

創薬研究からPCクラスターに 期待するもの

～計算創薬の**縄張**を広げるために～

北村 一泰
日本薬科大学

PCクラスターシンポジウム
12/11/2014 秋葉原

医薬品の研究開発フロー(JPN)



創薬研究プラットフォーム

～1年

1～2年

1～3年

1年

標的分子
の特定

スクリーニング系
の構築

リード化合物
探索

リード化合物
創出

化合物
最適化

化合物の
絞り込み

HTS

薬効:

・結合実験

薬効:

・in vitro 薬効試験

体内動態:

- * 吸収性(血中濃度)
- * 血漿中安定性
- * ヒト肝ミクロソーム代謝安定性
- * Cyp阻害(数分子種)
- * 反応性代謝物
(GSHトラッピングアッセイ)

安全性:

- ・遺伝毒性(簡易型Ames)
- * 心血管系毒性
(hERGチャネル結合)

物性:

- ・純度、溶解度(水)、分配係数、
* 膜透過性

- ・3D構造予測(低分子、蛋白質)
- ・重ね合わせ、ファーマコフォアの抽出
- ・ファーマコフォアスクリーニング
- ・複合体結合様式予測

薬効:

・in vitro & in vivo薬効(POC)試験

体内動態:

- * 血漿中安定性
- ・吸収性(血中濃度)
- * ヒト肝ミクロソーム代謝安定性
- * Cyp阻害(含 反応性代謝物)
- * 反応性代謝物(GSHトラッピングアッセイ)
- * アルブミンとの結合率(ヒト、動物)
- * P糖タンパク質関与の有無

安全性:

- ・遺伝毒性(Ames)
- * 心血管系毒性 (hERGチャネル結合,
hERG電流, Ca²⁺チャネル結合)
- ・一般毒性(単回投与)

物性:

- ・純度、溶解度(水)、分配係数、
* 膜透過性

- ・複合体結合様式予測
- ・結合自由エネルギー計算
- ・分子間相互作用解析(FMO)
- ・分配係数、溶解度、毒性予測

薬効:

・in vitro、in vivo薬効

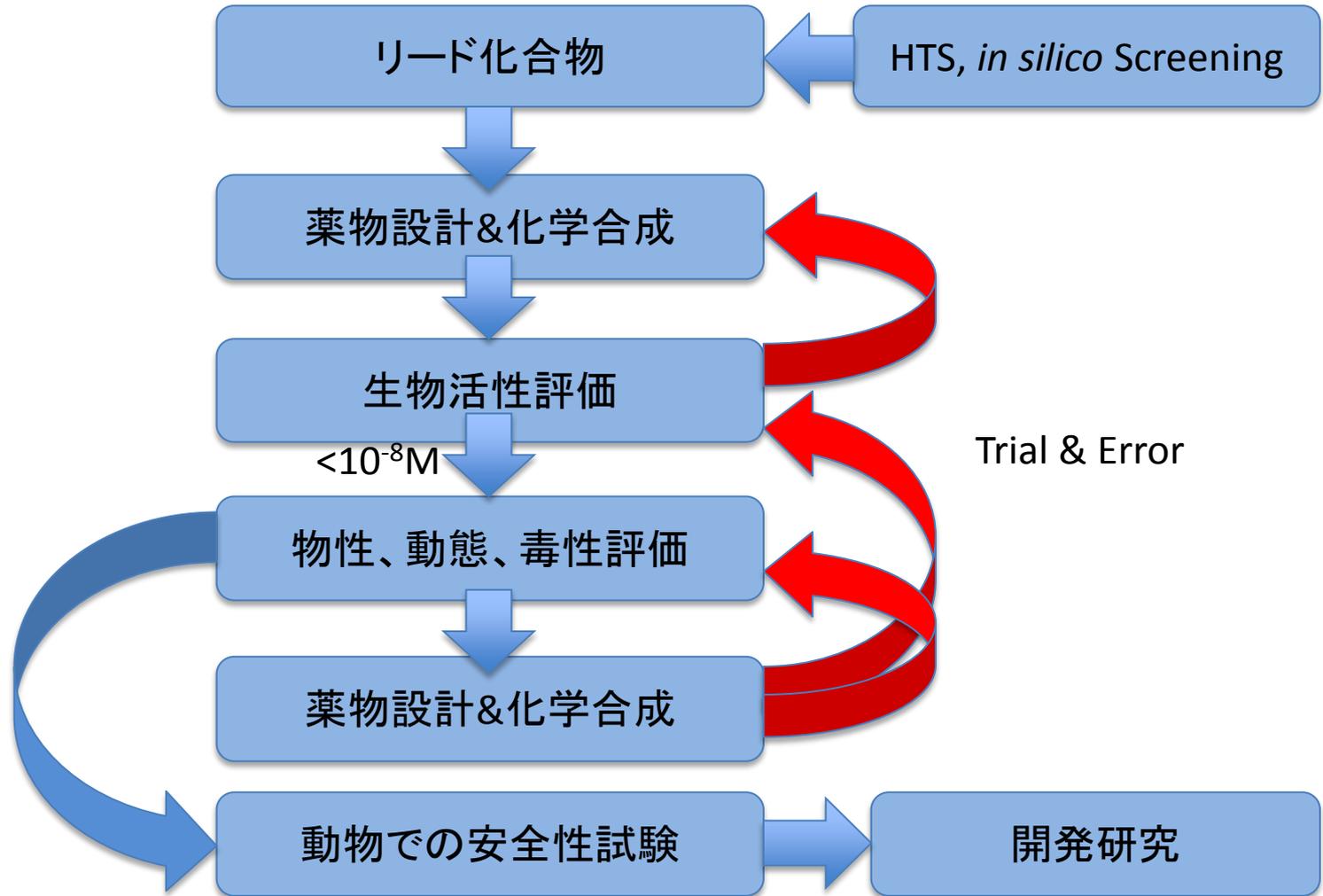
体内動態:

- ・Cyp阻害の精査(数分子種)
- ・ヒト肝代謝酵素誘導
- ・ラベル体を用いた体内動態試験
(吸収: 血中放射能濃度、
血中未変化体/活性体濃度)
- ・主代謝物の同定(in vitro代謝物を含む)
- ・ラベル体を用いた反応性代謝物の確認
- ・分布(組織中濃度、蛋白結合/血球移行)
- ・排泄(尿中・胆汁中排泄)
- ・非げっ歯類PK試験
- ・TK本試験(GLP)用測定法のバリデーション

安全性(非GLP):

- ・反復投与毒性試験(ラット/大動物)
- ・遺伝毒性試験(Ames、染色体異常)
- ・安全性薬理
(中枢神経系、心血管系、呼吸系)

リード最適化のプロセス



一般に報告されているHTSのヒット率

化合物濃度	ヒット率
10mM～1mM	0.06%
1mM～100 μ M	0.03%
100 μ M～1 μ M	0.02%
1 μ M～1nM	0.01%
1nM以下	0.001%

