

Virtual Screening을 통한 신약 선도물질 도출

윤정혁 · 신재민
(주)아이디알 연구소

전통적인 신약 개발이 무작위적인 활성탐색법(Random Screening)과 합리적인 분자설계(Rational Drug Design) 방법에 의해 진행되어왔다고 한다면, 인간유전자해석프로젝트(Human Genome Project)가 수행되면서 질병에 대한 모든 유전자에 대한 분자수준 연구가 가능해진 포스트지놈시대(Post Genome Era)에서는, 신약개발의 방법의 변화가 다양한 분야에서 이루어지고 있다. 그 중에서도 가장 괄목할만한 변화는 초고속탐색(High Throughput Screening, HTS) 기술을 꼽을 수 있다. 신약 개발에서의 HTS 개념은 유전자해석기술 및 생명정보, 단백질구조결정 및 구조-활성 정보, 화합물 합성 및 화합물 정보, 생리활성측정기술, 그리고 약물의 체내흡수동태 측정기술 및 관련 정보 등 의약품 개발에 필수적인 기술개발과 정보축적 등 전 분야에서 활용되고 있다. 더 나아가서 HTS는 실험적 입증 및 확인 장치와 시스템을 이용한 자동화를 포함하며, 심지어 이미 확보된 엄청난 양의 데이터를 2차 가공하여 얻어내는 새로운 정보를 포함하게 되고 이 새로운 정보는 연구자나 개발자에게 꼭 필요한 정보만을 추려내는 기술이라고 할 수 있다. 특히, 서열이 이미 알려진 유전자의 새로운 생리활성을 찾아내거나, 이미 알려진 화합물의 새로운 약리활성을 찾아내는 일이 종종 생기는 것처럼, 이미 알려진 방대한 양의 데이터를 2차~3차 가공하고 탐색하는 기술인 컴퓨터를 이용한 초고속가상탐색(High-Throughput Virtual Screening, HTVS) 기술은 신약개발 연구에서 매우 중요한 역할을 담당하고 있다. HTVS는 대량의 화합물 데이터베이스(DB)로부터 원하는 생리활성을 가진 물질을 예측/탐색하여 순식간에 필요한 선도물질을 도출해내는 기술로써, 이제는 저가의 x86 기반의 고성능 컴퓨팅환경구축이 가능해지면서 본격적인 신약개발 연구에 폭 넓게 활용되고 있다. 최근, HTVS가 초고속/저비용/고효율 기술로 인식이 되고 많은 선진 제약사에서 발표한 여러 성공적인 결과를 접하게 되면서, 우리나라의 각 제약사에서도 새로운 표적 단백질에 대한 신속한 선도물질 도출을 위해서 이를 활용하려는 관심이 높아지고 있는 새로운 신약개발 접근 방법이다. 본 원고에서는 HTVS에 대한 일반적인 방법을 소개하고, 실제로 (주)아이디알에서 개발한 HTVS 시스템인

IDPharmoTM(IDXViewer, PharmoMap, PharmoScan, PharmoDB로 구성됨)을 HIV-1 RT 단백질과 Estrogen Receptor에 적용한 예를 들어 소개하고자 한다.

I. HTVS 개요

신약개발에서 활용되는 HTVS는, 질병에 관여하는 유전자 및 발현 단백질에 대해서 선택적으로 결합할 수 있는 화합물을 도출하기 위한 수단으로서, 표적 단백질의 생리활성과 구조적 특성, 그리고 알려진 활성 리간드의 성질을 토대로 화합물 DB에서 각 화합물의 분자성질과 구조적 특성을 고려하여 원하는 구조와 물성을 지닌 화합물을 선택적으로 골라내는 과정으로 요약할 수 있다. 이때 표적 단백질과 화합물의 생리활성과 분자적인 특성을 잘 표현하기 위해서는 분자모델링 기법이 주로 활용된다. 즉, 표적 단백질의 경우에는 활성부위의 성질을 잘 표현할 수 있는 기법이 필요하게 되고, 활성부위와 잘 결합하는 알려진 리간드의 특성을 분석하여 선도화합물을 탐색할 때 유용한 정보로 활용하게 된다.

