

バイオグリッドシンポジウム BidGrid2005

2005年 3月9日

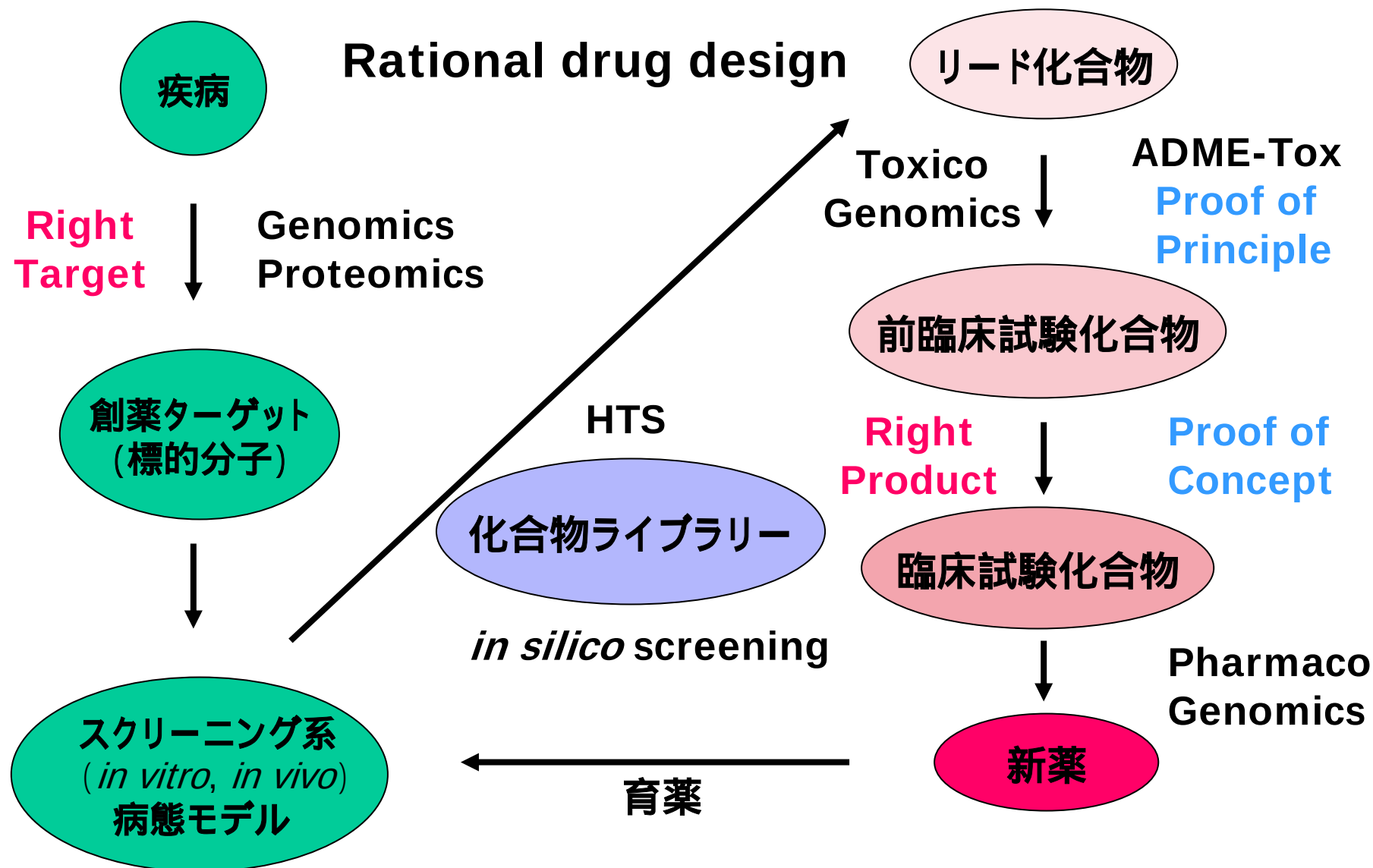
創薬現場からのバイオグリッドへの期待

大鵬薬品(株) 創薬研究所
情報計算法学生物学(CBI)学会
多田幸雄

概要

- 1 創薬プロセスと Chem-Bio Informatics
- 2 CBI 学会の創薬への関わり
- 3 ポストゲノム時代の創薬
Target-based drug discoveryの効率化は？
- 4 創薬に関わるテクノロジーと課題
- 5 論理的創薬の実例と課題
- 6 創薬の成功確率向上に向けて

創薬プロセスと Chem-Bio Informatics



CBI学会の創薬への関わり

化学、生物学、情報計算学という3つの学問分野に関わる
先端的な研究開発の基盤構築を目指す目的追求型学会

1981年 Chem-Bio Informatics 研究会設立

医薬品のような有用な物質を分子のレベルからデザインすること、そうした物質の生体への作用を分子のレベルから調べるという問題に、情報学、コンピュータ、あるいはITなどを応用する学際的な研究交流の場を作ることがめざしている。

2000年 CBI 学会 (<http://www.cbi.or.jp/exp>)
と改め、年会開催と CBI Journal の刊行

特許法第30条第一項に基づく学術団体認定
総務省 日本学術会議登録学術研究団体

CBI 学会の関心領域

量子力学計算から臨床まで

- 1 「分子計算」
- 2 「分子認識」
- 3 「分子生物学における情報計算技術」
- 4 「ゲノムワイドな実験データの解析」
- 5 「医薬品研究と毒性研究支援システム」
- 6 「疾病メカニズムと制御モデル」
- 7 「その他関連領域」

Chem-Bio Informatics に関わる
先端技術、技術革新から人材育成まで

ポストゲノム時代の創薬

Target-based drug discovery approach

Target: molecular mechanism or gene

Target identification	3-6 months
Target validation	3-6 months
Assay development	6-18 months
Lead identification	6-12 months
Lead optimization	24-48 months
Development	15-24 months

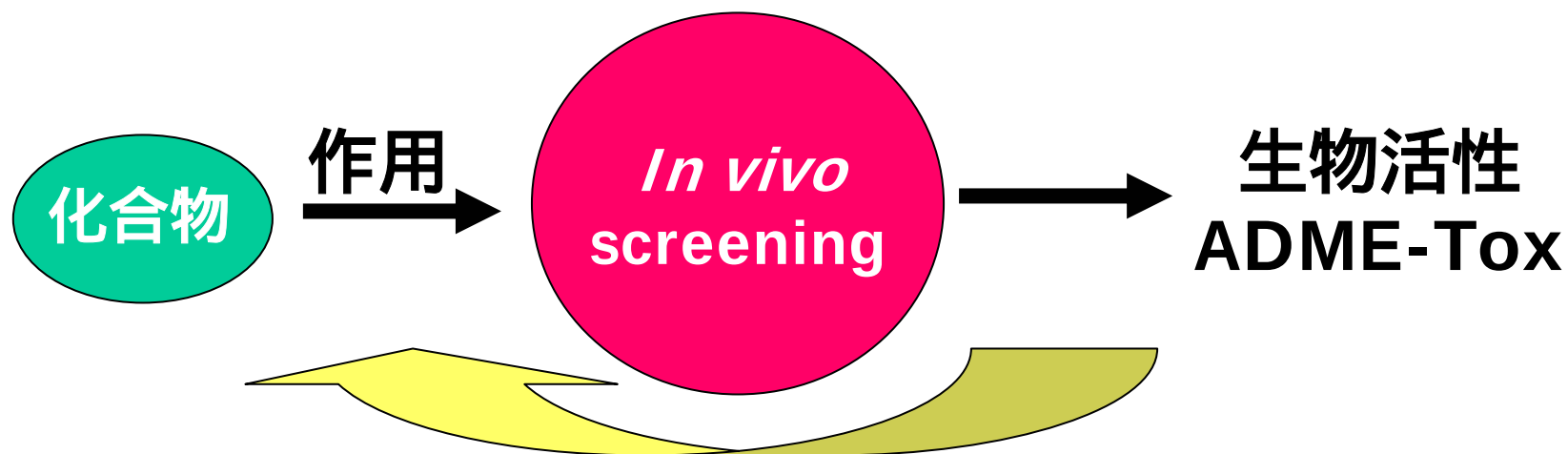
4.75-9.5 years

果たして productivity は向上したか?

Drug Discov. Today , **10**, 139-147 (2005)

Physiology-based drug discovery approach

Traditional *in vivo* approach



Quantitative Structure Activity Relationship
Integrated *in vivo* response

創薬に関わるテクノロジーと課題

ランダムスクリーニング型HTS

「乾草の中の針を探す」の喩; 針があれば幸運!
化合物ライブラリーの質が重要 (RO5 を考慮)

物性の悪すぎるHit 化合物が多い

<Role of 5>

H-bond donors < 5

H-bond acceptors < 10

MW < 500

MlogP < 5

Role of 5 には water solubility が抜けている

論理的HTSの試み

Designed Library;

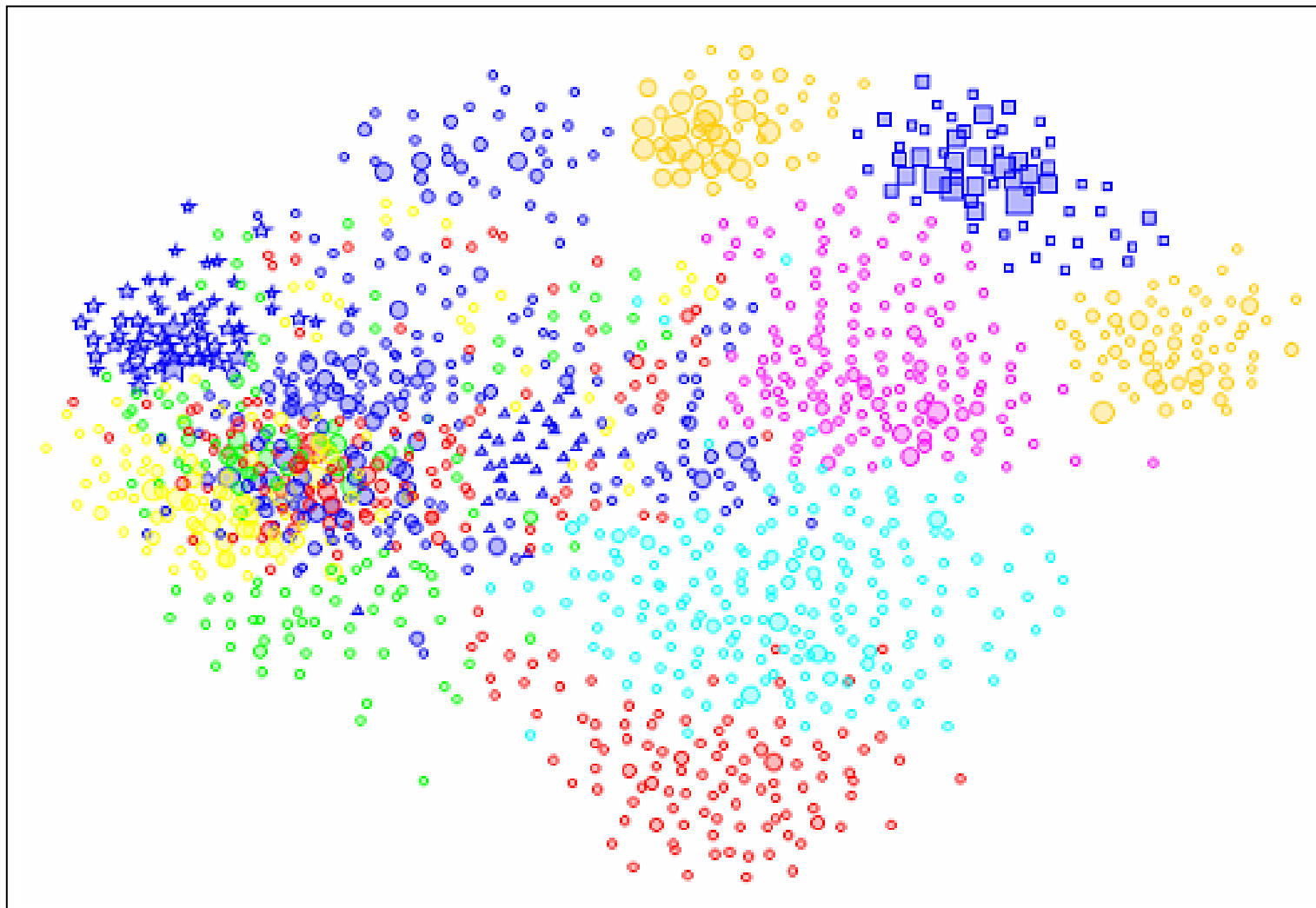
Drug-like library in house & LeadQust etc.

Focused Library;

Kinase, GPCR-targeted libraries etc.

**ヒットした化合物群とヒットしなかった化合物群
の情報を基にリード化合物をデザインする**

化合物ライブラリーから適切な化合物選択



Cluster SAR Map by SARNAvigator (Tripos inc.)