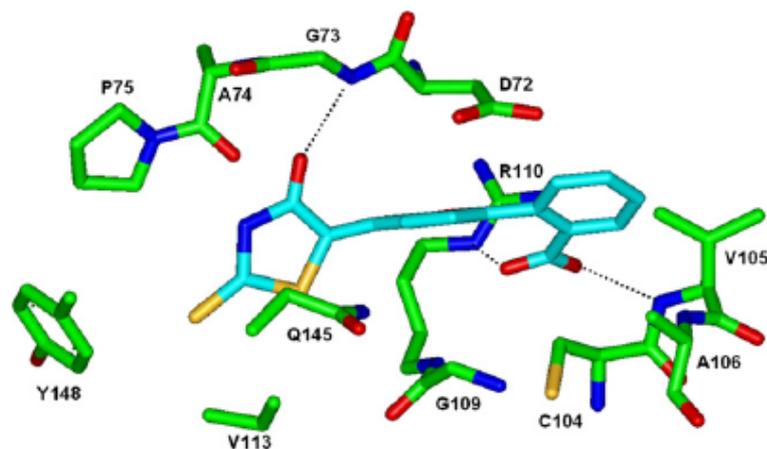
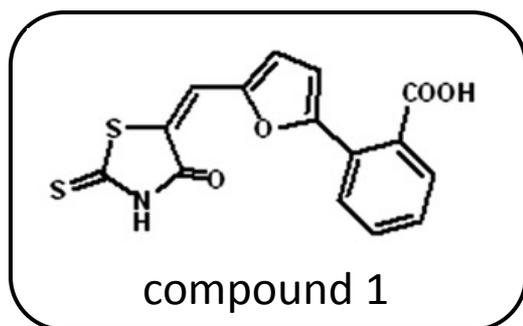
HTSの一日あたりのスピード(一般的に)

JPN: $1.5 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^4$ compds

US : 1.0×10^5 compds

Docking Screening (AutoDock)

～PRL-3阻害剤～



Predicted binding mode of compound 1 (IC₅₀=13.3μM)

PRL-1 X線結晶構造

pdb: 1XM2

↓

ホモロジーモデリング
PRL-3予測構造

85,000
compounds

ドッキング

191 hits

AutoDock

- ・前準備: 低分子3D構造生成
- ・遺伝的アルゴリズム
- ・AMBERを改良したエネルギー

in vitro
Enzyme Assay

12 compounds
10~50μM

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

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 μ M	(1)
EF	感染症	AutoDock	10000	19	4	μ M	(2)
KDR <small>*標的3D構造なし</small>	癌(血管新生)	Catalyst	10458	20	1	30 μ M	(3)
17 β -HSD1	乳癌	Catalyst	340042	14	4	6~50 μ M	(4)
Cathepsin S	自己免疫疾患	Catalyst	2664754	15	7	15 μ M	(5)
AdoMetDC <small>(S-adenosylmethionine decarboxylase)</small>	癌	GLIDE	1990	133	1	μ M	(6)
CCR5	HIVウイルス	GOLD, Surflex	1620316	59	10	10 μ M	(7)
MCH-R1	肥満	ICM	187084	129	6	7-20 μ M	(8)

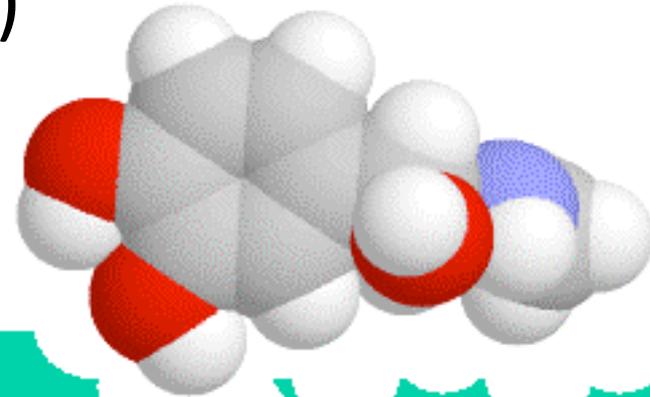
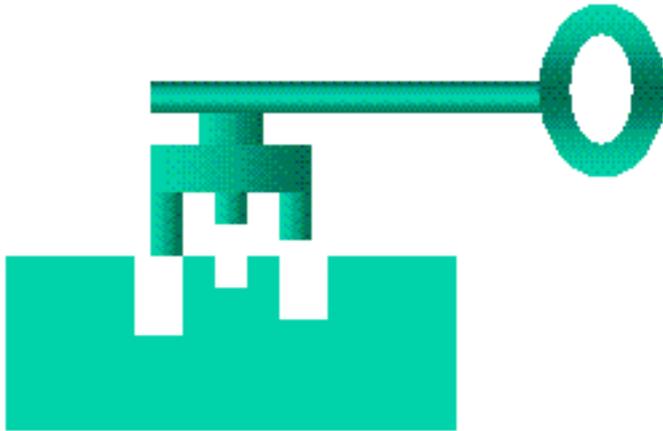
References

- (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.

ヒット率:1 ~ 50%, 活性値:弱い

Lock & Key Concept

Key (Ligand)



Lock (Protein)

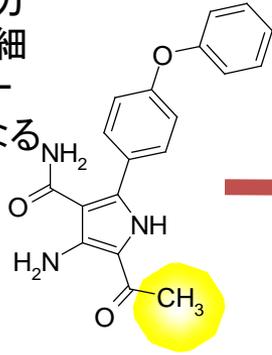
Chemical Modification & Docking Simulation

