、それぞれが独立したプロセスであるのに対し、コンビナトリアル化学では3つの要素は必ずしも独

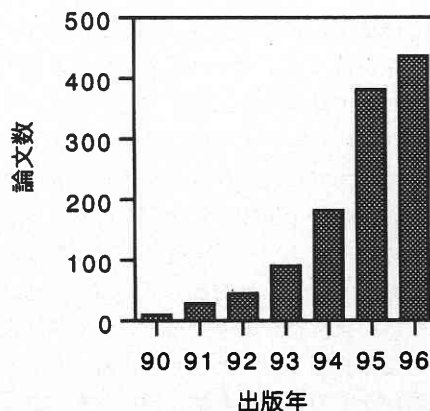


図1 コンビナトリアル化学に関係した論文数の推移

*東京大学生産技術研究所 第4部

立しているわけではなく、むしろ互いに有機的に関わっている。

本稿では、歴史的な経緯を踏まえ、まず最初にペプチドライブラリを対象とするコンビナトリアル化学について紹介し、ついで非ペプチド低分子、さらには製薬化学以外の分野へのコンビナトリアル化学の展開について順を追って述べて行きたい。

2. ペプチドライブラリ

生体内では、ある生体分子が他の分子を認識することがきっかけになって種々の反応が起こっているが、多くの場合、それらの分子の少なくとも一方はタンパク質である。その分子認識を阻害することができれば、生理活性の発現につながる。そのような分子として、最も有力なものの一つにペプチドがある。ペプチドは、タンパク質と同様アミノ酸を構成単位とする低分子化合物であり、本質的にタンパク質と同じ相互作用を持つため、認識機構を拮抗的に阻害することが期待される。実際、ある種のペプチドには大きな生理活性が認められている。ただしこの分子認識は非常にシビアであり、ペプチドの長さが認識のために必要なアミノ酸配列の長さより1つ短かかったり、ペプチド中のあるアミノ酸が他のもので置き換えられたりしていた場合には、認識能が激減することもしばしば見られる。そのため、多くのペプチドを実際に合成して活性試験にかけないと有効なリード化合物を見いだすことは難しい。しかしながらペプチドには、20種の必須アミノ酸のL体だけを構成成分としても、トリペプチドで $20^3=8,000$ 、ペンタペプチドでは $20^5=3,200,000$ もの化合物がある。これらをいちいち別個に合成してアッセイをおこなっていたのでは、膨大な時間と労力がかかる。これをできるだけ省力化しようというのが、コンビナトリアル化学の目的である。

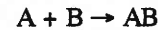
2.1 ライブラリの合成法

ペプチドライブラリの合成には、大別すると、固相合成の技術を応用して樹脂上に化学的にライブラリを構築する方法とバクテリオファージやプラスミドなどに生物学的にライブラリを構築する方法がある。本稿ではペプチドのみでなく多様な化合物のライブラリを構築できる化学的ライブラリ合成について解説する。

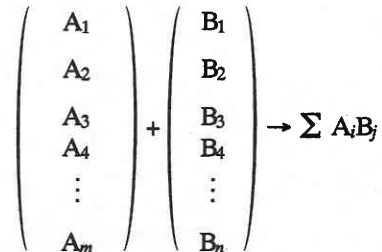
Scheme 1はライブラリ合成の本質をシンプルに表したものである。これまでに行われてきたオーソドックスな合成法が1対1の反応で1種類の化合物を得ることを目的としているのに対し、ライブラリ合成は多対多の反応で多種の化合物を作り出すことを目的としている。ライブラリ合成にあたっては、天然物合成等で求められる高選択的反応も場合によっては必要でないとさえ言える。むしろ重要なのは、生成物が全ての組み合わせについてもらさず存在する、ということである。ライブラリ合成の前提として、各

Scheme 1

Orthodox synthesis



Combinatorial synthesis



段階の反応が副反応を伴わずに進行する必要があるが、ペプチド合成に関しては Merrifield に始まる固相合成の手法および今日までの反応剤の改良により、ほぼ定量的に反応する方法がすでに確立されているので、この点では問題ない。

2.1.1 ピン法²⁾

ポリエチレンのピンの先端部を化学修飾によりアミノ化したものを担体として、これをいくつか並べたものを用意する。反応容器としては、それぞれの先端部分が別な場所に入るように分けられたものを用いる(図2)。この分けられた場所に適当なアミノ酸の溶液を入れて反応を行う。いくつかのピンを組として同じアミノ酸と反応させることでライブラリを合成できる。1つのピンで合成できるペプ

