

合	同	分	科	会	選	出
---	---	---	---	---	---	---

2010 年度 合同分科会 より

特別講演

創薬における Exa computing への期待

大正製薬株式会社

北村 一泰

創薬におけるExa computingへの期待

- 1) 医薬の役目を一言で表現すれば
- 2) 医薬R&Dプロセスの紹介(概要)
- 3) 創薬における分子計算(現状)
- 4) 創薬におけるExa computingへの期待

北村 一泰
大正製薬(株)

サイエンティフィック・システム研究会
10/21/2010 神戸

“医薬”の役目を一言で表現すれば!!

1) “医薬”の役目を一言で表現すれば 医薬品の医療貢献例*

*演者の独断と偏見

疾患	一般名	医療貢献
統合失調症	クロルプロマジン (1952)	・神経科の「閉鎖病棟」を開放する コンドレン/ワシントン(ドーパミン阻害剤) 1950 ローレン・ブーラン(薬学/ファイアベンティス)
うつ病 不安障害	パロキセチン (1991)	・内科領域まで広げる パキシル(SSRI) 吉富 起源フェロサン(Novo Nordisk)→GSK
	ベンラファキシ (1994)	エフェクサー(SNRI) 日本:申請中 ワイス
循環器系疾患 高血圧症 不整脈 狭心症 心筋梗塞 心不全	プロプラノロール	・心臓発作、脳卒中の激減(約75%) インデラル(高血圧、狭心症、不整脈) ワイス ヘルベッサー(高血圧、狭心症) 田辺 カプトリル(高血圧) BMS ニューロタン(高血圧)(糖尿病性腎症) メルク メバルタン(高血圧症) 三共
	ジルチアゼム (1974)	
	カプトリル (1980)	
	ロサルタン (1994)	
	ブラバスタチン (1989)	
消化性潰瘍	シメチジン (1976)	・手術の激減(約80%減)(胃潰瘍&十二指腸潰瘍) タガメット(Hz) GSK オメプラゾール(オメプラゾール(PPID) Hasele (AstraZeneca)
	オメプラゾール (1989)	
慢性骨髄性白血病	イマチニブ (2001)	・5年後生存率の向上(95%) ・感染死亡率・手術の激減
感染症	ペニシリン	・セファロスポリン、キノロン、マクロライド等の抗菌剤研究の基礎
臓器移植	サイクロスポリン (1983)	・臓器移植を可能に(特に肝臓、腎臓) ・劇的な有効性(臓器破壊抑制、疼痛緩和)
関節リウマチ	インフリキシマブ (1998)	レミケード(抗TNFαモノクローナル抗体製剤) Genentech社 エンブレル(完全ヒト型可溶性TNFα/LTαレセプター製剤) Pfizer社 アクテムラ(抗IL6レセプターモノクローナル抗体製剤) 中外製薬-大阪大学
	エタネルセプト(1998)	
	トシリズマブ(2005)	

医薬R&Dプロセスの紹介

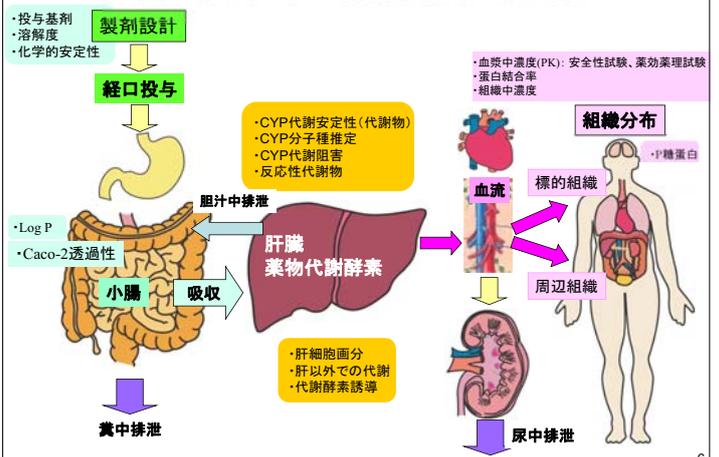
2) 医薬R&Dプロセスの紹介(概要)

