



***Подходы и методы доклинической оценки  
фармакологической эффективности и безопасности  
лекарственных препаратов различных фармакологических  
групп в соответствии с принципами GLP: опыт проведения  
исследований в МНИОИ им. П.А.Герцена – филиале ФГБУ  
«НМИРЦ» Минздрава России***

***Панкратов Андрей Александрович  
Якубовская Раиса Ивановна***

***МНИОИ им. П.А.Герцена - филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России***

***Актуальные вопросы доклинических и клинических исследований лекарственных средств,  
биомедицинских клеточных продуктов и клинических испытаний медицинских изделий***

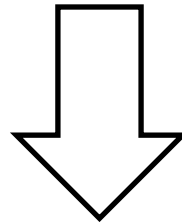
***V Всероссийская конференция с международным участием***

***г Санкт-Петербург, 1 – 2 июня 2017 г***

## Международные Правила надлежащей лабораторной практики

**1976 – 1979 гг GOOD LABORATORY PRACTICE FOR NONCLINICAL LABORATORY STUDIES (FDA, 21 CFR Part 58, 22 December 1978)**

*Лекарства, косметика, кормовые и пищевые добавки, медицинские приборы  
Оценка безопасности для здоровья на животных, растениях и микроорганизмах*

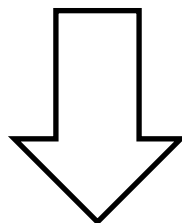


**1981 – 1987 гг OECD PRINCIPLES ON GOOD LABORATORY PRACTICE (OECD, ENV/MC/CHEM(98)17, 1997)**

*Лекарства, косметика, пищевые добавки и красители, пестициды, токсичные соединения  
Оценка безопасности веществ синтетического и природного происхождения на животных, растениях и микроорганизмах*

## Национальные Правила надлежащей лабораторной практики

**2010 – 2016 гг ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЗАКОН №61-ФЗ  
«ОБ ОБРАЩЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»**  
(с изменениями и дополнениями)



**2016 г Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации  
№199н от 01 апреля 2016 г  
ОБ УТВЕРЖДЕНИИ ПРАВИЛ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ**

**вещества, лекарственные средства или физические воздействия, средства, методы и технологии  
профилактики, диагностики и лечения заболеваний**

**Оценка специфического действия и (или) доказательство безопасности для  
здоровья человека**

## Национальные Правила надлежащей лабораторной практики

**2012 г** РАСПОРЯЖЕНИЕ ПРАВИТЕЛЬСТВА РФ от 28.12.2012г. N 2603-р "Об утверждении Национальной программы реализации принципов надлежащей лабораторной практики Организации экономического сотрудничества и развития в деятельности российских испытательных центров (лабораторий) в области неклинических лабораторных исследований объектов, содержащихся в пестицидах, косметической продукции, лекарственных средствах для медицинского применения, лекарственных средствах для ветеринарного применения, пищевых и кормовых добавках, а также в химических веществах промышленного назначения».

**2013 г** РАСПОРЯЖЕНИЕ ПРАВИТЕЛЬСТВА от 08.11. 2013г. № 2067-р «Перечень документов в области стандартизации, соблюдение требований которых испытательными лабораториями (центрами) при проведении лабораторных исследований обеспечивает соответствие указанных испытательных лабораторий (центров) принципам надлежащей лабораторной практики, соответствующим принципам надлежащей лабораторной практики Организации экономического сотрудничества и развития»:

**ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (утратил силу)**

**ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»**

**ГОСТ 31881-2012 «Роль и обязанности руководителя исследований в соответствии с Принципами GLP»**

**ГОСТ 31882-2012 «Организация и контроль архивов»**

**ГОСТ 31883-2012 «Обеспечение качества в соответствии с Принципами GLP»**

**ГОСТ 31884-2012 «Соответствие поставщиков испытательного центра Принципам GLP»**

**ГОСТ 31887-2012 «Применение Принципов GLP к компьютеризированным системам»**

**ГОСТ 31888-2012 «Роль и обязанности спонсора в соответствии с Принципами GLP»**

**ГОСТ 31885-2012 «Применение Принципов GLP к исследованиям в полевых условиях»**

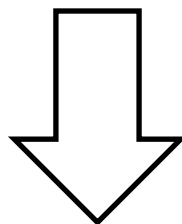
**ГОСТ 31886-2012 «Применение Принципов GLP к краткосрочным исследованиям»**

**ГОСТ 31890-2012 «Организация и управление исследованиями, проводимыми на нескольких испытательных площадках»**

**ГОСТ 31891-2012 «Применение Принципов GLP к исследованиям in vitro»**

**Правила надлежащей лабораторной практики  
Евразийского экономического союза (ЕАЭС)**

**2014 – 2016 гг** Соглашение о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза  
*(Ратифицирован Федеральным законом от 31.01.2016 N 5-ФЗ)*



**2016 г** Евразийская экономическая Комиссия: Решение Комиссии №81 от 03 ноября 2016 г «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»

*лекарственные средства и (или) вещества, содержащиеся в лекарственных препаратах*  
**Оценка безопасности для здоровья человека и окружающей среды**

**ЧЕМ РУКОВОДСТВОВАТЬСЯ?**

*Приказ Минздрава №199н от 01 апреля 2016 г «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»*

*или*

*ГОСТ 33044-2014 «Правила надлежащей лабораторной практики»*

*или*

*Правила надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств*

**Международные руководства по доклиническим исследованиям лекарственных средств (применение Правил GLP к оценке безопасности)**

- ✓ **Организация Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР; OECD):**  
*методы испытаний по воздействию химической продукции, том числе и лекарственных средств, на организм человека (72 теста; 25 тестов оформлены в виде ГОСТов)*
- ✓ **Руководства международной конференции по гармонизации (ICH) по оценке безопасности лекарственных средств:** *8 руководств оформлено в виде ГОСТов*
- ✓ **Руководства по доклиническим исследованиям лекарственных средств ЕАЭС:**  
*правила проведения исследований биологических лекарственных средств ЕАЭС (готовятся руководства по изучению отдельных групп лекарственных средств)*

**Национальные руководства по доклиническим исследованиям лекарственных средств**

*(применение Правил GLP к оценке фармакологической эффективности и безопасности)*

- ✓ **Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У.Хабриева - М., 2005**
- ✓ **Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова - М.: Гриф и К, 2012**
- ✓ **Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Иммунобиологические лекарственные препараты). Часть вторая / Под ред. А.Н. Миронова - М.: Гриф и К, 2012**

### Диагностические ЛС

Аласенс  
Гексасенс  
БиоНАФ

препарат для флуоресцентной диагностики опухолей  
препарат для флуоресцентной диагностики опухолей  
таргетный препарат для фотолюминесцентной диагностики опухолей

### Противоопухолевые ЛС

Фталосенс  
Бактериосенс  
Оксикобаламин-лио  
Эфитер  
КарпХЕМ-<sup>153</sup>Sm  
<sup>111</sup>In-МНТ-ЭФР  
<sup>111</sup>In-МНТ-МСГ  
<sup>177</sup>Lu-DOTA-МА/HER2  
АнтионкоРАН-М  
АнтионкоРАН-F  
Еленоген

препарат для фотодинамической терапии  
препарат для фотодинамической терапии  
препарат для бинарной каталитической терапии  
препарат для бинарной каталитической терапии  
радиофармацевтический препарат  
таргетный радиофармацевтический препарат  
таргетный радиофармацевтический препарат  
таргетный радиофармацевтический препарат  
генотерапевтический препарат для суицидной терапии  
генотерапевтический препарат для суицидной терапии  
генотерапевтический препарат