～Lck阻害物質の設計～

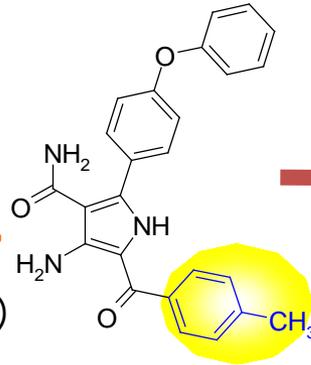
括弧内・・・酵素阻害 IC₅₀

T細胞受容体と結合しサイトカイン産生&T細胞増殖シグナルの起点となるキナーゼ

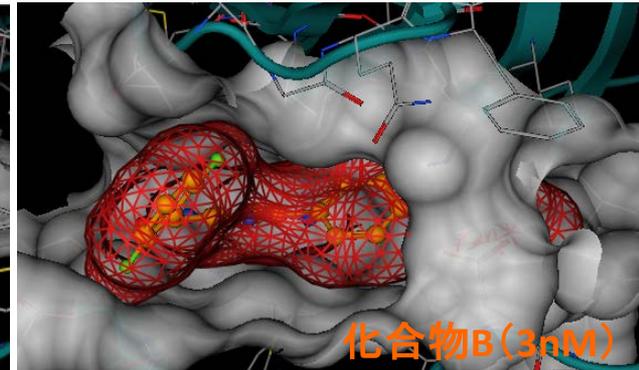
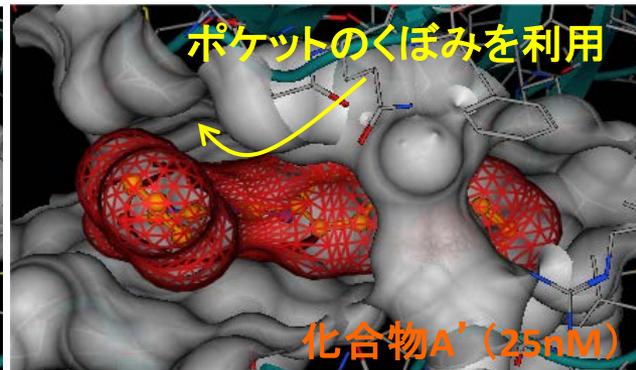
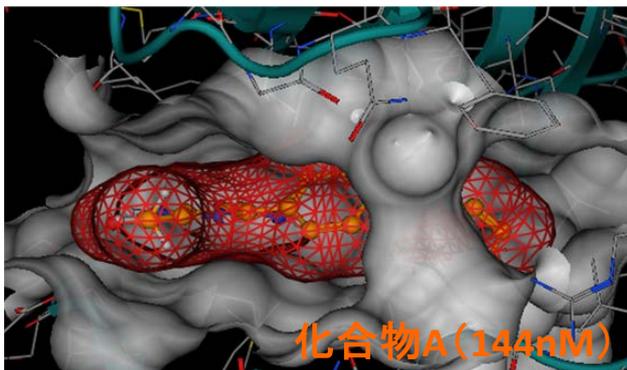
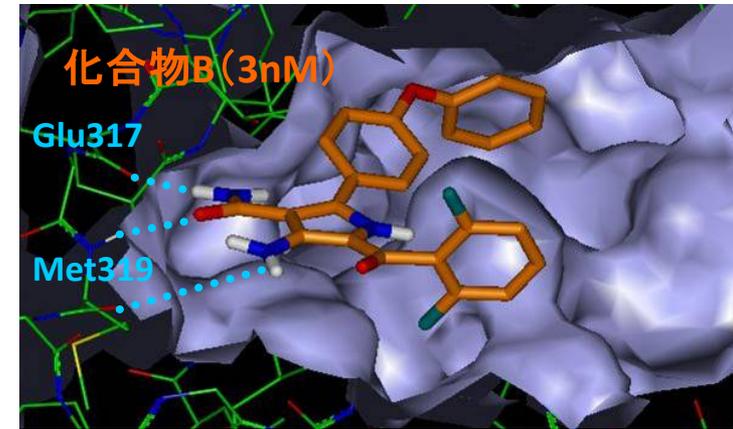
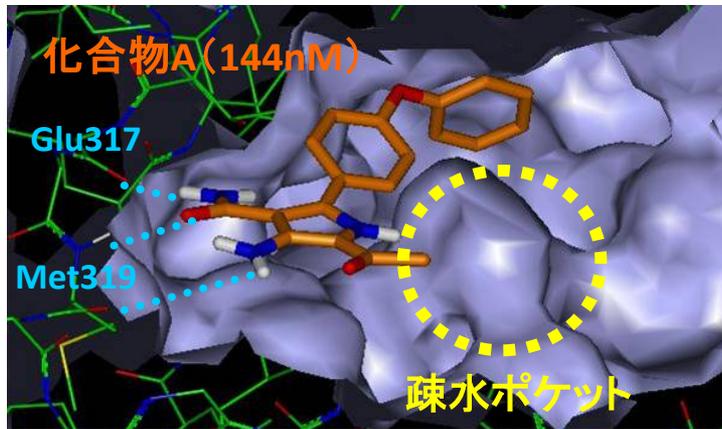
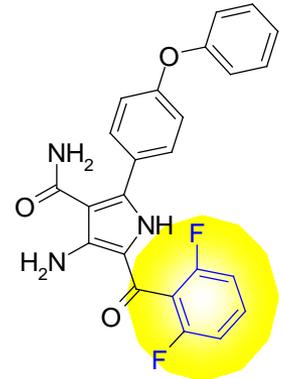
化合物A
(144nM)



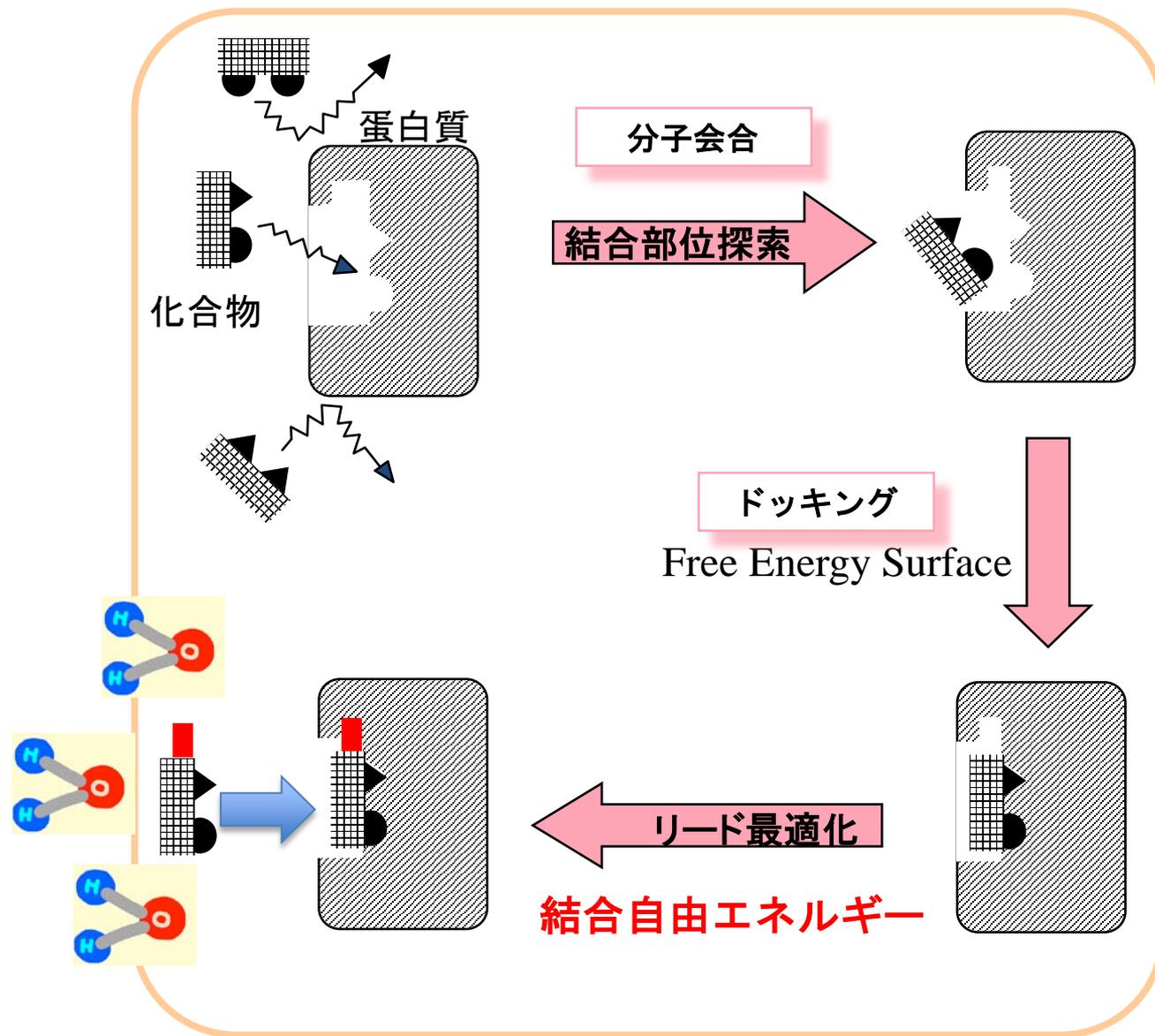
化合物A'
(25nM)