표적 단백질에 선택적으로 잘 결합할 수 있는 분자를 찾아내기 위해서는 단백질과 화합물의 결합 정도를 예측하는 것이 필수적이다. 현재, 전통적인 분자역학(Molecular Force Field) 방법 및 이에 기반을 둔 스코어링(Scoring) 방법들이 표적 단백질과 리간드의 구조 및 결합구조를 예측할 때 널리 활용되고 있다. 하지만 좀 더 정확한 예측을 위해서는 아직도 많은 이론적인 제한이 따르게 된다. 특히, 수십만 내지 수백만개의 후보 화합물 중에서 표적단백질에 잘 결합할 수 있는 제한된 숫자의 화합물을 선택해 내기 위해서는 정확도와 함께 신속한 탐색이 동시에 요구된다. 즉, 빠른 탐색방법(Search Method)과 정확한 결합력 평가(Scoring Method)가 동시에 요구된다고 할 수 있다.

II. HTVS 구성 및 진행 과정

일반적인 HTVS 과정은 그림 1에 나타난 것 같이 단계적

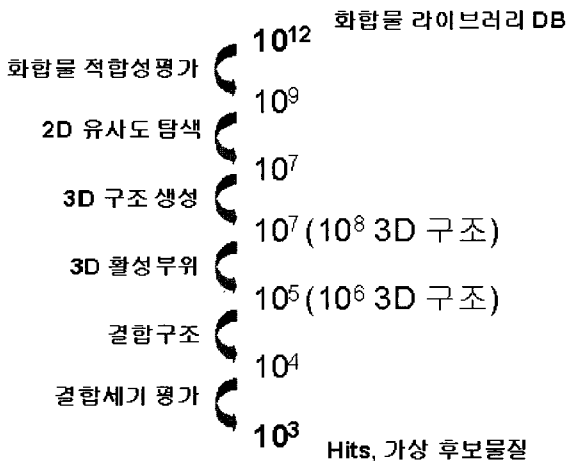


그림-1. HTVS 각 단계별 탐색 및 데이터 검색 결과의 규모

(Hierarchical)인 탐색으로 구성된다. 즉, 화합물 라이브러리를 구성하여 화합물 적합성평가(용해도, 크기, 작용기, 독성 등)를 통해서 선택된 화합물에 대해서, 2차원 및 3차원적인 탐색 및 평가를 하고 최종적으로 탐색된 화합물의 결합세기를 예측하여 실제로 실험적인 활성을 측정할 화합물의 숫자를 효율적으로 줄이게 된다.

II-1. 화합물 라이브러리 DB의 구성

많은 경우에 화합물 라이브러리는 상업적으로 구할 수 있는 물질이거나, 조합화학적 방법을 이용하여 손쉽게 얻어낼 수 있는 것을 이용하는 것이 유용한데, 그 이유는 HTVS이후에 나온 결과를 이용하여 실제 생리활성정보를 신속하게 평가하는데 빨리 화합물을 제공할 수 있어야하기 때문이다. 표 1은 상업적으로 화합물을 공급하는 회사와 웹사이트를 표시한 것이다. 이들 회사를 포함하여 현재 약 30여개 이상의 화합물 라이브러리 공급회사와 적어도 400만개 이상의 화합물을 상업적으로 구할 수 있는 것으로 알려져 있다.

표 1. 상업적으로 화합물 라이브러리를 공급하는 대표적 시약 공급업체 및 화합물의 숫자

Chemical Supplier	WEB Site	Compounds
AsInEx Ltd.	www.asinex.com	30만
BioNet Research Ltd.	www.bionetresearch.co.uk	3만
ChemBridge Corporation	www.chembridge.com	22만
Chemical Diversity Inc.	www.chemdiv.com	36만
InterBioScreen Ltd.	www.ibscreen.com	24만
Maybridge Chemical Company Ltd.	www.maybridge.com	7만
SPECS and BIOSPECS B.V.	www.specs.net	17만
Tripos Inc.	www.tripos.com	8만
Vitas-M Laboratory Ltd.	www.vitasmlab.com	16만