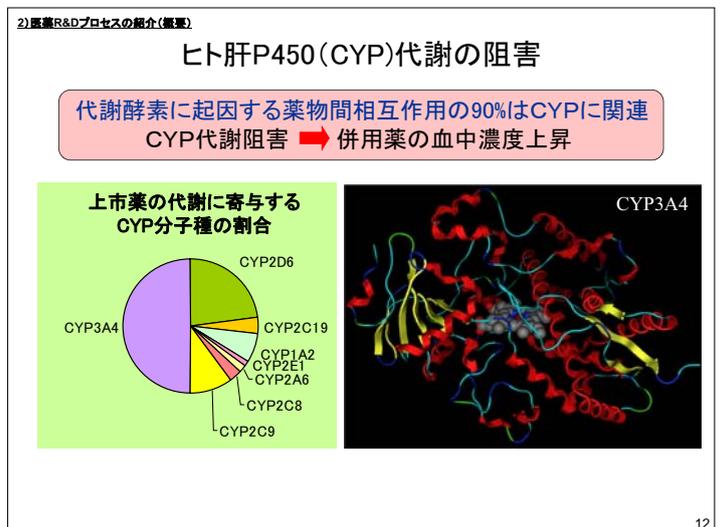
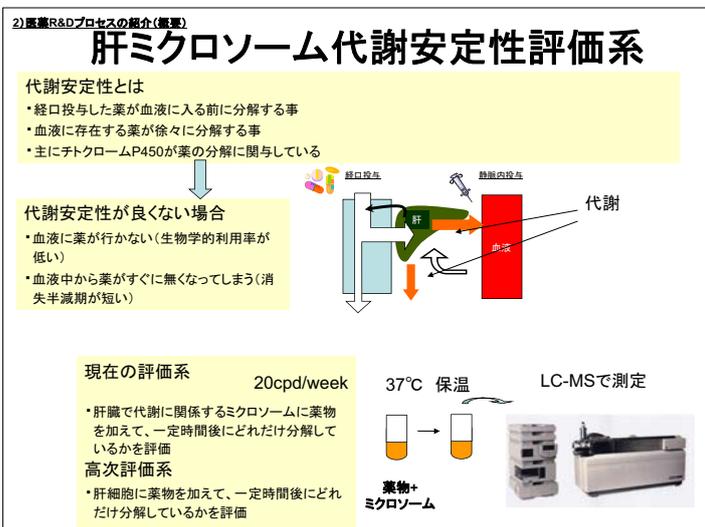
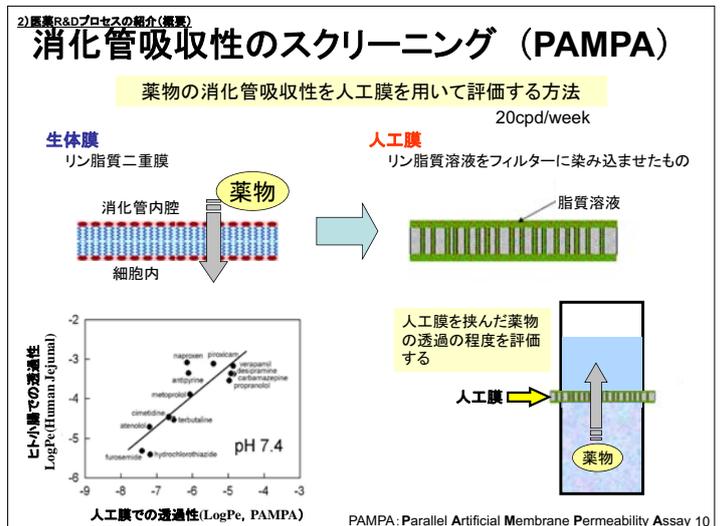
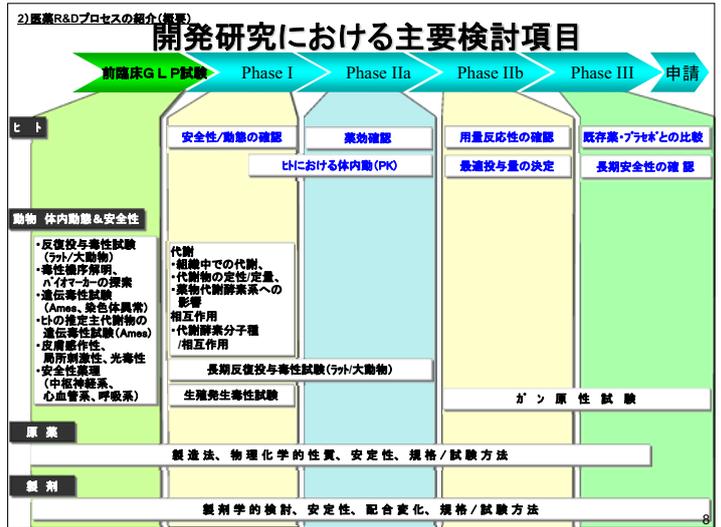
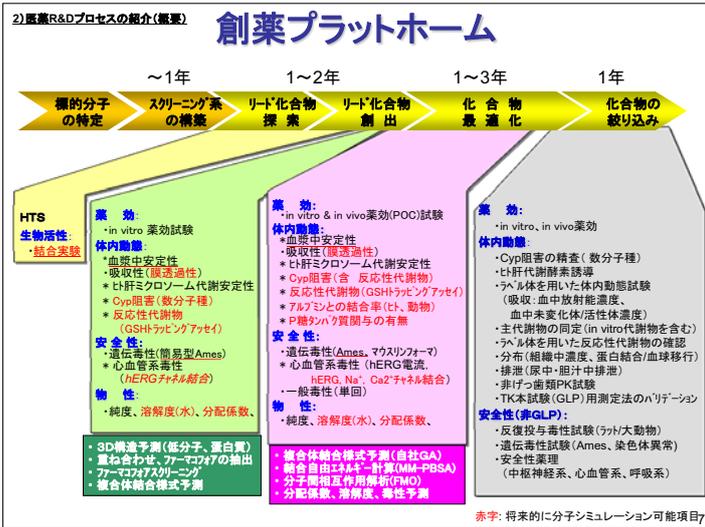
医薬品の研究開発フローと研究開発費(JNP)



