

2. BIOSENSOR SYMPOSIUM

TÜBINGEN 2001

<http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/biosensor2001>

Screening mit hohem Durchsatz –wandert das Labor auf den Chip?

Andreas Brecht, LSBU, Agilent Technologies, D76337 Waldbronn

andreas_brecht@agilent.com

Tutorial

Die pharmazeutische Industrie gestaltet seit nunmehr über 10 Jahren ihre internen Forschungsabläufe um. Zu Beginn der 90iger Jahre benötigte die Entwicklung eines neuen Pharmazeutikums deutlich über 10 Jahre. Die Substanzzulassungen völlig neuer Wirkstoffe lagen selbst bei großen Pharmakonzernen bei etwa einem Wirkstoff pro Jahr. Seither versuchen viele Pharmafirmen die Entwicklungszeit drastisch zu reduzieren und gleichzeitig den Durchsatz zu erhöhen. Einzelne Firmen streben Entwicklungszeiten zwischen 6 und 8 Jahren an. Diese Entwicklung hat zunächst bei der Bereitstellung neuer Substanzen und bei der primären Identifikation neuer "Hits" eingesetzt.

Ein wesentlicher Schritt besteht in der Bereitstellung neuer Wirkstoffe aus der kombinatorischen Chemie. Schon auf diesem Gebiet sind die Fortschritte in quantitativer, vor allem aber in qualitativer Hinsicht bedeutend. Die Bibliotheken umfassen heute von etwa hunderttausend bis zu mehreren Millionen Substanzen. Je nach Bibliothek kommen 90% und mehr der Substanzen in einer Bibliothek aus kombinatorischen Ansätzen. Weiterhin findet, zumindest zum Teil, ein rascher Austausch von Komponenten statt.

Der Fokus lag in der vergangenen Dekade weiterhin im Primärscreening, also in der Identifikation möglicher neuer Wirksubstanzen für spezifische Targets. Einer der Ausgangspunkte waren radioaktive Bindungstests. Neben diesen haben sich vor allem fluoreszenzbasierte Verfahren etabliert, die von der einfachen Intensitätsmessung, über Fluoreszenzpolarisation, abstandsabhängige Energietransfermessungen, bis hin zu mikroskopischen Techniken wie der Fluoreszenzkorrelations-spektroskopie oder der FIDA (Fluorescence Intensity Distribution Analysis) gehen. Auch Lebensdauermessungen beginnen sich zu etablieren.

In den letzten Jahren geraten nun zunehmend weitere Aspekte der vorklinischen Pharmaentwicklung in den Fokus. Historisch wurden Aspekte aus den ADME/Tox (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicology) sequentiell bearbeitet. Häufig fandern Untersuchungen zu einem oder mehreren dieser Bereiche auch kaum im vorklinischen in vitro Bereich, sondern erst im in vivo Bereich und im klinischen Bereich statt. Die Fortschritte im ersten Schritt der Entwicklungskette bedingen nun Veränderungen auch in den nachfolgenden Bereichen. Während der Durchsatz der klinischen Testphasen weithin feststeht, kommen nun für jedes Target zwischen 1000 und mehreren 10000 'Hits'

aus dem primären Screening. Gleichzeitig ist die Erfolgsquote über alle nachfolgenden Schritte des klassischen sequentiellen Ansatzes mit maximal 10% bedauernd gering. Es liegt also nahe zu den Screeningverfahren aus dem primären, targetspezifischen Bereich substanzunabhängige Testverfahren für die verschiedenen Bereiche aus ADME/Tox zu etablieren. Der klassische sequentielle Ansatz wird dabei durch einen parallelen schnelleren Ansatz mit erheblich höherem Durchsatz ergänzt. Das Ziel ist es, die primären Hits aus dem targetspezifischen Screening in möglichst vielen Aspekten zu charakterisieren und so eine möglichst erfolgversprechende Auswahl für die nachfolgenden komplexeren Testverfahren mit ihrem prinzipiell begrenzten Durchsatz zu treffen.

