

도약연구사업(舊 국가지정연구실) 최종보고서

① 부처사업명(대)	기초연구사업		보안등급(보안, 일반)	일반
② 사업명(중)	중견연구자지원사업		공개가능여부(공개, 비공개)	공개
③ 세부사업명(소)	도약연구사업			
④ 과제성격(기초, 응용, 개발)	기초	④-1 실용화 대상여부(실용화, 비실용화)		
⑤ 과제명	국문	체내동태맞춤 신약검색 및 설계 연구		
	영문	Transporters Targeted New Drug Design		
⑥ 주관연구기관	서울대학교 산학협력단			
⑦ 협동연구기관				
⑧ 주관연구책임자	성명	심창구	직급(직위)	교수
	소속부서	서울대학교 약학대학	전공	약제학

□ 연구의 개요 및 필요성

(1) 연구개발의 목적

본 기술은 약물의 체내동태를 in vitro 세포막 투과특성 측정을 통하여 (1) 간편 신속하게 규명함으로써 신약개발시 성공확률이 높은 후보물질 (lead)을 선정할 수 있게 하고, (2) 또 질환시 생체막 수송체의 기능 변화를 파악함으로써 각종 환자의 필요한 체내부위 (예; 암, 염증 등의 병소 부위)에 효과적으로 이행 (분포)하는 특성을 갖는 “환자체내동태 맞춤형” 약물분자를 설계하는 것을 목적으로 하였다. **1) 간편한 in vitro 세포막 실험을 통해 후보물질의 인체내 동태특성을 예측함으로써, 바람직한 체내동태 특성을 갖는 신약후보 물질만을 효율적으로 선정하는 기술이다.**

신약후보물질이 개발도중 탈락되는 최대 이유 (약 40%)는 체내동태가 불량하기 때문이다. 그럼에도 불구하고 종래의 후보선정기법은 후보물질의 약효와 독성을 검토한 후 맨 마지막 단계에서 체내동태 특성을 검토하는 소위 순차적 검색법 (sequential screening) 이었다 (그림 1의 왼쪽). 그러나 마지막 단계에서 체내동태 특성이 불량하여 개발을 포기할 경우, 그동안 약효와 독성 시험에 투입된 막대한 경비와 시간이 손실을 입게 된다. 이러한 신약개발의 리스크를 줄이기 위해서 최근 선진국에서는 개발초기에 후보물질의 약효와 독성 및 체내동태를 동시에 검색하는 “동시검색 (parallel screening)에 의한 신약 후보선정법”이 새로운 패러다임으로 자리 잡게 되었다. (그림 1).

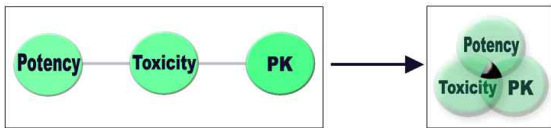


그림 1 신약 후보물질 선정 방법의 패러다임 shift 개념도

종래의 순차적 검색 (順次的 檢索, 왼쪽)에서 동시검색 (同時 檢索, 오른쪽)으로 바뀜. 오른쪽 그림에서 채워진 부분의 물질을 후보물질로 선택함.

본 연구에서는 약물의 in vivo 체내동태를 예측할 수 있는 간편한 in vitro 세포막 투과 실험법을 개발함으로써, 신약개발의 **초기 단계**에서 체내동태가 바람직할 것으로 예상되는 후보물질만을 선택할 수 있게 하고자 하였다. 이 기술은 신약개발의 막대한 실패 리스크를 대폭 줄여줌으로써 (즉, 개발의 성공확률을 대폭 높여줌으로써) 우리나라 신약개발이 국제경쟁력을 가질 수 있게 만들어 주는 가장 핵심적인 기술이다.

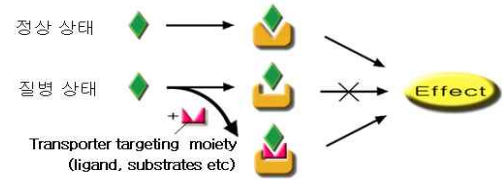
2) 질환시의 체내동태 특성 변화를 반영한 “체내동태 맞춤형신약”을 설계할 수 있는 핵심기술이다.

