

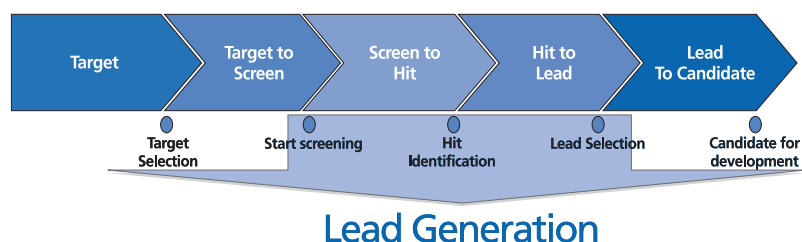
“양질의 선도물질, 임상시험 성패의 중요한 출발점

신약개발 전주기에 관여하는 모든 그룹들과의 상호 유기적인 작용 필요”

글_ 임성택 박사(사노피 연구원)

선도물질 발굴과정 (lead generation)은 새로운 약물의 개발을 위한 기초연구부터 임상 그리고 허가에 이르는 여러 단계의 신약개발사슬 (drug discovery value chain)에서 중요한 단계이며 고품질의 선도물질은 임상 성공을 위한 기초를 다져주는 출발점이다. 신약개발은 일반적으로 개발하고자 하는 질병의 타깃 선정 (target selection)으로 시작되고 알려진 화합물을 스크리닝하고, 초기 선도물질 (Hit)을 고르고 검증하고, 간단한 최적화 과정을 거쳐서 선도물질을 선정하게 된다. 선정된 선도물질은 의약화학 (medicinal chemistry)의 여러 가지 방법을 통하여 1년 이상의 선도물질의 최적화 과정 (lead optimization)을 통하여 후보물질로 만들어지고 임상시험에 사용된다. 후보물질 (Candidate)의 구조적 유사성은 선도물질 (Lead)의 구조와 상당히 높으며 심지어 초기후보물질 (Hit)의 구조적 특성을 갖고 있다. 이러한 이유로 선도물질의 선정과정은 후보물질의 임상에서의 약리효능 및 독성에 관계되는 화합물의 구조적 특성의 출발점이므로 신약개발사슬에서 중요한 단계이다 (그림 1).

■ 그림 1. Drug discovery value chain에서 선도물질 발굴 과정및 방법



Hit Discovery Technologies for Hit identification

- Traditional high-throughput screening
- Focused screening
- Emerging Fragment-based hit discovery (Affinity based screening technique)

Hit Discovery Technologies for Hit Confirmation

- Retest / Counter screening / Dose-response
- Data-mining and Back-screening

Hit to Lead Technologies for Leads

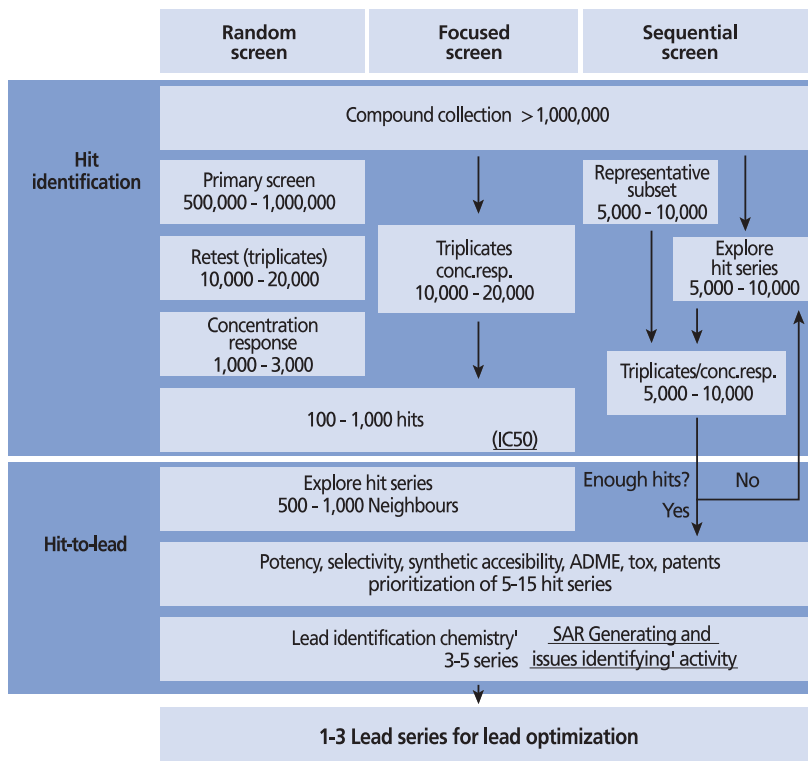
- Various criteria depending on different hit discovery techniques
- Hit evolution
- Hit fragmentation
- Fragment linking / expansion
- (Bio)isosteric replacement

