



비임상 효능 자료의 생성

이상환

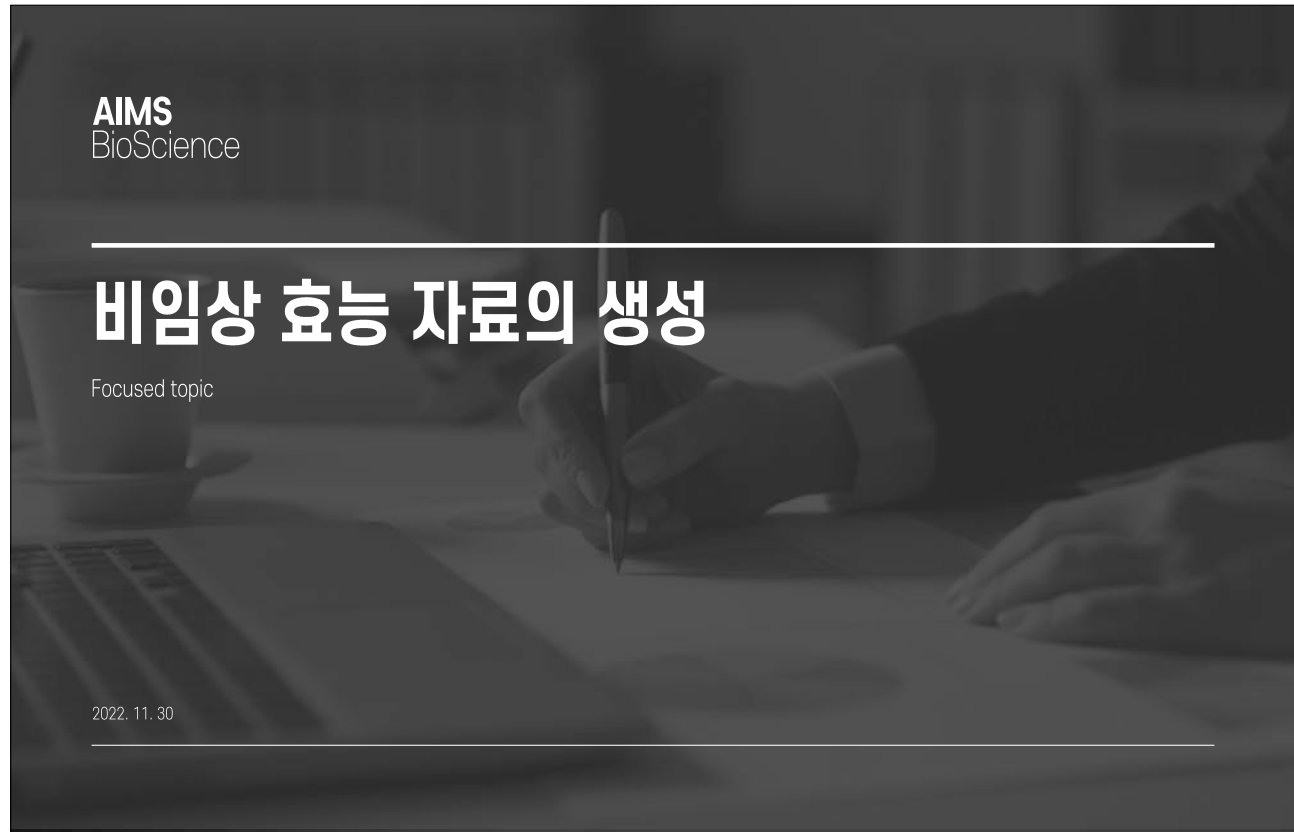
AIMS
BioScience

비임상 효능 자료의 생성

이상환 (Edgar) PM

2022. 11. 30





AIMS BioScience

CONTENTS

목차

01 후보물질 발굴 단계 효능 자료 생성	02 비임상 개발 단계 효능 자료 생성
01 Introduction	01 Introduction
02 Target Affinity	02 In vivo Efficacy
03 Cell-based Efficacy	03 Mechanism
04 In vivo PD marker	04 Indication Extension
05 In vivo Efficacy (PoC)	05 효능 자료의 종합

AIMS BioScience

AIMS
BioScience

01

후보물질 발굴 단계
효능 자료 생성



01 Introduction



04 In vivo PD marker



02 Target Affinity



05 In vivo Efficacy (PoC)



03 Cell-based Efficacy

AIMS BioScience

5

Introduction

비임상 효능 평가의 목표

- ✓ 사람에서의 약물의 효능을 설명하고 예측하기 위해 생화학, 세포 및 실험동물 수준에서 약리학적(생리학적) 유효성을 평가

어떤 자료로 효능을 입증할 것인가?