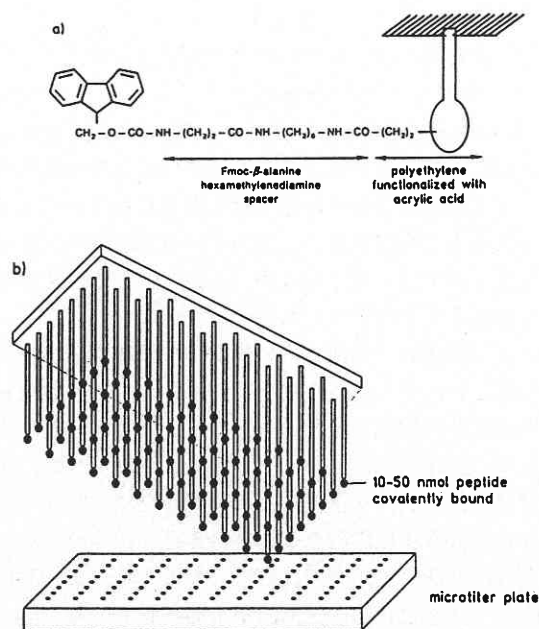


図2 (a)ピン法で用いられるピンの先端部分、および(b)反応器具

チドの量は $0.1 \sim 1 \mu\text{mmol}$ 程度であり、ライブラリのサイズは $10^2 \sim 10^3$ 程度である。

2.1.2 スプリット合成法³⁾

固相合成の担体の集合をいくつかに分けて(スプリット)から反応を行うのでこの名が付いた。担体としては、ポリエチレングリコールをグラフトしたポリスチレンビーズ(商品名 TentaGel)を用いる⁴⁾。

ここでは3種類のアミノ酸(A, B, C)を使用してビーズ上で27種類のトリペプチドのライブラリを合成する例を示す(図3)。あるまとまった数のビーズを3つの反応容器に等分して入れ、それぞれアミノ酸A, B, Cと反応させる。得られたビーズをいったん混合した後再び3つの反応容器に等分して入れ、それぞれアミノ酸A, B, Cと反応させる。ここでアミノ酸Aと反応させた容器ではジペプチドAA, BA, CAが結合した3種類のビーズができている。残りの2つの容器でも同様に3種類のビーズができているので

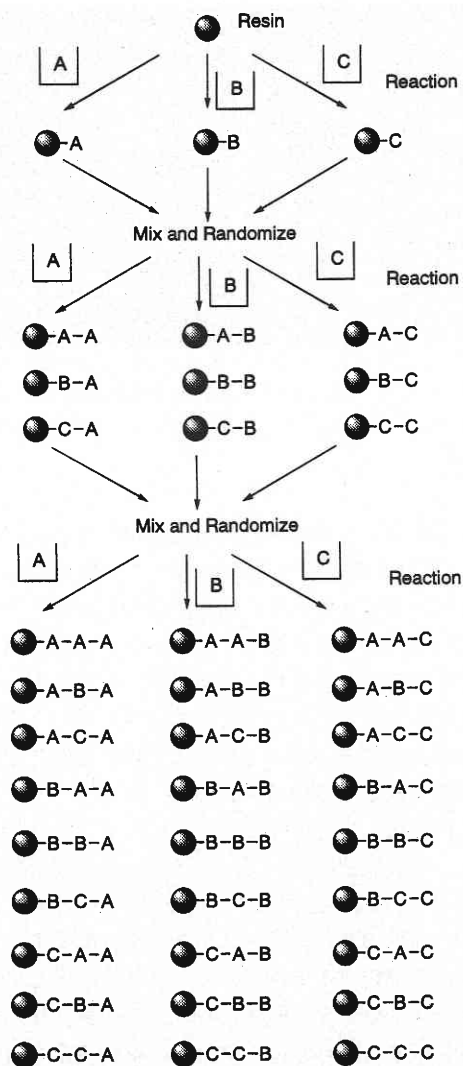


図3 スプリット合成の概念図

合計9種類のビーズができたことになる。再度同じ工程を繰り返すと合計27種類のビーズができる。ここで使われるビーズの大きさは直径数十から数百 μm であり、1個に保持できる化合物の量は $0.01 \sim 1 \mu\text{mol}$ 程度である。この担体は1g中に 10^6 オーダーの個数でビーズが含まれるような大きさであるので、 $10^5 \sim 10^6$ といった大きなサイズのライブラリの合成が可能である。この方法の重要な点は、1つのビーズ上にはただ1種類のペプチドしか存在しないということである。

スプリット合成法では必ずしもすべての組み合わせのペプチドが得られるわけではない。どのような組み合わせのペプチドもライブラリ中に存在するようにするためには、当然ながら組み合わせの数よりも過剰のビーズを用いる必要がある。どの程度のライブラリを作るのにどれぐらいの数のビーズを用いばよいか、ということについては統計学的に計算されている⁵⁾。これによると例えば、10種類のアミノ酸で構成されるテトラペプチドのライブラリ(組み合わせの数=10,000)について、99%の信頼度で全ての種類のテトラペプチドが存在するようにするためには、最低約50,000個のビーズを用いる必要がある、ということがわかってる。

