

[신약개발 전문 교육 자료] 단백질 표적 기반 Hits-to-Lead 구조-활성 관계(SAR) 및 스캐폴드 설계 전략

신약개발 연구팀 교육 파트

2026년 7월 13일

요약

본 교육 자료는 표적 단백질인 **EGFR Kinase Domain (상피세포 성장인자 수용체 인산화효소 도메인)**을 중심으로, Hits-to-Lead(H2L) 단계에서 분자생물학적 구조 정보를 유기화학적 스캐폴드(Scaffold) 설계로 어떻게 전환하는지 구체적인 메커니즘과 함께 다룹니다. 특히 단백질-리간드 간의 3차원 상호작용(수소결합, $\pi-\pi$ Stacking, 공유결합 등)을 유기화학적 관점에서 정밀하게 분석하여 실무 및 교육 현장에서 즉각 활용할 수 있도록 구성했습니다.

1 Hits-to-Lead (H2L) 단계의 개념과 목표

Hits-to-Lead(H2L) 단계는 스크리닝(HTS, VS 등)을 통해 발굴된 초기 활성 물질(Hit, 보통 $IC_{50} = 1 \sim 10 \mu M$)의 화학적 구조를 체계적으로 수정하여, 우수한 결합력과 선택성, 향상된 약동학적(PK) 특성을 갖는 선도물질(Lead, 보통 $IC_{50} < 100 nM$)로 진화시키는 과정입니다.

[Hit Finder] ---> [Scaffold Analysis] ---> [Interactions Mapping] ---> [Lead Candidate]
(Low Affinity) (Core Fix/Hop) (H-bond, Pi-stacking) (nM Potency, ADME)

1.1 H2L 단계의 핵심 평가 지표 (Multi-Parameter Optimization, MPO)

1. **결합 효율성 (Ligand Efficiency, LE):** 비수소 원자당 결합 자유에너지의 효율성입니다.

$$LE = \frac{1.37}{HA} \times pIC_{50}$$

(여기서 HA는 Heavy Atom Count, 즉 비수소 원자 수입니다.)

2. **친유성 효율성 (Lipophilic Efficiency, LipE / LLE):** 지질 친화도 대비 효능의 균형을 나타냅니다.

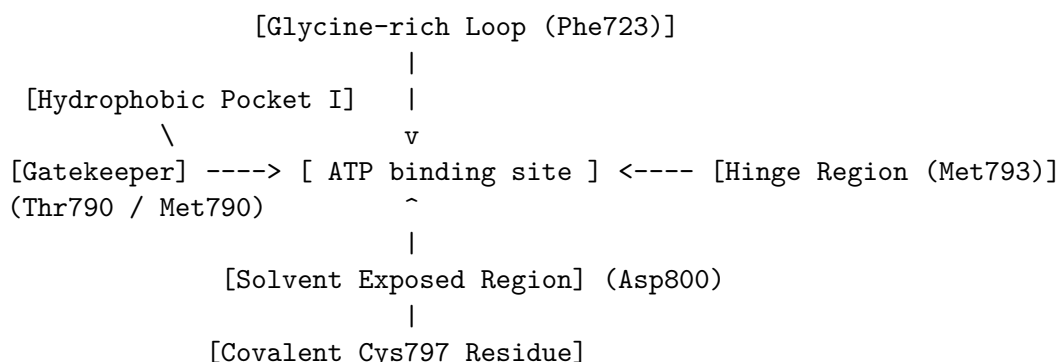
$$LipE = pIC_{50} - \log P$$

3. **선택성 (Selectivity):** 오프-타겟(Off-target) 작용을 최소화하고, 야생형(WT)과 돌연변이종(Mutant) 간의 선택성을 확보하는 지표입니다.

—

2 EGFR Kinase Domain 활성 부위(Pocket)의 분자생물학적 특성

EGFR Kinase의 ATP 결합 부위는 의약화학 설계의 표준적인 공간입니다. 이 포켓은 구조 및 화학적 성질에 따라 5개의 핵심 하위 도메인(Sub-pocket)으로 나뉩니다.