어떤 약물은 체내 표적부위 세포막에 발현되어 있는 수송체 (transporter)가 그 약물을 세포밖으로 퍼내기 때문에 표적부위에 약물농도를 충분히 유지하지 못해 만족할만한 약효를 나타내지 못한다. 따라서 표적부위 세포막에 있는 수송체의 약물 인식특성을 충분히 파악한 다음, 그 수송체가 인식하기 쉬운 구조 특성을 갖도록 신약분자를 설계하는 것이 신약개발의 성공확률을 높이는 첩경이다. 예컨대 난흡수성 약물에 대해서는 소장 상피세포막에 발현되어 있는 흡수 수송체들이 잘 인식하는 특정 분자구조를 도입하는 방안도 강구할 수 있다 (그림 2의 정상상태). 특히 질환시에는 생체막 수송체 특성이 변화하는데 이 변화된 수송체가 인식하기 쉬운 moiety를 약물분자에 도입할 필요가 있다 (그림 2의 질병상태).

또 암세포 표면에는 항암제를 무차별하게 암세포 밖으로 퍼냄으로써 다제내성의 원인이 되는 P-gp 같은 수송체가 과잉 발현된다 (Xenoport사의 예비실험에 의하면 약 50종이 과잉발현). 그러나 최근 세포내로의 침투를 도와 줄 것으로 기대되는 amino acid 수송체 ATB⁰⁺도 암세포 표면에 발현됨이 밝혀지고 있다. 따라서 P-gp에 인식되지 않고, 반면에 ATB⁰⁺에 인식되기 쉬운 moiety를 분자에 도입하는 것이 항암제를 개발하는 새로운 전략이 될 것이다 (그림 3).

이처럼 질환시의 생체막 수송체의 분자 인식 특성에 맞추어 “맞춤신약분자”를 설계하는 기술을 확립함으

로써 신약개발의 리스크를 줄이고 성공확률을 높이고자 하였다.



(2) 연구개발의 필요성

신약후보물질이 개발 도중 탈락되는 최대 이유 (약 40%)는 체내동태가 불량하기 때문이다. 따라서 개발 초기부터 바람직한 체내동태 특성을 보이는 물질을 선택하여 연구를 계속하

그림 2 환자의 체내동태 특성 맞춤형 약물 분자 설계기술의 개념도

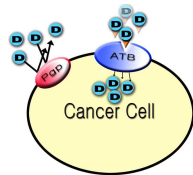


그림 3 암세포 표면에 과발현된 efflux 수송체 (P-gp)를 회피하고, intake 수송체 (ATB⁰⁺)가 인식하기 쉬운 분자 moiety를 도입함으로써 항암제 (D)의 암세포 침투효율을 높이는 개념도

는 것이 신약개발의 리스크를 줄이는 가장 효과적인 방법이다. 본 연구에서 개발하고자 하는 약물의 흡수 및 체내동태를 예측할 수 있는 in-vitro 실험계는 단시간내에 많은 신약후보물질을 선정하는 기반기술로 앞으로 우리나라 신약개발이 세계경쟁력을 갖기 위한 핵심기술이다. 또한 질환 시 transporter의 활성 변화, 특히 분자 인식능의 변화를 파악하는 기술은 환자의 체내동태에 맞추어 약물을 설계함으로써 실제로 질환에서 우수한 효과를 나타낼 수 있는 신약분자를 설계하는데 반드시 필요한 핵심기술이다.

In-vitro 생체막 투과특성으로부터 후보물질의 체내동태를 예측하는 방법은 일일이 in-vivo 체내동태를 규명하는 것에 비하면 10분의 1이하의 시간과 경비가 소요되므로 자본력이 약한 국내의 신약개발을 지향하는 모든 회사에 보급할 필요가 절실하다. 한편 질환 맞춤형 분자 설계 기술은 기존 약물 및 개량신약의 개발 및 평가에도 응용될 수 있다. 개량신약의 개발은 국내 제약기술의 강점으로 판단되며 질환 시 체내동태 특성 변화를 고려한 약물분자 수식으로 고부가가치의 개량신약을 개발하면 장차 연간 전세계 매출액 수조원에 달하는 거대 개량신약의 국내개발도 가능해 질 것이다.