化合物B
(3nM)



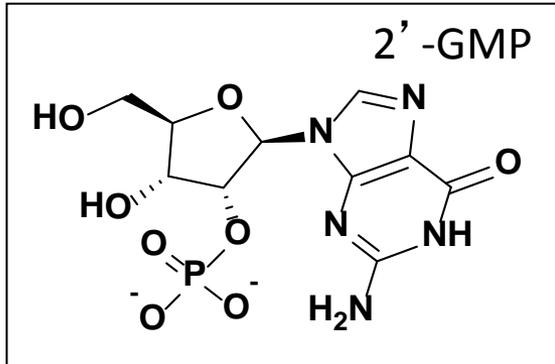
in silico HTS & Optimization (概念図)



HTS: High
Throughput
Screening

RNaseT₁ & 2'-GMPの会合過程

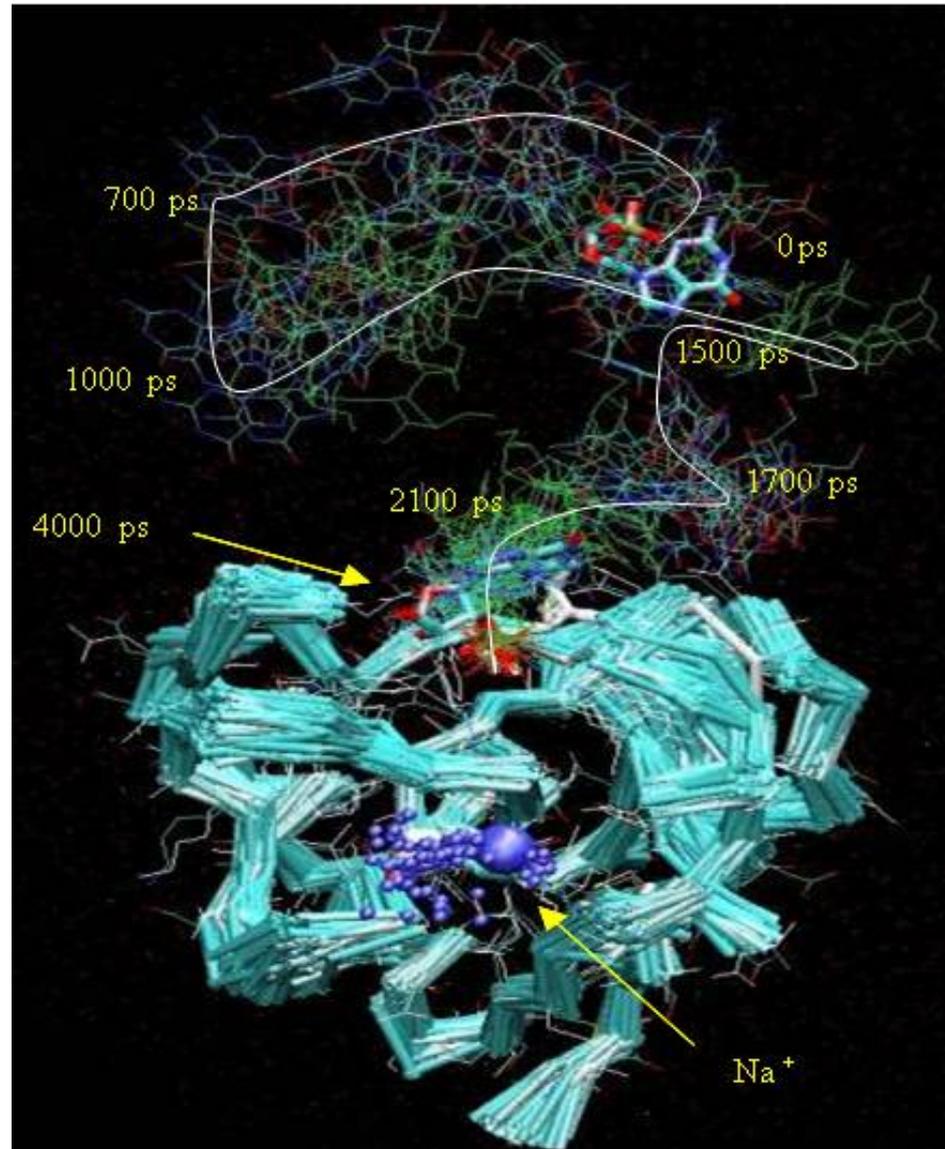
1本鎖RNAのG塩基の3'位リン酸結合の加水分解酵素



RNaseT₁ (104Res + Na⁺) : -4価
2'-GMP : -2価

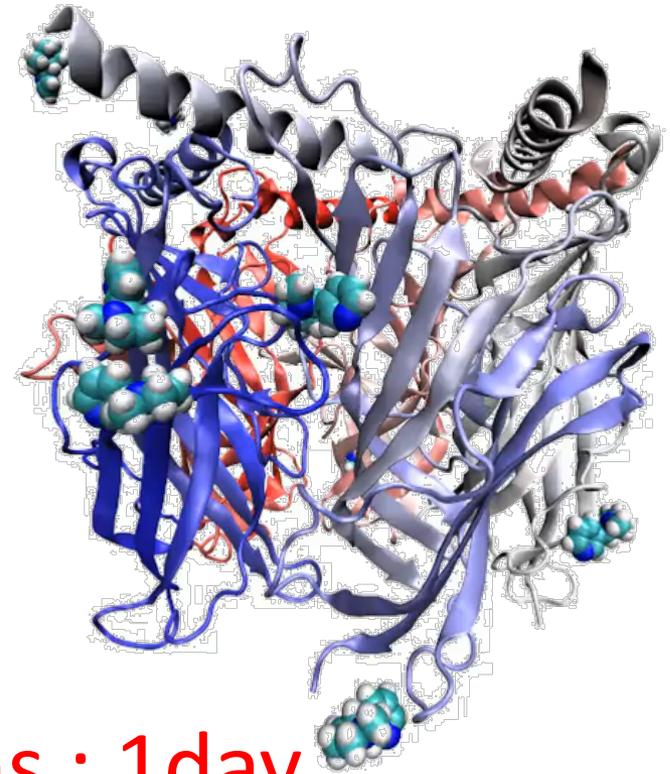