II-2. 화합물 적합성평가

화합물 라이브러리에서 의약품으로서의 선도물질의 가능성이 있는(Drug-Like) 화합물들을 미리 선별하는 것은 매우 중요하다. 신약 개발의 임상단계에 있어서 흡수 및 대사 등 약동력학적인 체내 활성이나 약물독성등의 문제가 있어 개발이 중단된 화합물이 전체 임상 진입화합물의 약 40% 정도 되는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 정보를 토대로 현재는 Drug-Like 화합물을 시작단계에서부터 예측하여 개발 도중에 중단되는 확률을 줄이고자하는 노력이 진행되고있다. 의약품으로 개발 가능성이 높은 화합물을 미리 컴퓨터 상에서 계산 가능한 성질들을 이용하여 화합물 적합성 평가에 대한 기준을 마련하는 것은 매우 유용하다. 대표적인 예로 Lipinski의 “Rule of Five”가 있다. 예를 들면, 화합물의 분자량은 500Da 근처 또는 그 이하, 소수성 지표인 logP는 5이하, 수소결합 가능 작용기(Donor 및 Acceptor)의 수는 각각 5개 이하, 자유회전결합의 숫자도 5개 이하, 그리고 심지어 방향족 고리(Aromatic Ring)의 수효도 5개 이하 등 복용 가능한 의약품에 대한 분석을 토대로 신약 후보물질로서의 성질이 바람직한 화합물만을 선택하여 다음 HTVS를 하는 것이다.

II-3. 화합물 라이브러리의 2D 및 3D 구조화

화합물 적합성 평가를 통과한 화합물들은 2차원 및 3차원 구조적인 평가 또는 가능한 모든 3차원적 구조를 생성하여 동일화합물에 대해 다양한 3차원 구조가 활성이 있을 수 있는 여지를 남겨두어야 한다. 필요에 따라 또는 사용하는 프로그램이나 탐색 전략에 따라서 화합물의 각 작용기에 대한 중요한 성질 또는 Feature의 종류(H-donor, H-acceptor, Hydrophobic, 방향족 고리, 산성 잔기, 염기성 잔기 등)와 숫자, 존재 가능한 3차원 구조, 각 성질의 방향 및 모양, 그리고 이들의 공간상의 위치 및 상호간의 거리에 대한 정보 등이 포함될 수 있다.

II-4. 표적단백질에 대한 활성부위 모델

질병 관련 표적 단백질의 3차원 구조를 알고 있고 단백질의 활성과 관련된 부분(활성부위)을 찾을 수 있으면 단백질의 기능을 조절하는 화합물을 찾기가 상대적으로 용이하다. 단백질의 구조를 얻는 방법은 X-Ray 회절, NMR, 상동성 모델링을 통한 구조 예측 방법이 있다. 그중, 단백질 구조예측 방법은 표적 단백질의 1차원 서열과 유사성이 있는 부분의 X-Ray구조를 참조하여 표적 단백질의 활성부위에 대한 3차원 구조를 예측하는 방법으로 상동모델링(Homlogy Modeling) 또는 비교모델링(Comparative Modeling)이라 한다. 최근 Protein DB (www.rcsb.org)에 단백질 구조 데이터가 많이 확보되면서 단백질 1차원 서열과 3차원 구조간의 상관관계 분석을 통해서 1차원 서열의 유사성이 25~30% 이상이면 상동 모델링에 의한 상당히 합리적인 구조를 얻을 수 있는 것으로 보고되고 있

다. 이와 같이, X-Ray, NMR, 또는 상등모델링을 통하여 얻은 표적단백질의 3차원구조로부터 활성 부위를 찾고 이를 구성하고있는 아미노산 잔기나 치환체의 물리화학적 성질, 입체구조 등을 분석하여 화합물 라이브러리 검색을 통한 선도물질을 골라낼 수 있는 생리활성 약리모델(Pharmacophore)를 얻는 정보로 사용한다.