### Вакцины

АдеВак-Флю  
Антирабител  
АД/GP NP  
АД/GP + СТ/GP

генотерапевтическая противогриппозная вакцина широкого спектра действия  
генотерапевтическая вакцина для профилактики и лечения бешенства  
генотерапевтическая вакцина для профилактики и лечения лихорадки Эбола  
генотерапевтическая вакцина для профилактики и лечения лихорадки Эбола

### Противовирусные ЛС

Динавир

генотерапевтический препарат для экстракорпоральной трандукции аутологичных лимфоцитов для терапии ВИЧ/СПИД-инфекции

### Различные ЛС

Лапрот  
АдеЛакт  
АдеВаск

препарат для детоксикационной терапии  
генотерапевтический препарат для детоксикационной терапии  
генотерапевтический препарат для симптоматической терапии БАС



**ОРГАНИЗАЦИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЛС В МНИОИ ИМ. П.А.ГЕРЦЕНА В СООТВЕТСТВИИ С ПРАВИЛАМИ GLP**



**ЛС на основе синтетических химических веществ**

*Оксикобаламин-лио  
Эфитер  
Аласенс  
Гексасенс  
Фталосенс  
Бактериосенс*

**ЛС на основе нано- и микрочастиц**

*Наносенс*

**Радиофармацевтические ЛС**

*КарпХЕМ-<sup>153</sup>Sm  
МНТ-МСГ-<sup>111</sup>In  
МНТ-ЭФР-<sup>111</sup>In  
МА/HER2-DOTA-<sup>177</sup>Lu*

**Биологические ЛС**

**Генотерапевтические ЛС**

*АнтионкоРАН-М  
АнтионкоРАН-Ф  
Еленоген*

**Биологические ЛС**

**Биотехнологические ЛС**

*<sup>111</sup>In-МНТ-МСГ  
<sup>111</sup>In-МНТ-ЭФР  
<sup>177</sup>Lu-DOTA-МА/HER2  
БиоНАФ*

### Бинарные системы

*(каждый из компонентов системы является фармакологически инертным )*

*Препарат А + Препарат В → Фармакологически активный компонент  
(бинарная каталитическая терапия)*

Оксикобаламин-лио + Аскорбиновая кислота  
Эфитер + Аскорбиновая кислота

*Препарат А + Физическое воздействие → Фармакологически активный компонент  
(фотодинамическая терапия)*

Фталосенс + оптическое излучение  
Бактериосенс + оптическое излучение

*Генотерапевтический препарат + Препарат В → Фармакологически активный  
компонент*

АнтионкоРАН-М + ганцикловир  
АнтионкоРАН-F + фторцитозин

### Таргетные препараты

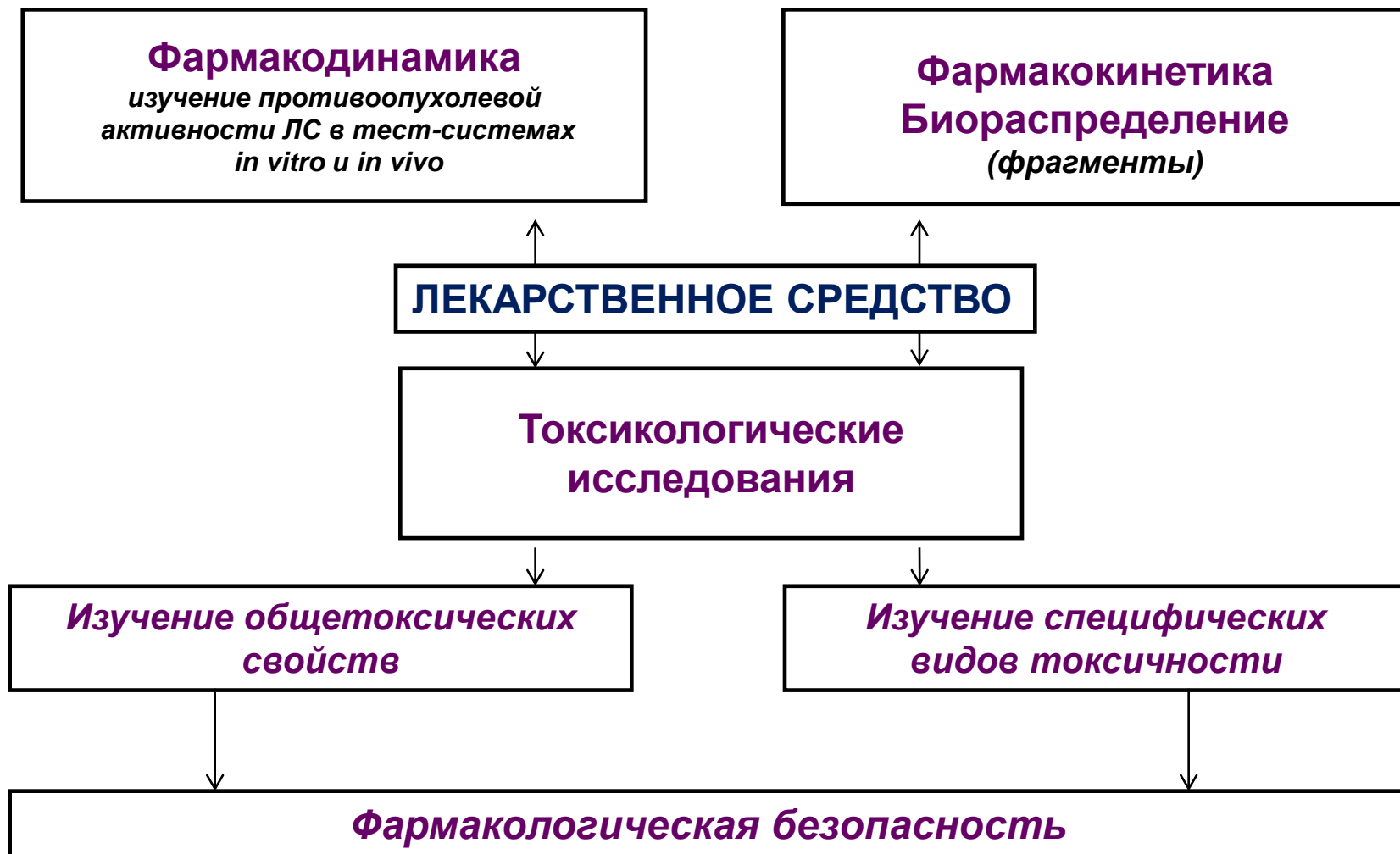
$^{111}\text{In}$ -МНТ-МСГ

$^{111}\text{In}$ -МНТ-ЭФР

$^{177}\text{Lu}$ -ДОТА-МА/HER2

БиоНАФ

# СХЕМА ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА



## Цель использования:

- оценка уровня цитотоксической активности
- выяснение спектра цитотоксического действия
- наработка и характеристика клеток (морфология, иммуноцитохимия) для моделей *in vivo*

**Характеристика тест-системы:** культуры опухолевых клеток различного гистогенетического происхождения человека (27 клеточных линий) и животных (8 клеточных линий)

## Источники тест-систем:

- коллекция культур клеток позвоночных Института цитологии РАН
- коллекция перевиваемых соматических клеток позвоночных НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского
- коллекция клеточных линий American type Culture Collection (ATCC)

## Требования к тест-системе *in vitro*:

- наличие сертификата качества (морфологическая характеристика, микробиологический статус, генетический статус)

## Характеристика тест-системы в процессе использования в испытательном центре:

- номер пассажа
- посевная концентрация клеток
- кинетика роста опухолевых клеток
- морфологическая оценка состояния опухолевых клеток
- иммуноцитохимическая характеристика опухолевых клеток (особенно необходима при изучении таргетных препаратов)