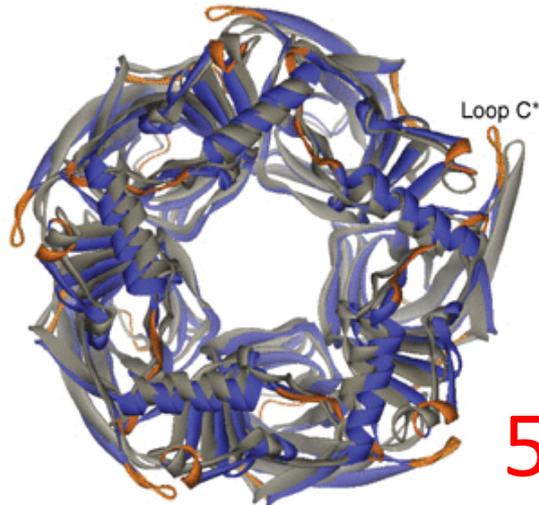
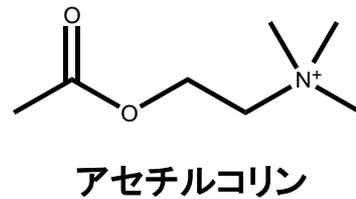
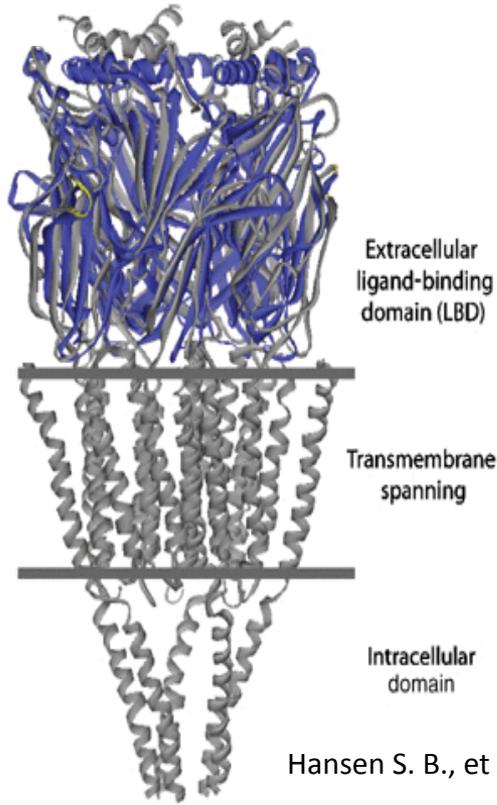
4ns: 10days

(MD-Engine: 200GFlops)



Allosteric Ligand PNU-120596の結合シミュレーション

$\alpha 7$ のX線結晶構造

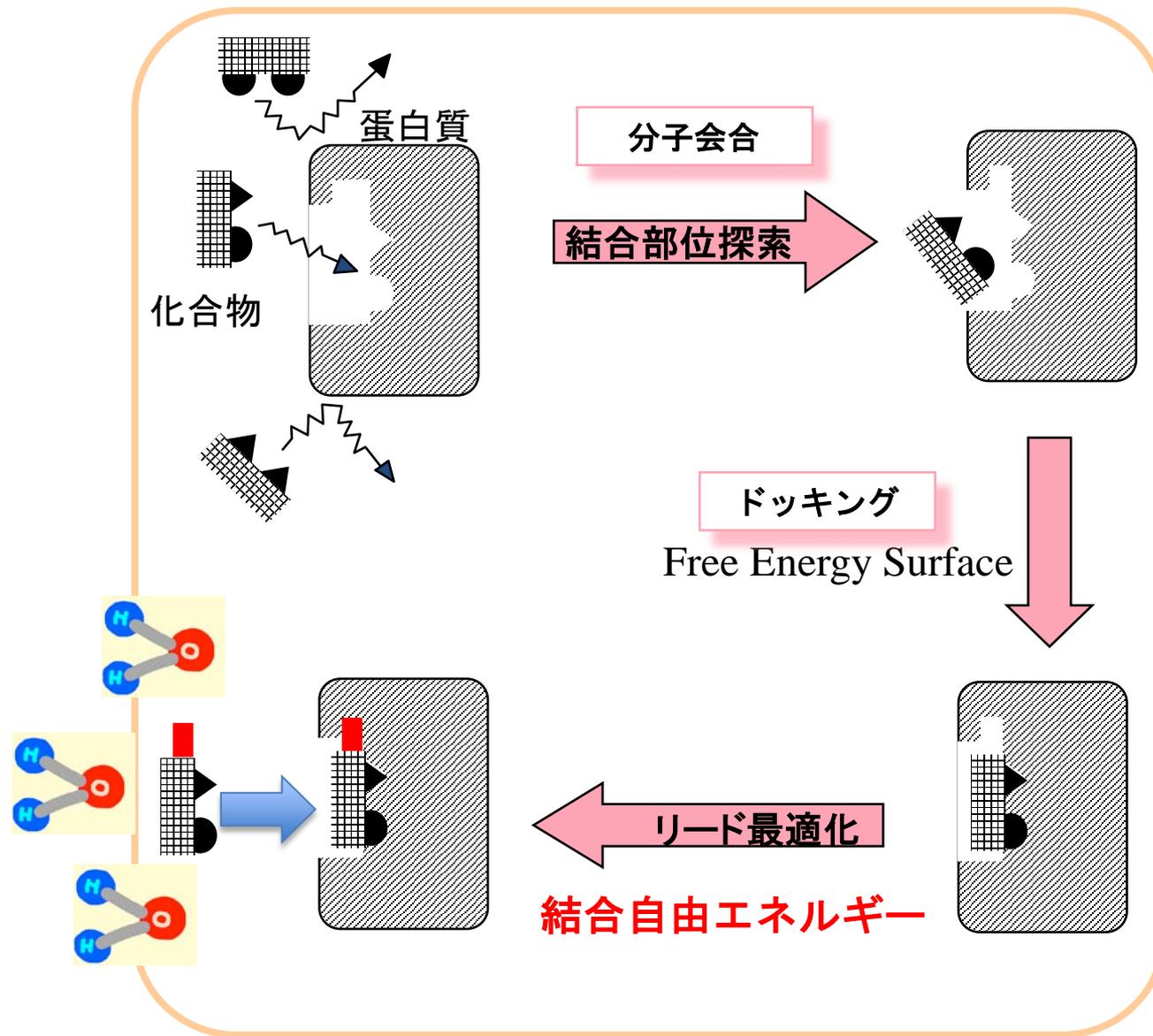


5ns : 1day

Hansen S. B., et al, EMBO J. Oct 19, 2005; 24(20): 3635–3646.