2.1.3 ティーバッグ法⁶⁾

前述の2つの方法の中間的な手法としてティーバッグ法がある。これはポリプロピレン製のティーバッグにビーズを封入し、ティーバッグごとペプチド伸長反応を行うもので(図4)、ピン法よりも合成は簡便であり、また大量合成($\sim 500 \mu\text{mol}$)も可能である。しかしながらライブラリの数は限られる。

2.1.4 光を利用したペプチドライブラリ合成⁷⁾

これまで述べた方法と異なり平面上にライブラリを構築していくもので、固相合成法とフォトリソグラフィーの技術に基づいている。担体としては、光脱保護可能な基で保護されたアミノ基を表面に導入したガラス基板を用いる。この上からフォトマスクを通して光をあてた後に、基板全体をアミノ酸と反応させると、光があたった部分にのみア

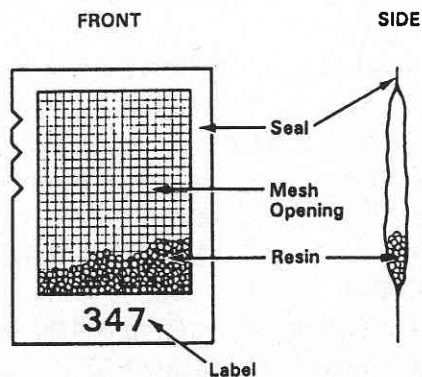


図4 ティーバッグ法に用いられる担体 [文献6より転載]

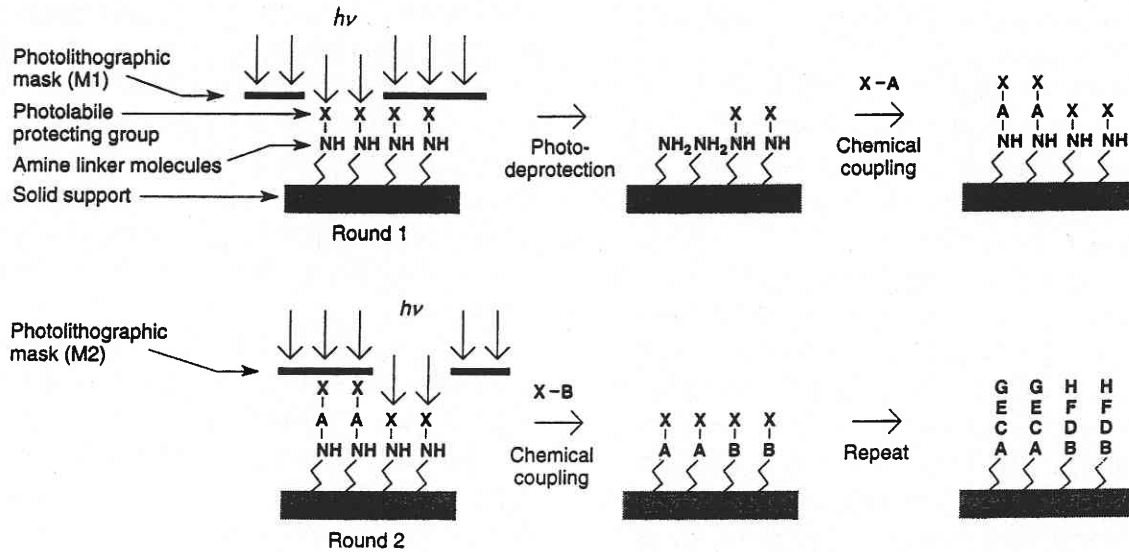


図5 光を利用したライブラリ合成 [文献1cより転載]

ミノ酸が導入される。この操作をフォトマスクで覆う部分を変えて繰り返すことで、ペプチドライブラリができる(図5)。この方法では、どの場所にどのペプチドを導入するかを合成の際にあらかじめ決めておくので、構造決定を行わなくても活性のあるペプチドを特定できる、という利点がある。

2.2 ライブラリのアッセイ

続いてライブラリのアッセイについて述べる。大きくわけて溶液中と固相上の2つの方法がある。

2.2.1 溶液中のアッセイ

ピン法やティーバッグ法で作られた小規模のライブラリではライブラリを担体から切断した後にアッセイを行うことが多い。スプリット合成法で合成したライブラリをビーズから切断し混合物でアッセイを行うこともある。この場合、どの化合物が活性を示したか1回のアッセイでは特定できないので、特定できるまでライブラリの合成とアッセイを繰り返す反復合成法による構造決定(後述)を行う必要がある。しかしながら、この方法は既存のアッセイ系をそのまま使用でき、簡単で信頼性の高い方法である。