難水溶解性化合物の持つリスク

「薬剤師のための常用医薬品情報集(94年度版)」

「ほとんど溶けない」($100 \mu\text{g/ml}$ 以下)

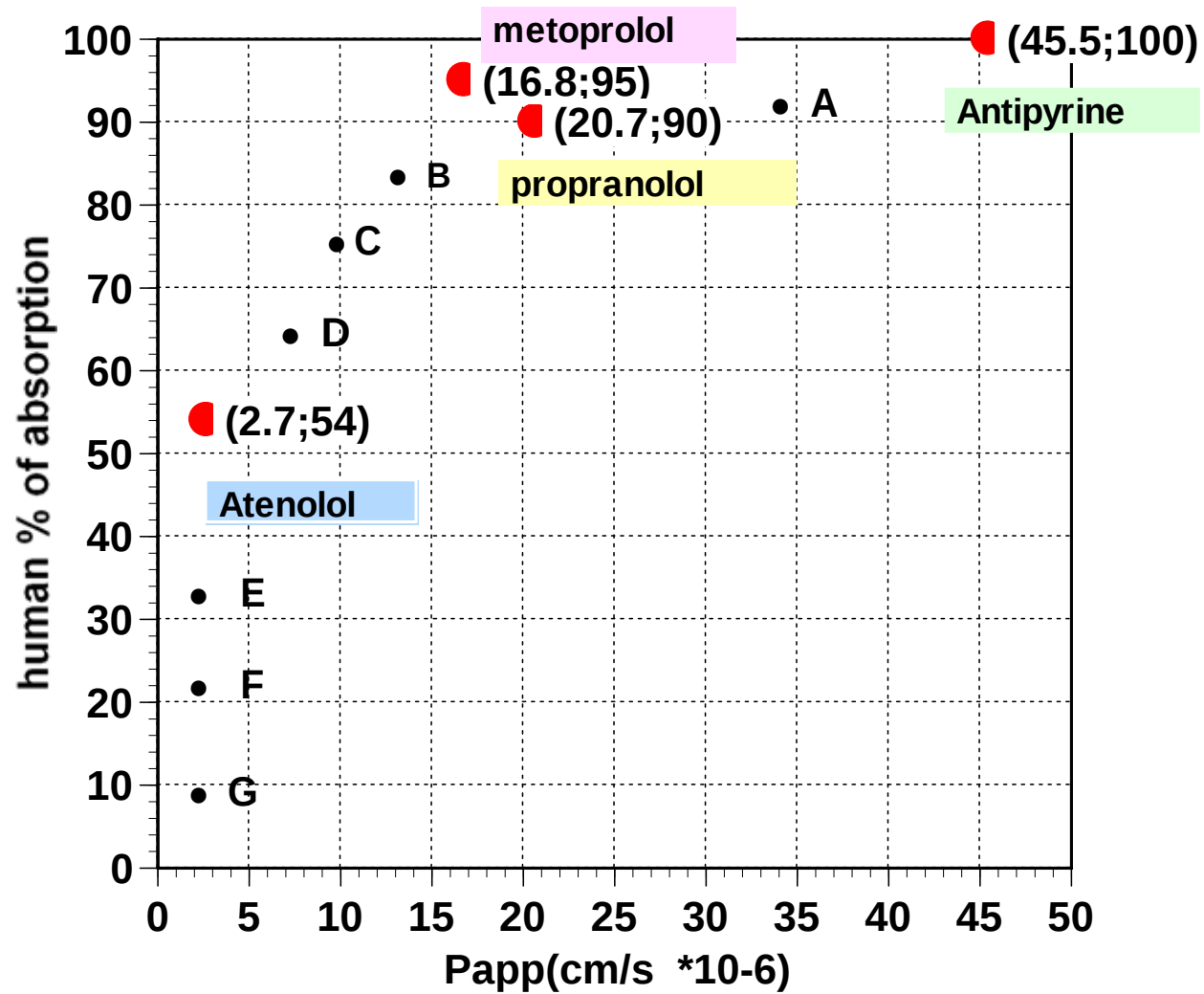
経口投与医薬品; 150/381品目(39.5%)

53検体を37、1時間で水溶解度測定

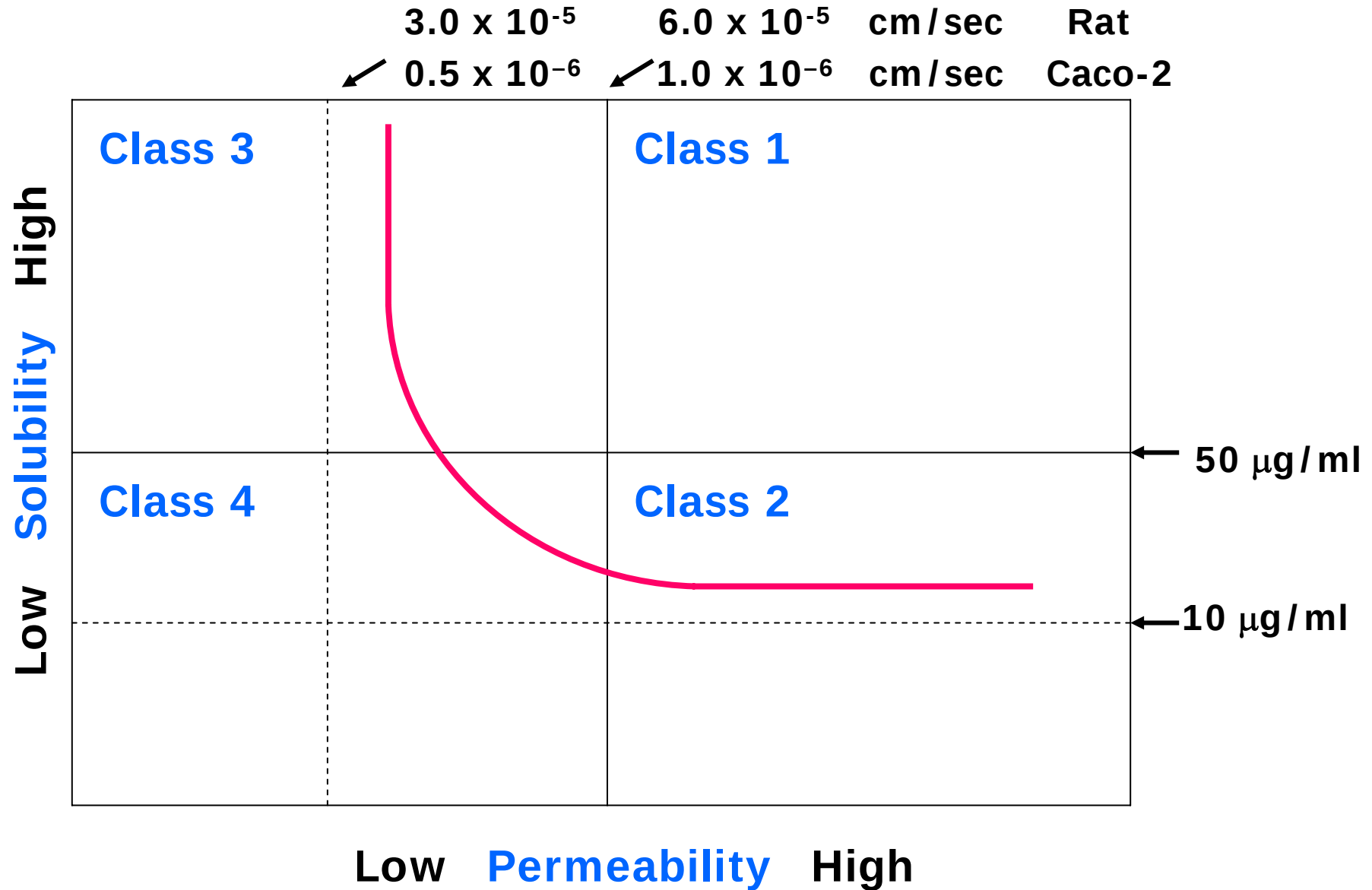
水溶解度 ($\mu\text{g/ml}$)	薬剤数	381薬剤に外挿
>10	39	89.5%
5 ~ 10	3	2.4%
1 ~ 5	6	4.4%
0 ~ 1	3	2.2%
0	2	1.5%

徳村忠一: 溶解性スクリーニングシステムの創薬研究への導入
PHARM. TECH. JAPAN, 16, 19-27(2000)

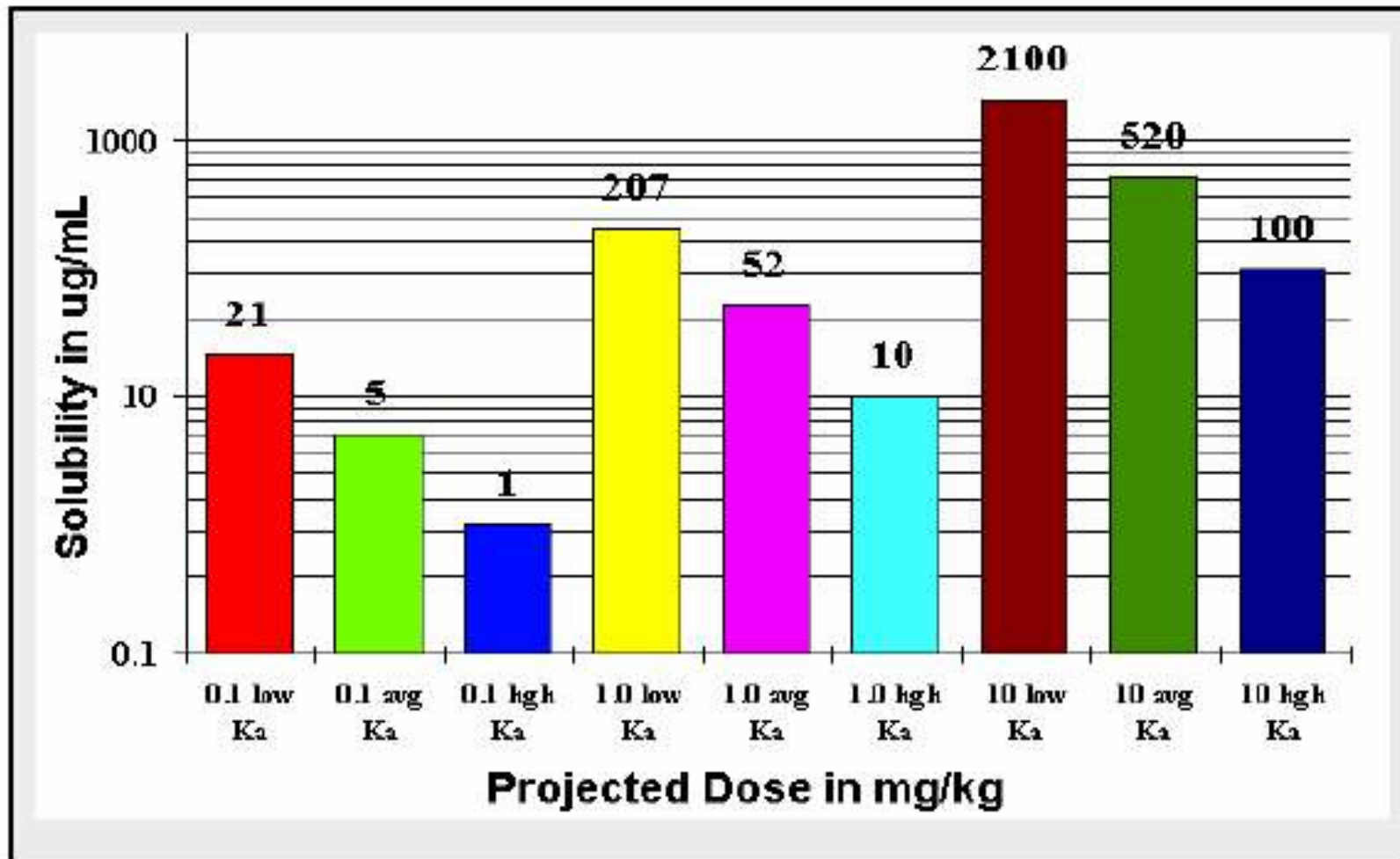
Caco-2 を用いた膜透過性



BCS Classification



Minimum Acceptable Solubility in $\mu\text{g/mL}$ bar show the minimum solubility for low, medium and high permeability(K_a) at a clinical dose. - Lipinski -



Role of 5以前のドラッグデザイン基礎知識

**Molecular-weight threshold for biliary excretion:
MW > 500**

P. C. Hirom *et al.* (1972)

**Poor oral absorption : $\log P \gg 2$
Water solubility < $10\mu\text{g/ml}$
Water solubility of crystalline :
 $\log S = -\log P - 0.01 \text{ mp} + 0.5$**

S. H. Yalkowsky *et al.* (1980)

分配係数 $\log P$ とは?

< $\log P$; Octanol – 水分配係数, π ; 置換基疎水定数 >

$$P = \frac{C_o}{C_w} \longrightarrow \log P$$

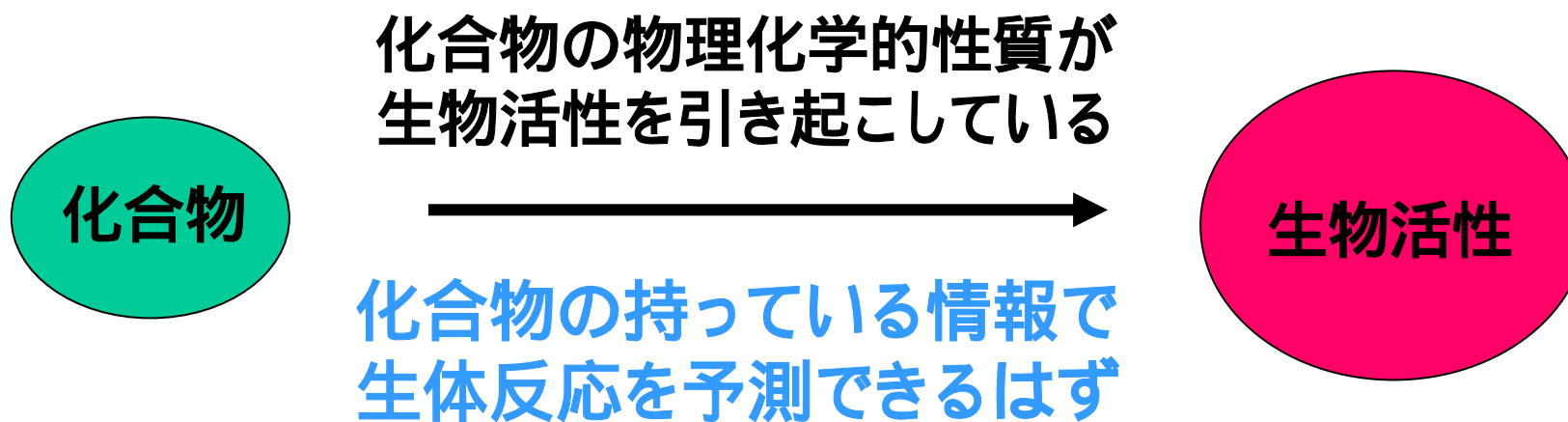
$$\begin{aligned}\pi_{\text{OH}} &= \log P_{\text{phenol}} - \log P_{\text{benzene}} \\ &= 1.46 - 2.13 \\ &= -0.67 \\ \pi_{\text{COOH}} &= -0.32 \\ \pi_{\text{OCOCH}_3} &= -0.64 \\ \pi_{\text{CH}_3} &= 0.56\end{aligned}$$

< $\log D$ >

$$\begin{aligned}\log D &= \log P - \text{pH} - \log(K_A + [\text{H}^+]) \\ &= \log P - \text{pH} - \text{p}K_A \quad (\text{pH} \gg \text{p}K_A) \\ &= \log P \quad (\text{pH} \ll \text{p}K_A)\end{aligned}$$

油相は標的タンパクモデルと考えられる

生理活性を惹起するのは何？



主な物理化学的性質

立体的性質: MV、Es、STERIMOL、MR

疎水的性質: $\log P$ 、 $\log D$ 、 π 、脱溶媒和エネルギー

電子的性質: σ 、 σ_I 、 σ_R 、 pK_a 、 1H -、 ^{13}C -NMR

QSAR解析で生物活性を予測する

1964年

Hansch-Fujita 法

1975年

第1回構造活性相関懇話会(藤田稔夫)

