



Safety-related drug target functional screen

ICE Bioscience INC.

 A GUIDE TO DRUG DISCOVERY — OPINION

Reducing safety-related drug attrition: the use of *in vitro* pharmacological profiling

Joanne Bowes, Andrew J. Brown, Jacques Hamon, Wolfgang Jarolimek, Arun Sridhar, Gareth Waldron and Steven Whitebread

Nat Rev Drug Discov. 2012;11(12):909-22

AstraZeneca, GlaxoSmithKline, Novartis和Pfizer共同建议了检测脱靶效应的44个早期药物安全性靶点

参考文献:

Nat Rev Drug Discov. 2012 Dec;11(12):909-22. doi: 10.1038/nrd3845.

Reducing safety-related drug attrition: the use of *in vitro* pharmacological profiling.

Bowes J, Brown AJ, Hamon J, Jarolimek W, Sridhar A, Waldron G, Whitebread S.

体外药理学分析的主要优势

- 1, 可以在早期阶段识别出脱靶作用, 并可以在结构-活性关系 (SAR) 研究中优化
- 2, 可以预测在体内安全药理学研究, 毒理学研究或临床试验中可能遗漏的临床副作用: 例如, 与5-羟色胺 (5-羟色胺) 受体2B (5-HT2B) 激动剂引起的瓣膜病
- 3, 可以对包括代谢产物在内的大量化合物进行临床药物不良反应 (ADR) 相关靶标的低成本体外测试
- 4, 可以在药物发现的早期阶段对代表性的化学系列进行测试, 以寻找最佳先导化合物和候选药物
- 5, 与体内毒理学研究相比, 可以在更短的时间内获得脱靶效应的结果和潜在解释
- 6, 以最少或没有脱靶活性进入研发阶段的化合物, 需要进行的体内安全性研究较少, 因此可减少研发延误, 减少使用的动物模型并降低成本

功能测定的优势：与功能相关，数据准确性高

- 不论化合物与靶标的任何位置结合，都能够确定**最终效应**
- 能够区分不同的**作用方式 (MOA, 激动效应, 拮抗效应)**
- 更适合对具有多个结合位点的复杂靶标 (例如离子通道)
- 能够直接测量激动剂EC50

结合测定：无法区分功能，阳性结果需要功能验证

- 仅测定在靶标上结合的单个确定的位点
- 无法区分作用方式 (即激动剂与拮抗剂或阻断剂)
- 对具有多个结合位点 (例如离子通道) 的复杂靶标需要进行多种测定
- 可能会错过高效，低亲和力的激动剂

爱思益普 mini-safety panel 安全靶点和验证 (1)