2) 医薬R&Dプロセスの紹介(概要)

経口投与時の薬物動態(概略)





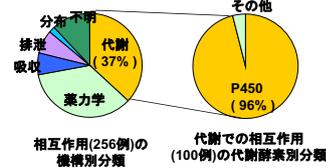
CYP阻害評価系

CYP阻害とは

- 薬の分解に関与する酵素に対する阻害能力
- 薬物間相互作用とも呼ばれている
- 副作用に分類される事もある

CYPを阻害する場合

- 併用薬の血中濃度が高くなり過ぎ、併用薬の副作用が出やすくなる
- 承認申請が認められない可能性がある



現在の評価系

20cpd/week

37°C 保温

LC-MSで測定

- ミクロソームに代表的薬と評価薬物を加えて、代表薬の分解を阻害するかを評価(6種類の代表薬)

高次評価系

- 評価薬物の代謝物が分解を阻害するかを評価(代謝依存的阻害)



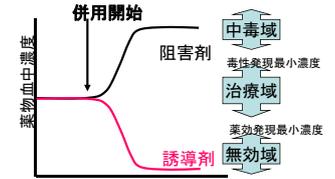
酵素誘導評価系

酵素誘導とは

- 薬の分解に関与する酵素が薬剤によって増えること
- 薬物間相互作用の一つに分類される(CYP阻害の逆)
- 副作用に分類される事もある

酵素誘導が起こると

- 併用薬の血中濃度が低くなり、併用薬の薬効が消失する
- 承認申請が認められない可能性がある



現在の評価系

0.2cpd/week

37°C 数日保温

LC-MSで酵素活性測定

- 肝培養細胞に3-4日間薬物に加え、代謝酵素のmRNA量と酵素活性を測定

高次評価系

- 新鮮肝細胞に3-4日間薬物に加え、代謝酵素のmRNA量と酵素活性を測定



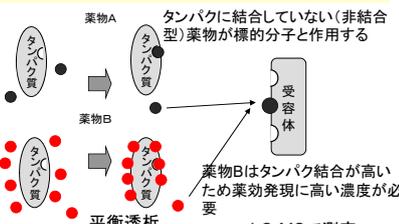
タンパク結合評価系

タンパク結合とは

- 血中に存在する薬物のうちどれだけがタンパクと結合しているかを評価する
- タンパクと結合していない薬物が作用を示す
- 主に血漿アルブミンが結合タンパクとなる

タンパク結合が高い薬物は

- 血中濃度が高いのに薬効が出ない
- 他の薬と併用した場合、副作用が出る(薬物間相互作用)可能性がある



現在の評価系

5cpd/week

平衡透析

LC-MSで測定

- 血清と評価薬物を平衡透析し、結合率を算出検討中評価系
- 血漿アルブミン、G酸性糖タンパクをセンサーに結合させ、親和性を測定し、結合率を予想



P-Glycoprotein (P-gp) 評価系

P-gpとは

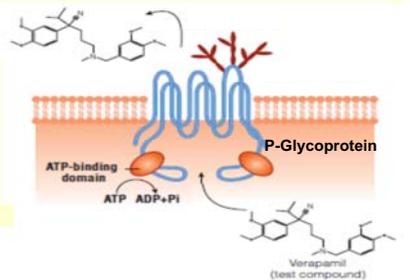
- ABC(ATP-binding cassette)トランスポーターファミリーに属する分子量約17万の12回膜貫通型タンパク質
- ATPを利用して基質を細胞内から細胞外へと能動的に排出するポンプである。
- 脳、小腸、肝臓に発現している

P-gpの基質となると

- 脳に分布しない
- 消化管吸収が悪くなる

P-gpを阻害すると

- 消化管吸収が良くなりすぎる
- 脳へ薬物が多く行き
- 副作用が出る危険性が高くなる



P-gpの評価系

- P-gpを発現させた細胞膜を透過する速度の比で基質がどうかを判定



輸送担体(トランスポーター)評価系

トランスポーターとは

- 薬物や低分子物質を細胞に取り込んだり、排出したりするタンパク質の名称
- 医薬品に関連するものはABC型とSLC型の2種類ある。
- 消化管、肝、腎、脳での役割が重要