重回帰分析(MLN)により構造(物性)と活性の相関式を求め、
この式に基づいて論理的にドラッグデザインを行う

$$BR = a \pi + b \sigma + c Es + k$$

BR ; 生物活性値(自由エネルギー)
 π ; 置換基疎水定数、 σ ; Hammett 定数、 Es ; Taft 定数

自由エネルギー相関式を用いて生物活性値の変動を疎水性、
電子的、立体的パラメータ等の独立変数を用いて説明する

In silico screening と *de novo* デザイン による Lead Generation と Optimization

標的タンパクの3次元構造を基に化合物をデザイン

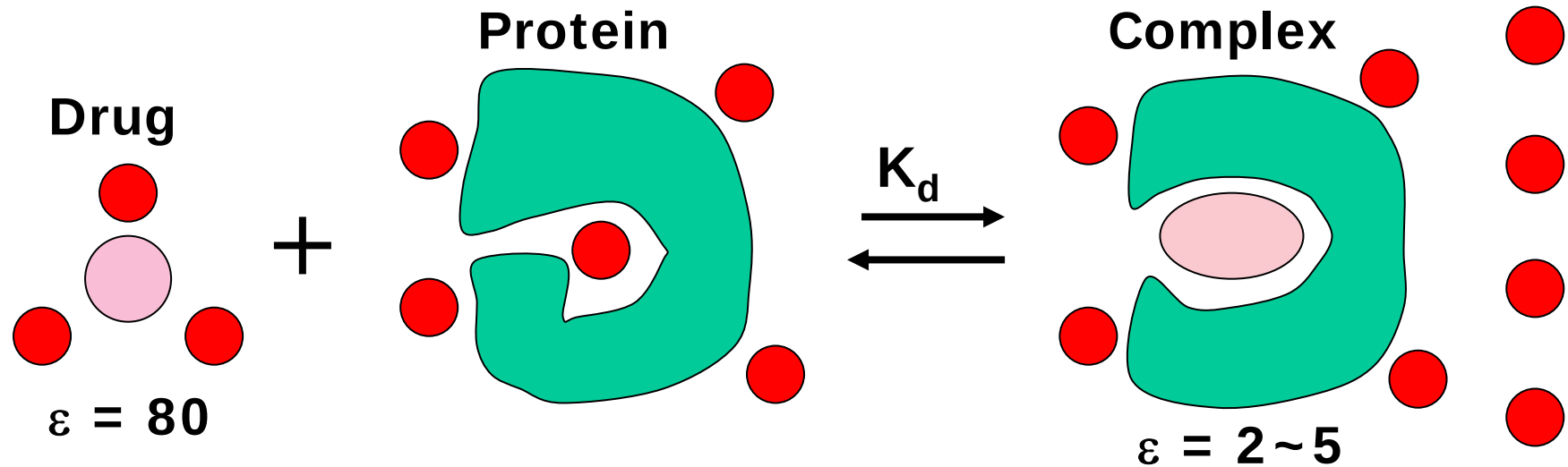
in silico スクリーニング

評価関数および化合物ライブラリーに依存

de novo デザイン

アルゴリズムと Query に依存、
化合物ライブラリーには直接依存しない

生物活性の本質; The binding free energy



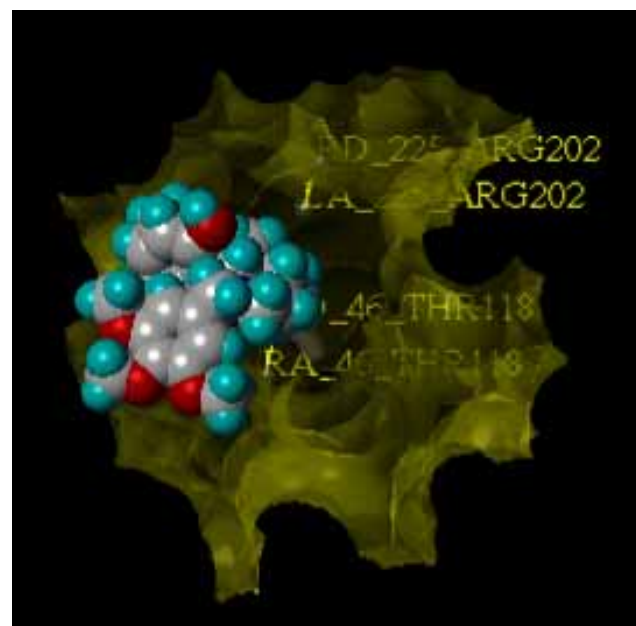
$$\begin{aligned}\Delta G &= \Delta H_{\text{bind}} - T (\Delta S_{\text{lig}} + \Delta S_{\text{ress}} + \Delta S_{\text{wat}}) \\ &= -RT \ln K_d \\ &= -1.363 \log K_d \quad (T = 298\text{K}, \Delta G = \text{kcal/mol})\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Delta\Delta G &= \Delta G_A - \Delta G_B \\ &= -1.363(\log K_A - \log K_B) \\ &= -1.363 \log (K_A / K_B)\end{aligned}$$

In silico screeningの例

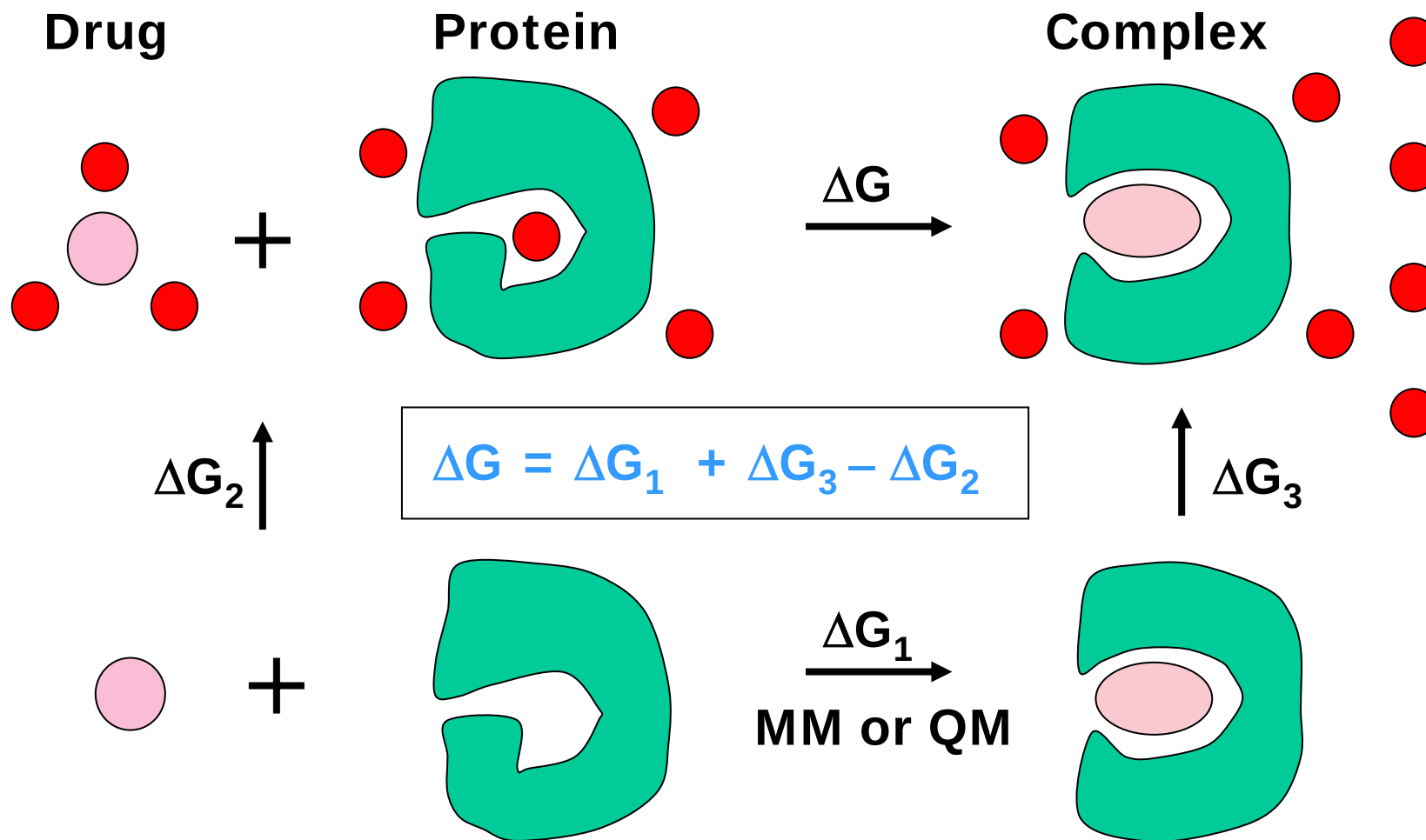
Unity/FlexX による Thymidine Phosphorylase 阻害剤の Lead Generation の例

In brain : Hit 化合物を chemist と共に
評価しスクリーニングに供している

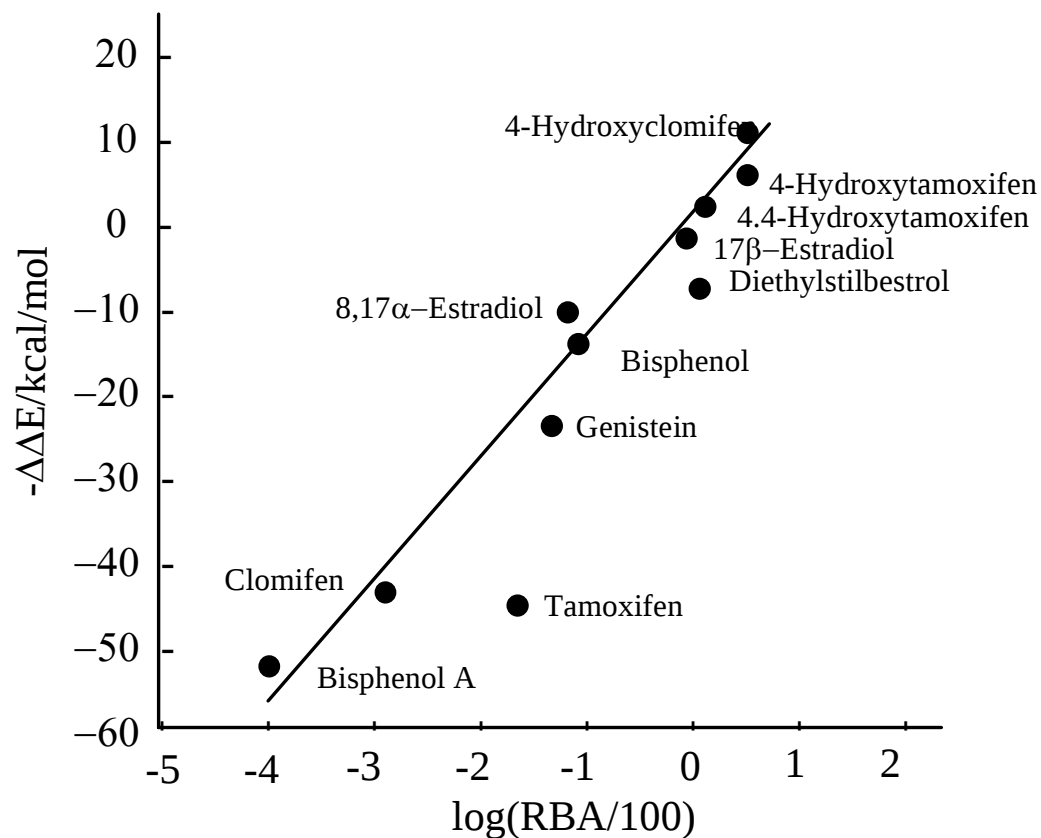


False positive: 実際のスクリーニング結果との乖離

溶媒和自由エネルギーを考慮



Fragment Molecular Orbital Method



K. Fukuzawa et al. *ab initio* Mechanical study of the binding energies of human estrogen receptor α with its ligands: an application of fragment molecular orbital method., *J. Comput. Chem.*, **26**, 1-10 (2005)

Molecular Mechanics

Poisson-Boltzmann / Surface Area

$$\Delta G_{\text{bind}} = \bar{G}_{\text{complex}} - (\bar{G}_{\text{receptor}} + \bar{G}_{\text{ligand}})$$

$$G = \bar{G}_{\text{MM}} - \bar{G}_{\text{solv}} + T\bar{S}$$

$$\bar{E}_{\text{MM}} = \bar{E}_{\text{bond}} + \bar{E}_{\text{angle}} + \bar{E}_{\text{dihedral}} + \bar{E}_{\text{VDW}} + \bar{E}_{\text{elec}}$$

$$\Delta G_{\text{solv}}^{\text{nonpolar}} = \gamma(\text{SASA}) + b$$

$$(\gamma = 0.00542 \text{ kcal/mol.\AA}^2, b = 0.92 \text{ kcal/mol})$$

K.Matsukawa *et al.* Investigation of neuraminidase-substrate recognition using molecular Dynamics and free energy calculation, *J. Med. Chem.*, **46**, 5628-5637 (2003)

In silico approach to drug discovery

In silico approaches

Ligand-based statistical method: QSAR

Protein structure based method: docking &
de novo design

ADME property prediction

Toxicity prediction

Biomarker: preclinical phase of drug development

開発概念がヒトでも有効性を持つことの検証:

Proof-of-principle in preclinical study

Clinical proof-of-concept in clinical study

創薬の実例と課題

< Physiology-based Drug discovery >

抗アレルギー剤: アイピーディ

Physicochemical Property Based Drug Design

標的タンパク情報:	なし
In vitro データ	なし
In vivo データ:	HPFC , PCA
ADME-Tox データ:	Cmax , AUC , LD ₅₀ , BWC

抗アレルギー剤:アイピーディ (IPD-1151T; Suplatast Tosilate)の開発

新しい抗アレルギー剤開発のアイデア

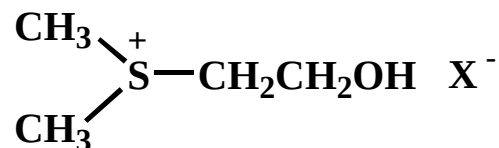
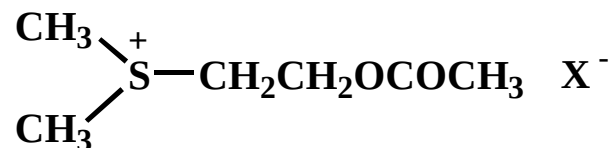
メチル基転移反応は免疫系においても重要である
多くの含硫黄化合物に免疫調節作用がある



不安定なメチル基をもつスルホニウム化合物の
の免疫薬理学的性質を検討し、制癌剤および
抗アレルギー剤の開発を目指す

具体的化合物:

