

## Fragment-Based Drug Discovery

創薬の険しい道はクオリティーの高いリードを探索することから始まります。リード探索に用いられる手法は多様化してきており、従来の High Throughput Screening (HTS) に加え、近年では分子量 300 以下の化合物 (フラグメント) を同定し、これを起点として最適化を行ってゆく Fragment-Based Drug Discovery (FBDD) という手法が創薬現場で存在感を増しています。FBDD は、1996 年に Fesik らによって HTS に代わるアプローチとして初めて論文で紹介されました<sup>1)</sup>。

質の高い化合物ライブラリーには広いケミカルスペースを占めること、すなわち網羅性の高さが求められます<sup>2)</sup>。ケミカルスペースとは、元素の種類とそれらの数・組み合わせから導かれる仮想分子に満たされる三次元空間であるため、分子量が小さくなるとこのケミカルスペースも小さくなります。よって、より小さな分子量の化合物ライブラリーは、ケミカルスペースに対する網羅性がより高くなると考えられます。つまり小さな分子から成るフラグメントライブラリーでは有効なヒットが出る可能性が高くなるということになります。

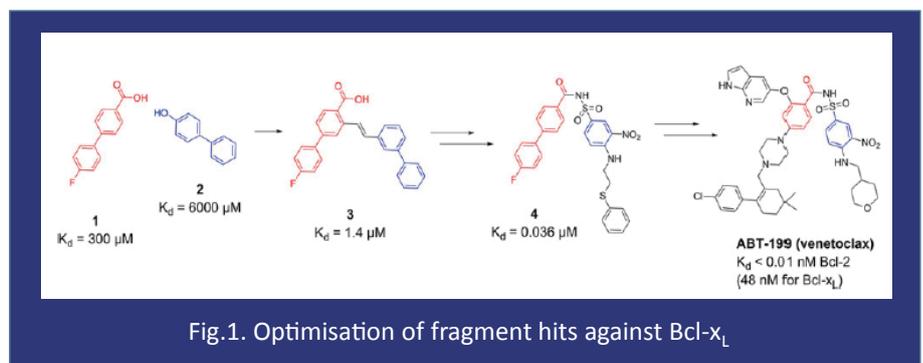
また Hann らはシミュレーション研究によって、大きく複雑な化合物は任意のタンパク質と相互作用をする確率が高いがその特異性は低い、一方小さくシンプルな化合物は任意のタンパク質と相互作用をする確率が低いがその特異性は高いことを報告<sup>3)</sup> しており、これはフラグメントを出発点とする意義の高さを示します。さらにリプスキの法則にある Rule of Five に沿うと、小さな分子量のリード化合物からの構造最適化は上限までにゆとりがあり、

物性変化を十分配慮しながら自由度の高い合成展開が可能になると考えられます。

小さな分子の化合物は薬理活性が非常に弱く、従来の生理的なスクリーニングでは検出が困難です。そこで結合フラグメントの同定には NMR、X 線結晶解析、thermal shift、SPR などの生物物理的な手法をいくつか組み合わせることにより、多角的な情報を得ながらそれぞれの測定系を活用することが望まれますが、スループットが低いという欠点が挙げられます。

フラグメントを出発点とした創薬成功の実例の一つが慢性リンパ性白血病の治療薬として上市されている Bcl-xL 阻害剤、venetoclax です。Venetoclax は FBDD によりヒットしたフラグメント 1 およびフラグメント 2 をリンカーで繋ぎ、修飾を加えて作り出されました<sup>4)</sup>(Fig.1)。FBDD でヒットしたフラグメント 1 及びフラグメント 2 の  $K_d$  値は数百~数千  $\mu\text{M}$  でしたが venetoclax にまで磨き上げることで 48nM にまで改善されました。

弊社では、標的タンパク質を固定したカラムによる高速液体クロマトグラフィーと質量分析計を組み合わせた Weak Affinity Chromatography (WAC™) を用いたフラグメントスクリーニングサービスを提供しております。標的タンパク質を固定したカラムと何も固定していないカラム



の両方にフラグメントを流し、滞留時間の変化から直接 KD 値を算出します (Fig.2)。カラムから溶出されたフラグメントを LC-MS で直接確認するため、スループットが良く 1 週間に 3,000-4,000 フラグメントの検出測定が可能です。WAC™を用いた結果は NMR 及び SPR に対し 88% 並びに 83% と高い相関性が得られることが報告されております<sup>5)</sup>。WAC™では 0.1 $\mu$ M-10mM の幅広い親和性のフラグメントを同定でき、さらに測定に要するタンパク質量も 2-5mg という少量であるため、他の測定方法で必要とされるタンパク質量の 1/5 ~ 1/10 まで抑えることができます。また SPR や X 線構造解析を用いたスクリーニングより費用面でも優位となっております。

当サービスではフルスクリーニング用に 1300 のフラグメントライブラリーをご用意しておりますが、お客様ご提供のフラグメントライブラリーでもご利用いただけます。ご興味のある方はお気軽にお問合せ下さい。

• Weak Affinity Chromatography (WAC™) サービス  
引用)

- 1) Science. 1996; 274(5292):1531-4. Fesik SW.
- 2) Yakugaku Zasshi, 2010; 130(3) 315-323. Tanaka D.
- 3) J Chem Inf Comput Sci. 2001; 41(3):856-64. Hann MM.
- 4) Essays Biochem. 2017; 61(5):475-484. Price AJ.
- 5) Anal Chem. 2013; 85(14):6756-66. Meiby E.

このニュースレターの中で論文から引用した情報の日本語翻訳文はカルナバイオサイエンス社が作成しました。