II-5. Pharmacophore 모델 및 생성

Pharmacophore는 생리활성을 나타내는 화합물의 공통적인 요소로 표현할 수 있다. Pharmacophore를 얻는 방법은 두 가지 방법으로 구별 할 수 있는데, 그림 2와 같이 Ligand-Based Pharmacophore Generation은 동일한 표적 단백질에 대하여 비슷한 생리 활성을 가지는 화합물들을 한데 모아 이 화합물들의 화합물 구조나 분자역장(Molecular Field)의 공통점을 입체적으로 포개놓은(Superimpose) 구조를 얻은 후, 활성물질의 공통점으로부터 활성부위 모델을 얻어내는 것으로, 이 경우에는 표적 단백질의 3차원 구조를 얻기 힘든 경우에 사용하게된다. 다른 하나는 그림 3과 같이 표적단백질의 구조를 바탕으로 얻어내는 방법으로 Receptor-Based Pharmacophore Generation라 하며, 표적 단백질과 리간드의 도킹 (Docking)을 통해 리간드의 결합 모드와 결합력을 결정짓는 물리화학적 성분을 확인함으

로써 얻을 수 있다. HTVS에서는 위의 두가지 모든 경우를 활용할 수 있지만, 두 번째 방법인 Receptor-Based Pharmacophore 방법을 선호하게 된다.

표적 단백질에 리간드 결합모델을 얻기위해 컴퓨터를 이용한 도킹을 시도할 때 이용되는 대표적인 프로그램으로는 Autodock, DOCK, FlexX, FLOG, GOLD, PRO_SELECT, LigandFit등이 알려져 있다. 이렇게 얻어진 Pharmacophore는 본격적인 대량의 화합물 DB 탐색에 이용된다.

II-6. Pharmacophore를 이용한 화합물 탐색

HTVS는 얻어진 Pharmacophore를 이용해서 화합물 DB에 저장되어있는 화합물을 단계적으로 탐색하게 되는데, Pharmacophore 모델을 만족하는 화합물을 탐색하기 위해서 대개 다음과 같은 1D, 2D, 3D 탐색단계를 거친다.

예를 들면, 1D 탐색은 Pharmacophore를 구성하고 있는 성질 또는 Feature(H-Bond Donor 및 Acceptor, 소수성 잔기, 그리고 분자크기 등)의 숫자와 적어도 같은 숫자 만큼의 성질 (Feature)을 보유한 화합물을 골라내는 것이고, 2D 탐색이란, 이 중에서도 Pharmacophore가 가지는 Feature들 상호간의 거리를 만족하는지 여부를 탐색하는 것이다. 마지막으로 3D 탐색이란, 선택된 화합물이 실제로 Pharmacophore와 3차원 공간적으로 서로 잘 포개질 수 있는지를 탐색하는 것으로, 이때에 대부분의 탐색 시간이 소요된다. 이때 소요되는 탐색시간을 줄이기 위한 다양한 방법들이 개발되어 있고, 가장 보편적인 방법으로는 RMS(Root Mean Square)이 있다.

II-7. 탐색 결과 화합물의 평가 및 분석

HTVS를 통해 탐색된 화합물의 실제 활성을 예측하는 일은 신약개발에서 HTVS결과를 최종적으로 평가받는 방법이므로 제일 중요한 단계라 할 수 있다. 실험적인 활성도 측정은 시간도 비교적 많이 소요되고 비용도 많이 드는 단계이므로, 가능

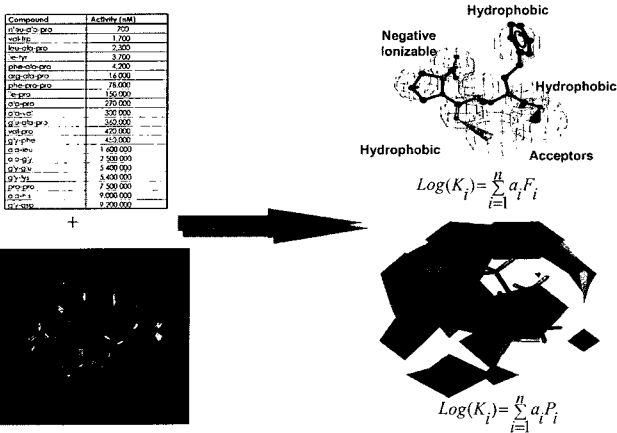


그림 2. Ligand-Based Pharmacophore Generation.