**Критерии оценки противоопухолевой активности:** величины концентраций ЛС, приводящие к торможению роста клеток на 50% ( $ИК_{50}$ ) и 90% ( $ИК_{90}$ ), соответственно

## ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

**Целесообразность включения исследований *in vitro* в доклинические испытания**

**Соответствие тест-систем *in vitro*, предлагаемых Российскими банками клеточных культур, международным стандартам качества**

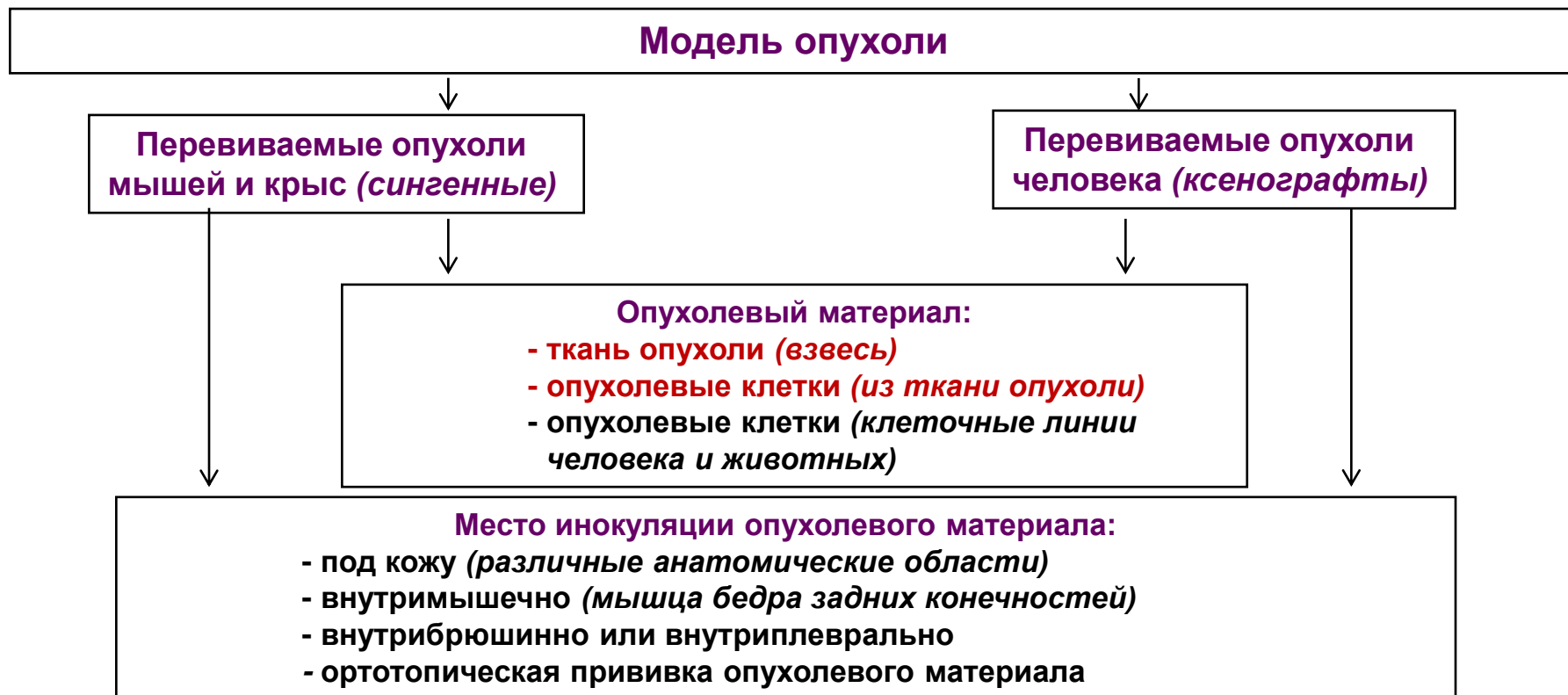
**Выбор и количество клеточных линий, необходимых для изучения противоопухолевых ЛС на этапе доклинических исследований**

**Наиболее надежный метод оценки цитотоксической активности *in vitro***

## Цель использования:

- отработка оптимальных фармакологических параметров (доз, режимов и т.д.) на сингенных моделях
- оценка спектра противоопухолевой активности с определением оптимальной схемы лечения на сингенных моделях
- доказательство эффективности ЛС на наиболее релевантных моделях – опухолях человека (ксенографтах)
- оценка влияния ЛС на процессы метастазирования злокачественных опухолей

**Тест-система:** лабораторные животные (мыши, крысы) с перевиваемыми опухолями



Перевиваемые опухоли животных (мышей и крыс) различного гистогенетического происхождения:

**мышь:** 34 опухолевых штамма  
**крыса:** 12 опухолевых штаммов

## Требования к тест-системе:

- характеристика лабораторных животных ( наличие сертификата качества: микробиологический и генетический статус)
- характеристика моделей опухолей *in vivo* :
  - кинетика роста первичного опухолевого узла
  - оценка метастазирования
  - морфологическая оценка состояния ткани опухоли
  - иммуноцит- и гистохимическая характеристика ткани опухоли

## Источники тест-системы:

- питомник «Андреевка» ФГБУН "НЦБМТ" ФМБА
- питомник «Пушино» ИБХ РАН

## Мониторинг качества лабораторных животных:

- микробиологический статус

## Мониторинг качества опухолевых моделей:

- кинетика роста первичного и метастатического опухолевых очагов

## Критерии оценки противоопухолевой эффективности:

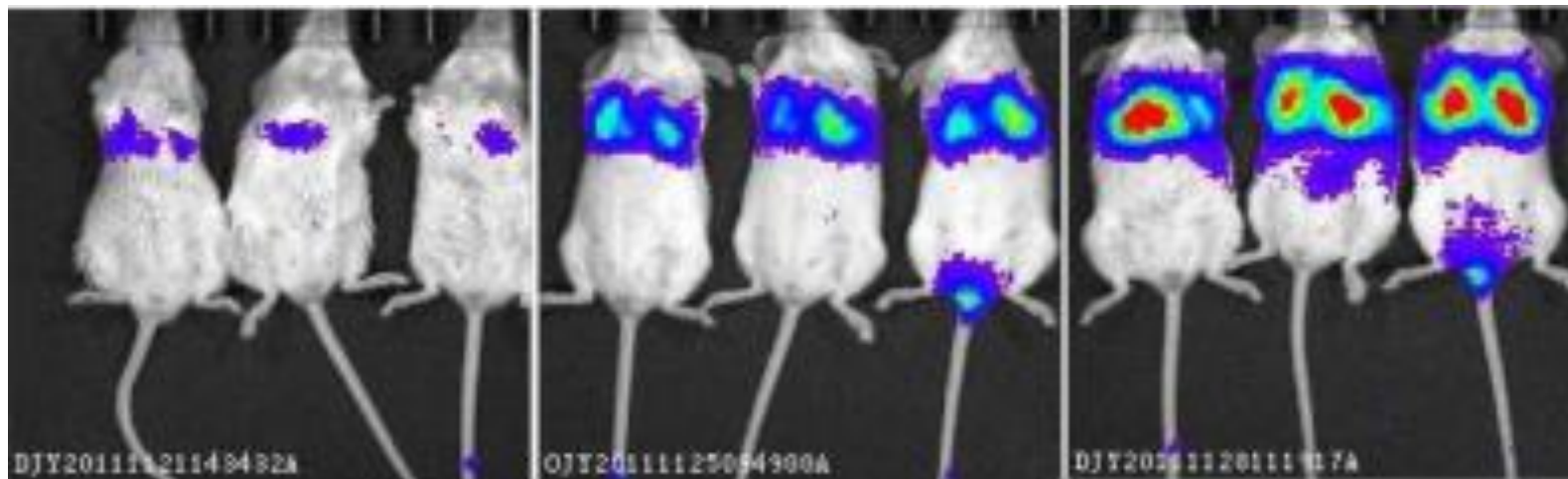
- излеченность
- длительность безрецидивного периода
- динамика роста опухолевых очагов (первичного и метастатических)
- торможение роста опухолевых очагов (первичного и метастатических)
- **средняя продолжительность жизни**
- **увеличение продолжительности жизни**
- частота метастазирования
- патоморфоз