- ソフトウェア : amber12(ff10+TIP3P)
- 計算機 : GPUクラスター(NVIDIA tesla K20X)
- 約12万原子

in silico HTS & Optimization (概念図)



HTS: High
Throughput
Screening

ΔG Calculation Scheme

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complex}} - \Delta G_{\text{sol}}$$

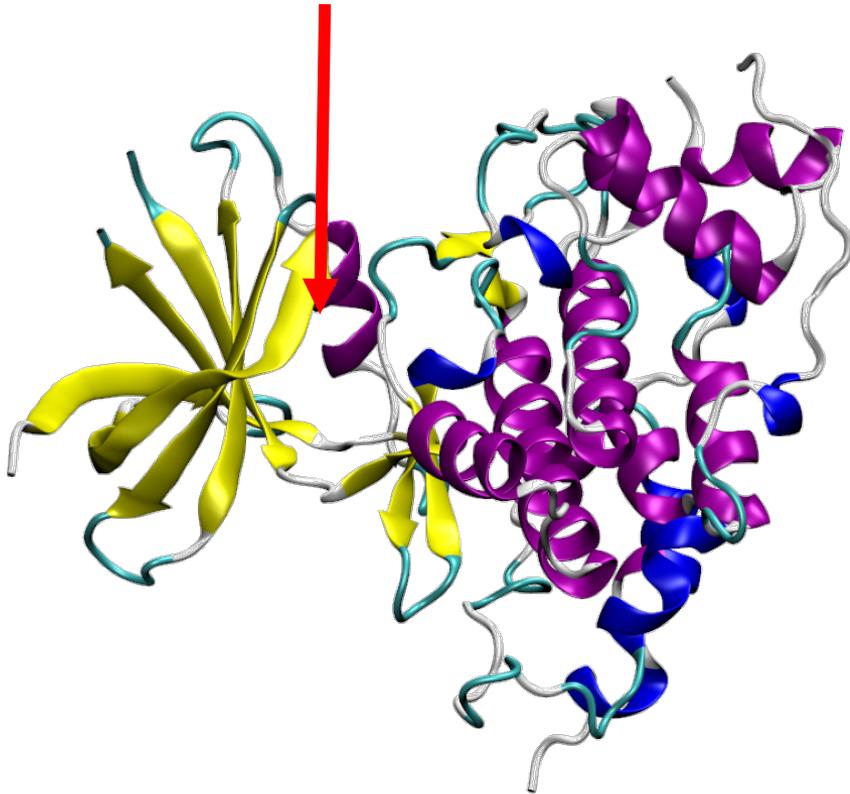


P: protein, **L**: ligand, **PL**: complex molecule
aq: aqueous phase, **gas**: gas phase

GSK-3 β の構造と阻害剤の相互作用

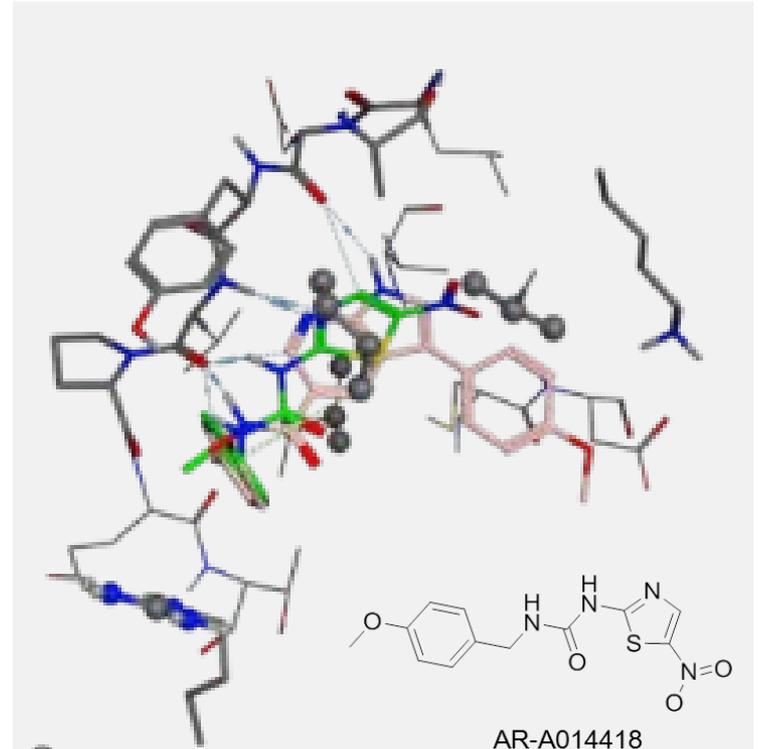
GSK-3 β : Glycogen Synthase Kinase-3 β

Ligand binding pocket



GSK-3 β の立体構造(リボンモデル)

Berman H. M et al, Nucleic Acids Res., 2000, 28, 235-242

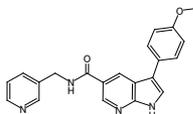
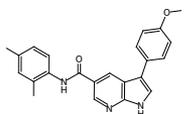
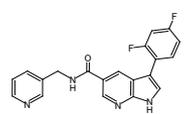
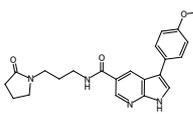
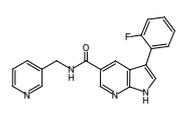
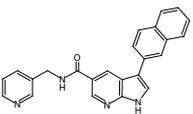
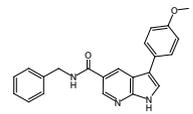
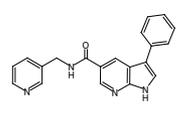
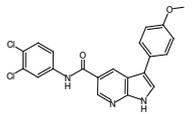
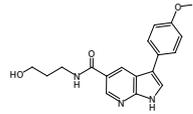
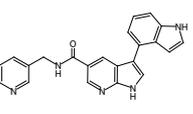
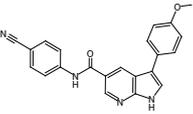
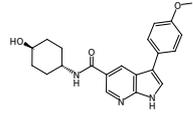
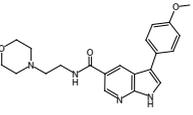
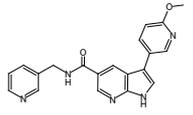