- ✓ 목표하는 타겟에 선택적으로 작용하는가?
- ✓ 타겟에 작용하여 질환과 관련된 생화학적 신호계를 조절하는가?
- ✓ 어떠한 생리학적 분자를 변화시키는가? (Biomarker)
- ✓ 목표하는 세포, 조직, 장기, 시스템에서 질환 상태를 치료 또는 예방할 수 있는가?

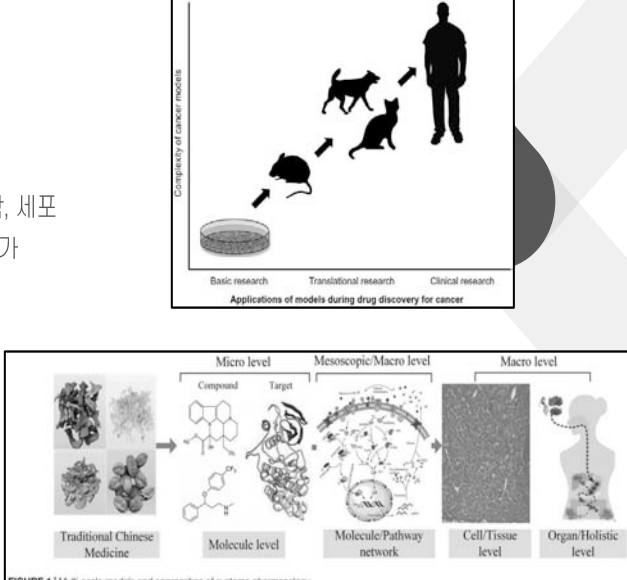


FIGURE 1 | Multi-scale models and approaches of systems pharmacology.

AIMS BioScience

1. Cekanova, M., & Rathore, K. (2014). Animal models and therapeutic molecular targets of cancer: utility and limitations. *Drug design, development and therapy*, 8, 1911.
2. Zhang, W., Huai, Y., Miao, Z., Qian, A., & Wang, Y. (2019). Systems pharmacology for investigation of the mechanisms of action of traditional Chinese medicine in drug discovery. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 743.

AIMS BioScience

Introduction

어떻게 효율적으로 입증할 것인가?

- ✓ 해당 개발 단계의 목표 일정과 평가할 화합물 수 설정
- ✓ 입증하기 위한 데이터 (시험 종류)의 우선순위 설정
- ✓ 각 필요한 시험의 Throughput과 Complexity 비교
- ✓ 위 사항들을 고려하여 최적의 효능 평가 프로세스 전략 수립

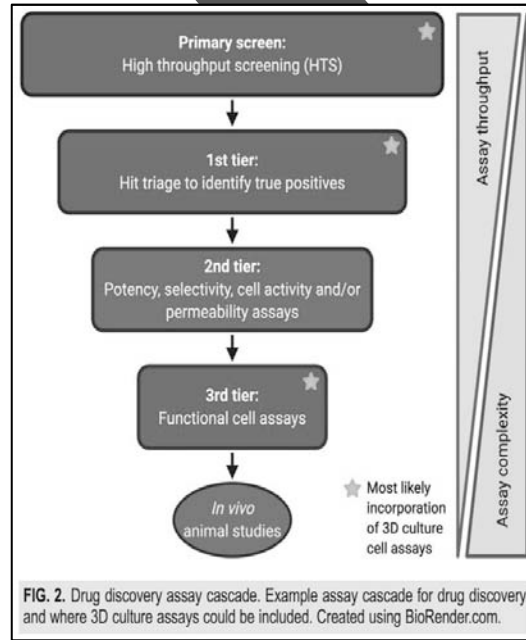


FIG. 2. Drug discovery assay cascade. Example assay cascade for drug discovery and where 3D culture assays could be included. Created using BioRender.com.

AIMS BioScience

Lee, J. Y., & Chaudhuri, O. (2021). Modeling the tumor immune microenvironment for drug discovery using 3D culture. *APL bioengineering*, 5(1), 010903.

AIMS BioScience

Introduction

시간에 따른 효능을 어떻게 설명할 것인가?

- ✓ Pharmacodynamics (PD): 약물의 농도에 따른 약리학적 효과
- ✓ Pharmacokinetics (PK): 시간에 따른 약물의 체내 거동
- ✓ Pharmacokinetics/Pharmacodynamics (PK/PD): 시간에 따른 약물의 농도와 약리학적 효과
- ✓ Onset: 약물 투여 후 효과가 나타나기 위한 시간
- ✓ Duration: 약물 투여 후 효과가 지속되는 시간

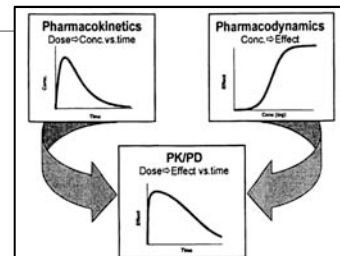
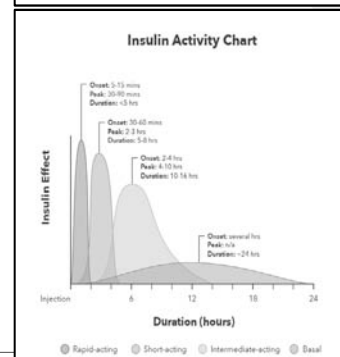


Fig. 1. Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modeling as combination of the classic pharmacological disciplines pharmacokinetics and pharmacodynamics (modified from (15), reproduced with permission).