미국의 경우 입원 환자중 의약품의 부작용 (adverse drug reaction)에 의해 사망하는 환자 수가 매년 10만명에 이른다. 이는 환자마다의 약물대사 능력 및 체내동태의 인종차 및 개체차를 고려하지 않고 모든 환자에게 정해진 양의 약을 투약하는 소위 “one size-fits all” 투여법에 기인하는 바 크다. 따라서 최근 환자 맞춤형 신약 (individualized medicine) 개발의 필요성이 강력히 대두되었다. 즉, 환자의 대사능력과 체내동태 능력을 반영한 맞춤 신약의 개발이 필요하다는 것이다. 본 연구에서는 체내동태 측면에서 환자의 치료효율이 극대화된 맞춤신약을 설계, 개발함으로써 환자의 입원기간을 단축시켜 의료비를 절감하고, 환자 및 가족의 정신적, 육체적 스트레스의 완화에도 크게 기여 할 것이다.

□ 연구성과의 활용 방안

- 연구개발의 활용방안

(1) 암세포에 고효율로 항암제를 delivery 할 수 있는 새로운 전략 (효율적인 transport 특성을 갖는 분자의 설계 또는 수식 + DDS에 loading + 투여 경로 선택) 즉, transporters targeted drug design 개념을 국내 신약 개발계에 보급하고자 한다.

(2) 약물의 흡수 및 체내동태를 예측할 수 있는 in vitro 스크리닝 시스템을 국내 제약회사의 신약개발에 적극 활용하도록 한다. 특히 신약분자 설계시 질환에 의한 transporter의 발현 및 기능 변화를 사전에 검토한 후 이를 감안하여 신약 분자를 설계하도록 한다.

(3) 일시적인 aggregate를 형성하는 나노파티클을 이용하여 폐 타게팅 DDS 개발에 활용하고자 한다 (특히 출원 중). 또한 흡입에 의해 폐조직으로 약물을 delivery 하는 DDS로 실용화 하고자 한다 (특히 출원 중).

(4) 본 연구실이 운영하는 online database 및 체내동태 맞춤형 신약 연구회를 통해 최신정보와 본 연구실의 개발결과를 제공한다. 수시로 워크샵 또는 세미나를 개최하여 in vitro 체내 동태 예측 시스템 및 체내동태 맞춤형 기술을 산학연의 연구자들에게 이전시킨다.

- 연구개발의 기대성과

(1) 본 연구의 철학 (효율적인 transport 특성을 갖는 분자의 설계 또는 수식 + DDS에 loading + 투여 경로 선택)이 신약 분자 개발 또는 DDS 개발의 일반적인 원칙이 될 것으로 기대한다. 특히 본 연구는 다제내성을 극복할 수 있는 항암제 (및 DDS) 신약 개발에 결정적으로 기여할 수 있다. 본 연구 성과에 의해 1-2개의 신약분자 또는 DDS가 탄생할 가능성이 매우 높다.

(2) 신약후보물질 중 적응증에 사용할 경우 바람직한 체내동태 특성을 보이는 물질을 검색하는 일반적인 방법으로 활용될 수 있다. 이 검색이 국내 신약개발에서 routine한 과정으로 자리잡도록 할 것이다. 본 실험실에서는 약물이 세포막을 투과하는 기전이 능동수송(Transporter, receptor 등을 경유)인지 수동 수송인지를 신약 개발 초기단계에서 스크리닝할 수 있는 연구 시스템을 정립, 발전시켜가고 있다. 또한 질병에서 각 장기에서의 transporter 의 발현과 기능을 확인하여, 이 변화가 약물의 체내 동태 (특히 병소 타게팅)에 영향을 미치는 가능성을 스크리닝 할 수 있는 연구 시스템도 개발, 운용하고 있다.