靶点 (基因)	命中机率		主要器官或系统	靶点的效应		爱思益普功能检测检测		
	Binding assay	functional assay		激动或兴奋	拮抗或抑制	检测方法	阳性化合物	阳性化合物IC50
G 蛋白偶联受体								
腺苷受体A2A (<i>ADORA2A</i>)	高	低 (兴奋)	CVS, CNS	冠状动脉舒张; 血压和反射↓ 心率↑ 血小板聚集和白细胞活化↑; 运动性活动↓; 诱导睡眠	刺激血小板聚集; 血压↑; 紧张 (震颤、激动); 觉醒; 失眠	cAMP Assay	Epinephrine	0.22nM
α1A-肾上腺素受体 (<i>ADRA1A</i>)	高	低 (激动剂) 高 (拮抗剂)	CVS, GI, CNS	平滑肌收缩; 血压↑; 心脏正性肌力作用; 可能致心律失常; 散瞳; 胰岛素释放↓	平滑肌张力下降; 直立性低血压和心率↑; 头晕; 对性功能各方面的影响	IP1 Assay	Epinephrine	2.96nM
α2A-肾上腺素受体 (<i>ADRA2A</i>)	高	低 (激动剂) 中 (拮抗剂)	CVS, CNS	去甲肾上腺素释放和交感神经递质释放↓; 血压↓; 心率↓; 散瞳; 镇静	胃肠动力↑; 胰岛素分泌↓	cAMP Assay	Epinephrine	0.22nM
β1-肾上腺素受体 (<i>ADRB1</i>)	中	NA	CVS, GI	心率↑; 心肌收缩力↑; 电解质紊乱; 肾素释放↑; 结肠和食道松弛; 脂肪降解	血压↓, 心率↓, 心输出量↓	cAMP Assay	Isoprenaline	0.035nM
β2-肾上腺素受体 (<i>ADRB2</i>)	高	中 (激动剂) 中 (拮抗剂)	Pulmonary, CVS	心率↑; 支气管扩张; 外周血管舒张与骨骼肌震颤; 糖原分解与胰高血糖素释放	血压↓	cAMP Assay	Isoprenaline	0.029nM
大麻素受体 CB1 (<i>CNR1</i>)	中/高	中 (拮抗剂)	CNS	欣快或烦躁; 焦虑; 记忆障碍和注意力不集中; 镇痛; 体温过低	体重减轻; 呕吐; 抑郁	cAMP Assay	CP55940	0.36nM
大麻素受体 CB2 (<i>CNR2</i>)	中	中 (激动剂) 中 (拮抗剂)	Immune	信息不足	炎症反应↑; 骨量↓	cAMP Assay	CP55940	0.14nM
胆囊收缩素A受体 (<i>CCKAR</i>)	低/中	NA	GI	食物摄入↓; 胆囊收缩; 胰酶分泌; 胃肠动力↑; 多巴胺介导的行为激活	胆结石发展↑	IP1 Assay	CCK-8	0.56nM
多巴胺受体 D1 (<i>DRD1</i>)	中/高	中 (拮抗剂)	CVS, CNS	血管舒张; 血压↓; 头痛; 头晕; 恶心; 尿钠排泄; 滥用可能	运动障碍; 帕金森病症状 (震颤); 止吐作用; 抑郁; 焦虑; 自杀倾向	cAMP Assay	Dopamine	0.1nM
多巴胺受体 D2 (<i>DRD2</i>)	中/高	中/高 (激动剂) 中 (拮抗剂)	CVS, CNS, endocrine	心率下降; 晕厥; 幻觉; 不安; 困倦; 钠排泄↑; 呕吐; 垂体激素分泌↓	体位性低血压; 困倦; 胃肠动力↑	cAMP Assay	Pramipexole	2.77nM
内皮素A (<i>EDNRA</i>)	低	NA	CVS, development	血压↑; 醛固酮分泌; 成骨细胞增殖	致畸性	IP1 Assay	Endothelin	100.9nM
组胺 H1受体 (<i>HRH1</i>)	高	非常高 (拮抗剂)	CVS, immune	血压↓; 潮红和风团过敏反应; 支气管收缩	镇静, 过敏反应降低, 体重↑	IP1 Assay	Histamine	11.04nM