AIMS BioScience

1. Derendorf, H., & Meibohm, B. (1999). Modeling of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships: concepts and perspectives. *Pharmaceutical research*, 16(2), 176-185.
 2. The Complete Guide to Insulin Types [w/ Downloadable Charts] (agamatrix.com)

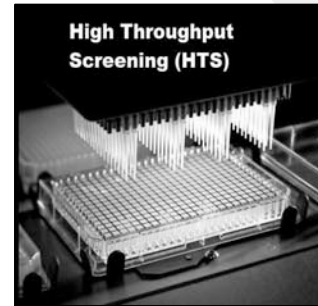
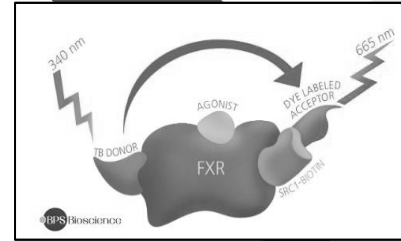
Target Affinity

단계의 특징

- ✓ 타겟에 대한 작용을 확인하는 가장 기초적이고 필수적인 약리 자료
- ✓ 효소, 수용체 등의 분자 수준 (Biochemical assay)에서 실험이 이루어짐
- ✓ 대조물질, 경쟁물질 대비 우수한 친화도를 갖는 후보물질을 선별하고 새로운 유도체를 합성하는 데 유용한 자료로 활용 (Structure activity relationship)

고려할 점

- ✓ Throughput이 높은 시험계 선정
- ✓ 반복 실험 시 항상 대조물질로 시험의 재현성 확인 필요
- ✓ 경쟁물질과의 최종 비교는 반드시 동일 시험 배치 내에서 수행
- ✓ 각 개발 단계에서 가장 우수한 후보 물질에 대해서는 Off target panel assay 를 통해 Target selectivity 검증

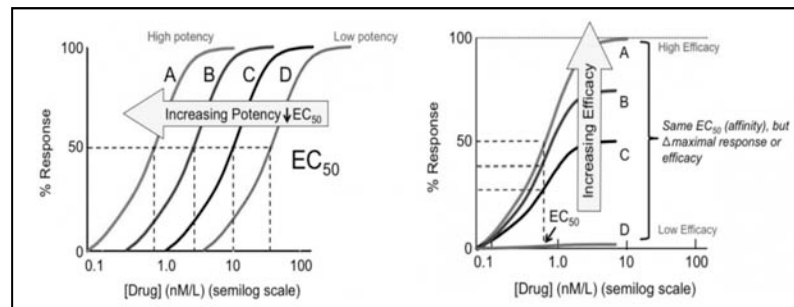
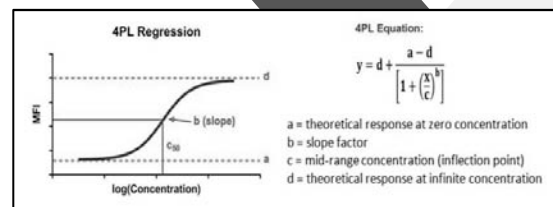


1. FXR Agonist Assay Kit (TR-FRET) [openpr.com]
 2. High Throughput Screening Market to Set Phenomenal Growth [openpr.com]

Target Affinity

Dose Response Relationship

- ✓ Potency: 얼마나 낮은 농도에서 효과를 보이는가? (EC_{50} , EC_{90})
- ✓ Efficacy: 얼마나 높은 (최대) 효과를 보이는가? (E_{max})



1. Blog - Curve Fitting for Immunoassays: ELISA and Multiplex Bead Based Assays (LEGENDplex™) [biologend.com]
 2. basic_principles_of_pharm [TUSOM | Pharmwiki] [tulane.edu]

Target Affinity

연구 사례

Table 1. Optimization of Phenyl Substituent and Linker^d

Entry	Structure	cLogD	FXR HTRF	FXR BSEP-	Solubility	Metabolic
			EC ₅₀ (nM) (% efficacy)	Luciferase EC ₅₀ (nM) (% efficacy)	pH=6.8 FASSIF (µM)	stability RLM, HUM (ER)
OCA		2.8	10 (96)	42 (63)	-	-
2		5.4	19 (100)	95 (100)	-	-
5		3.2	8.3 (96)	9.5 (118)	61	0.58, 0.81
6		2.2	31 (84)	88 (92)	169	0.52, 0.27
7		2.9	66 (97)	70 (103)	131	0.50, 0.38
8		3.1	19 (97)	19 (100)	70	<0.18, <0.21

Tully, David C., et al. "Discovery of tropifexor (LJN452), a highly potent non-bile acid FXR agonist for the treatment of cholestatic liver diseases and nonalcoholic steatohepatitis (NASH)." (2017): 9960-9973.