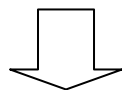
岐阜薬科大学: 薬理学教室(免疫)江田昭英
薬科学(硫黄化学)堀 幹夫



$\text{X}^- = \text{Cl}, \text{I}$

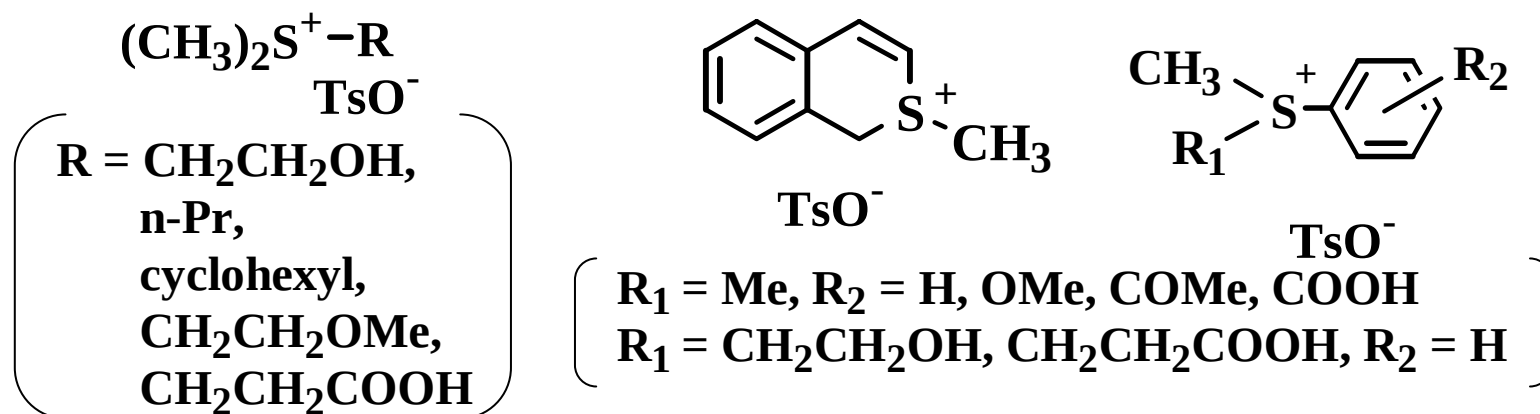
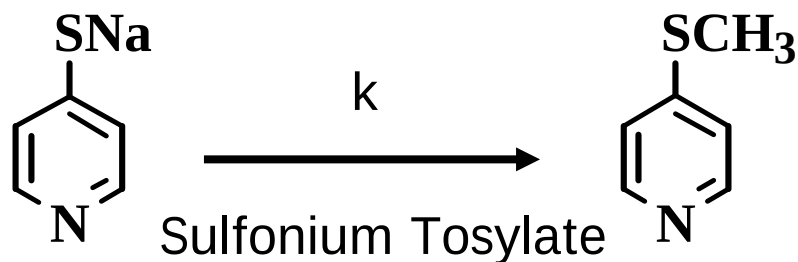
開発方針とリード化合物探索

- 1 抗体産生 (IgM および IgG) を抑制しない
- 2 IgE の産生を阻害する抗アレルギー剤
- 3 *in vivo* 投与量の最高用量は $1/10$ LD₅₀ 値とする
- 4 化合物の物理化学的性質を基に化合物展開を図る



全スルホニウム化合物の構造と薬効調査 (Chemical Abstract)
試薬カタログにあるスルフィドからスルホニウム化合物を合成

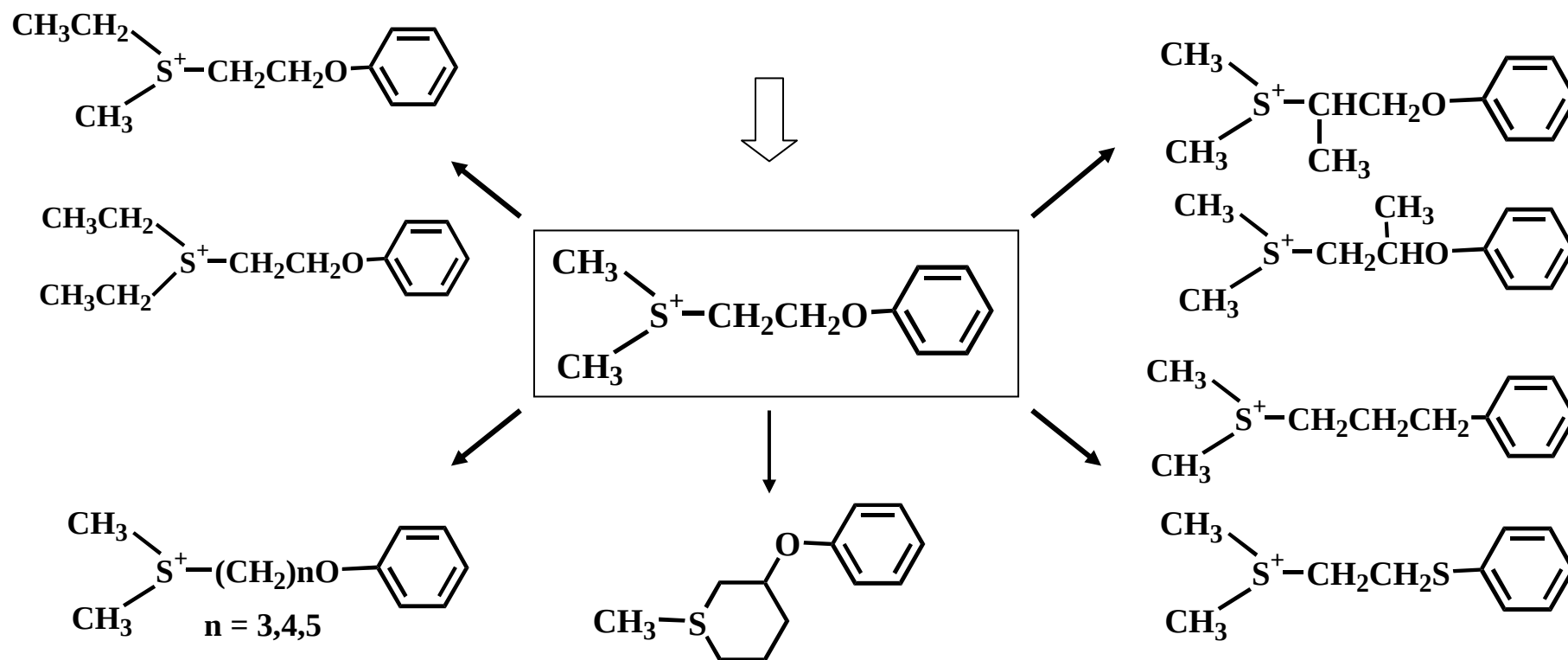
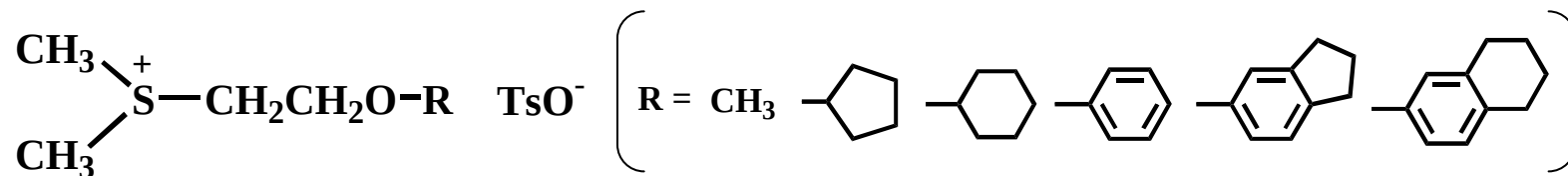
メチル基転移反応と生物活性



$$\log(1/\text{LD}_{50}) = 0.145 \log k - 0.645 \text{ I} + 0.495$$

$$(\text{ n = 13, r = 0.956, s = 0.130 })$$

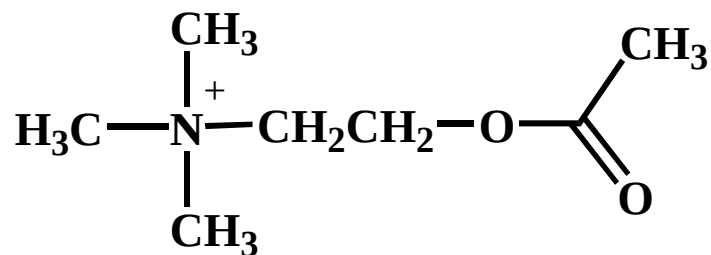
抗アレルギー剤のリード化合物の創製



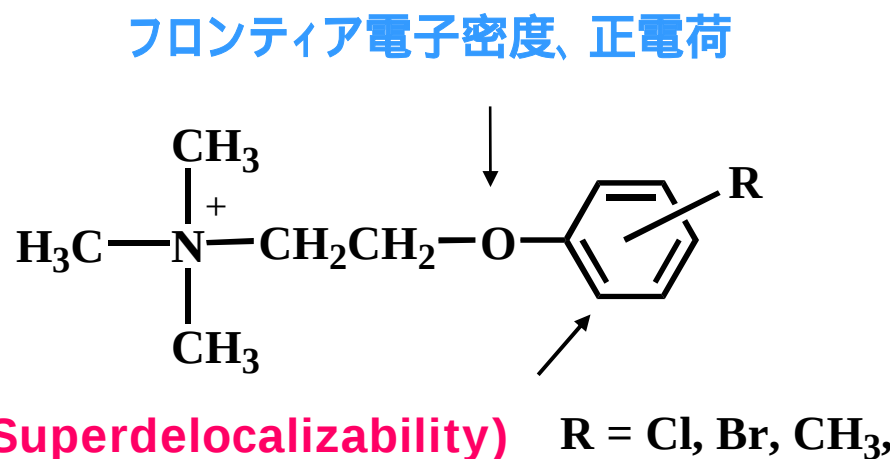
スルホニウム化合物のアセチルコリン様作用

Phenylether choline のニコチン様作用と電子状態

K. Fukui, C. Nagata, A. Imamura, *Science*, **132**, 87 (1960)



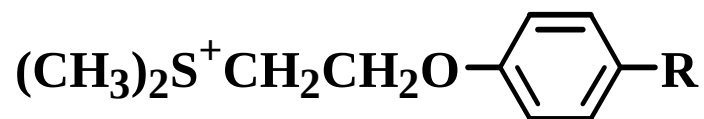
Acetyl choline



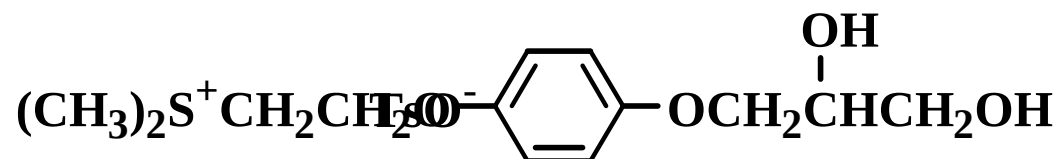
Phenylether choline

IPD 化合物の場合 Sr など電子的性質と
アセチルコリン様作用は関係がなかった

アセチルコリン様作用の消去



TsO⁻



Molecular volume:
259.6 Å³

R	Å ³	R _{ia}
H	182.9	+++
Cl	196.8	++
CH ₃	199.5	++
OH	191.5	+
OCH ₃	207.6	+
OCH ₂ CH ₃	225.6	-
C(CH ₃) ₃	249.2	-

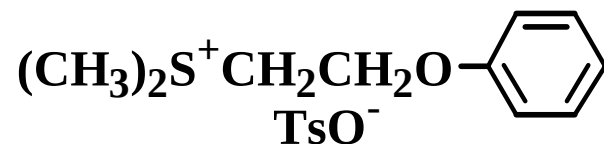
Molecular volume: Ach; 157.1 Å³, nicotine; 168.1 Å³
Phenyethercholine; 192.2 Å³

R_{ia}: The intrinsic activity ratio with Ach (1x10⁻⁹g/ml) in atrial strip of guinea pigs (comp; 1x10⁻⁶g/ml) +++; R_{ia} >1.0, ++; 0.5 < R_{ia} <1.0 +; 0 < R_{ia} <0.5, -; no activity

Y. Tada et al., *Chem-Bio Inf. J.* 3, 163-174 (2003)

結合様式の変換 (Lead Evolution)

