

In silico ADME 및 Pharmacokinetics

이성광 · 노경태

Bioinformatics & Molecular Design Technology Innovation Center

신약후보물질을 설계하는 단계에서 보면, 설계가 가능한 유기 화합물들의 수는 대략 10^{18} 개정도로 추산된다. 이런 화합물들을 대상으로 고전적인 방법으로 경험이나 또는 무작위로 후보물질들을 합성해 나가는 것은 방대한 시간과 예산, 그리고 인력을 필요로 한다. 그러므로 최근에는 신약후보물질의 확률을 높이고, 화합물 합성과 스크리닝 과정에서 소요되는 비용을 절감하기 위해서는 의약품질로 작용하기에 적당한 성질을 지니고 있는, 즉 drug-like한 화합물군을 설계하여 진행해 나가는 것이 바람직하다. Centre for Medicines Research에서 게재한 자료[1-2]를 보면(Fig. 1), 1964년부터 1985년까지 New Chemical Entities(NCEs)중에서 신약개발과정에서 제외된 198개 화합물들의 실패이유를 분석하였을 때 가장 큰 이유는 약물동력학적(Pharmacokinetic : PK) 원인이며, 화합물의 흡수, 분포, 대사, 배설에 관련된 부분이 생체와 부합되지 않았기 때문인 것으로 분석되었다. 이 부분과 동물실험과 인체 내의 독성과 부작용을 포함하면, 전체 실패요인의 60%가량에 해당한다.

이러한 분석은 임상단계에서 약물동력학적인 요인으로 인하여 제외될 가능성이 있는 화합물들을 설계단계에서 미리 고려할 수 있는 ADME(Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion : 흡수, 분포, 대사, 배설) 스크리닝 과정이 필수적임

을 시사해 주는 것이다. 현재 연구들은 주로 LC-MS/MS 등과 같은 초미량 분석 장비를 이용하여 *in vitro* assay에 많은 초점이 맞추어져 있다. 예를 들어 Caco-2 단일막을 이용한 경구흡수도 측정이나 다양한 투과도 모델, cDNA 복제로 인한 다양한 효소들과 microsomes, hepatocytes를 이용한 대사속도 측정, 잠정적인 drug-drug 상호작용 스크리닝을 위한 연구들이 이에 속한다. 이렇게 일반화되어 가는 *in vivo*, *in vitro* 데이터를 이용하여 컴퓨터를 이용하여 예측모델을 제시하고 있는데, 이러한 방법들을 통틀어서 *in silico* ADME/Tox 방법으로 이라한다. 특히 조합화학이나 대용량 스크리닝 (High Throughput Screening)방법이 널리 사용되면서 이러한 컴퓨터 예측모델을 이용하여 다량의 유사약군(drug-like library)을 설계함으로써 신약개발기간과 개발비용을 축소시키고 있다. 최근 이러한 연구방향을 요약하면 Table 1과 같다.

이 글에서는 먼저 신약설계과정에서 중요시되는 PK특성 중에서 물리화학적 파라미터들(logP, 물 용해도, 분자량, 극성표면적)과 투과도, 대사작용 그리고 유사약군 예측에 관한 일반적인 경향을 소개하고 최근에 웹을 통해서 이러한 결과를 예측할 수 있는 PreADME프로그램을 소개하고자 한다.

물리화학적 파라미터

신약후보물질들은 물리화학적 파라미터로 성질을 표현할 수 있으며, 이러한 성질은 화합물의 용해도나 장흡수, 뇌투과도, 대사, 혈장단백질 흡착, 약의 체내분포등과 밀접한 관련이 있다. 그러므로 화합물의 물리화학적 파라미터를 PK특성을 유리하게 할 수 있는 범위로 조절하여 후보물질을 최적화 하는 과정은 매우 중요한 일이다. 이러한 파라미터 중 가장 대표적인 것은 octanol-water의 분배계수를 나타내는 logP이다. 이것은 화합물의 소수성 또는 친지성을 나타내며, 막투과도를 예측할 때 많이 사용된다. 이것은 친지성인 세포막으로 화합물이 투과할 때 수동적 이동(passive transport)이 주로 속도결정단계이기 때문으로 해석된다. logP를 실험이 아닌 컴퓨터로 예측하는 방법들은 ClogP, AlogP98, KlogP, KOWWIN, ACDlogP

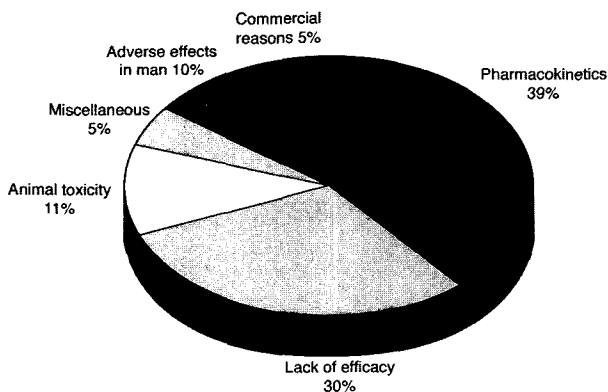


Fig. 1. The reasons for failure of 198 NCEs compounds in clinical development.