Cell-based Efficacy

단계의 특징

- ✓ 세포에서의 타겟/질량과 관련된 분자신호계 또는 표현형에 대한 효과를 입증하는 연구로 In vivo efficacy와의 연관성이 높음.
- ✓ 세포막 투과도, 세포내 안정성, 세포 독성, 타겟 선택성, 단백질 결합 등의 여러가지 이유로, target affinity에서의 물질의 우선 순위가 뒤바뀔 수 있음.

고려할 점

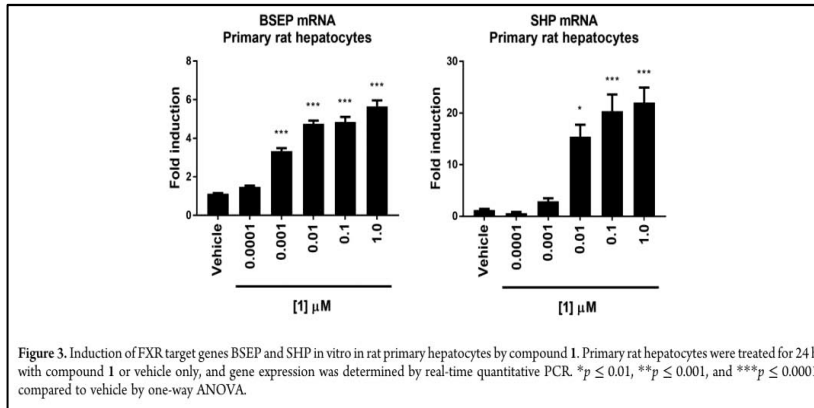
- ✓ 핵심 효능 지표 선정 (In vivo 연계 Biomarker)
- ✓ Biochemical assay보다 상대적으로 낮은 throughput, 재현성
- ✓ 세포 독성 농도 범위 고려 (MTT, LDH assay 등 사전 수행)

BIOCHEMICAL ASSAYS VERSUS CELL BASED ASSAYS	
BIOCHEMICAL ASSAYS	CELL BASED ASSAYS
Analytical in vitro procedures used to detect, quantify and/or study the binding or activity of a biological molecule, such as an enzyme	Assays used to measure proliferation, viability, and cytotoxicity cells in culture after treatment with various stimuli
Target-based	Physiology-based
Done inside test tubes	Done in cell cultures
Allow the detection, quantification, and the activity of biochemical molecules or drugs	Allow the determination of the health of cells in response to biological molecules or drugs
	Visit www.PEDIAA.com

What is the Difference Between Biochemical and Cell Based Assays - Pediaa.Com

Cell-based Efficacy

연구 사례



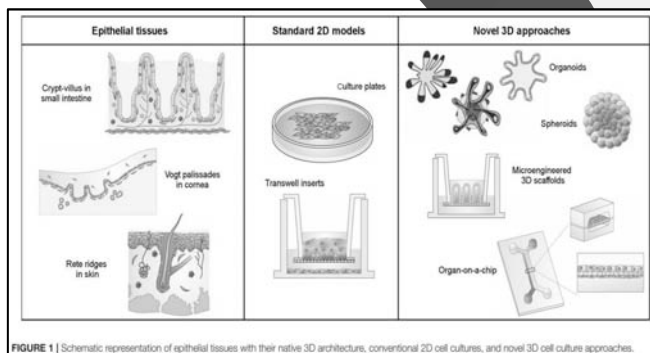
Cell-based Efficacy

In vivo mimic system 활용

- ✓ 2D cell 시험계의 한계로, In vivo 환경을 보다 잘 모사하는 시험계의 개발과 활용이 활발히 이루어짐.
- ✓ 3D cell culture, Organoid, Tissue on a chip

고려할 점

- ✓ Throughput이 낮으므로 개발 우선 순위 물질의 확장적 효능 연구에 주로 고려



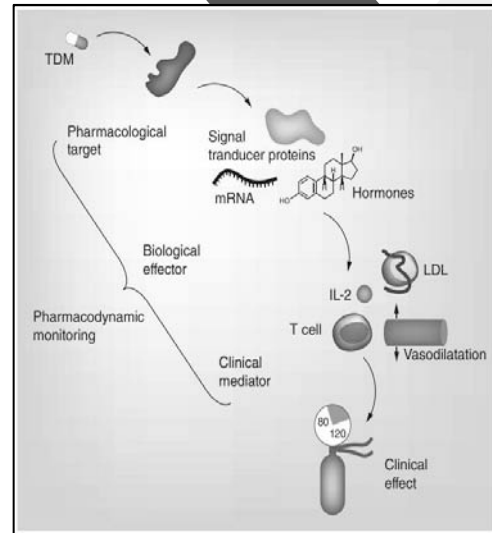
In vivo PD marker

단계의 특징

- ✓ 실험동물에 투여 후, Disease PD marker 또는 Target Engagement marker 평가
- ✓ In vivo Efficacy 예측 및 시험 용량 선정을 위한 근거 자료로 활용
- ✓ 임상 단계에서의 PD 평가 지표 또는 Surrogate endpoint 근거 자료로 활용