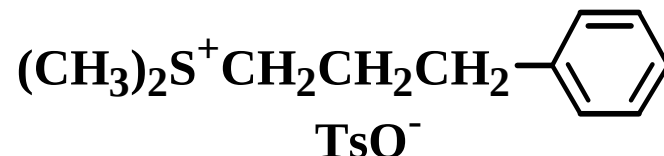
PCA inhibition (ip)
dose: 20mg/kg



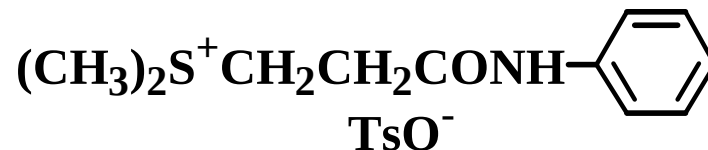
72.7%



-29.2%

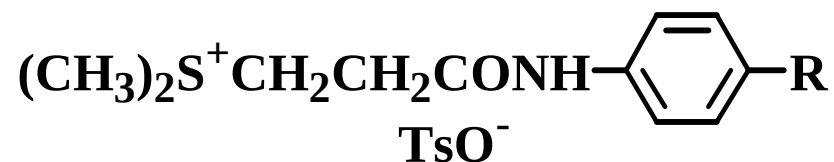


26.1%



27.1%

カルバモイル誘導体の最適化

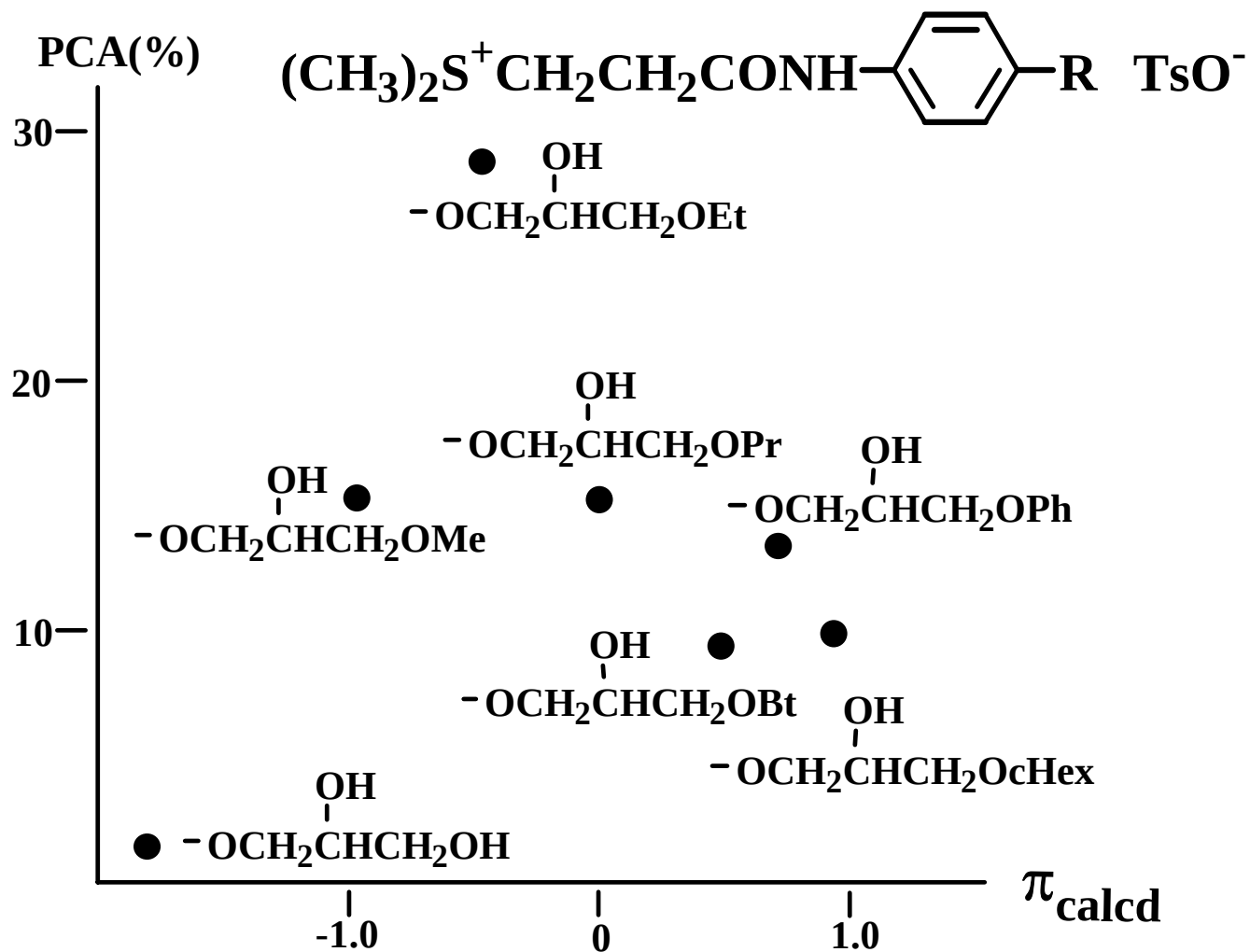


$\text{R} = \text{Cl, Me, CF}_3, \text{COMe, OMe, OH}$
 $\text{F, CH}_2\text{COOH,}$



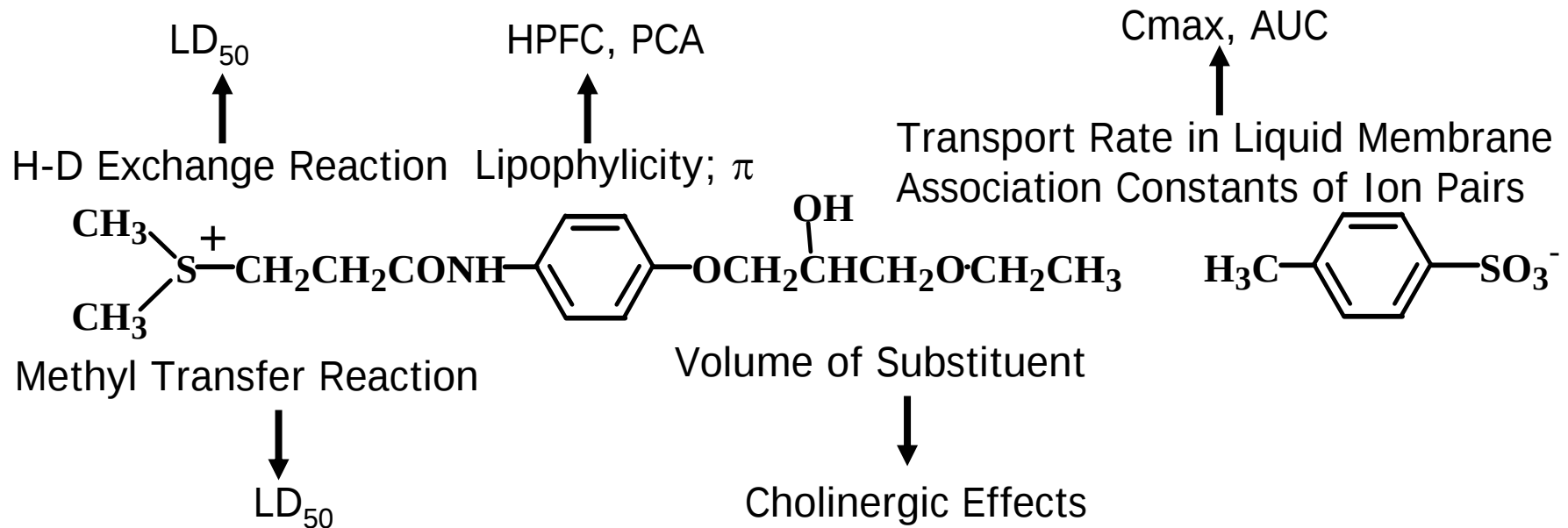
	PCA inhibition (ip) dose: 20mg/kg	LD ₅₀ (mg/kg) in mice
$-\text{OCH}_2\text{CHCH}_3$	13.8%	97
OH $-\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{OH}$	38.7%	1040
$-\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{OH}$	-	324
OH $-\text{OCH}_2\text{CHCH}_3$	-	495

グロセロール置換基の最適化



IPD-1151Tの適応拡大

免疫に関与する 2 型ヘルパーT細胞 (Th2) 由来の
サイトカイン (IL-4、IL5) 産生抑制に基づく抗炎症作用



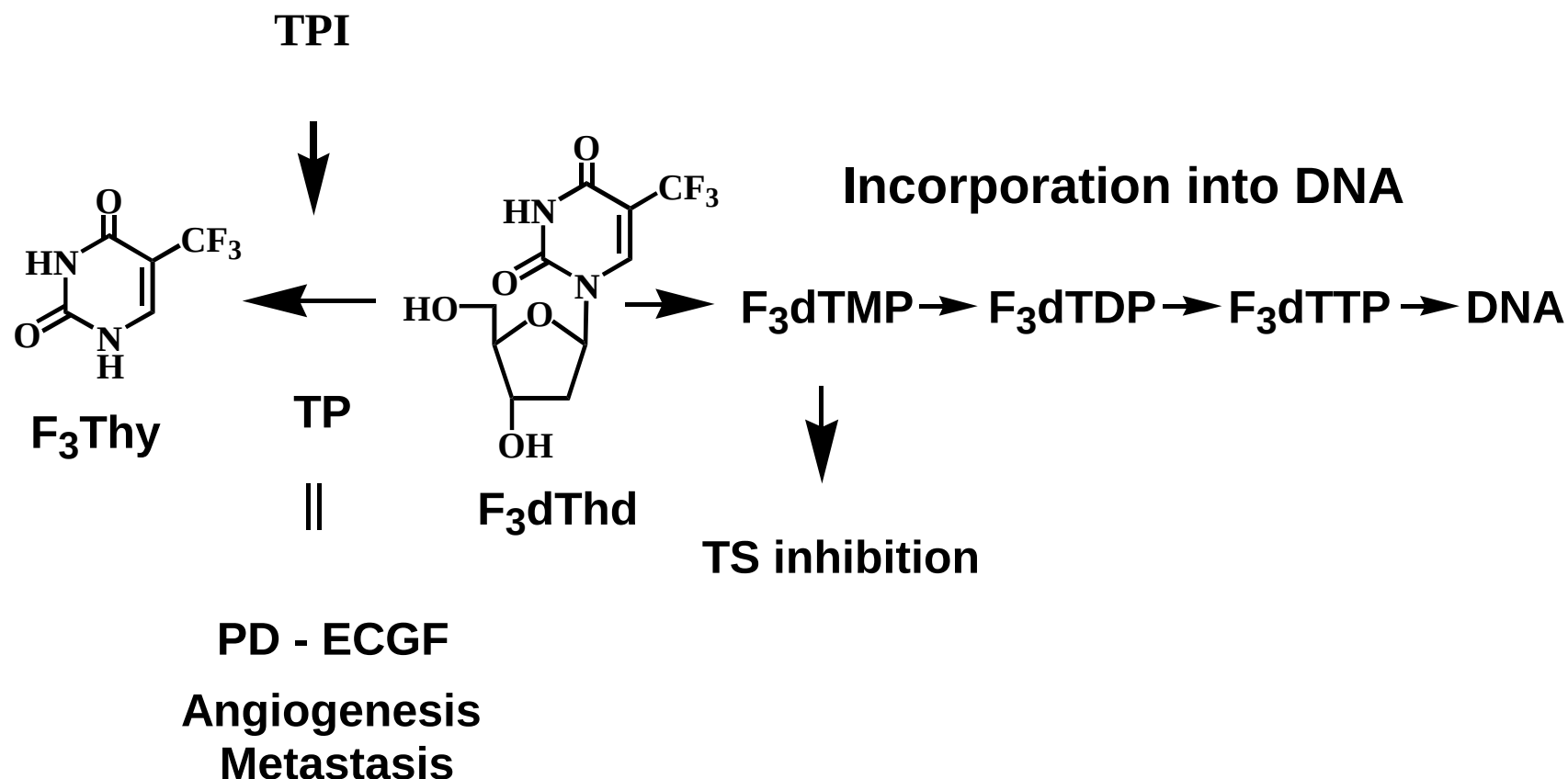
適応症：気管支炎、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎

間質性膀胱炎、慢性非細菌性前立腺炎への適応拡大

TAS-102 ; 代謝拮抗抗腫瘍剤 Thymidine Phosphorylase(TP) 阻害剤の開発

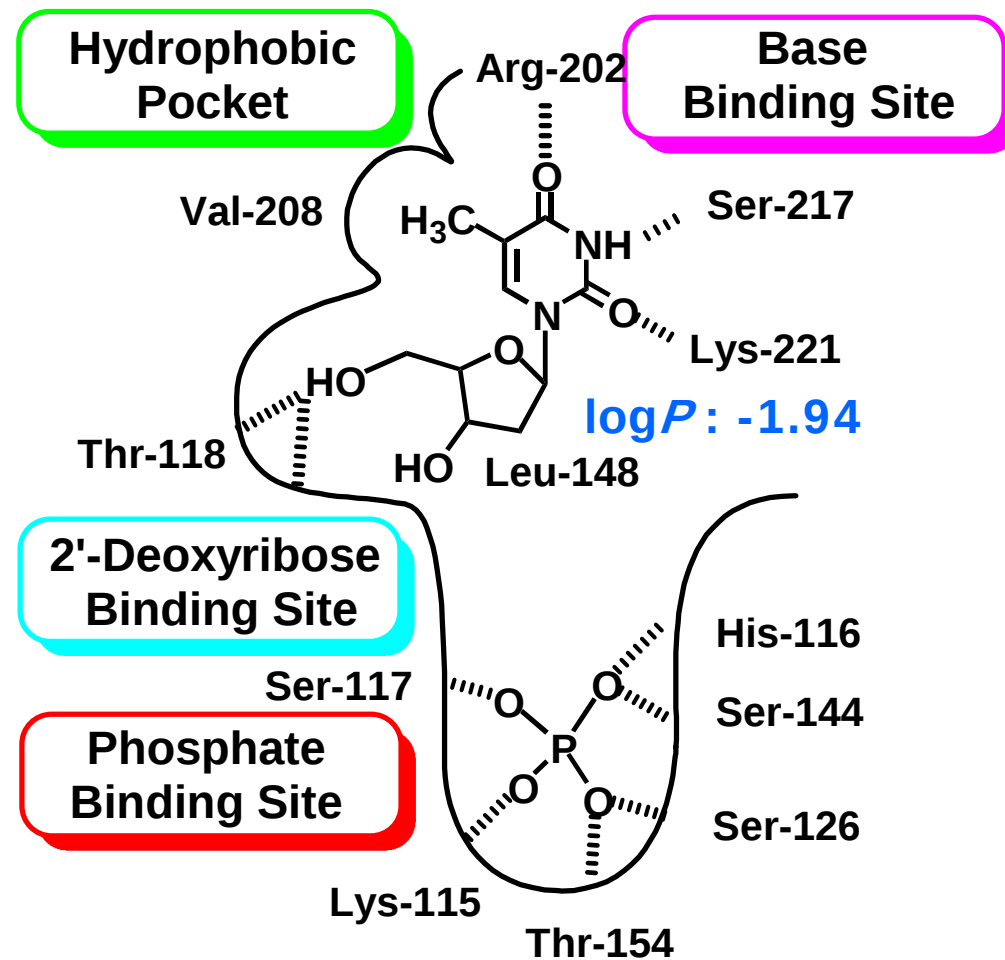
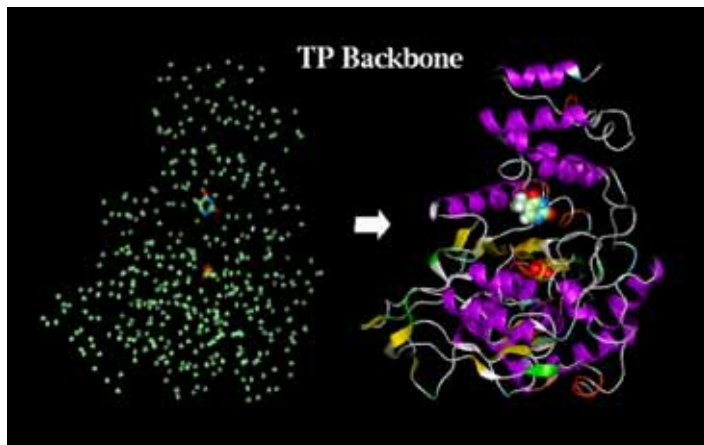
< Target-based Drug discovery >