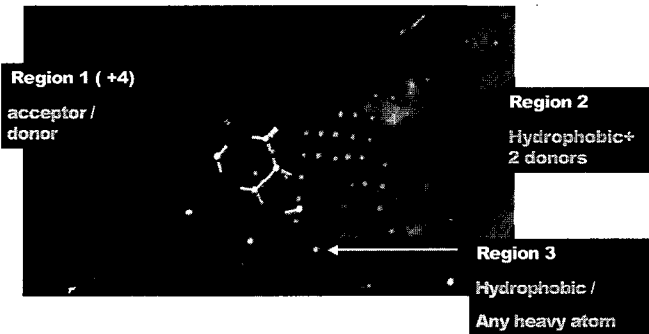


그림 3. Receptor-Based Pharmacophore Generation.

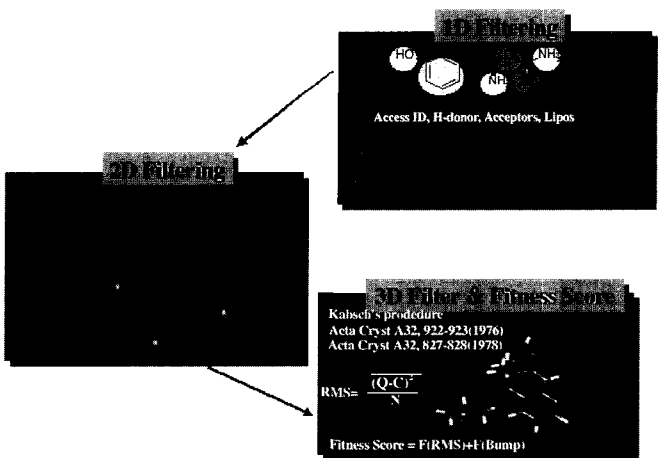


그림 4. Pharmacophore 정보를 이용한 화합물의 1D, 2D, 3D 탐색.

한 HTVS에서 탐색된 화합물에 대해서 활성도를 예측하여 확인이 필요한 화합물의 숫자를 줄이는 것이 중요하게 된다. 이때 흔히 활용되는 방법은 결합세기(Binding Affinity) 평가를 계산하는 것인데, 현실적으로 실험적인 측정치를 얻어내는 수식 ($\Delta G_{\text{binding}}$)은 계산이 너무 복잡하거나 계산상에 많은 가정을 하게 되므로 비교적 손쉽게 수치화할 수 있는 스코어링 (Scoring) 함수를 사용하게 된다. 일반적으로 스코어링 함수는 알려진 단백질과 리간드의 결합세기로부터 유도된 파라미터를 사용하거나, 혹은 단순히 연구자의 경험적인 직관에 의존하여 간단한 평가표(예를 들면, RMS + Rewards - Penalty)를 활용하는 것도 때때로 만족할만한 결과를 보여준다.

한편, HTVS의 결과로 얻어진 Hit 화합물에 대한 실제 생리활성 데이터가 확보되면, 각 Hit 화합물의 생리활성 결과와 Pharmacophore 모델을 재평가하여 이후의 HTVS 단계에서 Pharmacophore 모델과 원하는 Feature들의 기준을 좀더 정확하게 개선할 수 있다. 일반적으로 HTVS에 의한 실제 활성 측정 결과는 무작위적인 탐색에 비해서 상당히 우수한 선도물질 도출 결과를 보여준다. 즉, Aventis나 Vertex 등 선진 제약사의 보고된 자료에 의하면, HTVS 방법으로 탐색된 화합물들에 대한 실제 생리활성은 $IC_{50} = 20\mu\text{M}$ 기준으로 약 10% 정도의 Hit 비율을 보여주는데 반해서, 무작위적인 HTS의 경우에는 대개 0.01% 정도의 Hit Rate를 보여주는 것으로 보고되고 있어서, 약 1,000배 정도의 정보농축(Enrichment) 효과를 보여준다. 더욱이, HTVS가 중요한 수단으로 작용하는 단계는 단순히 약 1,000배 정도의 정보농축 효과보다는, 생리활성이 1차 검증된 화합물에 대한 추가적인 선도물질 최적화(Optimization) 단계에 있다. 즉, HTVS의 결과로 탐색된 선도 화합물은 고유의 결합모델(Binding Model)에 관한 정보도 함께 얻어지게 되어, 일단 얻어진 선도물질에 대해서 최적화를 위한 잔기치환이나 조합화학방법의 적용 시 유용하게 활용할 수 있는 3D구조 정보를 포함하고 있어서, 무작위 탐색에 의한 선도물질과는 대조를 이룬다.