후보물질을 위한 선도물질 (리드)의 발굴은 크게 세단계의 과정으로 초기 선도물질 (히트)의 발견과 검증 그리고 선도물질을 위한 Hit-to-Lead의 초기 최적화 (optimization) 과정을 통하여 이루어진다. 고속대량 스크리닝 (High Throughput Screening)을 통한 히트 발굴은 중간크기나 큰 제

약 회사에서 일반적으로 사용되는 방법으로 스크리닝을 위하여 많은 수의 화합물을 필요로 한다. HTS가 아닌 새로운 방법으로 프래그먼트 (fragment)를 기반으로 한 약물발견 (FBDD) 및 가상 스크리닝 (virtual screening)이 최근에 사용되고있고 작은 규모의 화합물로도 시작이 가능하여 한국의 제약사에서도 응용될 수가 있다. 초기 히트 (Hit)는 각 과제의 선별기준에 따라 컴퓨터 화학을 통한 반복적인 필터링과 백스크리닝 과정을 통해 리드에 근접한 초기 선도 물질로 바뀌며 이러한 과정중에 여러 assay의 검정도 함께 이루어 진다. Hit-to-Lead의 초기 최적화 (optimization) 과정은 히트의 e-ADME (흡수, 분포, 대사, 배설)와 물리화학적 (physicochemical) 평가를 통하여 각 회사의 리드 평가기준에 의하여 여러 방법을 통하여 리드의 질을 향상시킨다.

고속대량 스크리닝은 크게 세부류로 수행된다. 백만개 이상의 화합물의 라이브러리 (library)를 사용하여 타겟에 대한 라이브러리의 선별없이 무작위적인 스크리닝 (random screening)으로 다양한 구조의 히트를 만들어낼 수가 있지만 많은 비용과 시간이 소요되는 방법이다. 요즘은 각 회사에서 많은 수의 라이브러리 화합물을 다양한 프로그램을 통하여 얻은 대표적인 화합물로 구성된 1만에서 2만개 정도의 핵심적 라이브러리 (core library)를 초기 스크리닝에 사용하거나 각 타겟에서 얻어진 화합물로 구성된 초점화된 라이브러리 (focused target library)로 ion channel이나 GPCR 또는 protease 등의 타겟에서 각각의 타겟 라이브러리를 사용하여 히트를 생성한다. 스크리닝 assay가 저속 (low-throughput)이거나 사용하는 protein의 공급에 한계가 있을 때는 알려진 타겟에 조그만한 수의 대표적인 라이브러리로 시작하여 충분한 수의 히트가 발견될때까지 반복적으로 수행하는 순차적인 스크리닝 (sequential screening)도 사용할 수가 있다 (그림 2).