トランスポーターの基質となると

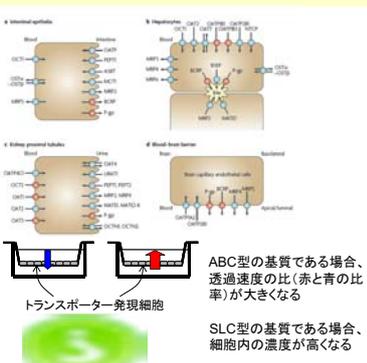
- 脳に分布しない、消化管吸収が悪くなる(ABC型)
- 肝臓に集積する、尿に排出する(SLC型)

トランスポーターを阻害すると

- 消化管吸収が良くなりすぎる(ABC型)
- 肝臓に行かなくなり、血漿中濃度が上がる(SLC型)
- 副作用が出る危険性が高くなる

トランスポーターの評価系

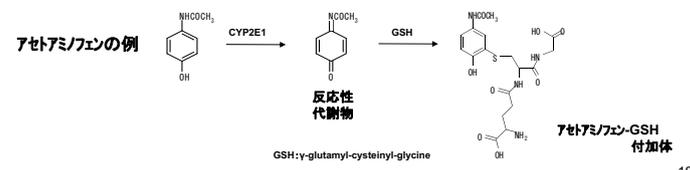
- 発現させた細胞膜を透過する速度の比で基質がどうかを判定(ABC型)
- 発現させた細胞の中に化合物が蓄積するかを判定(SLC型)



グルタチオン(GSH)トラッピングアッセイ

生体高分子に共有結合することで、**肝障害(劇症肝炎等)**、**発がん**、**催奇形性**等の原因となる反応性代謝物の検出法(定性的)

- 肝ミクロソームと薬物をインキュベーションしたときに生成する反応性に富み、極めて不安定な反応性代謝物を、GSHでトラップし安定化して検出する方法(定性的)
- 放射性同位体(RI)標識体が不要、探索段階でのスクリーニングが可能



2) 医薬R&Dプロセスの紹介(概要)

遺伝毒性(Genotoxicity)

遺伝子に何らかの傷害を与えること
あってはならない毒性の一つ

発がん物質
DNA損傷
遺伝子突然変異
体細胞
発がん
染色体異常
生殖細胞
奇形, 流産
誤った情報の遺伝
遺伝毒性物質

細菌を使うAmes試験
動物の細胞を使う染色体異常(小核)試験

19

2) 医薬R&Dプロセスの紹介(概要)

げっ歯類を用いる小核試験

目的: 動物個体に対する染色体異常誘発性の有無を調べる
評価: 大腿骨の骨髓細胞中に小核(=染色体の構造・分裂異常による染色体断片)を有する幼若赤血球の割合から染色体異常の有無を調べる

骨髓
小核誘発物質
染色体異常
前赤芽球
赤芽球
末梢血
幼若 → 成熟赤血球
多染性赤血球
正常性赤血球
小核

20

2) 医薬R&Dプロセスの紹介(概要)

安全性薬理試験(心血管系)

~ QT間隔延長と突然死 ~

活動電位 (in vitro)
心電図 (in vivo)
正常なQT間隔 (APD)
QT間隔 (APD)延長
正常
QT延長
突然死
心室性不整脈

HERG: Human ether-a-go-go related gene; 遅延整流 K⁺ チャネルのうち急速な活性化を示す hERG (IKr) channel をコードする遺伝子

21

2) 医薬R&Dプロセスの紹介(概要)

心室筋(細胞)の活動電位とイオン電流の測定

Ca²⁺
Ca channel
hERG 電流試験
Na⁺
Na channel
K⁺ (IKr)
hERG channel
Action Potential Duration 90 (APD 90)
活動電位試験 (摘出モルモット乳頭筋)
hERG電流試験(パッチクランプ法)

hERG遺伝子導入細胞を用いた結合性試験
モルモット心筋細胞を使うhERG電流試験

22

創薬における分子計算(現状)

23

3) 創薬における分子計算(現状)

リード化合物の設計

低分子化学構造DB
~700万化合物
HTS
3D構造生成
Concord etc.
化合物分類
Pharmacophore抽出
Pharmacophore Screening
Catalyst
Catalyst
複合体3D構造/複合体予測3D構造
Docking Screening
AutoDock
リード化合物候補
合成
評価
リード化合物