2.2.2 固相上のアッセイ

ペプチドが担体に結合した状態のままアッセイを行い、活性なものを色、蛍光、同位体標識などで選別する方法である(図6)。100万を超えるような大規模なライブラリでもアッセイが比較的容易にできるという利点がある反面、ペプチドが樹脂に結合しているため溶液中のアッセイとは異なる結果を与える可能性があることに注意が必要である。

2.3 構造決定

アッセイで高い活性を示した化合物の構造を知るには、以下に示すようないくつかの方法がある。

2.3.1 直接法

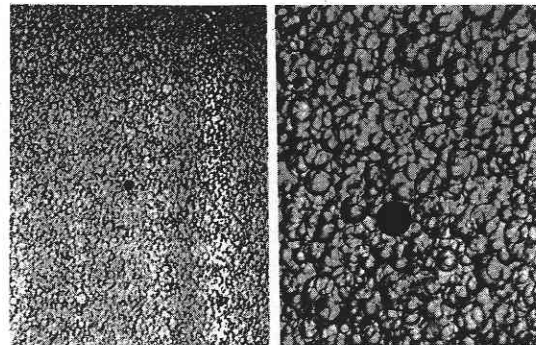


図6 スプリット合成法で得られたビーズを色素を用いてアッセイしたものの低分解能(左)および高分解能の光学顕微鏡像。活性のあるビーズだけが着色している。[文献3より転載]

アミノ酸配列分析器で直接構造を決定する方法である。 μmol オーダーの感度があるためビーズ1個分のペプチドでも十分に分析可能である。構造決定のためにライブラリ合成時に特別な操作を必要としないので合成は容易であり、構造決定も迅速に行える利点があるが、ペプチド、オリゴヌクレオチドといった自動分析が確立されているもの以外の化合物や、ペプチドでもD-アミノ酸などを含む場合には直接構造を決定するのは難しい。

2.3.2 間接法(タグ法)

スプリット合成法において、ライブラリ合成時に合成ステップと用いた試薬を表すタグ(tag)分子をビーズに導入しておき、活性のあったビーズのタグを分析することで化合物の構造を決定する方法である。タグ分子としてオリゴヌクレオチド⁸⁾やアミノ酸⁹⁾を用い、ライブラリの構成要素を直接分析する代わりにタグ分子の配列決定を行なうことで構造を知るもの(図7a)、およびポリハロベンゼン化

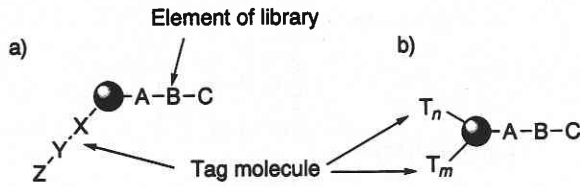


図7 タグ分子によるライブラリの標識

化合物¹⁰⁾をタグ分子として、その組み合わせを工夫することにより構造を決定するもの(図7b)が報告されている。

ここでは、後者のポリハロベンゼンを用いる方法について少し詳しく述べたい。7種のアミノ酸を構成要素にしたペプチドライブラリを作る場合を考えよう。7という数字は、2進法では111である。つまり3ビットの情報量があれば、例えば Ser=001, Lys=011, Ile=010などと7種のアミノ酸すべてを別々にコードできることになる。この各ビットに構造の異なるタグ分子 T1, T2, T3 を対応させておく。あるアミノ酸を反応させる際にそのアミノ酸のコードにおいてビットが1であれば相当するタグ分子を導入する。この例で言えば、Lysを反応させるときはT2とT3の2つのタグ分子をビーズに導入するのである。(導入に用いる化学反応については省略する。)次に、そのようにして得られたビーズをさらにアミノ酸と反応させていくわけだが、その際に先ほどの物とは異なるタグ分子 T4, T5, T6 を用意しておき、これを導入する。これを繰り返すことにより、 n 量体のペプチドを $3n$ 個のタグ分子で表現していく。これをアッセイにかけて、活性の認められたビーズを取り出す。その後タグ分子をビーズからはずし、電子捕獲型検出器を備えたガスクロマトグラフ装置によって分析する。各タグ分子の保持時間を別途測定しておき、その時間にピークが存在するかどうかを見ることにより、あたかもバーコードを読み取るようにペプチドの構造を知ることができる。この方法により Stillらは、抗 *c*-MYC モノクローナル抗体に結合するペプチドを見いだしている(図8)。このタグは、1 pmolでも検出でき、化学的に安定で、生体分子ではないために他のタグに比べて活性試験で妨害する可能性が低いなどの特長を持ち、幅広い化合物のライブラリに適用できる。