GSK-3 β &阻害剤の相互作用

Bhat, R., et al, J, Biol. Chem. 2003 278, 278, 45937-45945

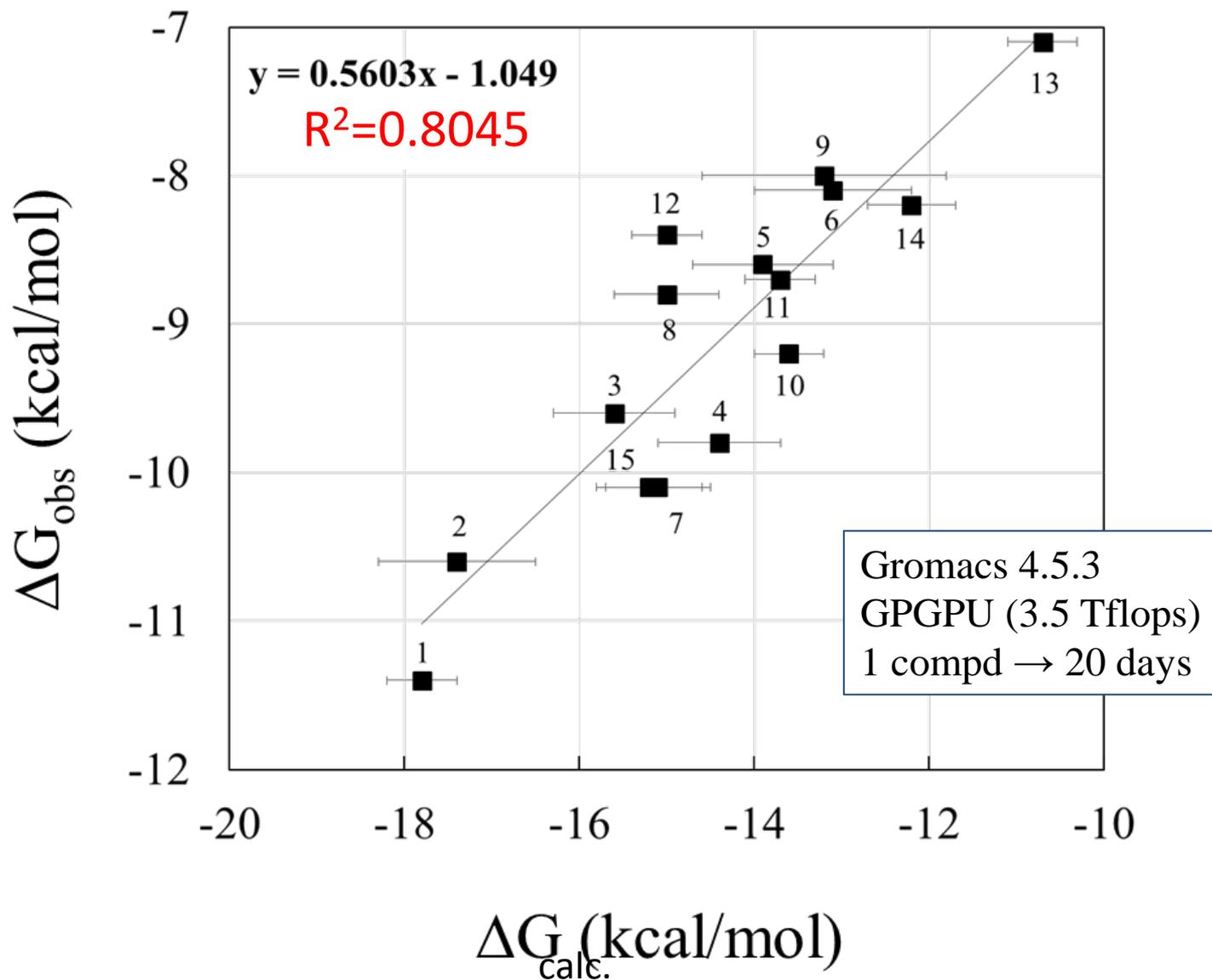
Chemical Structures of 7-Azaindole Derivatives

Kitamura, K., et al., J. Chem. Inf. Model. 2014, 54, 1653-1660

#	Chemical Structure	IC ₅₀ (nM)	#	Chemical Structure	IC ₅₀ (nM)	#	Chemical Structure	IC ₅₀ (nM)
1		5	6		1206	11		445
2		17	7		43	12		693
3		96	8		326	13		5745
4		63	9		1387	14		1054
5		500	10		192	15		42

IC₅₀ : 50% inhibitory concentration

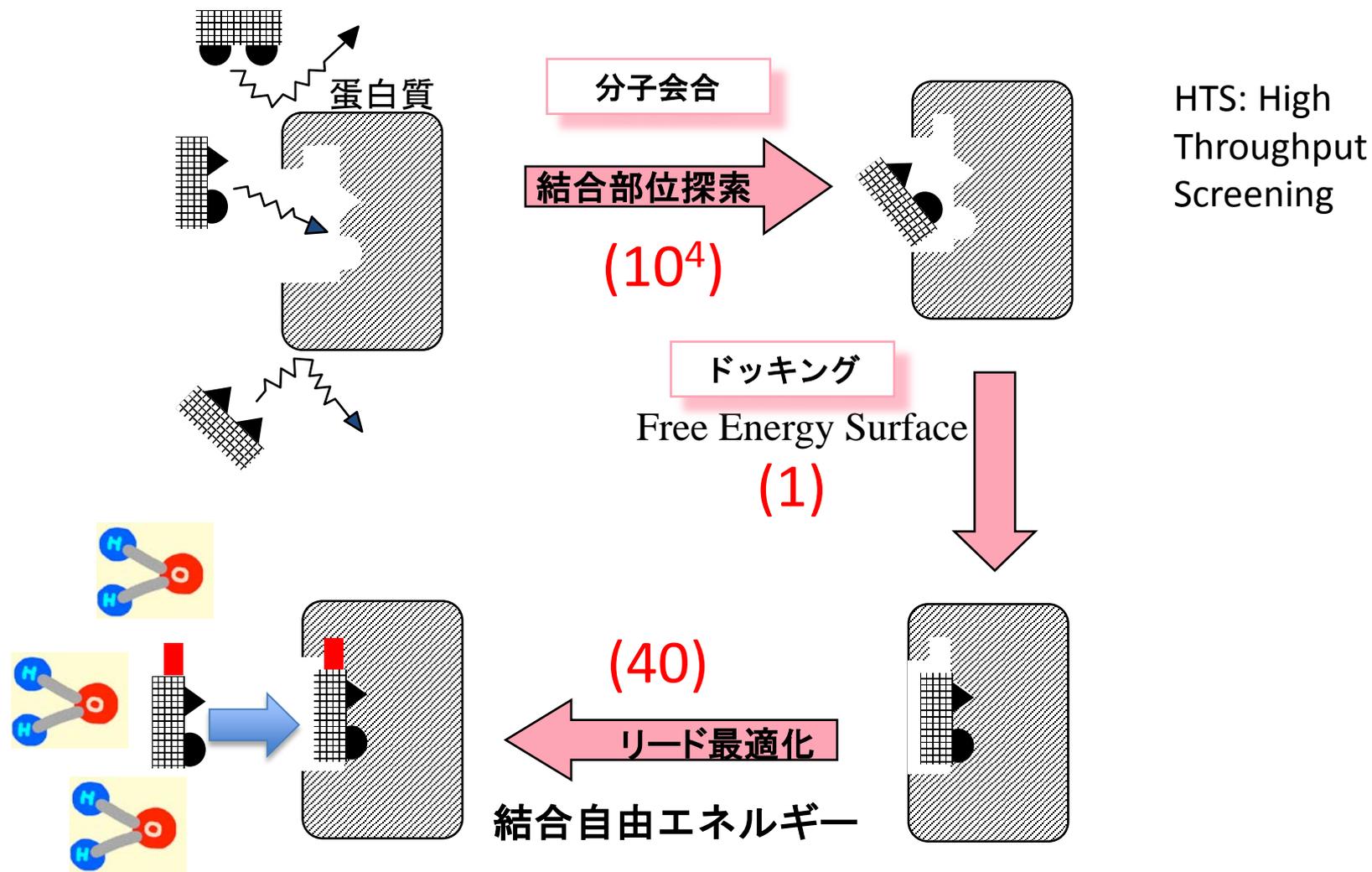
A Scatter Diagram of Calculated and Observed ΔG s values