Table 1. Overview of approaches to ADME[3]

ADME property	Experimental	In silico
Formulation	Caco-2	Prediction of polymorphism
Solubility	Turbidometric, nephelometric, pH-metric	QSAR and neural networks
Permeability	Lipophilicity(logP/logD), liposomes, immobilized artificial membranes(IAM), artificial membranes, biosensors, filter-IAM	Calculated logP
Absorption	Caco-2, Madin-Darby canine kidney	QSAR models, simulations
Bioavailability	Animal PK	QSAR models
Blood-brain barrier penetration	Bovine brain microvessel endothelial cell	QSAR models
Volume of distribution	Animal PK	logD model
Metabolism	HT assays	Database, protein models, pharmacophore models, expert systems
Clearance	Animal pK, in vitro	Neural networks
Dose prediction	Allometric	Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling

등등 다양하게 존재하며 Mannhold의 review[4]논문에서 정리되어 있다. 물 용해도(logS)도 장에 흡수될 수 있는 용액속의 화합물의 양과 상관관계가 있으므로 약의 흡수과정에서 매우 중요한 변수이다. Assay과정에서 용해도가 떨어지며, 실제 hit로 나타나지 않을 뿐만 아니라 장으로부터 혈액으로 흡수능력 또한 저하되게 된다. 일반적으로 낮은 용해도를 갖는 화합물은 친지성 성질이 크고 또한 결정격자 결합에너지가 크기 때문이다. 경구 투여된 약의 흡수도 증가는 물 용해도와 친지성이 조화를 이루어야 한다. 또한 이러한 화합물의 특성은 화합물이 pH변화에 따라 이온화 가능성이 있을 경우 파라미터가 변화하므로 그 화합물의 해리상수(pKa)를 알아야 한다. 이를 이용하여 해당 흡수기관의 조건의 pH에 따른 구조의 이온화 경향에 따라 logP와 logS를 따라 측정하게 된다. logP의 경우 pH 조건을 덧붙여서 logD^{pH} 또는 logS^{pH}로 표현하기도 한다. 이 밖에 수소결합능력도 친지성을 구성하는데 중요한 물성이며, 초기에는 ΔlogP 즉 octanol/water 분배계수와 alkane/water 분배계수의 차로 표현하였지만, alkane층에서의 용해도 부족으로 인하여 널리 이용되지는 않고 있다. 컴퓨터를 이용한 예측은 실험적으로 linear solvation free energy(LSER)로 결정되는 α(수소주게 능력), β(수소받게 능력)를 변수로 atom-additive 방법으로 예측하는 ABSOLVE[5]라는 프로그램에서 예측이 가능하다.

투과도

여기서의 투과도는 약물에 대한 생체막의 투과도를 말하는 것으로 일반적으로 장 외벽 투과와 뇌-혈관장벽(blood-brain barrier:BBB) 투과도들이 이에 속한다. 현재 투과도를 측정하는 *in vitro* 실험으로 대표적인 것이 장흡수를 모델로 하는 Caco-2 또는 Madin-Darby canine kidney(MDCK) 단일막과

BBB를 모델화한 bovine brain microvessel endothelial cell(BBMEC)등이 있다. 이들을 *in silico*로 평가하는 가장 간단한 방법은 분자의 극성표면적(polar surface area:PSA)이며 Kelder[6]과 그 연구자들은 수동수송의 메커니즘을 갖는 화합물에 대해서 장흡수의 경우 일반적으로 120 Å² 이상, 뇌투과도의 경우 60-70 Å² 이상이면 낮은 투과도를 나타냄을 밝혔다. Egan[7]은 이를 더 발전시켜 logP와 PSA를 이용한 다중회귀 모델을 제안하였고, 현재 상업용으로 계산 가능한 프로그램들은 GastroPlus, QikProp, iDEA 등이 있다. 하지만 아직도 능동수송(active transport)과 efflux 형태로 흡수되는 화합물들의 흡수도 예측연구는 더 많은 발전이 필요로 하는 분야이다.