Structure Based Drug Design

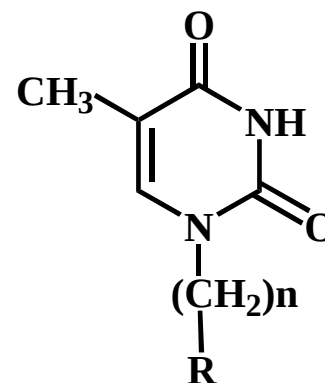
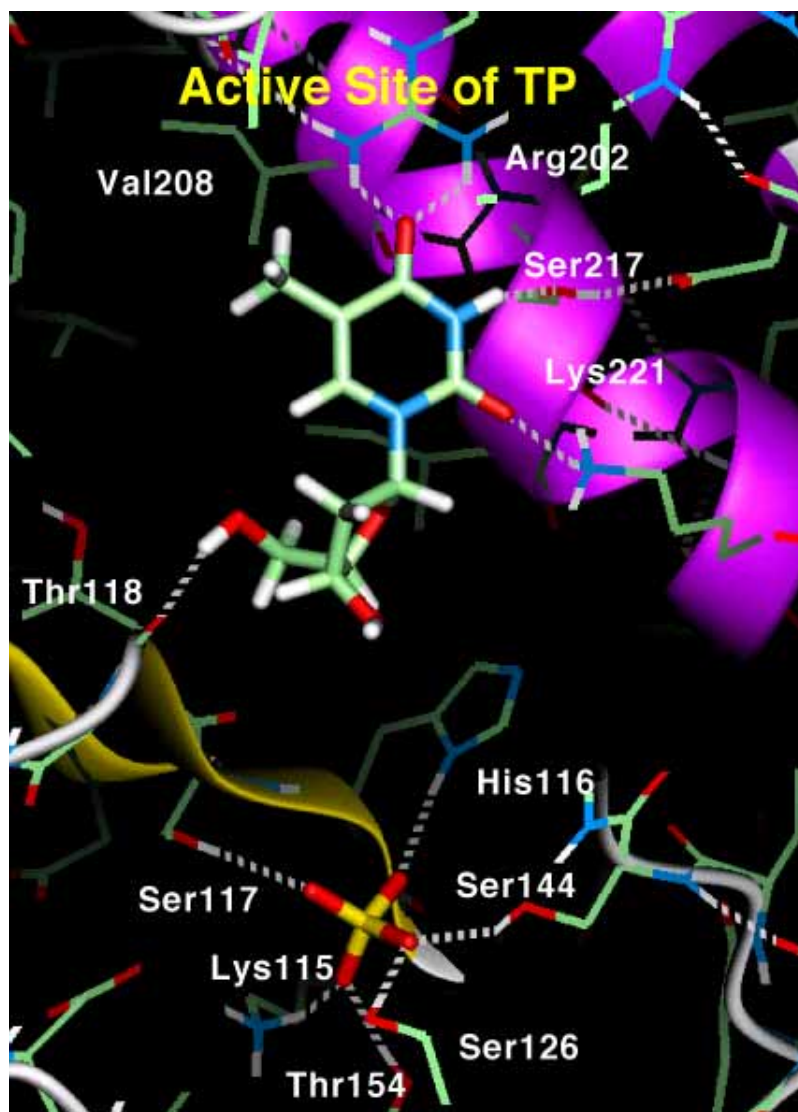


ヒト TP のホモロジーモデリング

E. coli TP (1TPT)
↓
Building of Backbone
↓
Homology Modeling
(Human PD-ECGF)
↓
3D-Structure of Human TP
by CHARMm/QUANTA



Phosphate binding site of TP



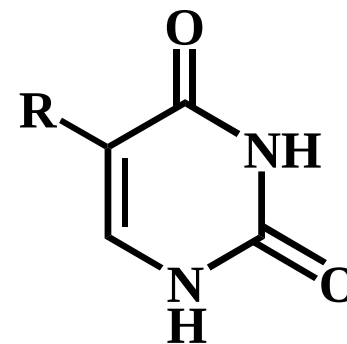
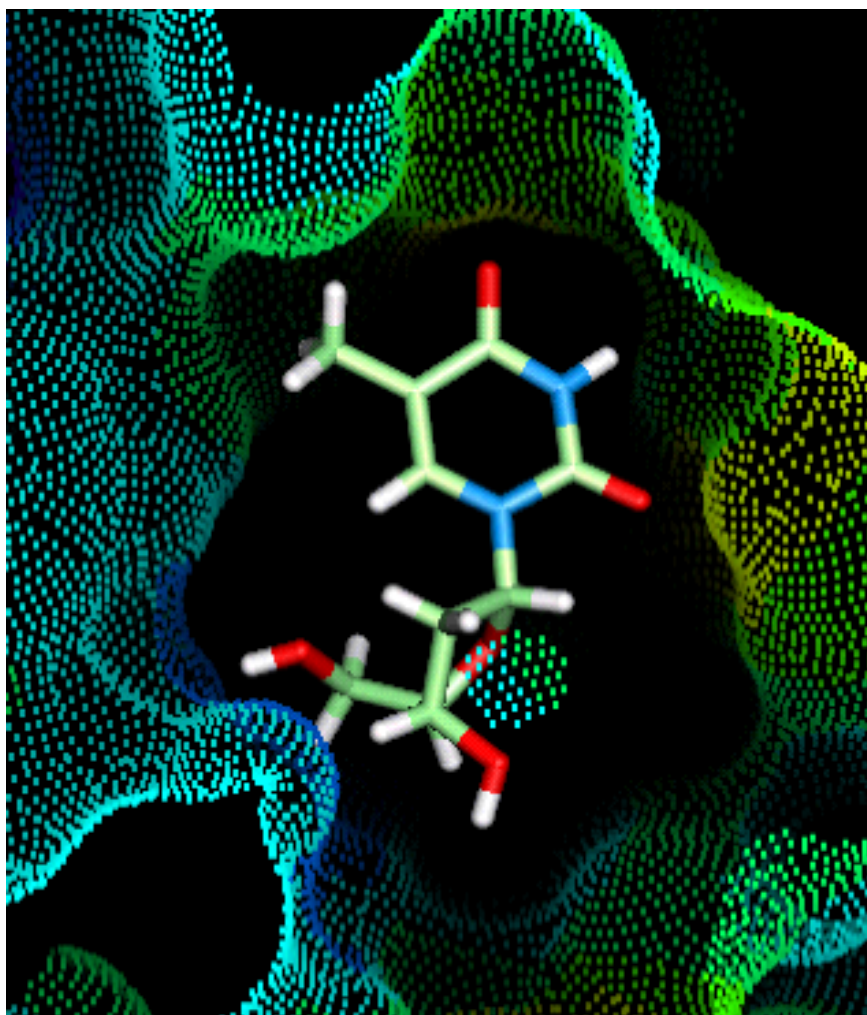
$\left[\text{R} = \text{NH}_2, \text{COOH}, n = 2 \sim 8 \right]$



Inhibition 46% (100 μ M)

Esteban-Gamboa et al. *J. Med Chem.*,
43, 971-983A. (2000)

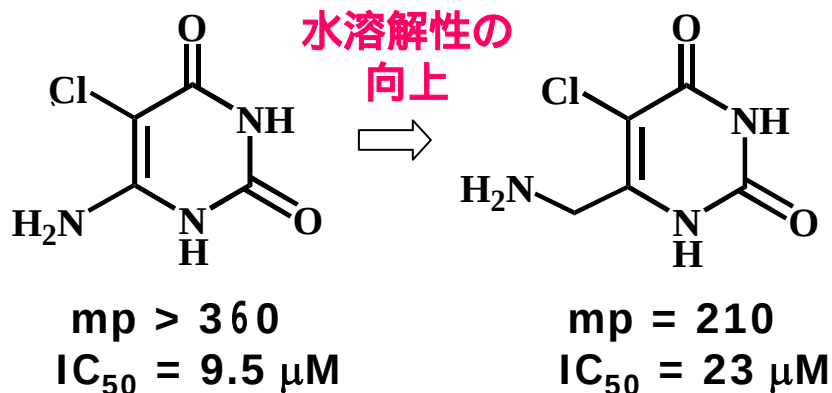
Hydrophobic Pocket



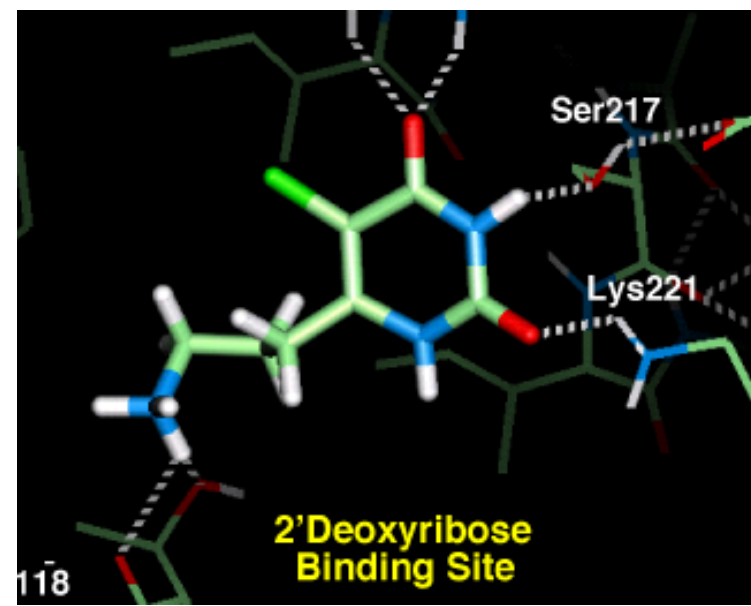
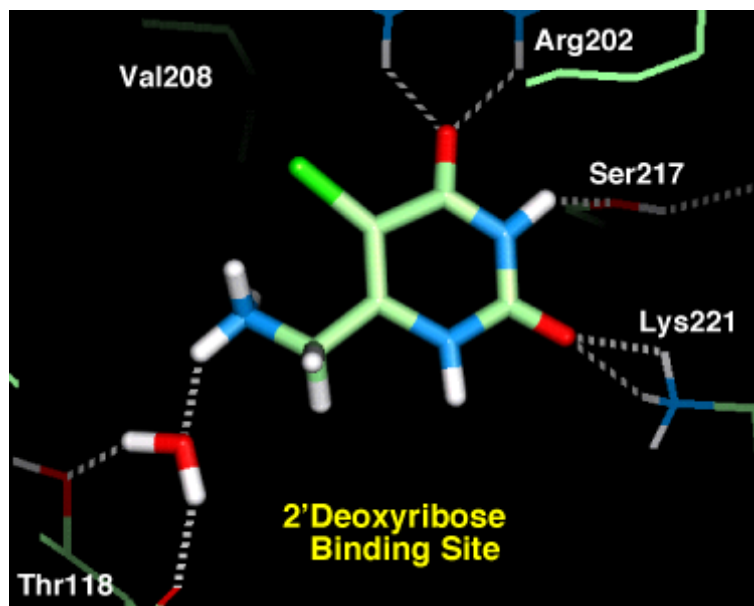
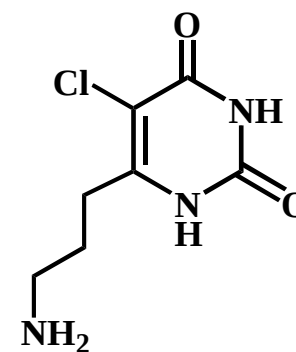
R	$\Delta V(\text{\AA}^3)$	IC ₅₀ (μM)
H	-	76
F	5.4	26
Cl	13.9	0.1
CH ₃	16.9	1.8
Br	17.8	3.8
NO ₂	24.3	4.8
I	25.6	6.0

2'-Deoxyribose Binding Site との相互作用

<水を介する水素結合>

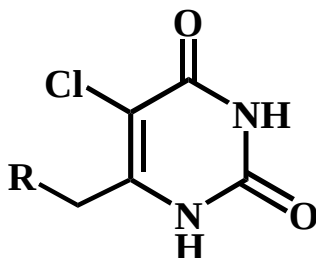


<直接水素結合>



$$\log S = -\log P - 0.01 \text{ mp} + 0.5$$

6-Aminomethyl-5-chlorouracil 誘導体

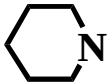


$$\log(1/IC_{50}) = -0.936 \text{ CLOGP} - 29.38 \text{ Charge} + 2.385 \quad (1)$$

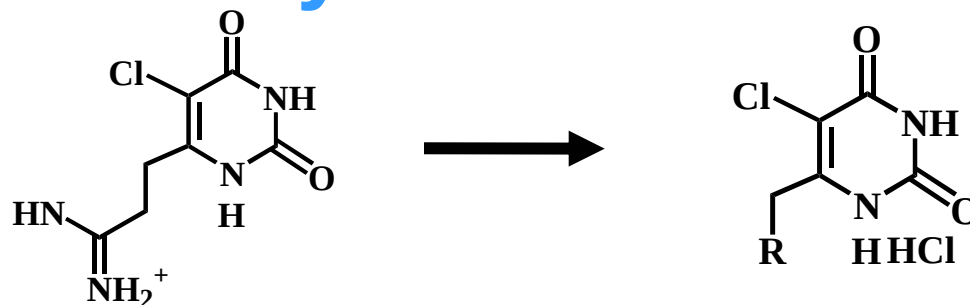
(n=11, r=0.811, s=0.533)

Physicochemical Properties

H-bond
 $\uparrow$
pKa
 $\uparrow$
Charge
(Quantum Mechanics)

R	CLOGP	Charge	IC ₅₀ (μM)
NH ₂	- 1.391	- 0.033	23
CH ₃ NH	- 0.975	- 0.044	12
C ₂ H ₅ NH	- 0.446	- 0.055	20
(CH ₃) ₂ CHNH	- 0.083	- 0.055	32
CH ₃ (CH ₂) ₂ NH	- 0.529	- 0.054	210
(CH ₃) ₂ N	- 0.369	- 0.063	21
(C ₂ H ₅) ₂ NH	0.369	- 0.076	340
	0.904	- 0.083	120
	0.345	- 0.096	2.2
	- 0.214	- 0.104	2.6
	- 0.795	- 0.104	1.0

6-Iminomethyl-5-chlorouracil 誘導体

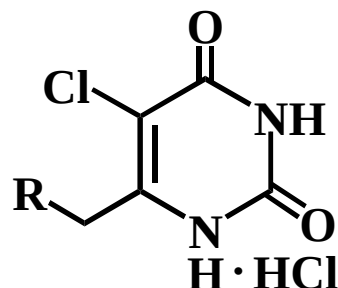


$$\log(1/IC_{50}) = -0.308 \text{ CLOGP} - 14.98 \text{ Charge} - 0.966 I + 3.98 \quad (2)$$

(n=23, r= 0.816, s= 0.818)