III. HTVS 사례 - IDRTech의 IDPharmo

III.1 IDPharmo™의 벤치마크 결과

HTVS시스템의 유용성은 얼마나 많은 활성물질을 찾아낼 수 있는가, 얼마나 선택적으로 활성물질을 골라내는가, 그리고 방대한 화합물 DB를 얼마나 빠른 시간 안에 탐색할 수 있는가에 의하여 판단할 수 있을 것이다. 즉, 바람직한 HTVS시스템은 화합물 DB내에서 가능한 많은 활성 물질을 찾아낼 수 있어야 하며, 동시에 검색된 Hit 화합물중에서 실제 활성물질이 차지하는 비율이 높아야 한다.

IDRTech에서 개발한 HTVS시스템인 IDPharmo를 이용하여 HIV-1 RT(Reverse Transcriptase) 시스템에 대해 Benchmark 테

표 2. HIV-1 RT를 이용한 벤치마크 실험 결과(본문 참조)

	case I	case II	case III
No. of Maps in PharmoMap	4	5	4
Av. Number of Hits (Ht)	49.8	9.5	13.3
Av. Number of True Hits (Ha)	330.	8.3	9.7
Selectivity % (Ha / Ht)	66.2	87.9	72.8
Number of Unique Hits (Ua)	261	116	114
Sensitivity % (Ua / A)	64.8	28.8	28.3
Av. Search Time(sec.)	5.2	9.2	13.7

스트를 하였다(표 2 참조). 표적 단백질은 Hiv-1 RT가 Dmp-266(Efavirenz)와 결합되어있는 구조(PDB code: 1fk9)를 사용하였으며, 화합물 데이터베이스는 임의로 추출한 1,902개의 화합물과 Hiv-1 RT의 저해제로 알려져 있는 화합물들 중에서 403개를 섞어서 총 2,305개의 화합물이 포함되어 있다. IDPharmo 시스템 중, Pharmacophore Modeling 모듈인 PharmoMap 프로그램을 이용하여 활성 부위에서 단백질과 저해제가 상호 작용하는 특징적인 Feature 8개를 찾았다. 이 Feature들은 4군데의 수소결합과 4개의 소수성 상호작용 요소로 구성되어있다. 이론적으로 보면, 가장 좋은 저해제는 이 모든 상호작용 위치를 만족시키는 물질로 상상할 수 있지만, 일반적으로 8개 Feature 모두를 만족시키는 물질은 거의 디자인하기도 힘들고, 대개의 경우에는 그중 일부분만을 만족시켜도 선도물질로서의 효과를 나타낸다. 그러므로, 이중에서 반드시 있어야 된다고 생각되는 수소결합 한 개와, 나머지 7개의 Feature들 중에서 3개씩 선택하는 조합(Case I)과 4개씩 선택하는 조합(Case II)을 구성하여 모두 35개의 서로 다른 조합의 DB 탐색용 PharmoMap을 만들었다. 이때, 각각의 PharmoMap은 DB 탐색시 독립적으로 사용된다. IDPharmo의 성능을 상대적으로 비교하기 위해서 유사한 기능의 상용프로그램을 이용하여 Case I에서와 같은 방법으로 검색을 실시하였다(Case III).