2.1 1) 힌지 영역 (Hinge Region)

- **주요 잔기:** Met793
- **특성:** ATP의 아데닌(Adenine) 고리가 단백질 주쇄(Backbone)의 아미노기($-NH-$) 및 카르보닐기($-C=O$)와 정교하게 2중 수소결합을 형성하는 자리입니다. H2L 설계 시 반드시 이 힌지 영역과 상보적인 수소결합 도너(Donor)/어셉터(Acceptor) 패턴을 가진 헤테로고리(Heterocycle) 스캐폴드를 설계해야 합니다.

2.2 2) 게이트키퍼 잔기 (Gatekeeper Residue)

- **주요 잔기:** Thr790 (돌연변이 발생 시 Met790으로 치환)
- **특성:** 안쪽의 소수성 포켓(Hydrophobic Pocket II)으로 들어가는 입구를 제어하는 관문입니다. 야생형의 Thr790은 부피가 작아 내부에 여유가 있으나, 내성 돌연변이인 T790M의 경우 부피가 큰 메티오닌(Met)의 황(S) 원자 및 메틸기가 입구를 막아 입체 장애(Steric Hindrance)를 유발합니다.

2.3 3) 소수성 포켓 (Hydrophobic Pockets)

- **Pocket I (주변 공간):** Phe723을 포함하는 Glycine-rich loop 아래 공간으로, 평면형 방향족 고리가 위치하기 좋습니다.
- **Pocket II (심부 공간):** 게이트키퍼 안쪽에 위치하며, Lys745, Glu762가 형성하는 Salt bridge 인근의 소수성 공간입니다.

2.4 4) 용매 노출 영역 (Solvent Exposed Region)

- **주요 잔기:** Asp800, Arg841
- **특성:** 포켓의 외부 바깥쪽으로 물 분자와 직접 맞닿는 영역입니다. 이 방향으로 뺏어 나가는 작용기(R-group)는 친수성(Hydrophilic)이 높아야 하며, 가용화기(Solubilizing group)를 도입하여 약물의 용해도와 PK 프로파일을 개선하기에 최적의 위치입니다.

2.5 5) 공유결합 대상 잔기 (Covalent Target Residue)

- **주요 잔기:** Cys797
- **특성:** 포켓 입구 하단에 위치한 시스테인 잔기로, 친핵성 티올기(-SH)를 가집니다. 3세대 및 4세대 치료제 설계 시 Michael Acceptor 역할을 하는 친전자성 'Warhead'(예: 아크릴아마이드)를 화합물 끝에 달아 공유결합을 형성하도록 유도합니다.

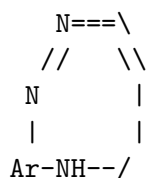
—

3 유기화학적 스캐폴드(Scaffold) 설계 및 진화 전략

초기 스크리닝에서 발굴된 퀴나졸린(Quinazoline) 계열의 Hit 화합물을 기반으로, 돌연변이(T790M) 극복 및 비가역적 저해능을 부여하기 위해 스캐폴드를 설계하고 변형해 나가는 화학적 논리를 제시합니다.

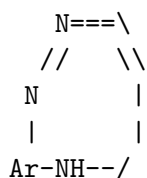
[1 Scaffold]

Quinazoline



[3 Scaffold]

Anilino-Pyrimidine



[4 Target (C797S)]

Macrocycle or Allosteric

(Gatekeeper
)

3.1 1) 퀴나졸린(Quinazoline) Core 분석 (1/2세대 모핵)

- **화학적 특성:** 방향족 질소 헤테로고리로, 질소 원자가 Hinge Met793의 아미노기 주쇄와 수소결합을 형성합니다.
- **한계점:** 게이트키퍼가 메티오닌으로 바뀐 T790M 돌연변이종에서는 메티오닌의 소수성 메틸 사슬과 퀴나졸린 자체의 고정된 구조가 충돌하여 결합력이 급격히 떨어집니다.

3.2 2) 아닐리노-피리미딘(Anilino-Pyrimidine) Core 디자인 (3세대 모핵, 예: Osimertinib 기반)

- **유기화학적 솔루션:** 중심 코어를 퀴나졸린(이중 고리)에서 피리미딘(단일 고리)으로 'Scaffold Hopping'을 단행합니다. 단일 고리로 전환함으로써 고리의 유연성(Flexibility)이 증가하여 Met790 측쇄와의 입체 장애를 화학적으로 회피할 수 있습니다.
- **추가 치환기 유도:** 피리미딘 고리의 다른 위치에 부피가 크지 않은 알콕시거나 메틸아미노기를 도입하여 미세한 회전을 유도하고 포켓 내부 형태에 맞게 맞춤형 조정을 수행합니다.