고려할 점

- ✓ 충분한 체내 흡수/노출이 가능한 조제 및 투여가 필요하므로, Formulation (vehicle screening) 및 PK 연구 선행이 고려됨.
- ✓ PD marker 분석을 위한 적합한 분석법 개발이 선행되어야 함.



Theille, D., & Cho, W. C. (2019). Pharmacodynamic monitoring using biomarkers to individualize pharmacotherapy. *Biomarkers in Medicine*, 13(05), 393-408.

In vivo PD marker

연구 사례

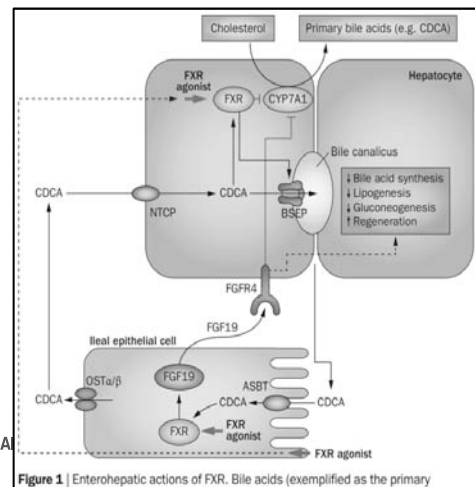


Figure 1 | Enterohepatic actions of FXR. Bile acids (exemplified as the primary

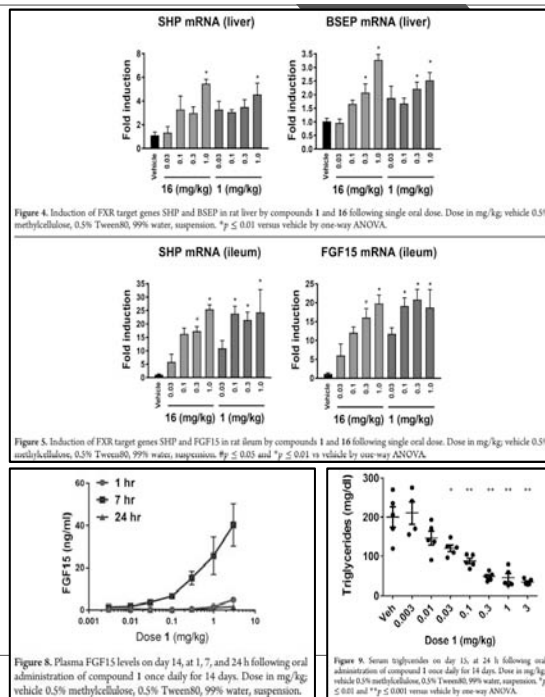


Figure 4. Induction of FXR target genes SHP and BSEP in rat liver by compounds 1 and 16 following single oral dose. Dose in mg/kg; vehicle 0.5% methylcellulose, 0.5% Tween80, 99% water, suspension. * $p \leq 0.01$ versus vehicle by one-way ANOVA.

Figure 5. Induction of FXR target genes SHP and FGF15 in rat ileum by compounds 1 and 16 following single oral dose. Dose in mg/kg; vehicle 0.5% methylcellulose, 0.5% Tween80, 99% water, suspension. # $p \leq 0.05$ and * $p \leq 0.01$ vs vehicle by one-way ANOVA.

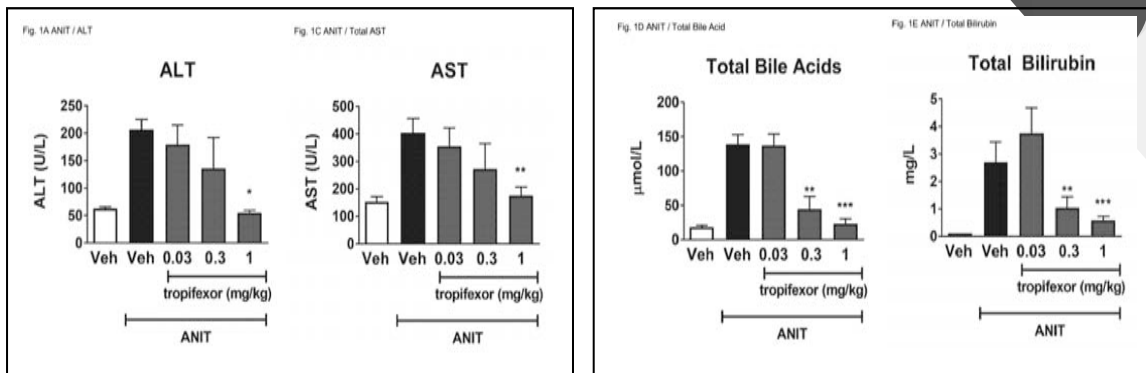
Figure 8. Plasma FGF15 levels on day 14, at 1, 7, and 24 h following oral administration of compound 1 once daily for 14 days. Dose in mg/kg; vehicle 0.5% methylcellulose, 0.5% Tween80, 99% water, suspension.