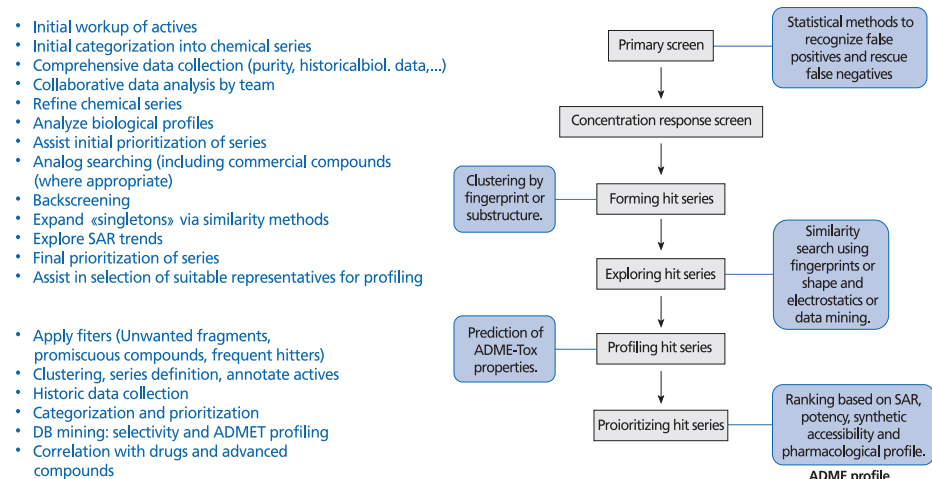
■ 그림 2. 고속대량 스크리닝 (HTS) 과정



요즈음은 빅파마 (big pharmaceuticals)도 무작위 스크리닝은 거의 없고 질병 타깃의 성질과 assay 방법에 따라서 초점화된 라이브러리를 사용하는 HTS방법을 대부분 사용하고있다. 회사의 전문화된 라이브러리 부서에서 항상 핵심적 라이브러리 (core library)를 새롭게 하면서 새로운 프로그램에서 발견된 새 화합물을 추가하고 라이브러리 화합물의 순도를 유지하여 선도물질의 질을 향상할 수 있도록 지원을 한다. 한국의 제약사에서 대규모의 고속대량 스크리닝의 방법의 적용은 이용가능한 물질 인적자원의 한계로 힘들지만 조그마한 크기의 라이브러리로 시작하는 순차적인 스크리닝을 통하여 수행할 수 있으며 초기에 발견된 히트의 리드로의 최적화 과정 (hit-to-lead optimization)인 여러가지의 filtering 방법이나 clustering 과 같은 의사결정과정 (decision-making)은 문헌이나 기존 연구자의 경험을 통하여 훈련시키는 방법이 중요하다

스크리닝을 통해 확보된 히트는 빅파마에서는 컴퓨터 화학 (computational chemistry)이나 chemoinformatics group의 도움으로 clustering과 filtering 과정을 거쳐서 각각의 시리즈 (series)로 분류되고 series에 대한 historical data (selectivity, e-ADME data etc.)를 찾는 data mining을 통하여 히트를 선별화 (prioritization)하게 된다. 일반적으로 초기 히트는 화합물의 구조 확인과 순도확인 후에 비슷한 구조를 갖는 scaffold로 분류 (clustering)되고 similarity search나 sub-structure등의 방법을 통한 back-screening을 수행하여 더 나은 히트로 만들어 나간다. 이 과정 중에, 사용하는 assay에 반응적 (reactive)이거나 자주 나타나는 (promiscuous) hitter를 문헌과 자체의 database를 사용하여 제거한다. 분류된 시리즈는, mode-of-action과 특허 평가, chemical tractability와 이용 가능한 e-ADME (흡수, 분포, 대사, 배설)와 물리화학적 자료 및 오프 타깃 선택성을 통하여 3~5개 정도의 profiling된 히트를 만든다. 이러한 히트는 SAR분석과 의약 화학에서의 선도물질의 최적화 (lead optimization)가능성이 높은 1~2개의 시리즈로 최적화하게 된다 (그림 3).