2.3.3 反復合成法(Iterative Deconvolution)¹¹⁾

この方法も例で示した法がわかりやすい。3種のアミノ酸 X, Y, Z を使ってスプリット合成法でトリペプチドのライブラリを合成したとする。最終ステップが終わった後ではそれぞれの反応容器には O_1O_2X , O_1O_2Y , O_1O_2Z (O_i は X, Y, Z のうち任意のものを表す) というライブラリの部分集合(サブライブラリ)であるペプチドが含まれている。まず最初に、サブライブラリごとにアッセイを行う。仮に O_1O_2Y というサブライブラリが最も強い活性を示したと

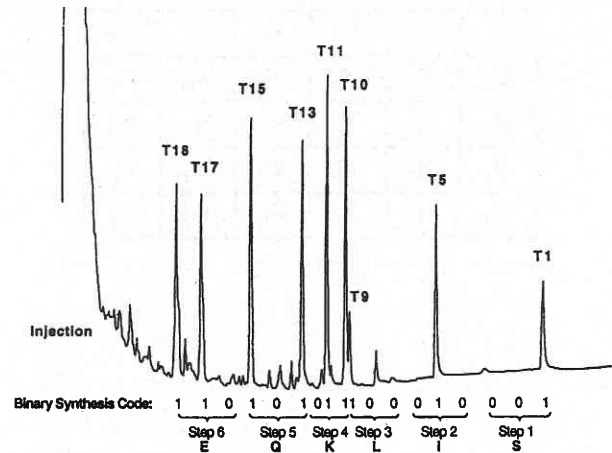


図8 ビーズよりはずしたポリハロベンゼンのタグのガスクロマトグラフによる分析 [文献9より転載]

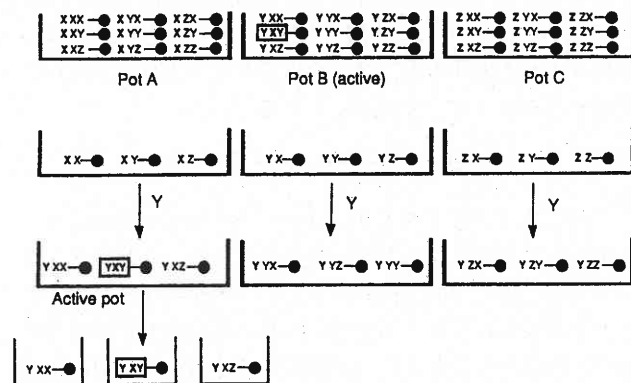


図9 反復合成法による構造解析の概念図 [文献1dより転載]

する。次に、もう一度最初からスプリット合成法を行う。ただしこのとき、一番最後に導入するアミノ酸は Y に固定し、2回目の合成の後でサブライブラリごとに別々に Y と反応させる。すると今度は、 O_1XY , O_1YY , O_1ZY の3つのサブライブラリが得られる。以下、アッセイと合成を繰り返してちょうど辞書を引くのと同じアルゴリズムで最も活性の高いペプチドを見いだしていく(図9)。

2.3.4 直交ライブラリ¹²⁾

サブライブラリの作り方を工夫することによって、アッセイの結果から直接構造がわかるようにしたもので、間接法の一つと考えることもできる。

20種のアミノ酸よりなるトリペプチドのライブラリを作る場合を考える。まず、アミノ酸全体を2通りの方法でグループに分ける。5×4のマスキに適当にアミノ酸を当てはめていき、列方向の5グループを A グループ、行方向の4グループを B グループと名づける(図10)。先に、A のグループについて次の操作を行う。同じグループに属する4つのアミノ酸 X_i から X_{i+3} を一つの反応容器に混ぜて

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
B ₁	X ₁	X ₅	X ₉	X ₁₃	X ₁₇
B ₂	X ₂	X ₆	X ₁₀	X ₁₄	X ₁₈
B ₃	X ₃	X ₇	X ₁₁	X ₁₅	X ₁₉
B ₄	X ₄	X ₈	X ₁₂	X ₁₆	X ₂₀

図10 直交ライブラリ法におけるアミノ酸のグループ化

おき、A₁からA₅までの5種の反応液を用意する。この5つのグループをビルディングブロックとして用いてトリペプチドのライブラリ A_iA_jA_k を構築する。すると、5³=125通りのグループの組み合わせよりなるライブラリができる。これをそれぞれアッセイにかける。次に、Bグループについても同様のライブラリ合成と活性評価を行う。ここで仮に、前半ではA₃A₅A₂というペプチド混合物が、後半ではB₄B₄B₁というペプチド混合物がそれぞれ最も高い活性を示したとすると、最大活性のペプチドは、それらの交点を読み取って、X₁₂X₂₀X₅となる。