Figure 9. Serum triglycerides on day 15, at 24 h following oral administration of compound 1 once daily for 14 days. Dose in mg/kg; vehicle 0.5% methylcellulose, 0.5% Tween80, 99% water, suspension. * $p \leq 0.01$ and ** $p \leq 0.001$ versus vehicle by one-way ANOVA.

1. Schaap, F. G., Trauner, M., & Jansen, P. L. (2014). Bile acid receptors as targets for drug development. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 11(1), 55-67.
 2. Tully, David C., et al. "Discovery of tropifexor (LJN452), a highly potent non-bile acid FXR agonist for the treatment of cholestatic liver diseases and nonalcoholic steatohepatitis (NASH)." (2017): 9960-9973.

In vivo PD marker

연구 사례



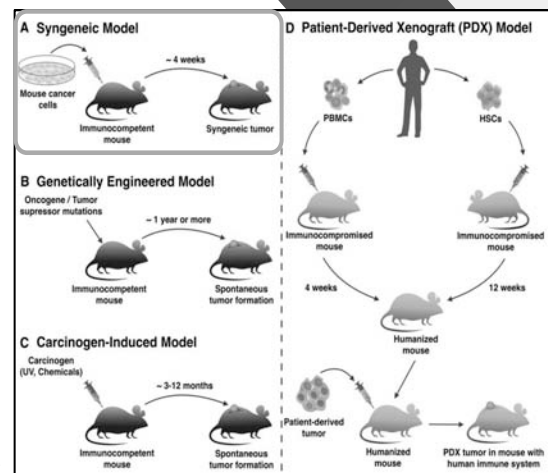
In vivo Efficacy (PoC)

단계의 특징

- ✓ 수 개의 Lead 화합물 또는 최종 비임상 후보물질을 동물 질환 모델에서 평가하여, 효능에 대한 개념을 증명하는 단계 (Proof of concept)
- ✓ PoC 단계에서는 비용/시간적인 효율성을 위해 비교적 간단한 실험적 방법으로 유발되는 모델이 선호될 수 있음.

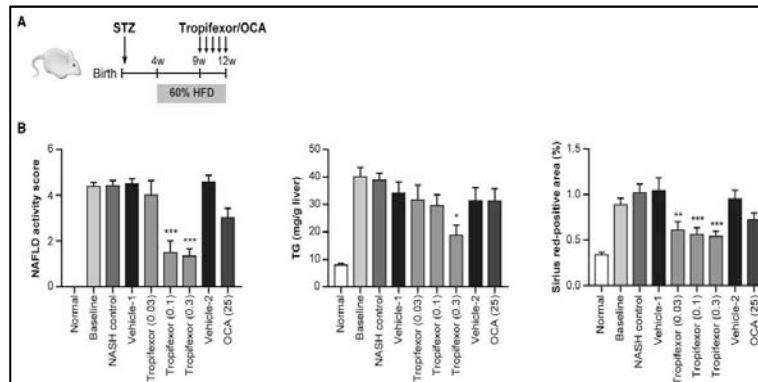
고려할 점

- ✓ 약물 타겟의 약리적 기능 (Gain of function/Loss of function)이 규명된 모델 (Target-engaged model) 선정 필요
- ✓ 선행 PK/PD 결과를 고려하여 적절한 투여 용량 및 주기 설정 필요



In vivo Efficacy (PoC)

연구 사례



In vivo Efficacy (PoC)

연구 사례

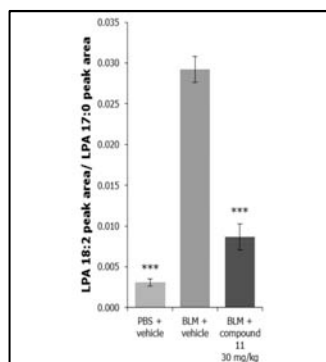


Figure 7. Analysis of LPA 18:2 in BALF of PBS-challenged mice (n = 9) or BLM-challenged mice treated either with vehicle (n = 6) or compound 11 (30 mg/kg twice daily, n = 7) for 21 days. BALF was