ΔG s of 7-Azaindole Derivatives (kcal/mol)

#	ΔG_{obs}	ΔG_{calc}	$\Delta G_{\text{complex}}$	ΔG_{sol}
1	-11.4	-17.8±0.4	-38.8±0.4	-21.1±0.1
2	-10.6	-17.4±0.9	-40.5±0.8	-23.1±0.5
3	-9.6	-15.6±0.7	-33.7±0.7	-18.1±0.1
4	-9.8	-14.4±0.7	-36.8±0.7	-22.4±0.3
5	-8.6	-13.9±0.8	-37.1±0.8	-23.1±0.1
6	-8.1	-13.1±0.9	-30.7±0.9	-17.6±0.1
7	-10.1	-15.1±0.6	-35.2±0.6	-20.2±0.1
8	-8.8	-15.0±0.6	-34.8±0.6	-19.8±0.1
9	-8.0	-13.2±1.4	-37.8±1.4	-24.7±0.1
10	-9.2	-13.6±0.4	-33.9±0.3	-20.4±0.1
11	-8.7	-13.7±0.4	-33.4±0.3	-19.7±0.1
12	-8.4	-15.0±0.4	-36.1±0.4	-21.1±0.1
13	-7.1	-10.7±0.4	-28.6±0.3	-17.9±0.1
14	-8.2	-12.2±0.5	-32.8±0.5	-20.6±0.1
15	-10.1	-15.2±0.6	-37.4±0.6	-22.3±0.1

in silico HTS & Optimization (概念図)



(): 一日で計算したい分子数

計算創薬に必要な演算速度(概算)

100台並べるとして

1) 結合部位探索
(分子会合)

10^4 compds/day

350TFlops/台

1) リードの最適化 (結
合自由エネルギー)

40 compds/day

10Tflops/台

2) Docking (Free
Energy Surface)

1 compd/day

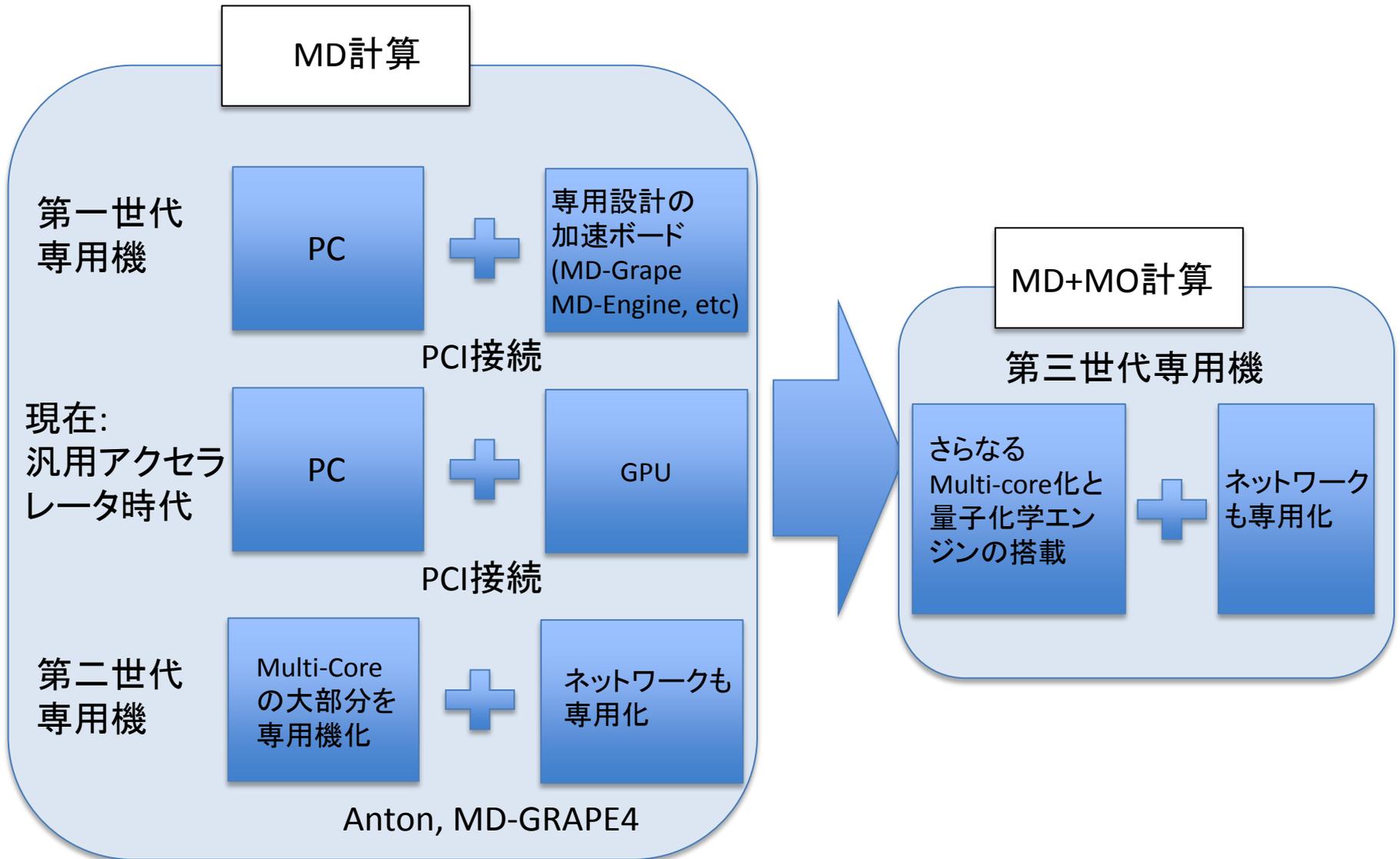
1 Pflops/台(??)

3) 代謝酵素反応

1 compd/day

10^2 PFlops/台(???)

計算創薬専用計算機(概念)



創薬研究プラットフォーム