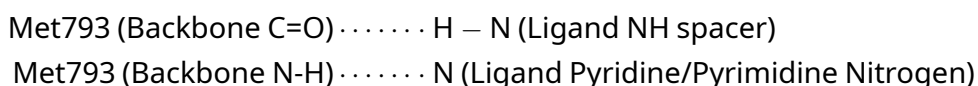
—

4 단백질-리간드 화학적 상호작용의 미시적 묘사

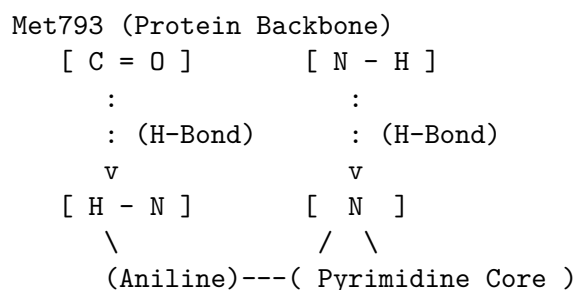
4.1 1) Hinge Region (Met793)과의 Hydrogen Bonding 설계

수소결합은 방향성과 거리 의존성이 매우 강하므로, 이상적인 기하학적 매칭(거리 2.7 ~ 3.2 Å, 결합각 150° ~ 180°)을 만족하도록 극성 헤테로 원자를 배치합니다.

- **화학적 상호작용 메커니즘:**



- **유기화학적 제어 기법:** 헤테로고리의 질소 원자(Lewis Base 역할, sp^2 혼편어 전자쌍 보유)가 수소 결합 어셉터로 작동하고, 이웃한 위치의 N-H 또는 아닐린 연결고리(-NH-)의 수소 원자가 수소 결합 도너로 작동하는 'Donor-Acceptor Dyad'를 구축합니다.



4.2 2) Phe723 (Glycine-rich loop)과의 $\pi - \pi$ Stacking 설계

아미노산의 방향족 고리 측쇄와 화합물의 아릴 고리 간의 비공유 인력 상호작용을 극대화합니다.

- **화학적 상호작용 메커니즘:** $\pi - \pi$ 상호작용은 'Face-to-Face' 형태나 'Edge-to-Face' 형태로 일어납니다. EGFR의 Phe723 벤젠 고리와 화합물의 인돌(Indole) 또는 아닐린(Aniline) 링 사이에 전자 밀도 차이를 유도하여 인력을 강화합니다.
- **유기화학적 제어 기법:** Phe723의 벤젠 고리는 비교적 전자 밀도가 높은 상태입니다. 따라서 리간드 측의 방향족 고리에 전자끌기그룹(Electron-Withdrawing Group, 예: -F, -CF₃)을 치환하여 π -system의 전자를 부족하게 만듦으로써, 전자 과잉 방향족 고리와 전자 결핍 방향족 고리 간의 극성 매칭을 통한 $\pi - \pi$ interaction을 강화합니다.



4.3 3) Sub-pocket II 진입을 위한 Hydrophobic Interaction 설계

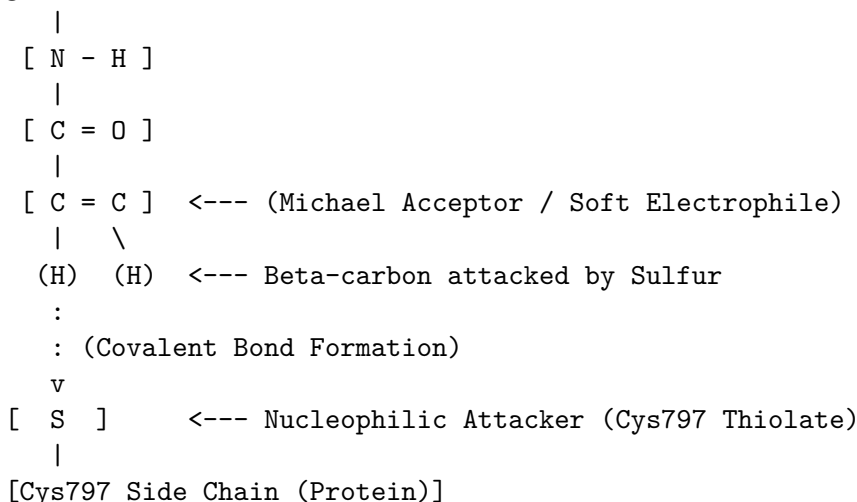
게이트키퍼 깊숙이 존재하는 소수성 공동에 친유성 그룹을 정확히 조준해 넣는 전략입니다.