## Методы оценки эффективности лечения:

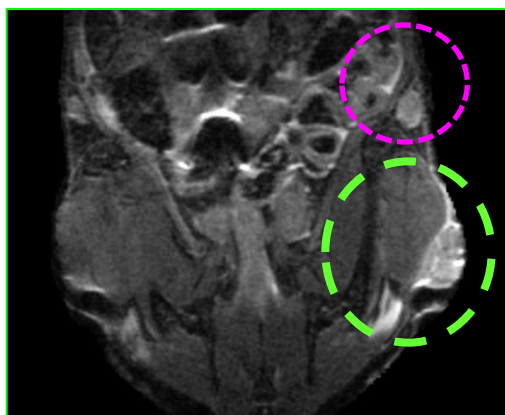
- традиционные неинвазивные (измерение размера опухоли)
- традиционные инвазивные (определение массы опухоли)
- инструментальные: КТ, МРТ, оптическая томография, ПЭТ, УЗИ



## Визуализация метастазов в легких в процессе их развития у мышей с LLC (ПЭТ/КТ)



## Визуализация первичного очага и метастазов в лимфатических узлах в процессе их развития у мышей с S37 (МРТ)



Пораженный лимфатический узел



Первичный опухолевый очаг

**МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА**

**Монопрепарат**

- *опухолевая модель*
- *дозы ЛС*
- *пути введения ЛС*
- *режимы применения ЛС*

**Бинарная система**

- *опухолевая модель*
- *дозы компонентов системы*
- *соотношения доз компонентов системы*
- *режимы введения компонентов системы:*
  - *интервал времени между их введением*
  - *последовательность введения*
- *режимы применения бинарной системы*

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИНАРНЫХ СИСТЕМ

## Бинарная каталитическая терапия (БКТ)

*(используются два лекарственных средства: субстрат окисления и катализатор)*

### Эффективность БКТ «Оксигобаламин-лио (Ок) + Аскорбиновая кислота (Ак)»

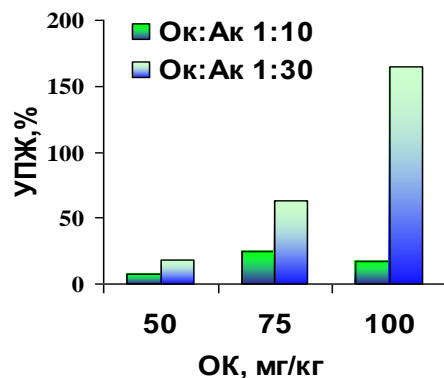
Доза Ок

Соотношение  
Ок и Ак

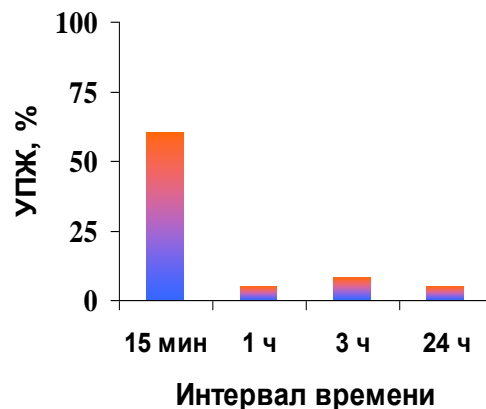
Интервал времени  
между введением Ок и Ак

Последовательность  
введения Ок и Ак

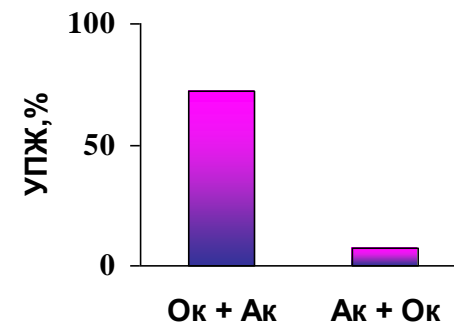
От дозы ОК и молярного  
соотношения Ок и Ак



От временного  
интервала между  
введением ОК и АК



От последовательности  
применения Ок и Ак



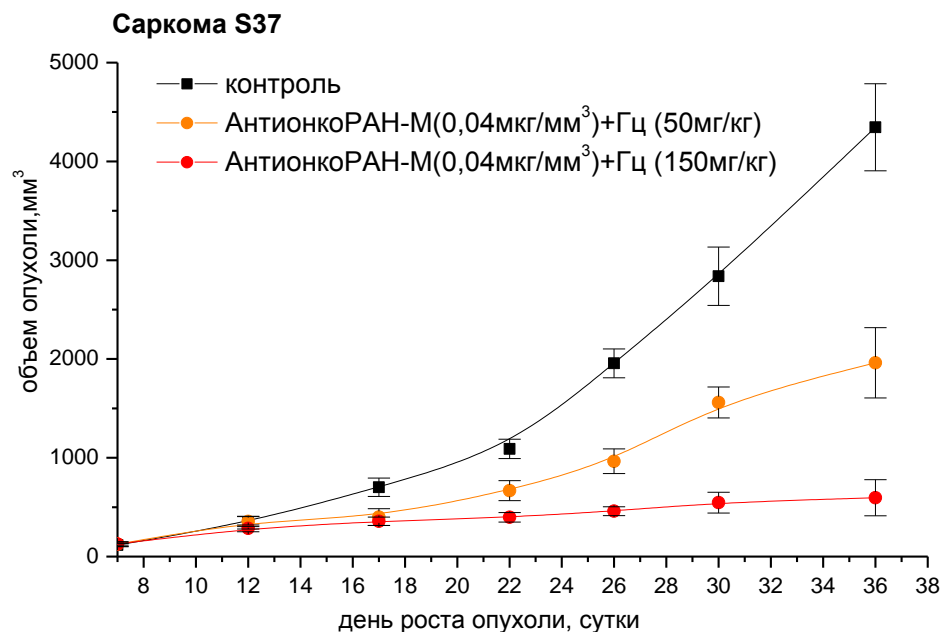
*Мыши с асцитной опухолью Эрлиха*

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИНАРНЫХ СИСТЕМ

## Суицидная противоопухолевая генотерапия

(используются два лекарственных средства: генотерапевтический препарат и пролекарство)

### АнтионкоРАН-М + Ганцикловир (Гц)



**Влияние системы АнтионкоРАН-М +Гц на рост саркомы S37.**

**Мыши F1, самки (в группах n=12)**

**Лечение начинали на 7-е сутки роста опухоли (объем опухоли  $\approx 100\text{мм}^3$ )**

**АнтионкоРАН-М вводили интратуморально 3 раза за курс в разовой дозе  $0,04\text{мкг ДНК/мм}^3$  (курсовая доза -  $0,04 \cdot (v_1 + v_2 + v_3)$  мкг ДНК), где  $V_1$ ,  $V_2$  и  $V_3$  – объемы опухоли в момент 1-ого, 2-ого и 3-его введений**