组胺 H2受体 (<i>HRH2</i>)	高	低 (激动剂)	GI, CVS	胃酸分泌; 呕吐; 正性肌力	胃酸分泌减少	IP1 Assay	Histamine	9.89nM
δ-阿片受体 (<i>OPRD1</i>)	中/高	NA	CNS, CVS	镇痛; 烦躁不安; 精神错乱; 心血管效应; 惊厥	血压↑, 心脏收缩力↑	cAMP Assay	NC 80	1.6nM
κ-阿片受体 (<i>OPRK1</i>)	高	中 (激动剂和拮抗剂)	GI, CNS, CVS	胃肠动力↑; 尿量↓; 镇静; 烦躁; 精神错乱; 头晕; 运动↓; 心动过速	信息不足	cAMP Assay	Dynorphin A (1-10)	1.03nM
μ-阿片受体 (<i>OPRM1</i>)	高	中 (激动剂和拮抗剂)	CNS, GI, CVS	镇静; 胃肠动力↓; 瞳孔缩小; 滥用; 呼吸抑制; 体温降低	胃肠动力↑; 消化不良; 肠胃胀气	cAMP Assay	Endomorphin 1	3.2nM
毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1 (<i>CHRM1</i>)	高	低 (激动剂) 高 (拮抗剂)	CNS, GI, CVS	痉挛; 胃酸分泌↑; 高血压; 心动过速; 体温过高	认知功能减退; 胃酸分泌↓; 视力模糊	IP1 Assay	Acetylcholine	20.91nM
毒蕈碱乙酰胆碱受体 M2 (<i>CHRM2</i>)	高	低 (激动剂) 中 (拮抗剂)	CVS	心率↓; 血压↓; 负性变时变力; 心脏传导 (PR间期) ↓; 心脏动作电位时程↑	心动过速; 支气管收缩; 震颤	IP1 Assay	Acetylcholine	54.32nM
毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3 (<i>CHRM3</i>)	高	NA	GI, pulmonary	支气管收缩; 唾液↑; 胃肠道和尿道平滑肌收缩	便秘; 视力模糊; 瞳孔扩张; 口干	IP1 Assay	Acetylcholine	1.8nM
5-HT1A (<i>HTR1A</i>)	中/高	低 (激动剂) 中 (拮抗剂)	CNS, endocrine	体温↓; 快动眼睡眠减少; 促肾上腺皮质激素↑; 皮质醇和生长激素分泌	潜在致焦虑作用	cAMP Assay	Serotonin	16.51nM
5-HT1B (<i>HTR1B</i>)	高	高 (激动剂) 中 (拮抗剂)	CVS, CNS	脑和冠状动脉血管收缩; 血压↑	攻击性增强	cAMP Assay	Serotonin	3.25nM
5-HT2A (<i>HTR2A</i>)	非常高	低/中 (激动剂) 中/高 (拮抗剂)	CVS, CNS	平滑肌收缩; 血小板聚集; 潜在记忆障碍; 幻觉; 精神分裂症; 5-羟色胺综合征	信息不足	IP1 Assay	Serotonin	5.31nM
5-HT2B (<i>HTR2B</i>)	高/非常高	低 (E17激动剂) 高 (拮抗剂)	CVS, pulmonary, development	潜在心脏瓣膜病; 肺动脉高压	可能有心脏作用, 尤其在胚胎发育期间	IP1 Assay	Serotonin	15.87nM
加压素 V1A受体 (<i>AVPR1A</i>)	中	高	Renal, CVS	体内水分滞留; 血压↑; 心率↓; 心肌纤维化; 心肌肥厚; 低钠血症	信息不足	IP1 Assay	Vasopressin	0.33nM