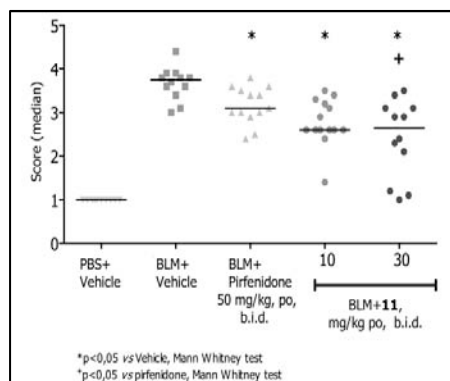


Figure 6. Activity of compounds in mouse BLM model: Ashcroft score

AIMS BioScience

02
비임상 개발 단계
효능 자료 생성

01 Introduction

02 In vivo Efficacy

03 Mechanism

04 Indication Extension

05 자료의 종합

20

AIMS BioScience

21

—
Introduction

Preclinical candidate 선정 후 효능 연구

- ✓ 다양한 동물 모델 평가로 In vivo 효능 자료의 다각화
- ✓ 효능을 설명할 수 있는 충분한 Mechanism 근거 자료 축적
- ✓ In vitro/In vivo 효능 자료, PK/PD 자료, Mechanism 연구 자료를 종합적으로 해석하여, 체내에서의 효능 원리를 연계적으로 설명할 수 있고 나아가서 사람에서의 효능을 예측할 수 있음.
- ✓ 최적의 효능 용량 평가 (Therapeutic window) 및 독성 용량과의 비교 (Therapeutic index)
- ✓ 적응증 확장 고려

AIMS BioScience

In vivo Efficacy

단계의 특징

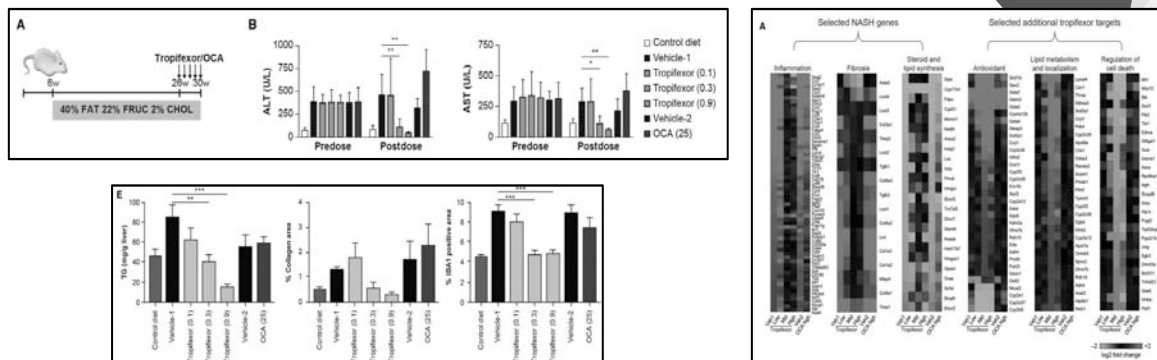
- ✓ 최종 후보물질의 In vivo 효능을 입증하는 가장 중요한 효능 자료 생성 단계
- ✓ 여러 동물 모델에서의 평가
- ✓ 핵심 효능 자료 및 뒷받침 자료 구성 (임상 단계에서 평가할 임상 지표의 근거 자료로 활용)

고려할 점

- ✓ 목표 환자군의 임상적 지표 또는 발병 원인을 잘 나타내는 동물 모델의 선정이 매우 중요
- ✓ 선행 PK/PD 및 In vivo PoC 자료를 고려하여 투여 용량 및 주기를 정밀하게 설정 필요
- ✓ 시험 물질이 충분히 노출되면서도 조제물의 구성이 Tolerable한 Formulation 선정 필요
- ✓ Rodent에서의 효능이 충분히 입증되면 중·대 동물 연구 고려 가능
- ✓ 난이도 또는 비용이 높은 실험이 요구되는 경우가 많으므로, 모델 수행 경험이 풍부한 CRO 협업 권장