**Ганцикловир (Гц) в составе лекарственного средства «Цимевен» вводили внутривентриально дважды в день (интервал – 12 ч) в суточных дозах  $50\text{мг/кг}$  или  $150\text{мг/кг}$  в течение 15 дней (курсовые дозы  $750\text{мг/кг}$  или  $2250\text{мг/кг}$ , соответственно)**

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИНАРНЫХ СИСТЕМ

## Фотодинамическая терапия (ФДТ)

*(используются лекарственное средство и физическое воздействие: фотосенсибилизатор и оптическое излучение)*

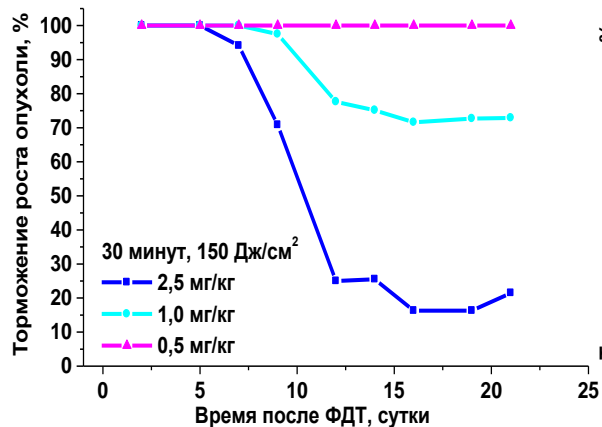
### Эффективность с препаратом Бактериосенс (ФС)

Доза ФС

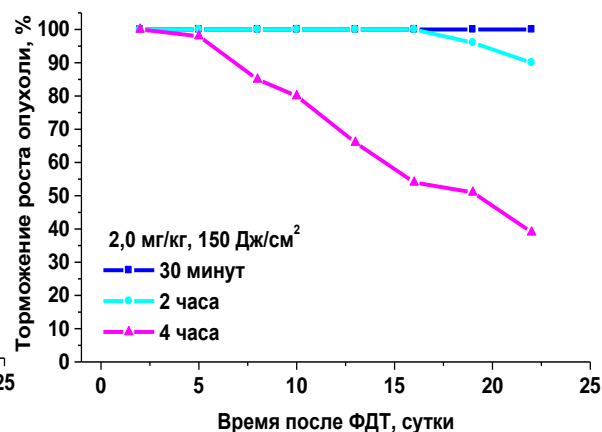
Время после введения ФС

Параметры и режимы облучения

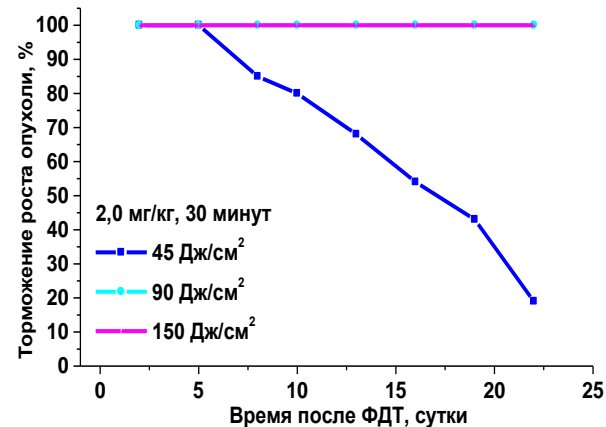
*от дозы ФС*



*от интервала между введением ФС и облучением*

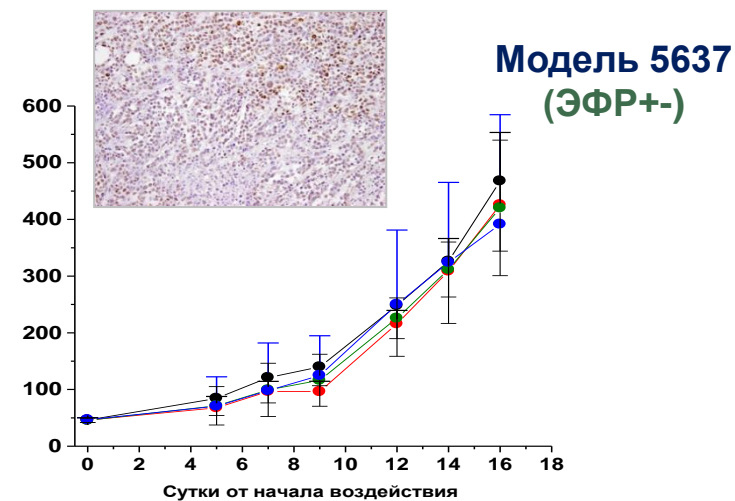
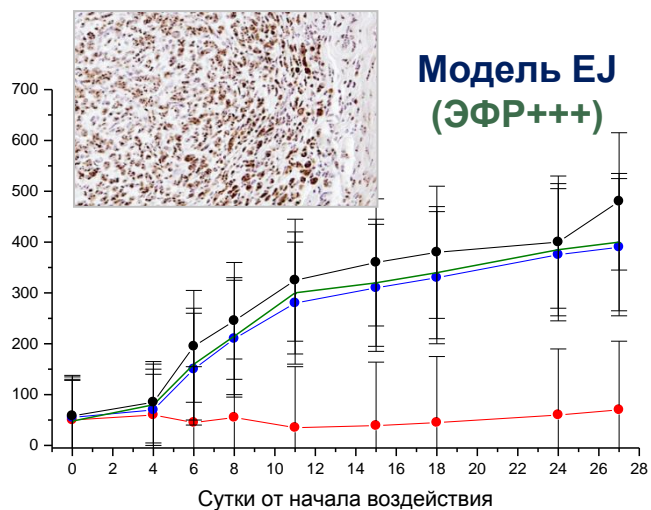


*от плотности энергии*

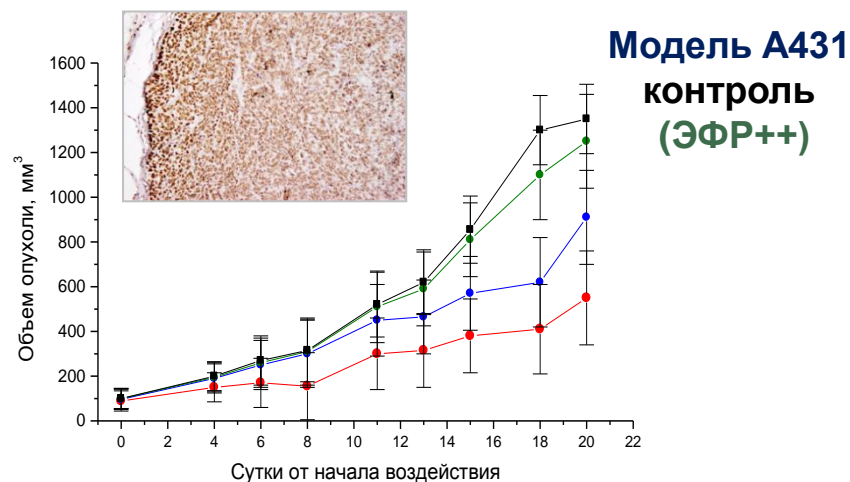


# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТАРГЕТНЫХ ЛС

Противоопухолевая эффективность таргетного РФП  $^{111}\text{In}$ -МНТ-ЭФР на рост подкожных ксенографтов опухолей EJ, 5637 и A431 при интратуморальном введении РФП



$^{111}\text{In}$ -МНТ-ЭФР (●), неконъюгированный радионуклид (●), МНТ-ЭФР (●) физиологический раствора (●)