爱思益普mini-safety panel安全靶点和验证 (2)

离子通道								
乙酰胆碱受体亚单位a1或a7 (CHRM1 or CHRNA7)	中/高	低 (开放剂) 极高 (阻滞剂)	CNS, CVS, GI, pulmonary	麻痹; 镇痛; 心率↓; 心悸; 恶心; 滥用	肌肉松弛; 便秘; 呼吸暂停; 血压↓; 心率↓	Patch Clamp	Ach	EC50: 130μM
电压门控钙通道 Cav1.2(CACNA1C)	NA	中/高 (阻滞剂)	CVS	信息不足	血管舒张; 血压↓; PR间期↓; 心电图QT间期可能缩短	Patch Clamp	Nifedipine	28.5±4.7nM
GABA receptor α1 (GABRA1)	中	NA	CNS	抗焦虑; 肌肉放松; 共济失调; 抗惊厥; 滥用; 镇静; 头晕; 抑郁; 顺行性遗忘	癫痫发作 (用作BZD解毒剂时)	Patch Clamp	Diazepam	EC50: 83.24nM
hERG钾通道 (KCNH2)	高	高	CVS	信息不足	心电图QT间期延长	Patch Clamp	Cisapride	10.5±2.9nM
KVLQT钾通道1(KCNQ1/KCNE1)	NA	低	CVS	心房颤动	长QT综合征; 潜在的听力损伤、耳聋和胃肠道症状	Patch Clamp	Chromanol 293B	2.0±0.14μM
NMDA受体亚单位NR1(GRIN1)	低/中	中 (阻滞剂)	CNS	精神病 (精神分裂症样); 幻觉; 谵妄和迷失方向的行为; 癫痫发作; 神经毒性	信息不足	Patch Clamp	NMDA	EC50: 10.6±1.6μM
5-HT3 (HTR3A)	中	非常高	GI, endocrine	呕吐; 胃排空; 高血糖; 可能心率升高	便秘; 头晕	Patch Clamp	Serotonin	EC50: 3.6±0.15μM
钠通道Nav1.5 (SCN5A)	NA	高	CVS	信息不足	心脏传导减慢; 心电图QRS间期延长	Patch Clamp	TTX	3.4±0.09μM
酶								
乙酰胆碱酯酶 (ACHE)	NA	高	CVS, GI, pulmonary	信息不足	血压↓; 心率↓; 胃肠动力↓ (高剂量↓); 支气管收缩; 呼吸分泌物↑	fluorescence	Donepezil	13.29nM
环氧合酶 COX1 (PTGS1)	NA	中	GI, pulmonary, renal	信息不足	胃和肺出血; 消化不良; 肾功能不全	fluorescence	SC-560	9nM
环氧合酶COX2 (PTGS2)	NA	中/高	Immune, CVS	信息不足	抗炎活性; 抗有丝分裂作用; 心肌梗死; 血压升高; 中风; 动脉粥样硬化血栓形成	fluorescence	Valdecoxib	5 nM
单胺氧化酶A (MAOA)	NA	中	CVS, CNS	信息不足	与胺类 (如胺) 结合时血压升高; 药物药物相互作用; 头晕; 睡眠障碍; 恶心	Absorbance	Clogyline	44.94nM
磷酸二酯酶3A (PDE3A)	NA	高	CVS	信息不足	心脏收缩力↓; 心率↓; 血压↓; 血小板减少症; 室性心律失常	HTRF	Cilostamide	27 nM
磷酸二酯酶4D (PDE4D)	NA	非常高	CNS, immune	信息不足	抗炎活性; 类抗抑郁活性; 呕吐; 血管炎和动脉炎; 可能的胸腺萎缩	HTRF	ML-030	49.2nM
淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶 (LCK)	NA	中/高	Immune	T cell activation	T细胞抑制; SCID样免疫缺陷	HTRF	TG 100572	0.09592nM
转运体								
多巴胺转运体 (SLC6A3)	高/非常高	NA	CNS	信息不足	成瘾性精神刺激; 抑郁症; 帕金森病; 癫痫发作; 肌张力障碍; 运动障碍; 痤疮	Uptake assay	Centanafadine	59.57nM
去甲肾上腺素转运体(SLC6A2)	高/非常高	NA	CNS, CVS	信息不足	心率↓; 血压↓; 运动活力↓; 便秘; 滥用	Uptake assay	Centanafadine	9.201nM
血清素转运体 (SLC6A4)	高	NA	CNS, CVS	信息不足	胃肠动力↓; 上消化道转运↓; 血浆肾素↓; 其他5-羟色胺介导作用↓; 失眠; 焦虑; 恶心; 性功能障碍	Uptake assay	Centanafadine	84.78nM
核受体								
雄激素受体 (AR)	中	中	Endocrine	前列腺癌↑; 水肿; 女性雄激素↑; 肌肉量↑; 敌意↑; 睡眠呼吸暂停; 肝脏并发症	精子发生↓; 阳痿; 女性乳房发育; 乳房痛, 乳腺癌↑	Reporter gene assay		
糖皮质激素受体(NR3C1)	中	中	Endocrine, immune	免疫抑制; 高血糖; 胰岛素抵抗; 肌肉萎缩; 体重↑; 骨质疏松; 青光眼; 血压↑; 血钾↓; 心律失常	低血糖	Reporter gene assay	DHAP	44.94nM

命中率在10μM处确定。“低”对应于<1%命中率; “中”对应于1-5%命中率; “高”对应于5-20%命中率; “非常高”对应于>20%命中率。