■ 그림 3. 컴퓨터 화학을 통한 초기선도물질의 최적화 과정

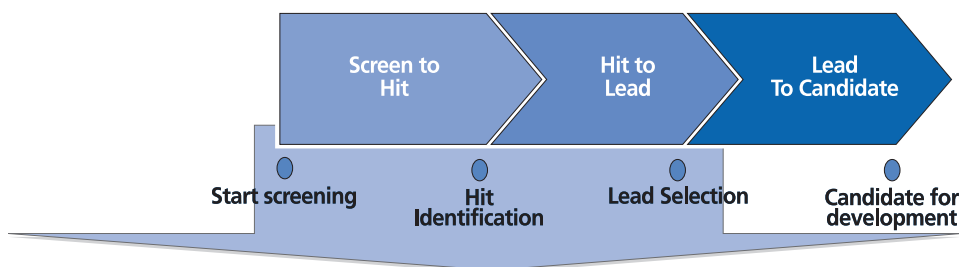


이러한 일련의 과정은 각 프로그램의 질병과 타깃에 대한 정보를 기초로 각 회사의 선도물질에 대한 평가기준 (guideline)을 탄력적으로 적용하여 이루어진다. 특히 의약화학자의 선택적인 결정

은 선도물질의 질에 크게 영향을 주기 때문에 경험과 문헌 (자료)분석을 통하여 신중하게 이루어 져야한다.

고속대량 스크리닝(HTS)방법에 비교하여 Non-HTS 방법은 프로젝트에 따라서 protein이나 ligand의 알려진 구조를 통하여 lead를 도출하는 방법으로 최근에 많이 사용되고 있고 적은 수의 화합물과 컴퓨터화학을 이용하므로 적은 물적 인적 자원으로도 선도물질을 만들 수가 있다. 흔히 me-too방법으로 불리우는 유도체를 기준으로 한 선도물질 발굴 (analog-based drug discovery)은 기존에 알려진 화합물의 구조를 조금 바꾸어서 다른 생물학적 활성을 갖게 하는 것으로 scaffold의 큰 변화없이 만드는 쉬운 방법이지만 특허출원과 다른 성질의 물질을 만드는데 한계가 있고 특히 blockbuster급의 화합물에서만 실용성이 있어 보인다. 반면에 Scaffold hopping은 특정 타깃에 알려진 다른 구조의 두개의 화합물을 약물활성에 중요한 scaffold를 유지하면서 두 구조를 합하여서 전혀 새로운 리드를 만드는 방법이다. 이와 비슷하게 Re-scaffolding 과정은 알려진 경쟁사의 구조 정보로 pharmacophore 모델을 사용하여 3차원적으로 비슷한 모양을 갖는 새로운 scaffold를 만드는 방법이다 (그림 4).

■ 그림 4. non-HTS를 기반으로 한 선도물질 발굴 방법



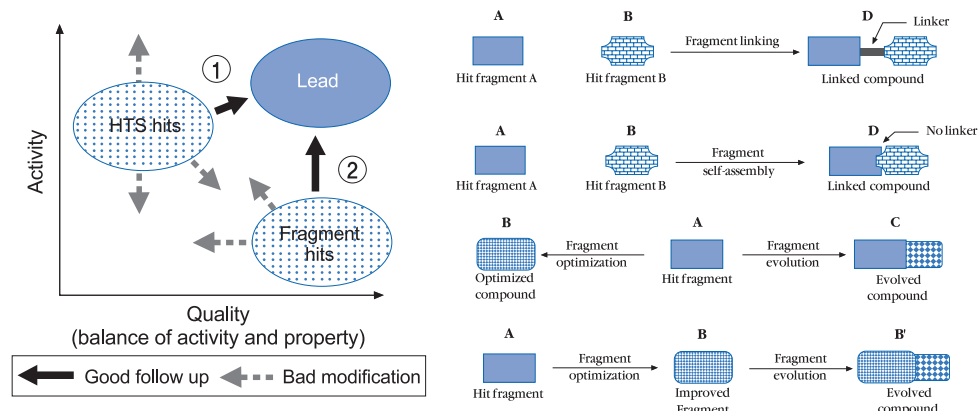
Lead Generation (non-HTS)

Hit to Lead Technologies for Leads

- Ligand-based RDD / virtual screening
- Protein-based RDD / virtual screening
- Fragment-based drug design (FBDD)
- Analog-based drug discovery
- Re-scaffolding
- Scaffold hopping