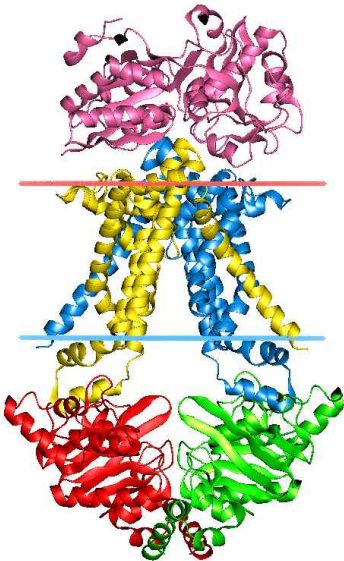
(3) 정맥 주사시 혈액 중에서 일시적으로 aggregate를 형성하는 나노파티클은 폐 또는 폐암으로의 이행성이 탁월하였는데, 이 DDS를 약물의 폐 delivery를 위한 일반적인 DDS로의 활용이 기대된다. 또한 기존의 경구 및 정맥 투여 외에 목적 장기에 최적의 농도로 약물이 도달할 수 있는 새로운 투여 경로를 대상으로 하는 신약 또는 DDS 개발에 기여할 것이다. 특히 결핵에 대한 경폐 투여는 그 가능성이 매우 높아 보인다.

(4) 결론적으로 본 실험실의 연구 성과는 신약 개발에 있어서의 리스크 (비용 및 시간)를 획기적으로 줄여 줄 수 있을 것이다. 아울러 신개념의 신약개발 (특히 항암제)을 가능하게 해 줄 것이다.

□ 관련 해외과학기술정보

신약개발은 최근 첨단 기술과 융합이 가능한 미래 전략 산업으로 주목받으며 현 정부의 신 성장동력 부문으로 선정되는 등 경제적, 사회적 중요성이 높아지고 있지만, 국내 10대 제약기업 전체 R&D투자가 미국 제약회사 화이자의 2% 수준일 정도로 신약개발에 대한 투자는 아직까지 미미한 실정이다. 신약을 개발하기 위해서는 평균 8000억에서 1조2000억의 비용과 통상 12년의 시간이 소요되기 때문에 국내 제약업계에서는 개발단계에서 신약후보물질을 효과적으로 선별하여 비용과 시간을 절감할 수 있는 기술을 보유해야만 국제적인 경쟁력을 갖출 수 있다.

신약후보물질이 개발도중 탈락되는 최대 이유(40%)는 후보 약물의 흡수, 분포, 대사, 배설 등 체내동태 특성이 불량하기 때문이다. 체내 동태 특성을 결정짓는 다양한 요인이 있지만, 최근에는 특히 막수송체(membrane transporter)의 작용에 의한 체내 동태 특성 변화가 활발히 연구되고 있다. 근래에 특이적인 탐식자(probe)와 저해제(inhibitor), 유전자 변형을 이용한 knock-out 실험동물 기술이 발달하면서 막 수송체가 약물의 체내동태에 미치는 영향을 명확히 밝히는 보고가 증가하였고, Hagenbuch 와 Meier등 많은 연구자들에



의해 유전자와 세포 수준에서 새로운 막 수송체 단백질이 계속 규명되고 있으며, Smith, Niemi 등에 의해 임상에서 막 수송체가 약물의 효능과 안전성에 대해 미치는 영향에 대해서도 보고 되었다. 일본 후생성(Japanese Ministry of Health)의 Methods of Drug Interaction Studies와 미국 식약청(US Food and Drug Administration)의 Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis and Implications for Dosing and Labelling(draft guidance)에서도 P-glycoprotein과 같은 막 수송체가 약물체내동태에 주는 영향에 대해 중요하게 규정하였다. 이와 같은 경향으로 국내 제약업계에서도 신약개발시에 신약후보물질의 세포막 투과 특성과 막 수송체에 대한 기질성을 빠르게 스크리닝 할 수 있는 in vitro 실험계를 필요로 하게 되었다. 본 실험실은 in vitro 에서 신약후보물질의 생체막 투과 특성, 특히 막 수송체에 대한 기질성을 신속, 정확하게 판별할 수 있는 실험계를 확립하여 다수의 신약 후보물질을 선별

하는데에 기여하였다.