HTS: High-Throughput Screening

24

ある世界大手製薬会社のHTSの実績*

* C&EN, 82, 23-32, 2004

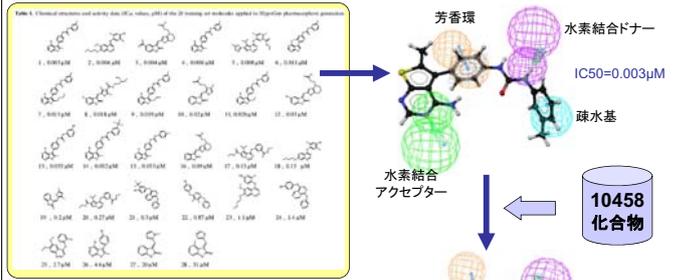
	1996	1999	2003	2004年
評価化合物	10万	43万	62万	105万
成功確率	20%	50%	58%	65%
リード数/標的	1.0	1.7	1.9	2.0
リードの活性	3,000nM	400nM	10nM	10nM

1.3億円/1系

25

3) 創薬における分子計算(現状) Pharmacophore抽出とスクリーニング (Catalyst)

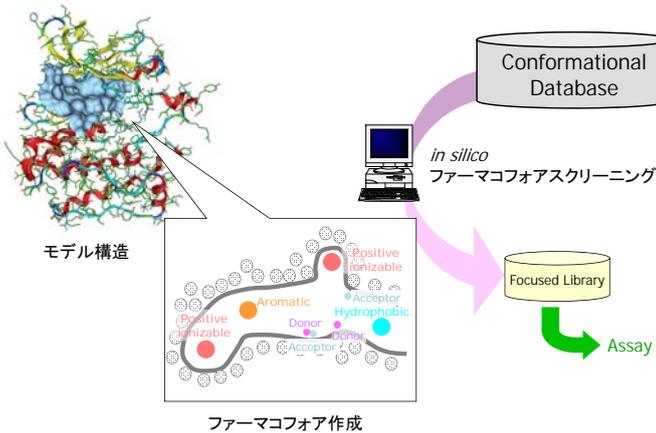
~KDR阻害剤(腫瘍血管新生の阻害)~



KDR (kinase insert domain receptor):
血管内皮細胞増殖因子受容体のキナーゼ部位

Hui Yu, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2007, 17, 2126-2133

3) 創薬における分子計算(現状) Pharmacophore Screening (Catalyst)

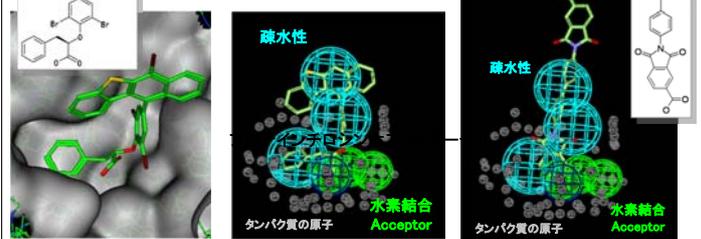


27

3) 創薬における分子計算(現状) Pharmacophore Screening

~ PTP1B 阻害物質 (2型糖尿病治療薬) ~

(ホスファターゼ)



IC50= 0.061 μM

複合体結晶構造

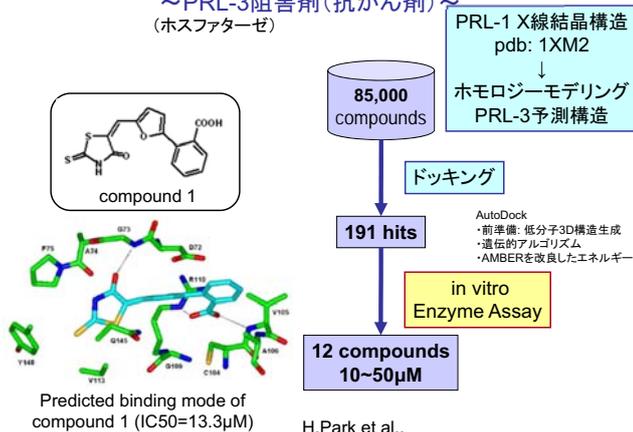
ファーマコフォア

HTSヒット化合物の例
IC50= 0.89 μM

28

3) 創薬における分子計算(現状) Docking Screening (AutoDock)

~PRL-3阻害剤(抗がん剤)~
(ホスファターゼ)