검색결과를 보면 PharmoMap에서 사용된 Feature의 숫자가 더 많은 Case II의 경우가 Case I 보다 Ha가 작고, Selectivity (Ha/Ht) 값이 큰 것을 알 수 있다. 그러므로 표적 단백질의 종류에 따라서 높은 Ha 값이 필요한지 좋은 Sensitivity가 필요한지에 따라서 PharmoMaps를 구성하는 Feature의 구성을 조절할 필요가 있다. 상용 프로그램과의 비교 결과에서도 IDPharmo가 다소 좋은 결과를 빠른 시간 안에 제공해 주는 것을 알 수 있다.

또 다른 벤치마크 시스템으로 Estrogen Receptor에 대하여도 같은 방법으로 알려진 Agonist와 Antagonist에 대하여 프로그램을 적용하여 보았다. 표 3에서 보는 것처럼 Agonist의 경우는 매우 높은 선택성과 감도를 보이며, Antagonist의 경우에도 조금 떨어지지만 좋은 결과를 나타냄을 알 수 있다.

표 3. Estrogen Receptor를 이용한 벤치마크 실험 결과(본문 참조).

	Agonist	Antagonist
No. of Maps in PharmoMap	5	4
Av. Number of True Hits (Ha)	8.9	22.0
Selectivity % (Ha / Ht)	84.8	46.2
Number of Unique Hits (Ua)	15	11
Sensitivity % (Ua / A)	75.0	55.0

Agonist에 대한 선택성 84.8%는 DB에서 임의로 선택했을 경우보다 약 80배 이상 선택성이 향상된 경우이다. 이 경우에는 데이터베이스에 들어있는 비활성 화합물의 개수가 적어서 선택성의 향상이 80배 정도이지만, 더욱 큰 DB를 사용하면 선택성의 향상은 더욱 커질 것이다.

위의 검색 결과를 볼 때 HTVS는 신약개발용 선도물질 도출에 매우 효율적인 기능을 가지고 있음을 알 수 있다. IDPharmo시스템의 경우, 표적 단백질의 종류에 따라 다르지만 평균 50%이상의 선택성을 나타내며, PharmoMap를 구성하는 방법에 따라 50%이상의 감도를 보임을 알 수 있다. 또한 상용 프로그램보다 속도 면에서도 빠르며, 검색 결과도 비교적 좋다는 것을 알 수 있다.

III.2 IDPharmo™을 이용한 HTVS 결과 사례 및 실제 선도물질 확보 결과.

신약 개발을 목적으로 IDPharmo 시스템을 활용하여 몇 가지 표적 단백질에 대한 선도물질 확인결과를 표 4에 정리하였

표 4. IDPharmo를 통해 얻은 Hit 및 생리활성 결과 예

Disease Target	Protein	Number of hit compounds (Activity of most active compound)
Antidiabetics	DPP IV*	8 compd<10uM=IC ₅₀ (7.7uM)
Antiasthma	PDE4D*	5 compd<1uM=IC ₅₀ (0.08uM)
Antivirus(HCV)	Polymerase	6 compd<30uM=IC ₅₀ (20.5uM)
Antivirus(HIV)	Polymerase	2 compd<ED ₅₀ =10uM (3.5uM)
Anticancer	Tubulin*	3 compd<20uM=EC ₅₀ (2.5uM)
Anticancer	KDR*	1 compd<20uM=IC ₅₀ (16.5uM)
Antiosteoclast	Cathepsin K	3 compd<10uM=IC ₅₀ (2.5uM)
Antiosteoclast	RANKL*	6 compd<1uM=IC ₅₀ (0.3uM)
Erectile dysfunction	PDE5A*	4 compd<6uM=IC ₅₀ (0.4 uM)