## **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ**

**Качество лабораторных животных, которых предлагают специализированные питомники:**

- микробиологический статус**
- генетический статус**

**Условия содержания лабораторных животных в вивариях**

**Стандартизация опухолевых моделей**

**Необходимость создания/усовершенствования методических рекомендаций по изучению противоопухолевой эффективности ЛС для передовой терапии**

**Требования к научному персоналу, осуществляющему доклинические исследования по изучению специфической противоопухолевой эффективности ЛС**

## Задачи исследования:

- выявление органа или системы организма, наиболее чувствительных к изучаемому лекарственному средству(органа-мишени или системы-мишени)
- установление дозовой зависимости выявленных эффектов, степени их обратимости и механизмов повреждающего действия
- определение степени опасности ЛС при его однократном и многократном применении
- определение соотношения активности препарата и его токсичности
- прогноз токсического и побочного действия при применении ЛС у человека
- расчет стартовой (безопасной) дозы ЛС для человека на I фазе клинического изучения

## Токсикологические исследования

### Изучение общетоксических свойств:

- совместимость с кровью
- местнораздражающее действие
- «острая» токсичность
- «субхроническая/хроническая» токсичность
- местнораздражающее действие
- кумулятивные свойства

### Изучение специфических видов токсичности:

- алергизирующие свойства
- иммунетоксические свойства
- репротоксические свойства
- мутагенные свойства
- канцерогенные свойства

## Фармакологическая безопасность



**Тест-система:** мыши, крысы, кролики/собаки; самцы и самки

**Путь введения ЛС :** не менее 2-х, один из которых рекомендован для применения у человека

**Режим введения:** однократно

**Длительность наблюдения:** от 30 до 90 суток ( в зависимости от природы ЛС и фармакологической группы)

**Определение количественных критериев:**

LD<sub>10</sub>, LD<sub>16</sub>, LD<sub>50</sub>, LD<sub>84</sub> – мыши и крысы  
ЛД, ВТД, НТД, ВНТД – кролики/собаки

**Определение степени опасности ЛС по критериям:**

- LD<sub>50</sub>
- «широты терапевтического действия»
- «широты токсического действия»
- «широты смертельного действия»

**Влияние ЛС на функциональное состояние внутренних органов и систем организма :** физиологические, клинико-лабораторные и патологоанатомические исследования (крысы, кролики/собаки)

Классификация степени токсичности химических веществ (И.В.Березовская)				
Показатели	Классы токсичности и опасности			
	1 чрезвычайно токсичны	2 высоко-токсичны	3 умеренно-токсичны	4 малотоксичны
LD <sub>50</sub> внутрижелудочно, мг/кг	<15	15-150	151-5000	>5000
LD <sub>50</sub> подкожно, мг/кг	≤8	8-80	80-2000	>2000
LD <sub>50</sub> внутрибрюшинно, мг/кг	≤4	4-40	40-1250	>1250
LD <sub>50</sub> внутривенно, мг/кг	≤2	2-20	20-700	>700

Классификация степени опасности «острого» токсического действия химических веществ (Л.М.Михайлова)				
Критерии опасности	Чрезвычайно опасные	Высоко опасные	Умеренно опасные	Мало опасные
Индекс широты терапевтического действия (LD50/TD)	<5	5 - 15	15 - 45	>45
Коэффициент видовой чувствительности	>50	10 - 50	3 - 10	<3
Степень токсичности	I	II	III	IV

**OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**  
**Test No. 423: Acute Oral toxicity – Acute Toxic Class Method**

**Тест-система:** крысы, кролики/собаки;  
самцы и самки

**Путь введения ЛС:** рекомендованный для применения у человека

**Режим введения:** ежедневно многократно (от 5 раз до 12 месяцев)

**Длительность наблюдения:** от 30 до 360 суток ( в зависимости от природы ЛС и фармакологической группы)

**Определение количественных критериев:** ЛД, ВТД, НТД, ВНТД

**Определение степени опасности «хронического» токсического действия ЛС**

**Влияние ЛС на функциональное состояние внутренних органов и систем организма:** физиологические, клинико-лабораторные и патологоанатомические исследования

**Определение органов-мишеней к токсическому действию ЛС**

**Классы токсичности лекарственных препаратов (Т.А.Гуськова)**

Класс токсичности	Значение индекса безопасности (ИБ)
I класс (высокотоксичные)	ИБ<1
II (умереннотоксичные)	1<ИБ<5
III (малотоксичные)	ИБ>5

### Оценка аллергогенного потенциала ЛС

**Тест-система:** мыши, морские свинки

**Дозы ЛС:** ТД и 10ТД или МПД

**Тесты:**

#### основные

- «реакция общей анафилаксии у морских свинок»
- «конъюнктивальная проба у морских свинок»

#### дополнительные

- «активная кожная анафилаксия у морских свинок»
- «реакция гиперчувствительности замедленного типа на мышах или морских свинках»
- «метод накожных аппликаций»
- «реакция воспаления на конканавалин А у мышей»

### Изучение иммунотоксических свойств ЛС

**Тест-система:** мыши

**Дозы ЛС:** ТД и 10ТД или МПД

**Тесты:**

- «влияние на массу и клеточность органов иммунной системы – тимуса и селезенки»
- «влияние на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов»
- «влияние на гиперчувствительность замедленного типа»
- «влияние на содержание в сыворотке крови мышей иммуноглобулинов IgG , IgA и IgM»
- «влияние на абсолютное содержание в периферической крови животных лейкоцитов и лимфоцитов, соотношение основных субпопуляций лимфоцитов»

**Важно: проводить исследования в динамике**

### Изучение репродуктивной токсичности ЛС

**Тест-система:** крысы

**Дозы ЛС:** ТД и 10ТД или МПД

**Тесты:**

- «влияния на репродуктивную (генеративную) функцию»
- «изучение эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемого в антенатальном периоде развития»
- «изучение эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемого в постнатальном периоде развития»

*Контрактное исследование. Проводится в соответствии с ГОСТ 31890-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Организация и управление исследованиями, проводимыми на нескольких испытательных площадках (ENV/JM/MONO(2002)9 «The Application of the OECD Principles of GLP to the Organization and Management of Multi-Site Studies»)*

### Изучение мутагенных свойств ЛС

**Тест-система:** мыши

**Дозы ЛС:** ТД и 10ТД или МПД

**Тесты:**

- «мутационный тест на *Salmonella typhimurium* (теста Эймса)»
- «учет хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека»
- «учет микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга мышей»

*Контрактное исследование. Проводится в соответствии с ГОСТ 31890-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Организация и управление исследованиями, проводимыми на нескольких испытательных площадках (ENV/JM/MONO(2002)9 «The Application of the OECD Principles of GLP to the Organization and Management of Multi-Site Studies»)*

**Изучение канцерогенных свойств ЛС  
в хронических исследованиях на животных**

**Тест-система:** мыши, крысы

**Дозы ЛС:** ТД и 10ТД или МПД

**Обязательному тестированию на канцерогенность  
должны подвергаться ЛС, рекомендуемые:**

- в качестве профилактических, контрацептивных, лечебно-косметических
- для применения в детской практике, а также для лечения беременных женщин и в период лактации
- для применения в течение всей жизни или длительными повторными курсами
- гормональные и гормоноподобные вещества
- для широкого использования при безрецептурном отпуске лекарств
- ЛС, полученные биотехнологическими и генно-инженерными методами

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ БИНАРНЫХ СИСТЕМ

## Бинарная каталитическая терапия

*(используются два лекарственных средства: субстрат окисления и катализатор)*

### Индивидуальные компоненты бинарной системы

Оксикобаламин-лио (Ок)