H.Park et al.,
Bioorg.Med.Chem.Lett. 2008, 18, 2250-2255

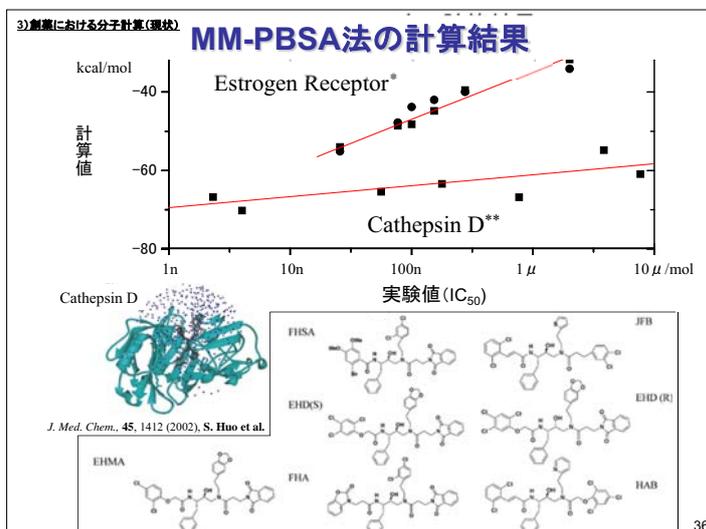
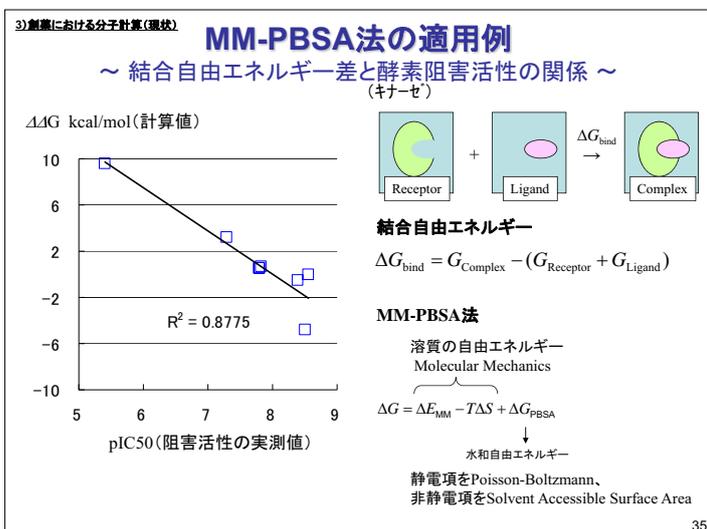
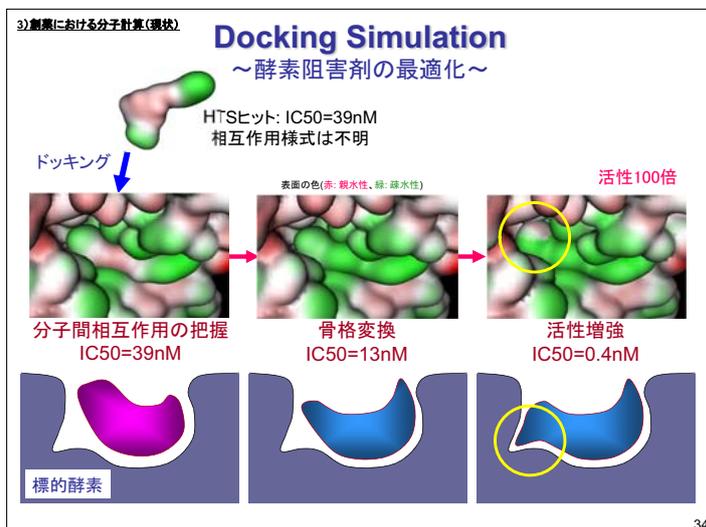
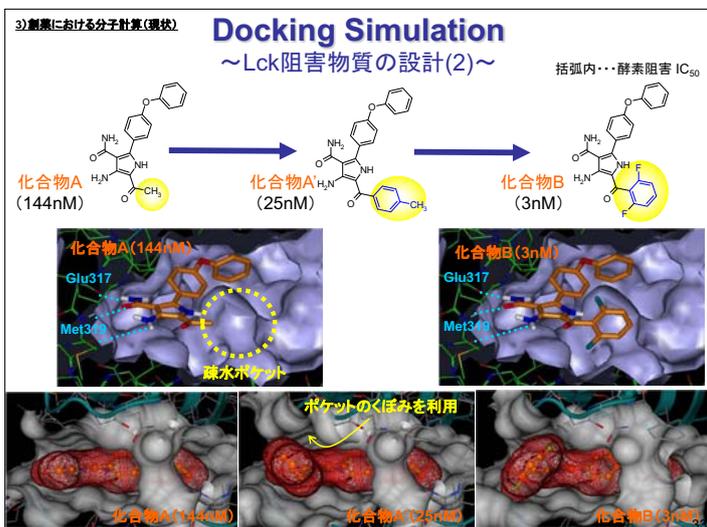
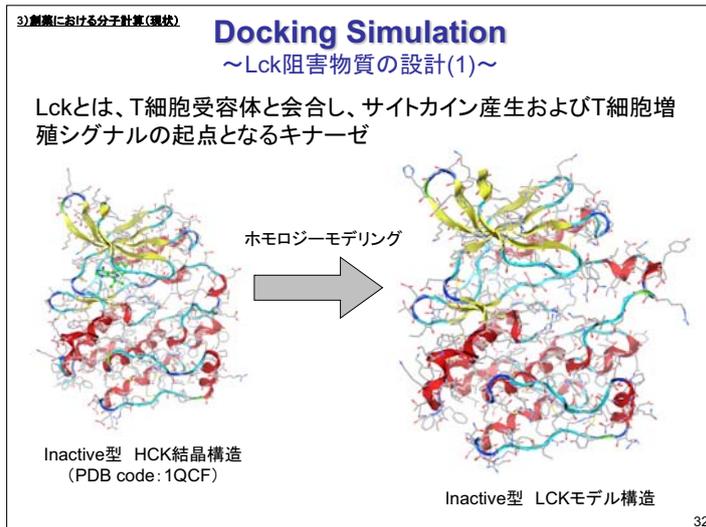
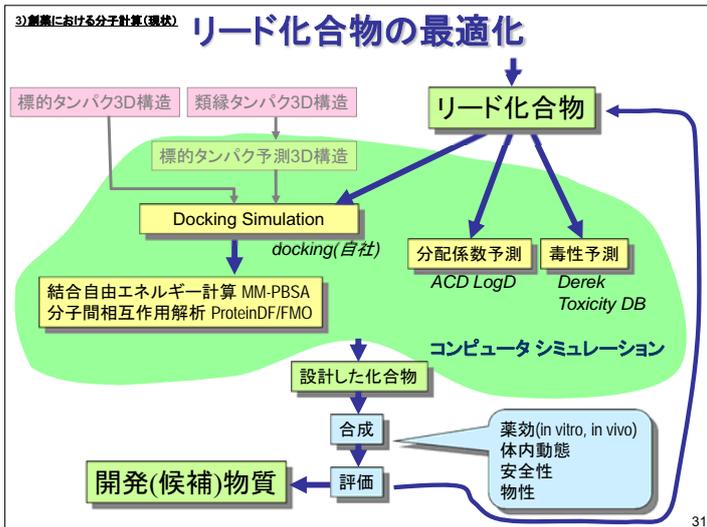
3) 創薬における分子計算(現状) 直近の in silico Screening の例