막 수송체가 약물의 체내동태에 많은 영향을 미치지만 특히 질환시에는 막 수송체의 발현과 기능이 변화하기 때문에 정상 상태일때의 체내 동태와 큰 차이가 있다. 때문에 최근에는 질병상태에서의 막 수송체의 발현과 기능변화에 대한 연구가 분자 단계에서 이루어 지고 있지만 아직까지 확실한 데이터 베이스가 확립되어 있지 않은 현실이다. 본 연구실에서는 지난 연구기간 동안 여러 질병 상태(암, 급성 신장해, 간장해, 결핵, 염증)에서 막 수송체의 발현변화와 활성 변화여부에 대한 데이터베이스를 구축해왔으며 이와 같은 연구결과는 차후에 임상적으로도 그 중요성이 증대될 것으로 보인다.

질병상태에 막 수송체의 발현 변화 중 현재까지 가장 활발히 연구된 분야는 암 조직에서의 특정 수송체의

변화이다. 예컨대, 암 조직에서는 엽산을 수송하는 folate receptor 가 과 발현되기 때문에 항암제 분자에 folate를 수식하여 항암제가 folate receptor를 통해 암세포내로 유입되도록 하는 전략이 많이 사용되었다. 이 밖에도 melanotropin, 상피성장인자(EGF)등을 운반체로 이용하는 전략이 연구되었고, 특정 아미노산을 수식하여 amino acid transporter를 통해 약물을 전달하려는 연구가 이루어 지고 있다. 암세포 표면에 많이 발현되어 있는 P-gp, MRP2, BCRP 와 같은 efflux transporter 등이 다양한 종류의 항암제를 암세포 밖으로 퍼내기 때문에 다제내성(多劑耐性, Multi Drug Resistance; MDR)이 생겨 항암제 사용에 제한을 받기 때문에 이를 회피하기 위한 전략도 활발히 연구되고 있다. 본 연구실에서는 efflux transporter들에게는 친화성을 보이지 않지만 uptake transporter에는 높은 친화성을 보이는 항암제 분자를 설계 하여 항암제의 고질적인 문제인 다제내성을 극복하고 항암제를 고효율로 암세포로 보내려는 연구를 진행중이다. 이 두 가지 transporter를 타겟으로 삼아 항암제 분자를 설계하고 있는 연구는 아직까지 국내외에서 이루어지지 않은 본 연구실만의 독창적인 시도이다.

최근에는 신약개발 초기 단계에서 막 수송체의 영향을 정량적으로 예측하려는 연구가 많이 진행되고 있지만 후보물질의 수송에 관여하는 전체 막 수송체의 수와 각각의 기여도를 예측하기 어려운 데다가 종과 유전적인 차이로 인해 연구결과를 그대로 외삽하기가 어렵다. 이러한 한계점을 극복하기 위해서 Hasegawa 등은 rat kidney slice와 transfected cell , in vivo 실험 결과를 조합하여 OAT막 수송체를 경유하는 pravastatin의 신장내 흡수를 정량적으로 밝혔다. 본 연구실에서도 MDCK cell 에 다양한 막수송체를 발현시킨 in vitro 실험계와 in vivo에서 각 수송체에 특이적인 저해제를 처리하는 in vivo 실험계를 조합하여 보다 정량적이고 의미있는 결과를 내고 있다.

최근 특정 moiety 도입으로 소장상피세포막 투과성을 개선하여 약물의 흡수율을 개선만을 전문으로 하는 벤처 회사가 설립(<http://www.xenoport.com>) 되어 있다. 또한 적절한 P-gp inhibitor를 첨가하는 방법, P-gp에 의해 인식되지 않도록 분자 수식을 하는 방법 (예; *US Patent*, 5,567,592; 6,028,054) 및 암세포 표면에 과잉 발현되어 있으면서 항암제의 암세포내 침투를 도와 줄 것으로 기대되는 amino acid transporter, ATB⁰⁺가 인식하기 쉽도록 항암제 분자 구조를 수식하는 방법 (*BBA*, 1741, 215-223, 2005) 등이 보고되고 있다. 질병시의 체내동태 맞춤형 설계를 위한 기초자료로써 활용할 수 있는 “Disease Related Membrane Transporters” 정보도 광범위하게 정리되어 있다 (www.pharmtao.com/Transporter/dix.htm).