Was sind nun aktuelle und wichtige Anforderungen an die Chemie, an das primäre und schließlich auch an das sekundäre Screening? Die ersten Produkte aus kombinatorischen Synthesen haben inzwischen klinische Testphasen erreicht. Damit ist die Brauchbarkeit des Ansatzes im Prinzip nachgewiesen. Weitere Anforderungen an die Chemie bestehen sicherlich darin den Zusammenhang von Struktur und Wirkung besser und besser zu verstehen. Dazu gehört zunächst die Bereitstellung möglichst diverser Bibliotheken, parallel dazu aber auch die Bereitstellung von in-silico Methoden zur Unterstützung, möglicherweise auch zur Umgehung der Synthesearbeit.

Im Primärscreening ist ein wesentlicher Punkt die weitere Reduktion des Volumens für jeden einzelnen Meßansatz. Dabei spielen direkte Kostenüberlegungen eine wichtige Rolle. Die Verfügbarkeit von Targets aus dem human genome project wird die Bedeutung dieses Punktes noch unterstreichen. Gegenüber etwa 500 bekannten molekularen Ansatzpunkten für Pharmaka, werden in den nächsten Jahren viele 1000 Gene aus dem Humangenom für Tests zur Verfügung stehen. Einige Pharmafirmen haben bereits erklärt, daß sie den Durchsatz ihrer Screeningabteilungen in den nächsten Jahren um eine Größenordnung steigern wollen. Für größere Firmen kann das im Primärscreening einen Durchsatz von einigen 100 Millionen einzelnen Tests im Jahr bedeuten. Dies wird den Druck auf eine Miniaturisierung der Assays erhöhen. Mit einer Reduktion des Assayvolumens geht eine Abnahme im Verbrauch von Testkomponenten einher. Dies ist wichtig, um den Verbrauch von kombinatorischen Komponenten in möglichst engen Grenzen zu halten. Schließlich ist die Aussagefähigkeit und die Verlässlichkeit der Resultate von elementarer Bedeutung. Dabei können einfache, kompetitive Bindungsassays durch funktionale Assays auf molekularer oder auf zellulärer Ebene ersetzt werden.

Schließlich sind Assays aus dem Bereich des sekundären Screenings von wachsender Bedeutung. Hier finden erste interessante Ansätze statt, bei denen Anbieter und Nutzer in der Regel gemeinsam an Lösungen arbeiten. Beispielfhaft seien Untersuchungen zur Löslichkeit von Substanzen, zur epithelialen Aufnahme aus dem Intestinum, zur Proteinbindung im Blut, und schließlich zum Metabolismus von Substanzen genannt.

Im Vortrag soll der genannte Bereich abgegrenzt und wesentliche Elemente charakterisiert werden. Ein Fokus wird auf weitgehend miniaturisierbaren Testansätzen und ihrer möglichen Bedeutung für die Wirkstoffentwicklung liegen. Dazu soll die Bedeutung komplexer Assayansätze im Vergleich zu einfachen, auf ein molekulares Target beschränkten Ansätzen diskutiert werden.

Literatur:

- [1] [Heath G, Colburn WA](#). An evolution of drug development and clinical pharmacology during the 20th century. *Clin Pharmacol*. 2000 Sep;40(9):918-29
- [2] [Knapp MR, Sundberg S, Parce JW](#). Test tube's end. *J Biomol Screen*. 2000 Feb;5(1):9-12.
- [3] [Archer R](#). Faculty or Factory? Why Industrializing Drug Discovery is Inevitable. *J Biomol Screen*. 1999;4(5):235-238
- [4] [Pope AJ, Hertzberg R](#). HTS 2010: A Retrospective Look at Screening in the First Decade of the New Millennium. *J Biomol Screen*. 1999;4(5):231-234