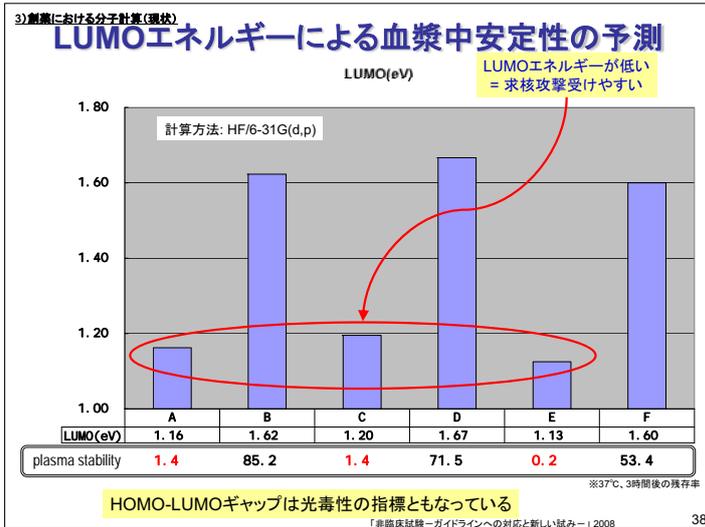
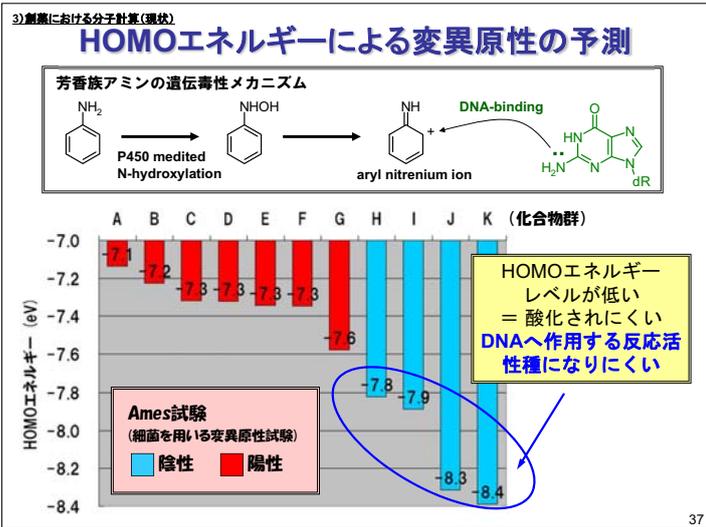
標的分子	疾患	ソフトウェア	検索対象数	検索ヒット数	活性化合物数	活性の強さ	論文
PRL-3	癌	AutoDock	85000	191	12	10~50 μM	(1)
EF	感染症	AutoDock	10000	19	4	μM	(2)
KDR <small>(構造的3D構造なし)</small>	癌(血管新生)	Catalyst	10458	20	1	30 μM	(3)
17β-HSD1	乳癌	Catalyst	340042	14	4	6~50 μM	(4)
Cathepsin S	自己免疫疾患	Catalyst	2664754	15	7	15 μM	(5)
AdoMetDC <small>(5-adenosylmethionine decarboxylase)</small>	癌	GLIDE	1990	133	1	μM	(6)
CCR5	HIVウイルス	GOLD, Surflex	1620316	59	10	10 μM	(7)
MCH-R1	肥満	ICM	187084	129	6	7-20 μM	(8)