- **화학적 상호작용 메커니즘:** 물속에 배치되어 있던 소수성 유기 잔기들이 단백질의 소수성 포켓 안으로 안착하면서 주위 물 분자들의 엔트로피가 증가하여 전체 자유 에너지(ΔG)가 낮아지는 소수성 효과(Hydrophobic Effect)를 활용합니다.
- **유기화학적 제어 기법:** T790M 변형된 메티오닌 잔기 옆에 있는 빈 소수성 공간을 채우기 위해, 중심 아닐린 링의 4번 위치 등에 이소프로필(Isopropyl), 사이클로프로필(Cyclopropyl), 혹은 염소(-Cl), 불소(-F) 원자를 배치합니다. 이 작용기들은 결합 시 회전 엔트로피 손실을 최소화하면서 소수성 포켓을 빈틈없이 채웁니다.

4.4 4) Cys797과의 비가역적 Covalent Transition State 설계

- **화학적 상호작용 메커니즘 (Michael Addition):** 시스테인의 티올기(-SH)가 탈양성자화되어 강력한 친핵체인 티올레이트($-S^-$) 음이온으로 전환되고, 이것이 화합물의 전자가 부족한 이중 결합(Michael Acceptor)을 공격하여 탄소-황 공유결합을 형성합니다.
- **유기화학적 제어 기법:** 리간드 말단에 아크릴아마이드($-NH-CO-CH=CH_2$) 작용기를 적절한 링커 구조를 거쳐 매달아 줍니다.
 - **접근각 및 거리 제어:** 아크릴아마이드의 말단 탄소(β -carbon)와 Cys797의 황 원자 간 거리가 3.5 ~ 4.5 Å 이내로 가까워지도록 배향(Orientation)을 정밀 설계해야 합니다.
 - **친전자성(Electrophilicity) 제어:** 반응 속도가 적절히 통제된 'Soft Electrophile' 형태인 아크릴아마이드를 표준으로 사용합니다.

[Ligand Backbone]



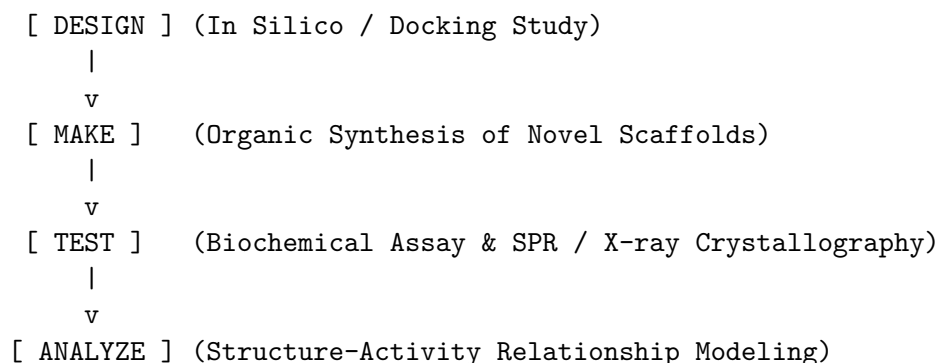
—

5 H2L 최적화 프로세스 및 다중 매개변수 최적화 (MPO)

5.1 1) 약물성(Drug-likeness) 개선 전략

- **용해도 향상 (Solubility):** 용매 노출 영역 방향으로 친수성 양이온 헤테로고리(예: N-메틸피페라진, 모폴린 등)를 매달아 줍니다. 이들은 체액 환경(약 pH 7.4)에서 일부 양성자화(Protonation)되어 극성을 띠므로써 물리화학적 용해도를 비약적으로 상승시킵니다.
- **대사 안정성 확보 (Metabolic Stability):** 간의 CYP 450 효소들에 의해 분해되기 쉬운 산화 반응 지점에 불소(-F) 원자를 도입하여 C-H 결합을 강한 C-F 결합으로 치환함으로써 반감기(Half-life)를 증대시킵니다.