대사작용

대사작용은 신약탐색과정에서 약물의 약효를 결정하는데 중요한 역할을 한다. 이러한 대사관련 연구는 여러 가지 목적이 있을 수 있는데, 분포부피(volume of distribution)와 부합되어 약물의 반감기를 알 수 있는 clearance를 예측하는 것과 대사작용에 관여하는 cytochrome P450과 같은 효소들의 작용을 이해하여 분해 되는 대사물질을 예측하는 것 등이 있겠다. 현재까지 컴퓨터를 이용한 예측 방법 중에서 QSAR (quantitative structure activity relationships)방법[8]과 protein homology modeling을 기반으로한 pharmacophore models[9]방법을 통해 clearance data를 예측하는 연구들은 신약개발과정에서 선도물질 최적화과정에 적합한 연구로 여겨지며, 축적된 DB로부터 얻어진 지식과 rule들을 중심으로 가능성 있는 대사경로를 예측해주는 MetabolExpert[10]과 META[11]등은 초기의 화합물 library를 구성할 때에 구조의 다양성 및 대사물질의 독성검색에 적합한 방법으로 여겨진다. 대사와 관련되어 구축되어 있는 화합물 DB로는 MDL사의 Metabolite와 Accelrys

사의 Metabolism 등이 있다. 하지만 서로 다른 경로를 통해 생성되는 수많은 대사물질을 예측하기 위해서는 더 많은 연구가 진행되어야 하며, 특히 대사물질의 인체독성이 매우 중요하므로 독성예측과 대사작용 연구를 접목시키는 노력들이 현재 진행 중이다.

유사약군 예측(Drug-likeness prediction)

컴퓨터를 이용하여 유사약군을 예측하는 연구는 1997년 Linpinski[12]에 의해 drug DB를 4가지 물리화학적 파라미터 (logP, 분자량, 수소결합 주계 및 받계의 수)로 분석하여 약의 성질을 나타내는 경계를 표현하는 연구가 시초이다. 경계에 값이 5의 배수로 표현되어 일명 'rule of 5'라고 일컬어지는데 이러한 생각을 좀더 확장하여 다양한 약 DB들(CMC, WDI, MDDR 등)과 약이 아닌 DB(ACD)에 대해서 다른 물리화학적 파라미터로 약의 성질을 표현한 방법들이 Oprea[13]와 Ghose[14]에 의해 진행되었다. 최근에 약을 구분하기 위한 알고리즘으로 유전자알고리즘[15]과 신경망이론[16] 그리고 decision tree[17]등의 방법이 진행되었고, 이렇게 유사약군을 구분하는 방법은 HTS나 조합화학에 이용되는 화합물 library를 설계할 때 유사약군을 구분해 내는 일종의 필터로서 이용되고 있다.

PreADME : 웹기반 ADME 예측 프로그램

분자설계기술혁신센터가 2002년에 개발한 PreADME[18] 프로그램(Fig. 2)은 웹기반 프로그램으로는 세계 최초로 ADME data를 예측하는 프로그램이며, 현재까지 개발된 부분은 크게 3가지로 구분할 수 있다. 첫 번째는 125가지의 물성 및 표현자를 계산할 수 있는 표현자 계산모듈과 두 번째는 유사약군 예측을 위한 모듈, 그리고 마지막으로 약의 흡수도를 예측할 수 있는 모듈로 구성되어 있다. 표현자 계산모듈의 경우 물리화학적 파라미터인 logP와 logS 그리고 nonpolar, polar, H-bond surface area 등과 90여 가지의 위상표현자등을 매우 빠른 시간 내에 계산할 수 있어서(300여개의 화합물/sec) 화합물 library 설계에 적합하다. 유사약군 예측의 경우는 기본적으로 Lipinski의 'rule of 5'[12]와 100여개의 선도물질을 분석해서 얻어진 leadlike rule[19], 그리고 기존의 drug DB(CMC[14], WDI[20], MDDR[13])의 물성 분포로부터 얻어낸 3가지의 유사약군 예측이 가능하다. 흡수도 예측모듈에는 *in vitro* data인 Caco-2, MDCK, blood-brain barrier 투과도를 예측할 수 있으며, *in vivo* data인 human intestinal absorption의 예측이 가능하다. 이 프로그램은 2003년도까지 pharmacokinetic data인 V_d (분포부피), $t_{1/2}$ (반감기), Cl(소멸속도), U_x (노 배설비율)와 protein binding, skin permeability 등의 예측 모델을 추가할

생물산업



Fig. 2. The reasons for failure of 198 NCEs compounds in clinical development.

예정이며, 현재 인터넷을 통해서 무료로 사용할 수 있다 (<http://camd.ssu.ac.kr/adme>).