References

- (1) Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008, 18, 2250-2255.
- (2) Bioorg. Med. Chem. 2008, 16, 7225-7233.
- (3) Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007, 17, 2126-2133.
- (4) J. Med. Chem. 2008, 51, 4188-4199.
- (5) J. Chem. Inf. Model. 2007, 47, 1897-1905.
- (6) J. Med. Chem. 2007, 50, 1294-1303.
- (7) J. Chem. Inf. Model. 2008, 48, 1693-1705.
- (8) J. Med. Chem. 2008, 51, 581-588.

30





医薬R&Dプロセスの紹介(概要)

物性予測 LogP

- LogP (水/オクタノール分配係数)

$$\text{LogP} = \log_{10} P \quad P = \frac{[\text{Compound}]_{\text{octanol}}}{[\text{Compound}]_{\text{water}}}$$
- 物質の親水性・疎水性に関する基礎的な数値
 - 吸収率 (膜透過性)
 - Bioavailability (BA: 生物学的利用能)
 - 実験で多くの分子のLogPを求めるのは困難
- 予測方法
 - ClogP (中性の状態を計算)
 - ACD/LogD (イオン化状態も考慮して計算)
- 部分構造(フラグメント)のlogPの総和

$$\text{LogP} = \sum_{i=1, N} a_i f_i + \sum_{j=1, M} b_j F_j$$

f: fragment values, F: interaction factors

 - 実測値から作成したフラグメントのライブラリ
 - フラグメントがライブラリに無い場合には、結合情報などからフラグメントのlogPを推定
 - 分子内水素結合を考慮

<ClogPの計算例>

各フラグメントの寄与

フラグメント	Value
Bromide [aromatic]	1.090
6 aromatic isolating carbons	0.780
5 hydrogens on isolating carbons	1.135

ClogP = 3.005

<ACD/LogD>

LogD = log₁₀D

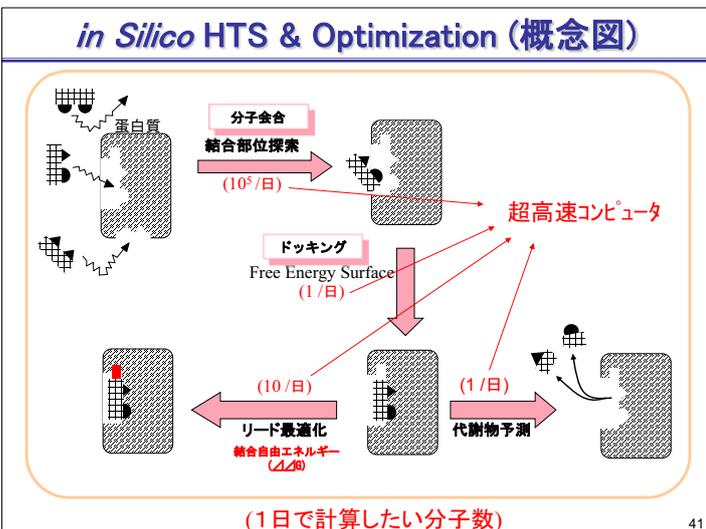
解離を考慮して算出

$$\text{AH} \leftrightarrow \text{A}^- + \text{H}^+$$

$$D = \frac{[\text{AH}]_{\text{octanol}} + [\text{A}^-]_{\text{octanol}}}{[\text{AH}]_{\text{water}} + [\text{A}^-]_{\text{water}}}$$

ACD/LogD, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto ON, Canada, www.acdlabs.com

創薬における Exa computing への期待



創薬におけるExa computingへの期待

RNaseT₁ & 2'-GMPの会合過程

1本鎖RNAのG塩基の3'位リン酸結合の加水分解酵素

2'-GMP

RNaseT₁ (104Res + Na⁺): -4価

2'-GMP: -2価

700 ps, 1000 ps, 1500 ps, 2100 ps, 2700 ps, 4000 ps

Na⁺