3. 非ペプチド低分子ライブラリ

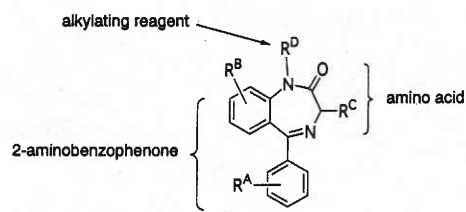
これまで述べてきたようにコンビナトリアル化学はペプチドライブラリを中心として発展してきた。これはペプチドに大きな生化学的活性があるというのが主な理由である。しかしながらペプチドを実際の医薬品の候補として考えた場合、経口投与できない、生体内での安定性や溶解性が低い、などの問題点がある。この点では非ペプチド低分子の方が優れているため、そのような化合物のライブラリ合成が必要になってきた。

非ペプチド低分子のライブラリを合成するにあたっては、反応が固相上で可能かどうか、反応の進行をどのようにチェックするか、純度の確認はどうするかなどの問題点がある。

1992年、Ellmanらはこれらの諸問題を克服して、最初の実験的非ペプチド低分子ライブラリである1,4-ベンゾジアゼピンライブラリの合成に成功した¹³⁾。彼らはピン法によって2-アミノベンゾアセトフェノン、アミノ酸、アルキル化剤の組み合わせで化合物1の196種の誘導体のライブラリを合成し、ピンから遊離させた後に薬理活性試験を行った。

それ以降、種々の化合物について非ペプチド低分子ライブラリが作られてきている。これについてはすでに詳しい総説が出ているので興味のある方はそちらを参照されたい¹⁴⁾。

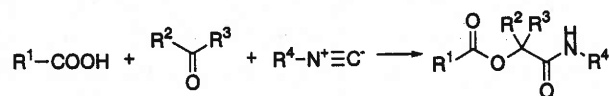
さて、これまでに述べてきたライブラリ合成はすべて、担体上の分子と外来の分子との間の2分子反応を繰り返すというプロセスに基づいていた。これに対して、多成分縮



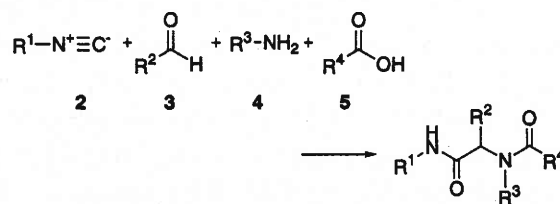
1

合反応をライブラリ合成に用いるという方法がある。多成分縮合反応とは、3種類以上のパーツを一度に反応させて生成物を得るもので、1)単一のステップで生成物が得られるので、合成のための時間や労力が少なくてすむ、2)理論上はそれぞれのパーツを他のパーツとは独立に変えることができるので、それぞれのパーツの数の積だけの大きさを持ったライブラリを得ることができる、といった特長がある。Armstrongらは、多成分縮合反応を初めてライブラリ合成に導入した。ここでは、3成分縮合反応であるPasserini反応が、抗腫瘍性の抗生物質であるazinomycinの類縁体の合成に用いられている(Scheme 2)¹⁵⁾。

Scheme 2



Scheme 3



コンビナトリアル化学の泣き所の一つに、多数の組み合わせによって作られたライブラリの中で実際に活性があるのはごくわずかであり、残りの大多数は、いわば「むだに」合成されている、ということがある。この欠点を克服することを目的とした、組み替えや突然変異といった遺伝学的アルゴリズムを取り入れた巧妙な方法が、WeberらとSinghらの2つのグループによって独立に発表された¹⁶⁾。

ここでは、Weberらの報告について解説する。彼らが対象としたのはUgi反応と呼ばれる4成分の縮合反応である(Scheme 3)。2から5のそれぞれのパーツについて10, 40, 10, 40種類を用いており、定法に従うと160,000種の化合物のライブラリをつくることになる。彼らのとった方法は次のようなものである。1)それぞれのパーツごと