생물산업

다. 표적 단백질에 따라 생리기전을 먼저 연구해서 활성부위와 원바람직한 선도물질로서의 조건을 정하는 일은 HTVS에서 가장 중요한 요소이다. 일단 PharmoMap이 얻어지면, 상용 화합물 DB를 PharmoScan을 이용하여 탐색하고, 선택된 Hit 물질을 구입하는데 현재 약 2~3주 정도 소요된다. HTVS를 통해서 선정된 Hit 물질이 확보되면, 생리활성을 평가할 수 있는 연구자들에 의해서 실제 생리활성을 확인하게 된다. 예를 들어, HIV-RT 단백질 시스템의 경우에, 활성부위 모델을 만들기 위해서 Merck사의 DMP-266이 결합된 X-ray 구조를 이용하였다. 먼저, PharmoMap을 사용하여 HIV-RT 수용체와 저해제 간의 상호작용을 분석하여 Pharmacophore를 만들었으며, 이를 이용하여 약 100만개 화합물 DB를 탐색하였다. PharmoScan을 이용한 HTVS 탐색에서 Hit된 29개의 화합물에 대해 HIV-RT 저해활성 시험을 수행한 결과 그중 2개의 화합물이 세포활성 Assay에서 각각 5.39 및 1.78 μM (EC₅₀)의 활성을 가지는 것으로 확인되었다. 이와 유사한 방법으로 HTVS 시스템을 통해 얻은 다양한 질병 및 표적 단백질에 대한 선도물질 도출 결과도 함께 표시하였다. 우리가 개발하여 활용하고 있는 IDPharmo를 비롯한 상용적으로 구할 수 있는 HTVS시스템은 저비용/초고속으로 선도물질 도출에 크게 기여할 것으로 여겨지며, 다른 신기술과 더불어 앞으로의 신약개발 연구에 있어서도 더 활발히 사용될 것으로 기대된다.

IV. HTVS에 관한 주요 참고 문헌

1. J. Drews, Drug Discovery: A Historical Perspective, *Science* **287**, 1960 1964 (2000).
2. L. J. Beeley, D. M. Duckworth, and C. Southan, The Impact of Genomics on Drug Discovery, *Progress in Medicinal Chemistry* **37**, 1 43 (2000).
3. B. Cox, J. C. Denyer, A. Binnie, et al., Application of High-Throughput Screening Techniques to Drug Discovery, *Progress in Medicinal Chemistry* **37**, 83 133 (2000).
4. W. P. Walters, M. T. Stahl, and M. A. Murcko, Virtual Screening An Overview, *Drug Discovery Today* **3**, 160 178(1998).
5. B. Waszkowycz, T. D. J. Perkins, R. A. Sykes, J. Li, Large-scale virtual screening for discovering leads in the postgenomic era, *IBM System Journal*, **40**, 2, 360(2001)
6. R. S. Bohacek, C. McMartin, and W. C. Guida, The Art and Practice of Structure-Based Drug Design:AMolecular Modeling Perspective,*Medicinal Research Reviews* **16**, 3 50(1996).
7. B. K. Shoichet and D. E. Bussiere, The Role of Macromolecular Crystallography and Structure for Drug Discovery: Advances and Caveats, *Current Opinion in Drug Discovery and Development* **3**, 408 422 (2000).

8. R. Lahana, How Many Leads from HTS? *Drug Discovery Today* 4, 447-448 (1999); C. S. Ramesha, How Many Leads from HTS? Comment, *Drug Discovery Today* 5, 43-44(2000).
9. T. S. Peat, J. M. Newman, and D. E. Bussiere, Structural Genomics in the Post-Genomics Era: The Shape of Things to Come, *Current Opinion in Drug Discovery and Development* 3, 399-407 (2000).
10. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings, *Advances in Drug Delivery Research* 23, 3-25(1997).
11. D. E. Clark and S. D. Pickett, Computational Methods for the Prediction of Drug-Likeness, *Drug Discovery Today* 5, n49-58 (2000).
12. C. A. Baxter, C. W. Murray, D. E. Clark, D. R. Westhead, and M. D. Eldridge, Flexible Docking Using a Tabu Search and an Empirical Estimate of Binding Affinity, *Proteins: Structure, Function, and Genetics* 33, No. 3, 367-382 (1998).
13. M. D. Eldridge, C. W. Murray, T. R. Auton, et al., Empirical Scoring Functions: I. The Development of a Fast Empirical Scoring Function to Estimate the Binding Affinity of Ligands in Receptor Complexes, *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 11, 425-445 (1997).