프래그먼트를 기반으로 한 선도물질 발굴 (Fragment-based drug discovery, FBDD)은 최근에 많이 사용되는 방법으로 HTS에 비교하여 낮은 분자량을 갖는 양질의 fragment를 X-레이 구조결정학이나 핵자기 공명 (NMR) 기술을 사용하여 초기 화합물을 일반적으로 생물활성을 높여서 리드를 도출한다. 흔히 사용되는 4가지의 방법 (fragment linking, fragment self-assembly, fragment optimization, and fragment evolution)중에 조금씩 fragment를 늘려가는 fragment evolution 방법이 가장 보편적으로 사용되고 있다. 약물활성을 위한 Anchor로 사용될 적절한 양질의 fragment를 각 타깃에 따라서 선정하는 것이 중요 하고 타깃의 중요한 결합 부분 (hot spot)을 찾아 시작하여야 한다. Hit-to-lead 최적화 과정은 HTS와 비슷하다 (그림 5).

■ 그림 5. 프래그먼트를 기반으로 한 선도물질 발굴 (FBDD) 방법



FBDD는 최근에 많은 응용 결과가 문헌에 발표되고 있고 특히 vemurafenib 항암제 (B-Raf kinase inhibitor)는 플렉시온 회사의X-레이 구조결정을 사용한 fragment evaluation 방법으로 개발되었다.

발표된 문헌과 회사의 자체 자료분석에 따르면 선도물질 (Lead)의 구조나 초기후보물질 (Hit)의 구조에 대한 후보물질 (Candidate)의 구조적 유사성 (structural similarity)은 상당히 높다 (70%~80%). 이러한 이유로 선도물질의 선정과정에서 빅파마는 선도물질 발굴을 위한 여러 과정을 초기단계부터 체계적으로 점검하는 평가기준 (guideline)을 마련하여 사용하고 있다. 선도물질의 질을 향상시키는 과정에서 일반적으로 마주치는 문제는 타깃 검증과 히트의 질에 관계된다. 히트의 질은 여러 parameter의 최적화를 통하여 향상되는데 쉽게 극복할 수 있는 것들과 좀더 어려운 것들이 있으므로 각 프로그램의 질병과 타깃에 대한 정보를 기초로 hit-to-lead 선정과정 중에 lead-to-candidate optimization에서 최소의 시간에 임상시험을 할 후보물질을 만들 수 있는 히트나 리드를 선택하여야 한다 (그림 6).