Местнораздражающее действие

Не выявлено

«Острая токсичность»

LD<sub>10</sub> – > 1500 (мыши)

LD<sub>10</sub> – > 500 (крысы)

Малотоксичное ЛС

«Субхроническая» токсичность

НТД – >1080 мг/кг

Малотоксичное ЛС

Аллергизирующее действие

Отсутствует

Иммунотоксическое действие

Отсутствует

Мутагенные свойства

Отсутствуют

Репротоксические свойства

Отсутствуют

### Бинарная система в оптимальном режиме применения

Оксикобаламин-лио+Аскорбиновая кислота

Местнораздражающее действие

Не выявлено

«Острая токсичность» (дозы указаны по ОК)

LD<sub>10</sub> – 200 (175,4÷228,0) мг/кг (мыши)

LD<sub>50</sub> – 350 (307,0÷399,0) мг/кг (мыши)

Умеренно токсичное ЛС

«Субхроническая» токсичность (дозы казаны по ОК)

НТД – 540 мг/кг

ВТД (МПД) – 1080 мг/кг

Органы мишени: почки, сосуды

Умеренно токсическое ЛС

Аллергизирующее действие

Отсутствует

Иммунотоксическое действие

Отсутствует

Мутагенные свойства

Отсутствуют

Репротоксические свойства

Отсутствуют

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ БИНАРНЫХ СИСТЕМ

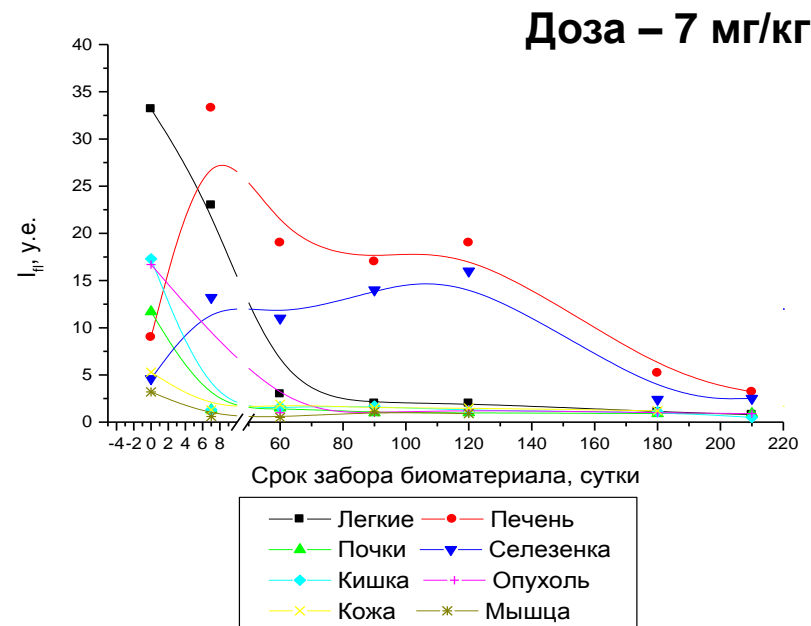
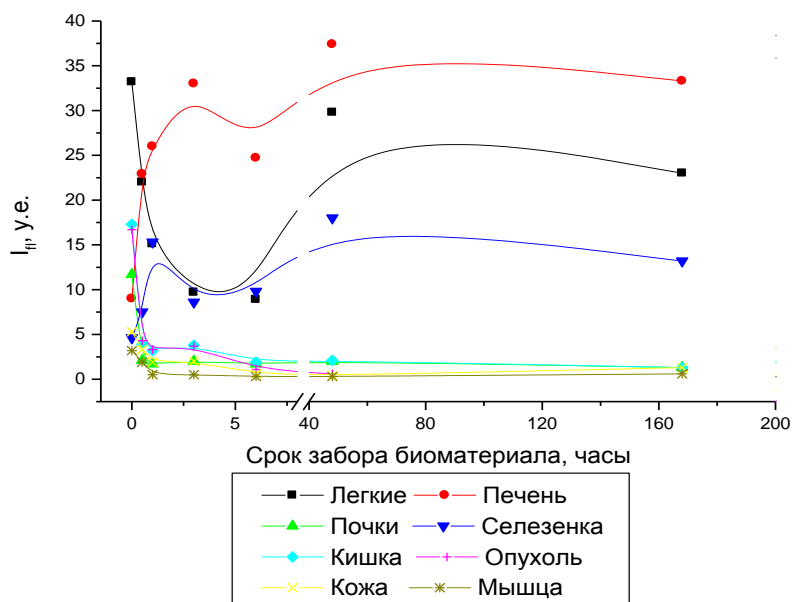
Импульсная лазерная гипертермия  
(используются лекарственное средство (сенсibilизатор) и физическое воздействие)

Наносенс + высокоэнергетическое импульсное лазерное излучение

## Препарат Наносенс

коллоидный раствор для внутривенного введения с содержанием активного вещества –  
микрочастиц фталоцианина цинка в количестве 2 мг/мл  
Средний размер частиц -  $150 \pm 20$  нм

Изучение биораспределения препарата Наносенс во внутренних органах  
и тканях животных



# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ БИНАРНЫХ СИСТЕМ

## Изучение общетоксических свойств и специфических видов токсичности препарата Наносенс и импульсной лазерной гипертермии с этим препаратом

Срок наблюдения за животными – 90 суток до 1-го года

Влияние на потенциальные органы-мишени в динамике (печень, почки, селезенка, легкие)

### Общетоксические свойства

Местнораздражающее действие

Не выявлено

«Острая токсичность»

LD<sub>10</sub> – >> 150 (мыши)

LD<sub>10</sub> – >> 70 (крысы)

Умеренно токсическое - малотоксичное ЛС

«Субхроническая» токсичность

НТД – >210 мг/кг

Малотоксичное ЛС

### Специфические виды токсичности

Аллергизирующее действие

Отсутствует

Иммунотоксическое действие

Отсутствует

Мутагенные свойства

Отсутствуют

**Канцерогенный потенциал**

**Морфологические изменения в органах-мишенях после однократного и многократного введения препарата Наносенс**

*При гистологическом исследовании в печени, почках и селезенке на все сроки наблюдения (1, 30, 60, 90 и 180 сутки после введения препарата в дозе 14ТД) наблюдали скопление препарата. При этом признаки повреждения этих органов отсутствовали*

**Высокоэнергитическое импульсное лазерное излучение не приводило к усилению общей токсичности**



1. Тест-система должна быть релевантной
2. Изучение биораспределения ДНК (определение органов-мишеней)
3. Изучение биораспределения продукта экспрессии гена (определение органов-мишеней)
4. Изучение биораспределения носителя
5. Изучение общетоксических свойств и специфических видов токсичности генотерапевтического препарата

**Срок наблюдения за животными: от 30 суток до 1-го года (зависит от природы носителя, биораспределения ДНК, продукта экспрессии гена)**

**Оценка функционального состояния и гистологическое исследование органов-мишеней в динамике**

**Обязательное изучение канцерогенных свойств в хроническом эксперименте на животных разных видов**

**Целесообразно: при изучении репродуктивной токсичности заложить дополнительные группы животных для наблюдения за развитием как минимум 3-х поколений**