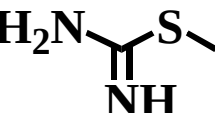
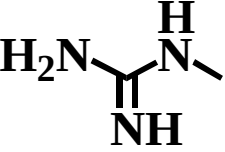
R	CLOGP	Charge	IC ₅₀ (M)	
			Calcd. ; eq.(1)	Obs.
SC(=NH)NH ₂	- 0.641	- 0.161	3.9 x 10 ⁻⁸	3.5 x 10 ⁻⁷
SC(=NH)NHCH ₃	- 1.390	- 0.177	1.5 x 10 ⁻⁹	1.5 x 10 ⁻⁷
SC(=NHCH ₃)NHCH ₃	- 0.434	- 0.131	3.4 x 10 ⁻⁹	2.0 x 10 ⁻⁶
S-2-imidazolinyll	- 1.118	- 0.184	1.9 x 10 ⁻¹²	2.5 x 10 ⁻⁵
NHC(=NH)NH ₂	- 1.953	- 0.204	1.3 x 10 ⁻⁸	2.7 x 10 ⁻⁷
N(CH ₃)C(=NH)NH ₂	- 1.197	- 0.240	6.5 x 10 ⁻⁸	6.7 x 10 ⁻⁸
NHC(=NH)NHCH ₃	- 0.416	- 0.220	6.5 x 10 ⁻⁸	6.5 x 10 ⁻⁸
NHC(=NCH ₃)NHCH ₃	- 0.441	- 0.182	3.4 x 10 ⁻⁷	2.6 x 10 ⁻⁵

マウス血中濃度(経口投与)



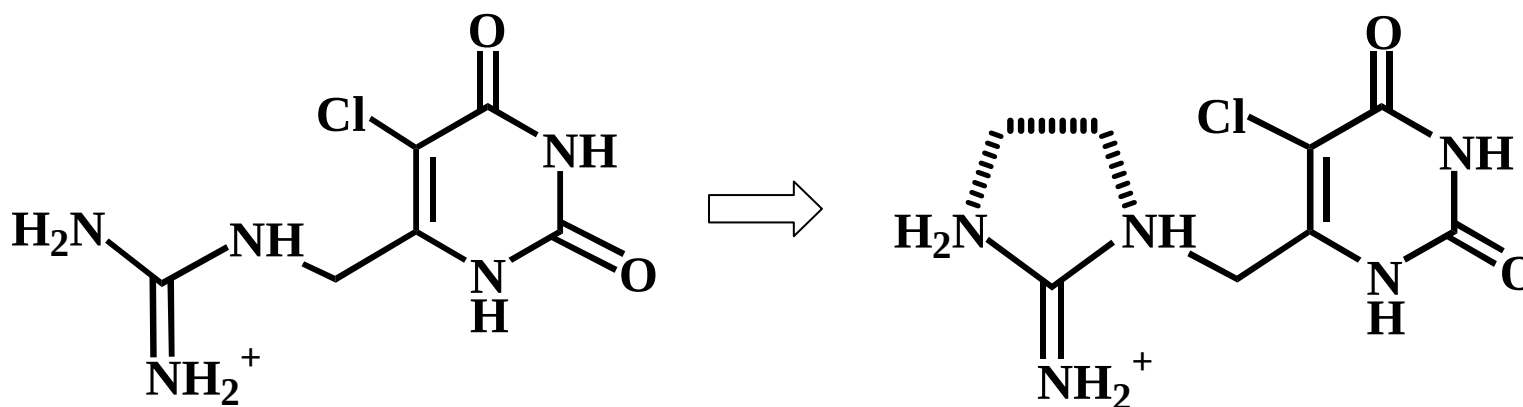
$$C_{\max} = 5.10 \text{ CLOGP} + 66.7 \text{ Charge} + 22.07 \quad (4)$$

$$(n=5, r=0.719, s=9.26)$$

R					
CLOGP	- 0.345	- 0.795	-0.641	-1.197	- 1.953
Charge	- 0.096	- 0.104	- 0.161	- 0.240	- 0.203
IC ₅₀ (M)	2.2 x 10 ⁻⁶	1.0 x 10 ⁻⁶	3.5 x 10 ⁻⁷	6.5 x 10 ⁻⁸	2.7 x 10 ⁻⁷
C _{max} (μg/ml)	23.0	4.38	2.00	1.43	0.80

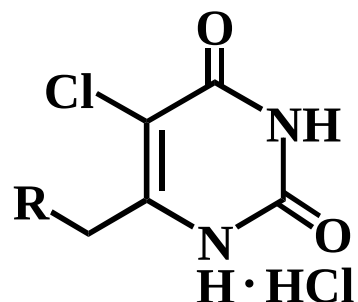
阻害活性と血中濃度の高い化合物の設計

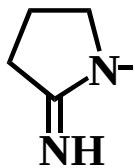
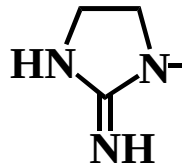
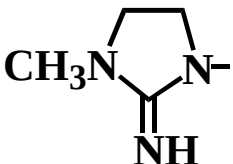
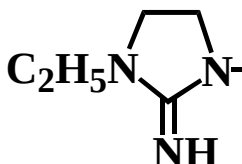
阻害活性の向上: 疎水性が**低く**、N 原子の負電荷が**大きい**
経口吸収の向上: 疎水性が**高く**、N 原子の負電荷が**小さい**



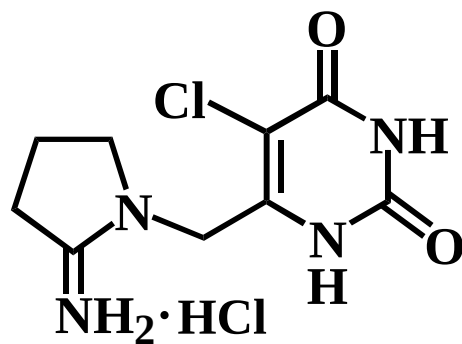
環構造を導入して少しでも疎水性を上げる

環状イミン化合物の阻害活性と血中濃度



R					
$C_{\max}(\mu\text{g/ml})$	Calcd.	9.73	5.15	11.68	14.77
	Obs.	2.93	2.98	-	-
$IC_{50}(M)$	Calcd.	9.1×10^{-7}	2.6×10^{-7}	1.3×10^{-6}	9.6×10^{-7}
	Obs.	3.5×10^{-8}	1.3×10^{-8}	4.6×10^{-8}	3.6×10^{-7}
CLOGP		- 0.366	- 0.925	- 0.049	0.48
Charge		- 0.157	- 0.183	- 0.152	- 0.171

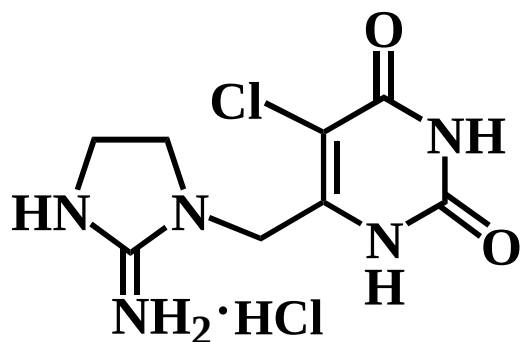
担癌(AZ521)ヌードマウス血中 F₃dThd 濃度



dose* (mg/kg)	Cmax (μg/ml)	AUC (μg · hr/ml)
---------------	--------------	--------------------

-	8.16	7.20
---	------	------

47.1	21.79	22.42
------	-------	-------



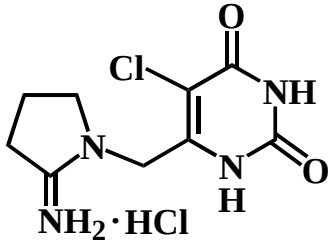
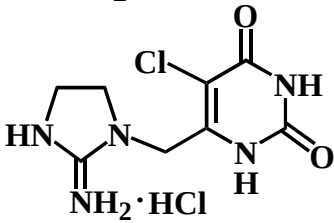
-	9.43	5.90
---	------	------

43.2	17.90	14.58
------	-------	-------

*F₃dThd(50mg / kg)と等モル

M. Fukushima et al. *BioChem. Pharmacol*, **59**, 1227-1236 (2000)

ヌードマウス(CO-3;ヒト大腸癌)に対する効果

	dose* (μg/kg)	IR(%)
F ₃ dThd	-	27.2
	47.1	40.9
	43.2	26.1

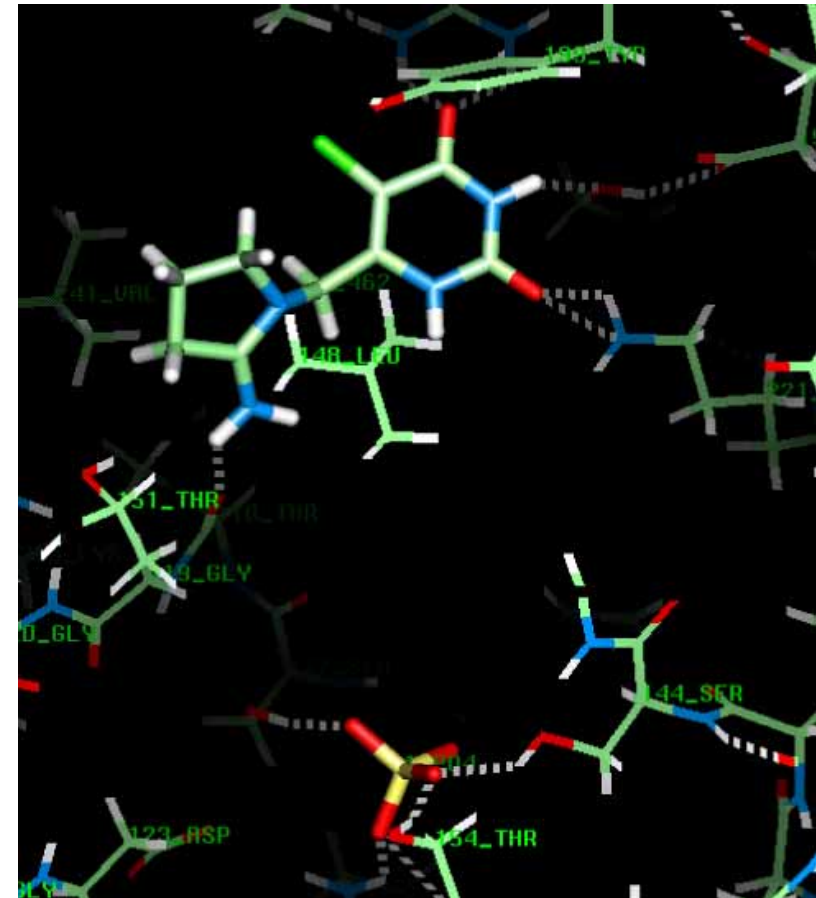
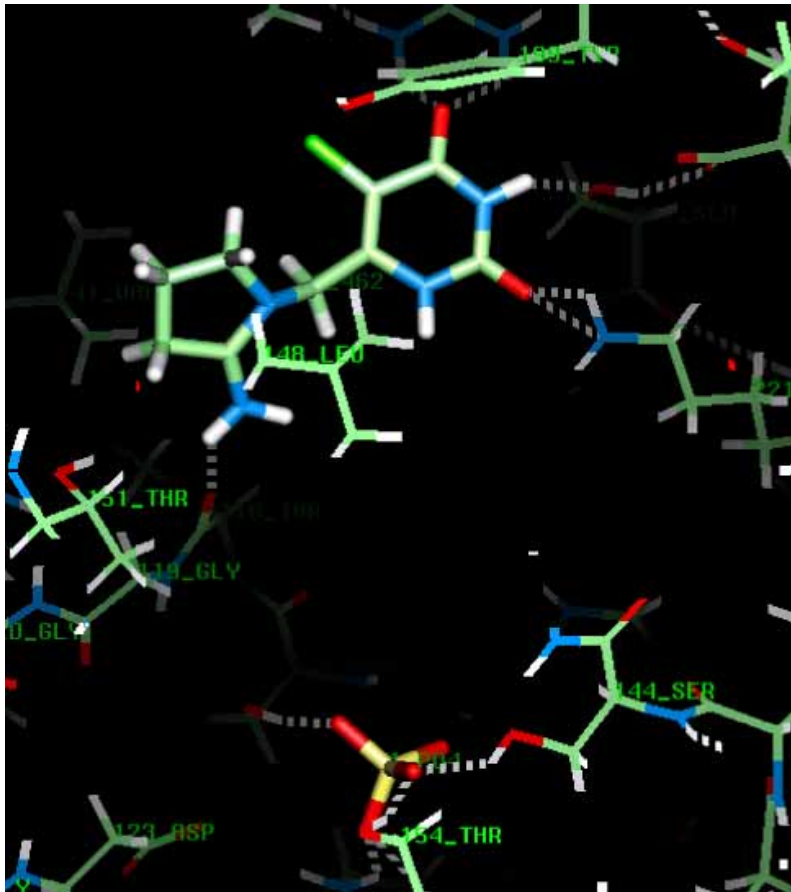
*F₃dThd(50mg / kg)と等モル

Active conformation Open or closed conformation?