In vivo Efficacy

연구 사례



In vivo Efficacy

연구 사례

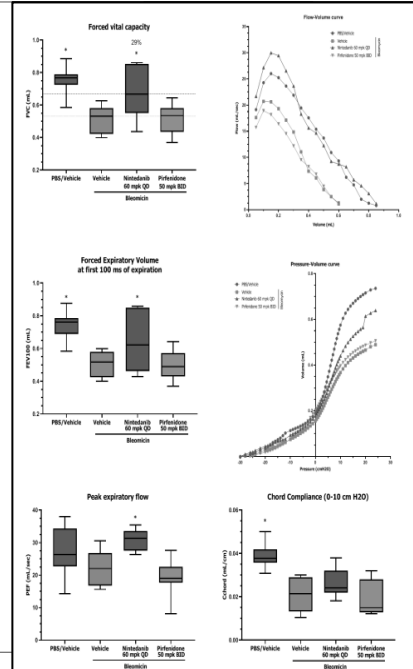
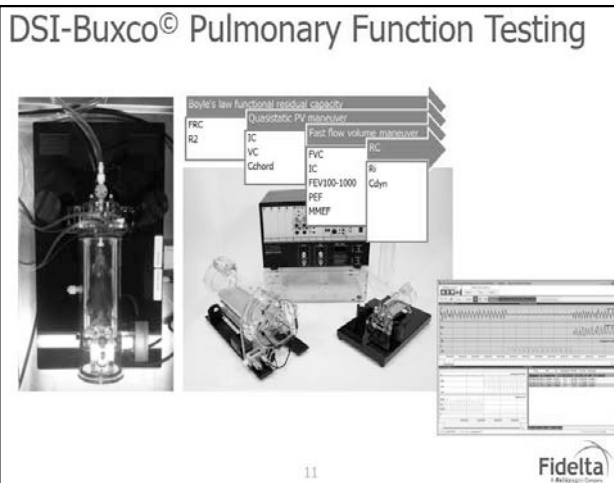


Figure 1. FE test curve with relevant parameters and P-V curve measured at D14 post BLM challenge. Significant improvement in group treated with Nintedanib in therapeutic

Mechanism

목표

- ✓ 약물이 target site에 작동하는가?
- ✓ Target에 작동하면 세포에서 의도된 biological response 유도하는가? → Target identification/validation 연구 자료 참고
- ✓ Biological response가 효능에 기여하는가? → Target identification/validation 연구 자료 참고

자료 생성

- ✓ Target affinity, Crystal structure... → 1) 선행 단계에서 이미 확보한 효능 자료 활용
- ✓ Molecular signaling, Gene expression, Life cycle, Cell interaction... → 2) 추가적인 시험을 통해서 다수의 효능 근거 자료 확보
- ✓ In vivo Efficacy, Biological analysis on In vivo sample... → 2) 추가적인 시험을 통해서 다수의 효능 근거 자료 확보

1. Cekanova, M., & Rathore, K. (2014). Animal models and therapeutic molecular targets of cancer: utility and limitations. *Drug design, development and therapy*, 8, 1911.
 2. Derendorf, H., & Meibohm, B. (1999). Modeling of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships: concepts and perspectives. *Pharmaceutical research*, 16(2), 176-185.

Indication Extension

적응증 확장

- ✓ 타겟 질환과 유사한 병리적 메커니즘으로 유발되거나, 약물 타겟의 치료적 잠재성이 있는 추가 적응증 탐색
- ✓ 해당 질환에서 약물 타겟의 역할이 이미 충분히 규명되어 있다면, 질환 동물 모델에서 빠르게 Feasibility 평가 고려

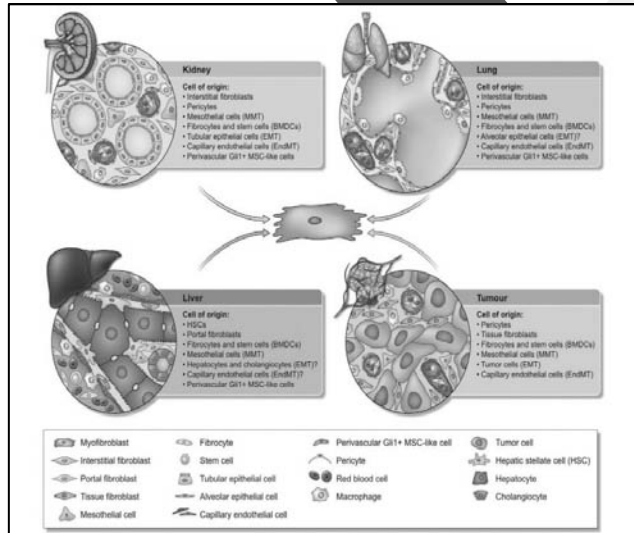


Fig. 2. Localization and cell-of-origin of myofibroblasts. The schematic figure shows the origin of myofibroblasts and their localization in lung, kidney, liver and tumor microenvironment. Upon injury, and based on disease etiology, any of these cells can give rise to myofibroblasts, and therefore are attractive and potent targets for therapy in both fibrosis and cancer. However, for some of them (with question mark), there is both in favor and against evidence, which suggest their importance and contribution as a myofibroblast pool is very much depended on the disease etiology.

Yazdani, Saleh, Ruchi Bansal, and Jai Prakash. "Drug targeting to myofibroblasts: Implications for fibrosis and cancer." *Advanced drug delivery reviews* 121 (2017): 101-116.

효능 자료의 종합

비임상 효능 자료의 종합적 해석