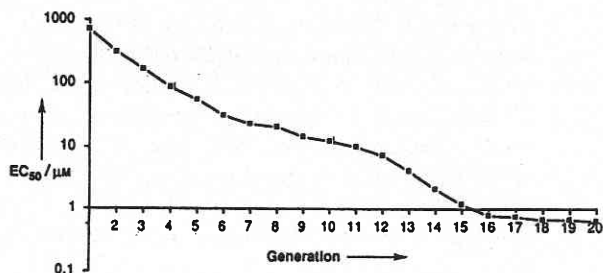


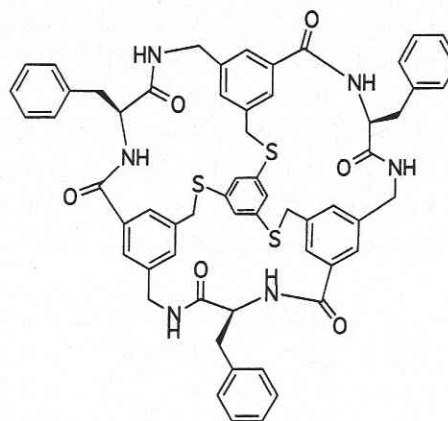
図11 遺伝学的アルゴリズムを取り入れた方法による活性化合物の最適化 [文献16aより転載]

に化合物に番号をつける。任意の4つのパーツの反応で得られた化合物を、それらのパーツの番号を2進法で表記したものを並べた形で、例えば0010 011100 0111 010011といったように記述する。2)全くランダムな組み合わせで20個の化合物を合成し、それらの2進法表記を記録した後に、それぞれの化合物をトロンビンの阻害活性についてのアッセイにかける。3)任意の2つの化合物について2進法表記のある同じ場所で区切り、区切った部分をたがいに入れ換える。これは、遺伝子組み替えに対応する操作である。4)こうして生じた新しい数字に対応する化合物が存在し得るときはそれを合成する。そうでないときは操作3をやり直す。5)20種の新しい化合物が得られるまで操作3および操作4を繰り返す。6)新しくできた20種の化合物についてもアッセイを行い、組み替えを行う前のものも含めてもっとも活性の高かったものから20個を取り出し、操作3に戻る。操作3から操作6までを一つの世代として、世代を繰り返していく。また第20世代以降では、ある化合物の任意の二つのビットを交換する作業を、100個に1個の割合で行なう。これは、突然変異に対応する操作である。以上の方法により彼らは、第20世代までの400個の化合物を合成するだけで、最大活性を示す化合物を見いだすことができた(図11)。

4. コンビナトリアル化学の新しい展開

はじめに述べた“多くの化合物を一度に合成し活性試験を行う”というのがコンビナトリアル化学の本質であるとすれば、これはなにも製薬化学に限らず他の物性を持った化合物の探索にも応用できるはずである。ここでは、製薬化学以外の分野へのコンビナトリアル化学の適用について最近の例を挙げて述べる。

Stillらは、化合物6をはじめとする合成ホスト化合物と、修飾トリペプチドであるゲスト化合物との相互作用を調べた。その結果、50,625種の化合物のうちの0.5%のトリペプチドだけが6と大きな親和性を有すること、さらにそのようなゲスト化合物がある決まったアミノ酸を特定の部位に有することを見いだしている¹⁷⁾。



6

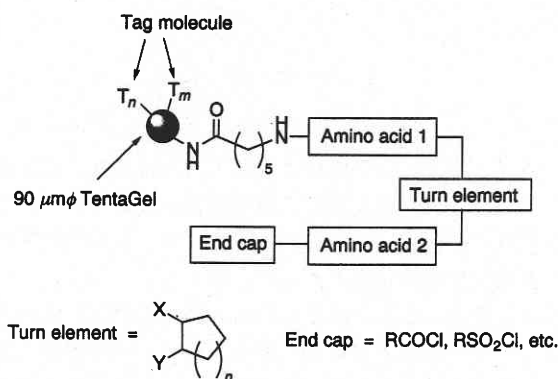


図12

Jacobsenらは、コンビナトリアル化学を新規金属錯体の探索に応用している¹⁸⁾。ここでは、図12のような形を持ち、12種の Amino acid 1, 10種の Turn element, 10種の Amino acid 2, 10種の End cap の組み合わせで作られた12,000種の化合物よりなるライブラリを用いている。このライブラリを種々の金属イオンを含むメタノール溶液と処理した後、金属イオンと錯形成して発色するような配位子と処理すると、ビーズに配位子が取り込まれた形で錯形成が起こり、金属イオンに対して親和性の高かったビーズだけが発色した。この方法によってNi²⁺がヒスチジンと、またFe³⁺がメチオニンとそれぞれ高い親和性を有することなどが明らかになった。このような研究は、生理活性を有する金属-ペプチド錯体への展開はもちろんのこと、新規な触媒の探索方法としてもとらえることができ、興味深い。

Schultzのグループでは、コンビナトリアル化学を無機材料化学の方向に拡張している¹⁹⁾。彼らは、A_xA'_{1-x}BO₃のペロプスカイト構造を有する複合酸化物のうちBとしてMnを持った物の中に高い磁気抵抗特性を示す物があることにヒントを得て、一般式Ln_xM_yCoO₈(Ln=La, Y;