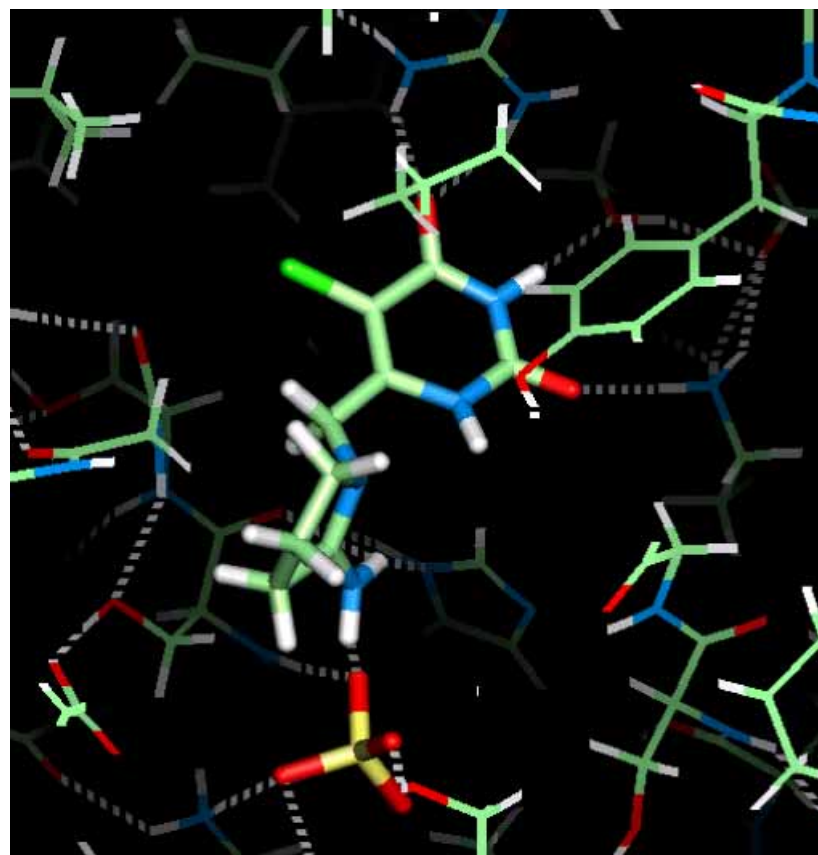
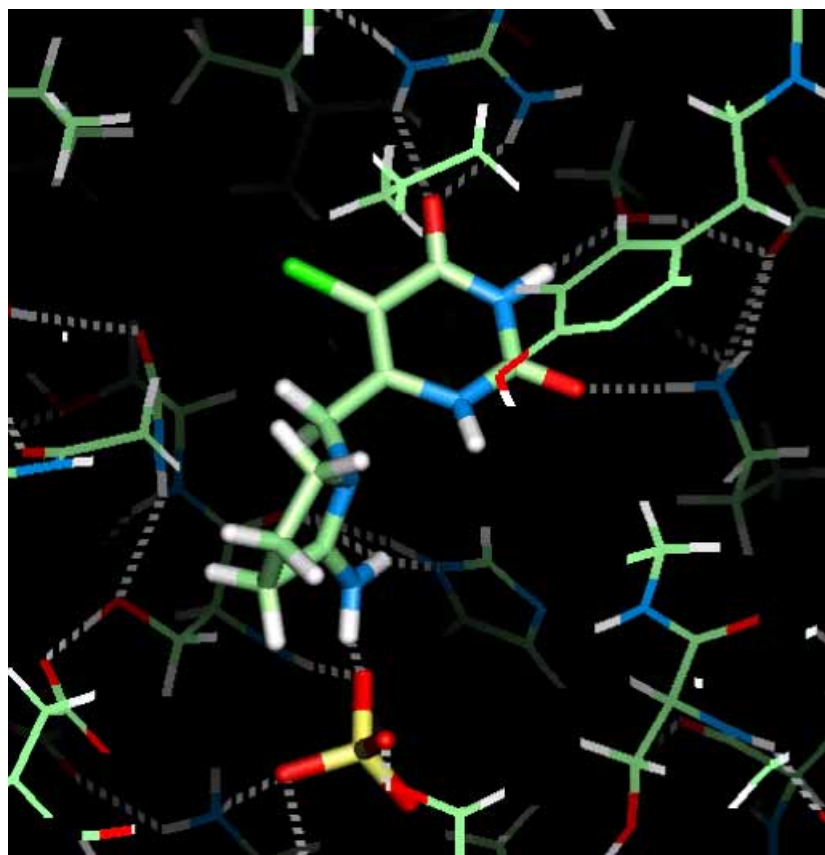


BsPYNP; M.J.Pugmire, Structure 6, 1467-1479 (1998)

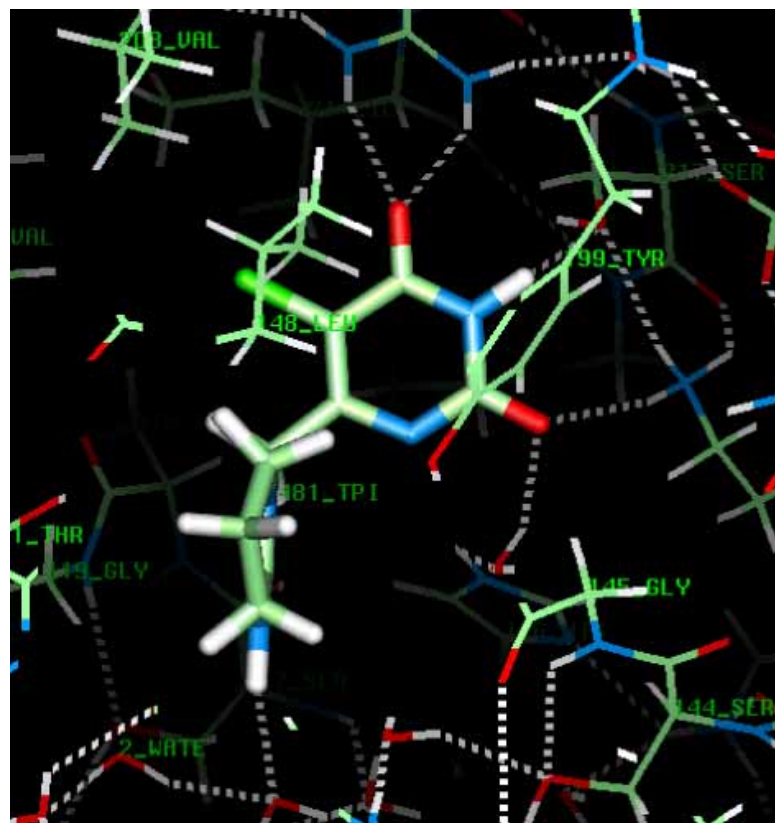
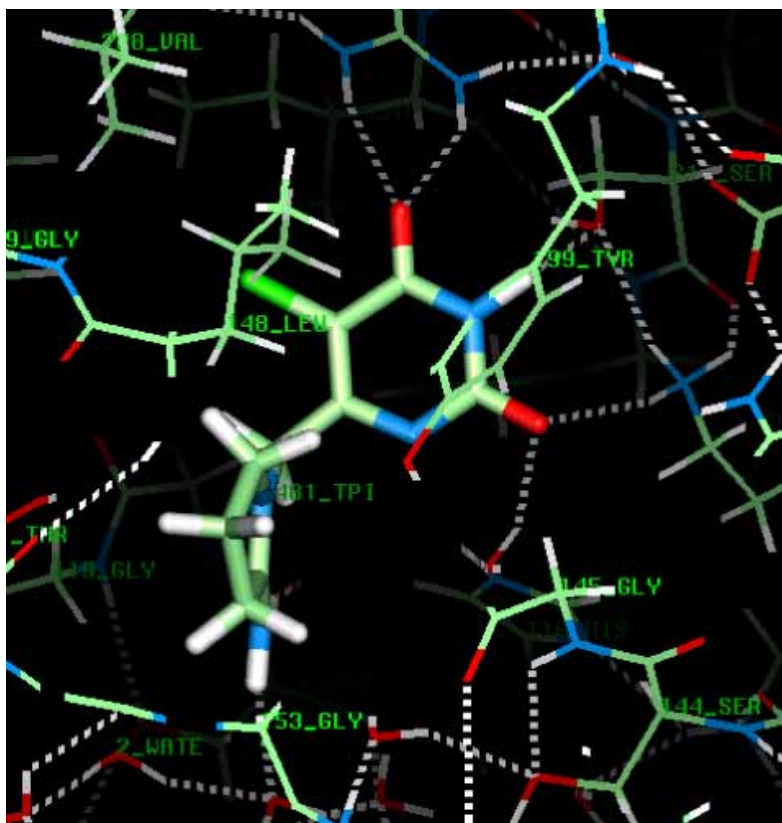
TP open model with TPI



TP closed model with TPI = Active conformation

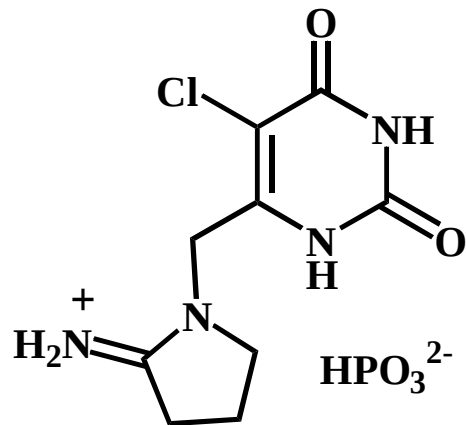


Crystal Structure of Human Thymidine Phosphorylase in Complex with a Small Molecule Inhibitor



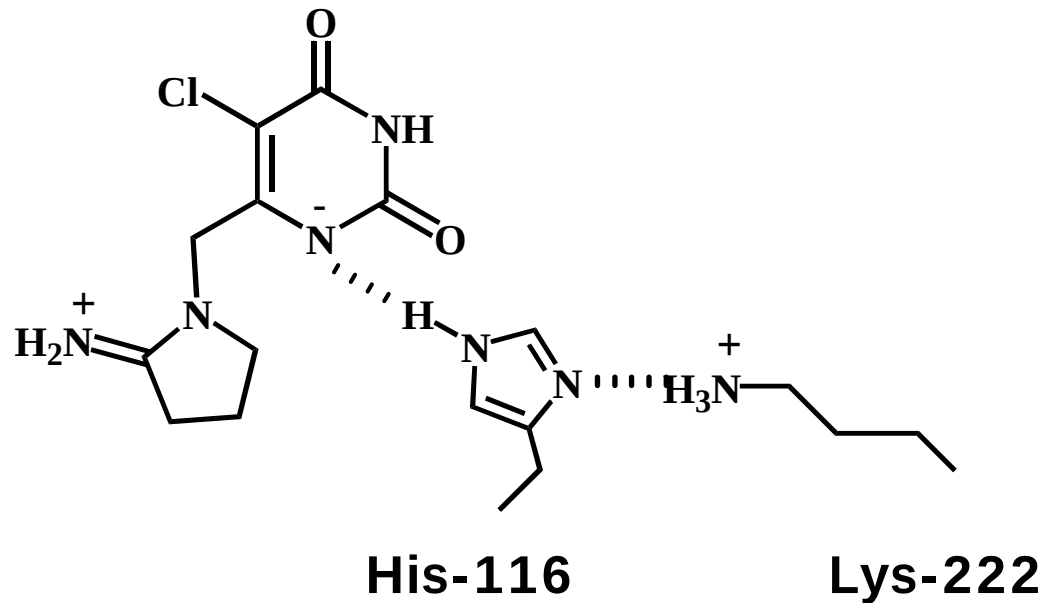
R. A. Paupit, *Structure*, **12**, 75-84 (2002-4)

TPの中でのTPIのイオン構造は？



N1:ACDpKa = 7.78

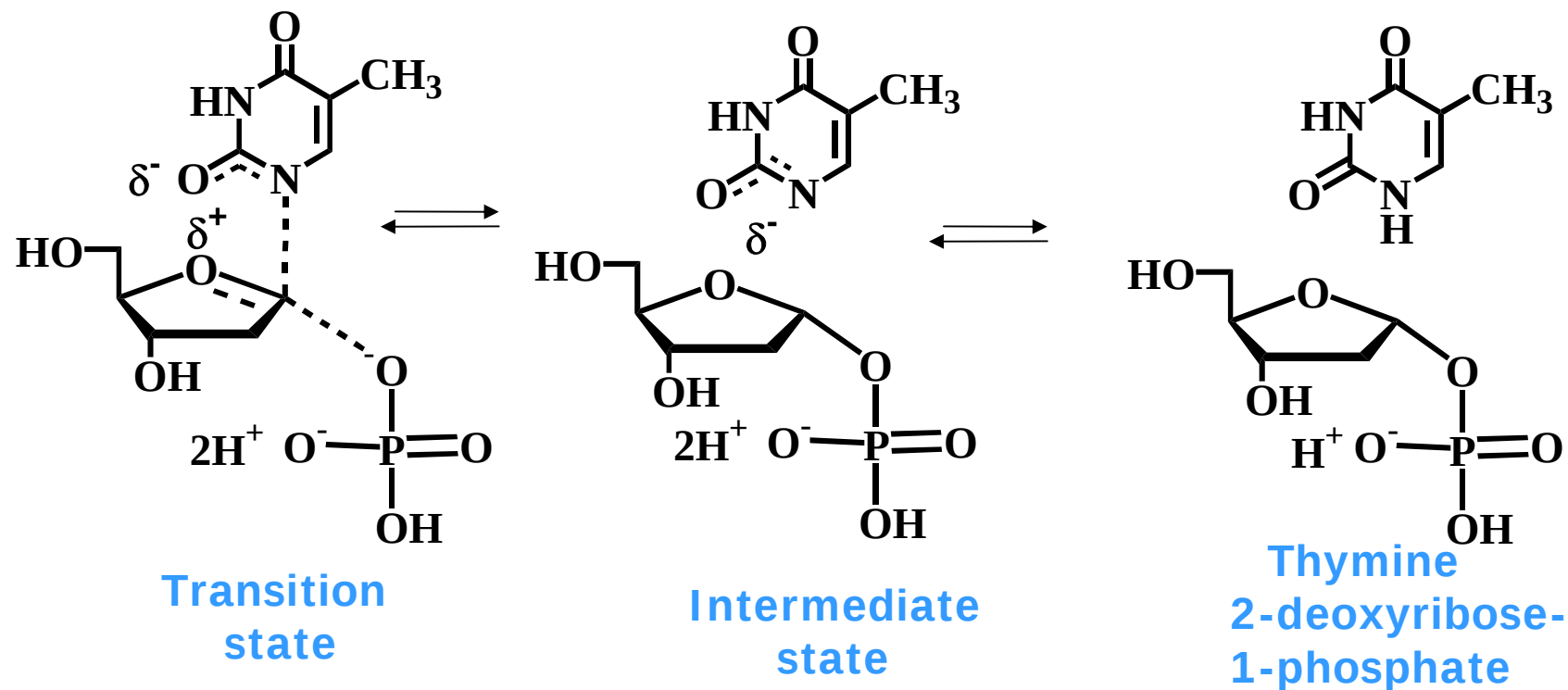
TPI cation



TPI zwitterion

どちらの構造が正しい？

TPの作用メカニズムを計算化学で予測できるか？



阻害活性の本質を知るテクノロジーを
持つことは創薬の成功確率の向上に繋がる

創薬の成功確率向上に向けて

Right Target

Right Screening System

Right Lead Compound: Drug likeness

Right Optimized Compound: proof-of-principle
ADME-Tox

Right Pre-clinical Study: Biomarker

Right Clinical Study: proof-of-concept

Registration

Post Launch

適切な意思決定を支えるのが
Chem-Bio Informatics の役割

The background of the slide is a photograph of a scenic landscape. In the foreground, a concrete bridge with a metal railing spans a body of water. In the middle ground, a large, modern, multi-story building with a blue facade is situated on a hillside. The hillside is covered with lush green trees. The sky is blue with some light clouds. The text is overlaid on this image.

CBI 学会 2005年大会

*Chem-Bio Informatics
in Post Genome Era*

委員長 小長谷 明彦(理化学研究所)

2005年8月24日(水)-26日(金)

理化学研究所

ゲノム科学総合研究センター

Thank you