5.2 2) H2L 디자인-합성-평가 순환 루프 (DMTA Cycle)



6 EGFR 돌연변이 대응 정밀 설계 매뉴얼 (Target Design Manual)

6.1 [체크리스트 1] Wild-Type(야생형) & L858R 타겟팅

- ☐ **Hinge Interaction:** Met793 주쇄와 최소 2개 이상의 안정한 수소결합을 이루는 sp^2 헤테로고리 질소를 코어에 장착했는가?
- ☐ **Gatekeeper Accommodation:** Thr790 주위 공간은 비교적 좁지 않으므로, 스캐폴드에 벌키한 치환기가 없는 평면형 방향족 링을 배치했는가?
- ☐ **Conformation:** 활성화 상태인 DFG-in 형태를 안정화하기 위해, DFG motif(Asp855-Phe856-Gly857) 영역에 추가적인 소수성 상호작용을 배치했는가?

6.2 [체크리스트 2] T790M 타겟팅 (3세대 설계 가이드라인)

- ☐ **Steric Relief:** Thr790이 Met790으로 바뀔에 따라 발생하는 황(S) 원자와의 충돌을 예방하기 위해 Rigid한 고리 구조(예: Quinazoline)를 유연한 단일 고리(예: Monocyclic Pyrimidine)로 Hop 하였는가?
- ☐ **Hydrophobic Pocket Filling:** 부피가 커진 Met790과 메틸기가 만들어낸 소수성 공동에 상보적으로 밀착 가능한 소수성 고리(예: 인돌, 페닐 고리)를 유기화학적으로 융합했는가?
- ☐ **Electrophile Assembly:** 포켓 하부의 Cys797과의 결합 거리를 확보하기 위해 적합한 유연성 링크(3 ~ 4개 결합 길이)를 거쳐 아크릴아마이드 반응기(Warhead)를 연결하였는가?

6.3 [체크리스트 3] C797S 타겟팅 (4세대 가비가역적 설계 가이드라인)

- ☐ **Transition to Non-Covalent Mechanism:** 시스테인이 세린으로 돌연변이되어 강한 친핵성 반응기($-S^-$)가 상실되었으므로 가역적/비공유결합 상호작용 만으로 결합 자유 에너지를 확보했는가?
- ☐ **Solvent-Exposed Water Network Exploitation:** 세린 측쇄($-OH$)가 물 분자와 형성하는 고차원 수소결합 네트워크를 대체할 수 있는 고도로 극성화된 헤테로 고리(예: 피리돈 고리, 치환된 트리아졸)를 배치하였는가?
- ☐ **Entropy-optimized Macrocyclization:** 타겟과의 결합 시 화합물 고유의 회전 자유도에 따른 엔트로피 손실($T\Delta S$)을 최소화하기 위해, 두 치환기단을 연결하는 12 ~ 18원 환의 **거대고리(Macrocycle)** 구조 설계를 적용했는가?

7 부록: 의약화학 화학결합 화학종 및 특성 요약

표 1: 의약화학 핵심 화학결합 요약

결합 유형	관여하는 화학종/아미노산	결합 거리 (Å)	특징 및 기하학적 요구도
수소 결합	Met793 N-H/C=O, 리간드 헤테로고리	2.7 ~ 3.2	강한 방향성 필요 (180°에 가까울수록 강함)
$\pi - \pi$ Stacking	Phe723/Phe856, 리간드 아릴고리	3.5 ~ 4.0	평행 또는 T자 형태 배향 조건 필요
소수성 상호작용	Ala743, Leu844, 소수성 치환기	변동적	엔트로피 구동 반응, 공간 밀착도가 중요
공유 결합	Cys797 Thiol, 아크릴아마이드 워헤드	1.5 ~ 1.8	가역 반응을 거친 후 근거리에서 Michael Addition 발생