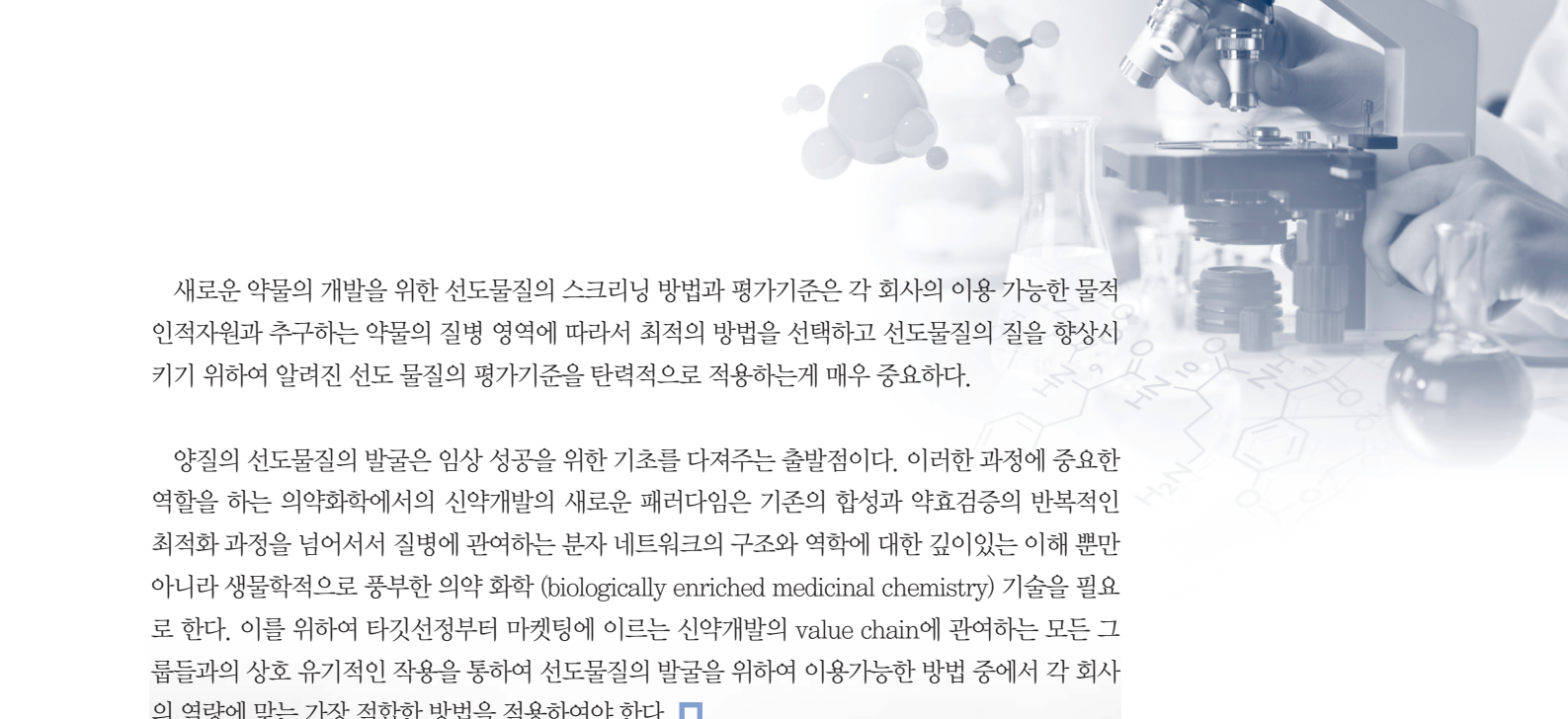
■ 그림 6. 양질의 선도물질위한 평가 기준

For improving Lead Quality

- General Issues on Lead (Hit) generation;
 - poor chemical matter; screening outcome; biological assay issues; target validation etc.
- More difficult parameters to fix
 - Metabolism, DDI and permeability
 - Cyp induction, 3A4 contribution
 - High MW
- Easier to fix based on experience
 - Potency
 - Stability, particularly with metabolic ID
 - hERG
 - logP
 - IP issues

Glaxo criteria for lead

Parameter	Value
Mol Wt	<430 Da
Log D7.4	~1 (range: 0.5-1.5)
PSA	<110 (<60 for CNS penetration)
Hetero atoms (N+O)	≤6 (7 with intramolecular H-bonding)
H-Bond Donors	≤2
Solubility	>0.3 mg/mL
Permeability	Medium - High
Ligand efficiency	≥0.35 kcal/mol



새로운 약물의 개발을 위한 선도물질의 스크리닝 방법과 평가기준은 각 회사의 이용 가능한 물적 인적자원과 추구하는 약물의 질병 영역에 따라서 최적의 방법을 선택하고 선도물질의 질을 향상시키기 위하여 알려진 선도 물질의 평가기준을 탄력적으로 적용하는게 매우 중요하다.

양질의 선도물질의 발굴은 임상 성공을 위한 기초를 다져주는 출발점이다. 이러한 과정에 중요한 역할을 하는 의약화학에서의 신약개발의 새로운 패러다임은 기존의 합성과 약효검증의 반복적인 최적화 과정을 넘어서서 질병에 관여하는 분자 네트워크의 구조와 역학에 대한 깊이있는 이해 뿐만 아니라 생물학적으로 풍부한 의약 화학 (biologically enriched medicinal chemistry) 기술을 필요로 한다. 이를 위하여 타깃선평부터 마케팅에 이르는 신약개발의 value chain에 관여하는 모든 그룹들과의 상호 유기적인 작용을 통하여 선도물질의 발굴을 위하여 이용가능한 방법 중에서 각 회사의 역량에 맞는 가장 적합한 방법을 적용하여야 한다. 