전망

신약개발단계에서 실패할 가능성이 있는 화합물을 개발 초기 단계에 가려내기 위해서 ADME예측을 위한 high-throughput *in vitro*, *in vivo* 방법들은 앞으로 더 발전할 것이며, 이를 기반으로 한 *in silico* 방법의 개발은 필연적으로 발전할 것이다. 현재 이러한 분야의 연구전망은 3가지 정도로 나타낼 수 있을 것 같다. 첫째는 개발 초기단계에 대용량의 화합물들을 유용하게 스크리닝을 하기 위한 일반적인 rule을 개발하는 것이며, 둘째는 다양한 유사약군의 화합물을 구분하는 방법의 정확도를 높이는 것이고, 셋째는 흡수, 분포, 대사, 배설의 기능을 모두 통합하는 physiologically-based pharmacokinetic modeling을 통해서 시간에 따른 조직 내 약의 농도를 예측해 주고, 더 나아가 e-ADME 또는 e-organ과 같은 총괄적인 physiome분야로 으로 발전해 나가는 것이다. 이러한 목적으로 발전하기 위해서는 의미가 있는 다양한 표현자들이 개발되어 물리화학적 파라미터와 실험데이터를 예측할 수 있어야하며, 보다 예측정도를 높일 수 있는 통계적 알고리즘 개발과 재현성 높은 *in vitro*, *in vivo* 실험방법들의 개발이 반드시 뒤따라야 할 것이다.

참고문헌

1. Kennedy, T. 1997. Managing the drug discovery/development interface. *Drug Disc. Today*, 2: 436-444.

2. Bajpai, M. and Adkison, K. K. 2000. High-throughput screening for lead optimization: A rational approach. *Curr. Opin. Drug. Discovery Dev.* 3(1): 63-71.
3. van de Waterbeemd, H. 2002. High-Throughput and in silico techniques in drug metabolism and pharmacokinetics. *Curr. Opin. Drug. Discovery Dev.* 5(1): 33-43.
4. Mannhold, R. and Rekker, R. F. 2000. The hydrophobic fragmental constant approach for calculating logP in octanol/water and aliphatic hydrocarbon/water systems. *Persp. Drug Disc. Des.* 18: 1-18.
5. <http://www.sirius-analytical.com/absolv.htm>
6. Kelder, J., Grootenhuis, P.D., Bayada, D.M. Delbressine L.P. and Pleomen, J. P. 1999. Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs. *Pharm. Res.* 16(10): 1514-1519.
7. Egan, W.J., Merz, K.M. and Baldwin, J.J. 2000. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *J. Med. Chem.* 43: 3867-3877.
8. Ekins, S., Bravi, G. Binkley, S., Gillespie J.S., Ring, B.J. Wikel, J.H. and Wrighton, S.A. 2000. Three- and four-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D/4D-QSAR) analyses of CYP2C9 inhibitors. *Drug Metab. Dispos.* 28: 994-1002.
9. De Groot, M.J., Ackland, M.J., Home, V.A., Alex, A.A. and Jones, B.C. 1999. Novel approach to predicting P450-mediated drug metabolism: Development of a combined protein and pharmacophore model of CYP2D6. *J. Med. Chem.* 42: 1515-1524.
10. Darvas, F., Marokhazi, S., Kormos, P., Kulkarni, G., Kalasz, H., Papp, A. 1999. In *Drug Metabolism, Databases and High Throughput Testing During Drug Design and Development*; Erhardt, P.W., Ed. Blackwell Science, Cambridge, MA, 237-270.
11. Klopman, G., Tu, M. 1999. In *Drug Metabolism, Databases and High Throughput Testing During Drug Design and Development* Erhardt, P.W., Ed. Blackwell Science, Cambridge, MA, 271-276.
12. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W. and Feeney, P.J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 23: 3-15.
13. Oprea, T.I. 2000. Property distribution of drug-related chemical databases. *J. Comp.-Aided Mol. Des.* 14: 251-264.
14. Ghose, A.K., Viswanadhan, V.N. and Wendoloski, J.J. 1999. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *J. Comb. Chem.* 1: 55-68.
15. Gillet, V.J., Willett, P. and Bradshaw, J. 1998. Identification of biological activity profiles using substructural analysis and genetic algorithms *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 38: 165-179.
16. Ajay, W., Walter, P., Murcko, M.A. 1998. Can we learn to distinguish between "drug-like" and "nondrug-like" molecules? *J. Med. Chem.* 41: 3314-3324.
17. Wagener, M. and van Greerestein, V. J. 2000. Potential drugs and nondrugs: prediction and identification of important structural features. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 40: 280-292.
18. PreADME, Bioinformatics & Molecular Design Technology Innovation Center (BMD-TIC) : <http://camd.ssu.ac.kr/adme>
19. Teague, S.J., Davis, A.M., Leeson, P.D. and Oprea, T. 1999. The design of leadlike combinatorial libraries. *Angew. Chem. Int. Ed.* 38: 3743-3748.
20. Brown, R.D., Hassan, M. and Waldman, M. 2001. Tools for designing diverse, druglike, cost-effective combinatorial libraries; in *Combinatorial Library Design and Evaluation in Combinatorial library design and evaluation*, Marcel Dekker, Inc. New York, 301-335.