M=Ca, Sr, Ba, Pb, Cd)で表される複合酸化物の薄膜のライブラリを合成し、それについて磁気抵抗特性のテストを行なった。合成は、単一の基板をマトリックスに区切り、LnとMの種類や量比を変えてスパッタリングを行なった後に焼結することにより行なわれた。Four-probe contact法による測定の結果、このCoをベースにした化合物の中にも高い磁気抵抗特性を示す物があることを初めて見いだした。

オーソドックスな選択的有機合成反応にコンビナトリアル化学を持ち込むことには、一度に多数のアッセイを行なうことができないという難点がある。しかしながら、コンビナトリアル化学的手法を模倣することで、最適な触媒や反応条件を見いだすスクリーニングを従来よりも高いスループットで行うことができたという例が報告されている²⁰⁾。

5. おわりに

このように、コンビナトリアル化学は、特にペプチド以外のライブラリについてはまだ始まったばかりであるが、ライブラリ合成、活性試験、構造決定の3分野がそれぞれ発展すれば、医薬品の開発にとどまらず、種々の化学の分野に飛躍的な効率化をもたらすと考えらる。

筆者は現在、新しい触媒や材料の開発を模索しているが、このような方法論を積極的に取り入れていくことで、既存のもの延長線上にはないような斬新なものが発見できるのではないかと期待している。(1996年12月27日受理)

参考文献

- 1) (a) Gallop, M. A.; Barrett, R. W.; Dower, W. J.; Fodor, S. P. A.; Gordon, E. M. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1233. (b) Gordon, E. M.; Barrett, R. W.; Dower, W. J.; Fodor, S. P. A.; Gallop, M. A. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1385. (c) Jacobs, J. W.; Fodor, S. P. A. *TIBTECH* **1994**, *12*, 19. (d) Terrett, N. K.; Gardner, M.; Gordon, D. W.; Kobylecki, R. J.; Steele, J. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8135. (e) Lowe, G. *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 309.
- 2) Geysen, H. M.; Meloan, R. H.; Barteling, S. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1984**, *81*, 3998.
- 3) Lam, K. S.; Salmon, S. E.; Hersh, E. M.; Hruby, V. J.; Kazmierski, W. M.; Knapp, R. J. *Nature* **1991**, *354*, 82.
- 4) Bayer, E. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 113.
- 5) Burgess, K.; Liaw, A. I.; Wang, N. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2985; Zhao, P. L.; Zambias, R.; Bolognese, J. A.; Boulton, D.; Champman, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 10212; Boutin, J. A.; Fauchere, A. L. *TiPS* **1996**, *17*, 8.
- 6) Houghten, R. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 5131.
- 7) Fodor, S. P. A.; Read, J. L.; Pirrung, M. C.; Stryer, L.; Lu, A. T.; Solas, D. *Science* **1991**, *251*, 767.
- 8) Brenner, S.; Lerner, R. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 5381; Nielsen, J.; Brenner, S.; Janda, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9812.
- 9) Kerr, J. M.; Banville, S. C.; Zuckermann, R. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2529.
- 10) Ohlmeyer, M. H. J.; Swanson, R. N.; Dillard, L. W.; Reader, J. C.; Asouline, G.; Kobayashi, R.; Wigler, M.; Still, W. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10922; Nestler, H. P.; Bartlett, P. A.; Still, W. C. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4723.
- 11) Houghten, R. A.; Pinilla, C.; Blondelle, S. E.; Appel, J. R.; Dooley, C. T.; Cuervo, J. H. *Nature* **1991**, *354*, 84.
- 12) Déprez, B.; Willard, X.; Bourel, L.; Coste, H.; Hyafil, F.; Tartar, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5405.
- 13) Bunin, B. A.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10997; Bunin, B. A.; Plunkett, M. J.; Ellman, J. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 4708.
- 14) Thompson, L. A.; Ellman, J. A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555.
- 15) Armstrong, R. W.; Combs, A. P.; Tempest, P. A.; Brown, S. D.; Keating, T. A. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 123.
- 16) (a) Weber, L.; Wallbaum, S.; Broger, C.; Gubernator, K. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2280. (b) Singh, J.; Ator, M. A.; Jaeger, E. P.; Allen, M. P.; Whipple, D. A.; Solowej, J. E.; Chowdhary, S.; Treasurywala, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 1669.
- 17) Still, W. C. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 155.
- 18) Francis, M. B.; Finney, N. S.; Jacobson, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8983.
- 19) Briceño, G.; Chang, H.; Sun, X.; Schultz, P. G.; Xiang, X.-D. *Science* **1995**, *270*, 273.
- 20) Burgess, K. H.; Lim, H.-J.; Porte, A. M.; Sulikowski, G. A. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 220.