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

## Этапы исследования

### 1. Исследование специфической безопасности РФП:

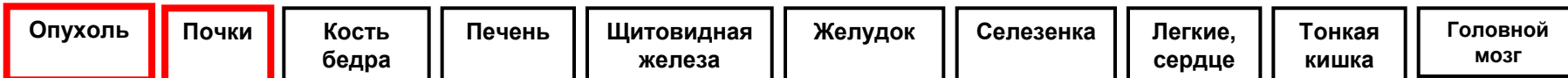
- расчет распределения накопленной поглощенной дозы в органах и тканях мышей с опухолью после внутриопухолевого введения РФП
- прогноз ожидаемых доз внутреннего облучения в организме человека

### 2. Изучение общетоксических свойств и специфических видов токсичности препарата с «холодным» изотопом

### 3. Изучение «острой» токсичности РФП

## Препарат КарпХЕМ-<sup>153</sup>Sm

### 1. Исследование специфической безопасности КарпХЕМ-<sup>153</sup>Sm (мыши с саркомой37)



Уменьшение накопления поглощенной дозы (оценка через 196 часов после внутриопухолевого введения КарпХЕМ-<sup>153</sup>Sm)

### 2. Изучение общетоксических свойств и специфических видов токсичности препарата с «холодным» изотопом КарпХЕМ-<sup>152</sup>Sm

#### Местнораздражающее действие

Не выявлено

#### «Острая токсичность»

LD<sub>50</sub> – > 2000 мг/кг (мыши)

LD<sub>50</sub> – > 1000 мг/кг (крысы)

Малотоксичное ЛС

#### «Субхроническая» токсичность

НТД – >2000 мг/кг

Малотоксичное ЛС

Аллергизирующее, иммунотоксическое, мутагенное действие

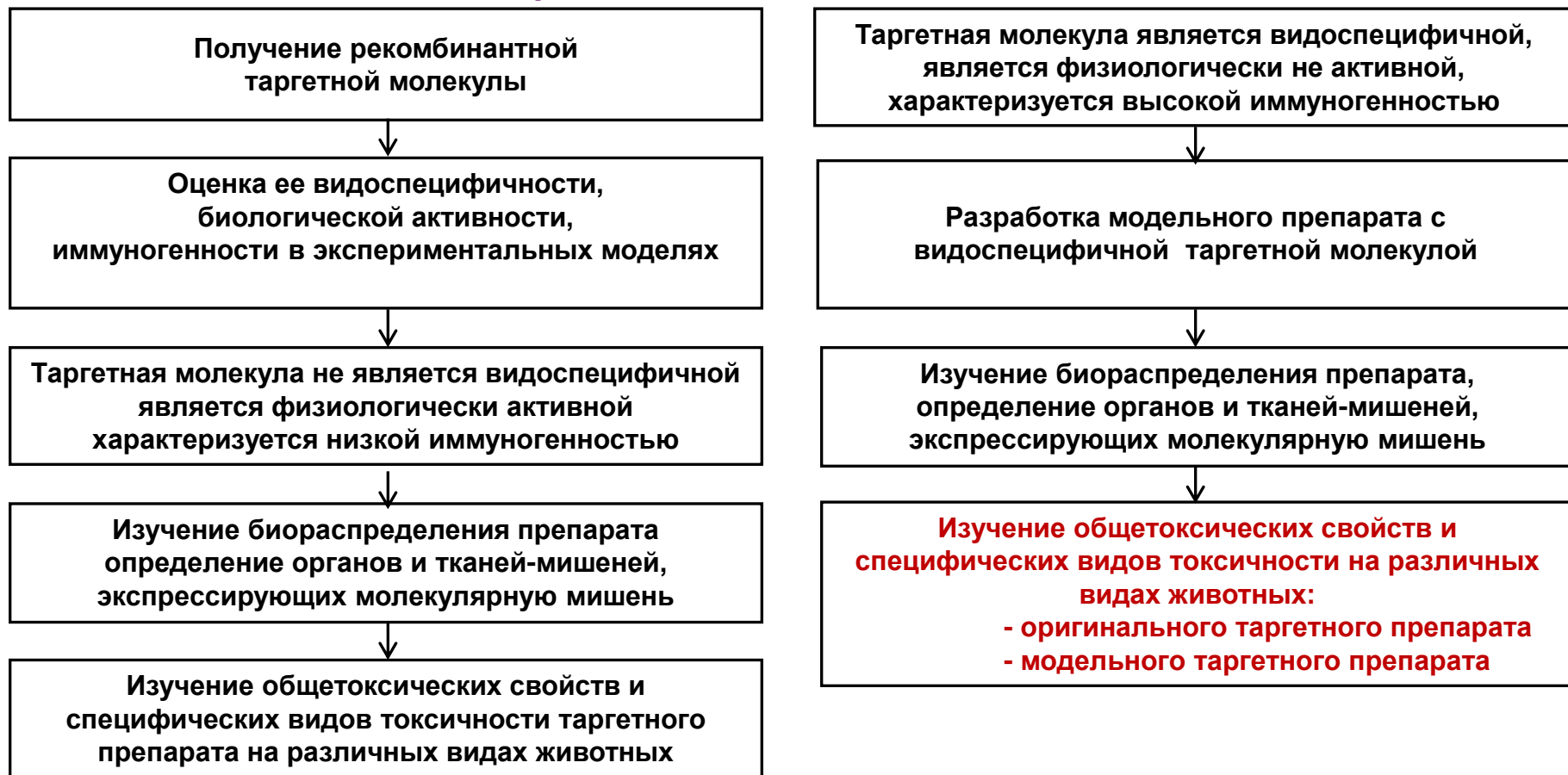
Не выявлено

### 3. Изучение «острой» токсичности РФП (с морфологической оценкой органов-мишеней в динамике)

## КАК ПРОВОДИТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ?

Тест-система должна быть релевантной: *экспрессировать молекулярную мишень*

### Варианты и этапы исследований



**Важно:**

**Длительность наблюдения – от 30 до 90 суток**

**Оценка функционального состояния и морфологическое изучение органов-мишеней в динамике**

**Изучение канцерогенных свойств в хроническом эксперименте на животных**

## ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

**Качество лабораторных животных, которых предлагают специализированные питомники:**

- микробиологический статус
- генетический статус

**Условия содержания лабораторных животных в вивариях**

**Усовершенствование программ и методик исследования по оценке безопасности ЛС**

**Гармонизация национальной методической базы по изучению безопасности ЛС с международной**

**Требования к научному персоналу, осуществляющему доклинические исследования по изучению безопасности ЛС**

- ✓ Внедрена система Правил надлежащей лабораторной практики (GLP) при доклиническом изучении специфической активности противоопухолевых ЛС и безопасности ЛС, относящихся к различным фармакологическим группам
- ✓ Завершается реконструкция клиники экспериментальных животных, в которой возможно будет работать с животными разного микробиологического статуса, включая иммунодефицитных животных
- ✓ Разработаны/усовершенствованы методические подходы к доклинической оценке специфической противоопухолевой эффективности инновационных ЛС различной природы и механизма действия
- ✓ Внедрены методические рекомендации по изучению фотоиндуцированных противоопухолевых свойств лекарственных средств (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова - М.: Гриф и К, 2012, стр. 655 - 669
- ✓ Разработаны методические подходы по доклинической оценке безопасности бинарных систем
- ✓ Разрабатываются методические подходы для достоверной оценке безопасности генотерапевтических, таргетных и радиофармацевтических ЛС

## 1. Зарегистрированные препараты:

- препарат Аласенс (EAN: 4607007821131; № ЛП-001848; ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»)
- препарат Лапрот (EAN: 4602379001730; № ЛС-002374; Медгамал)

## 2. Препараты, находящиеся на различных фазах клинического изучения :

- Оксикобаламин-лио
- АдеЛакт
- АдеВаск
- АдеВак-Флю

## 3. Завершены доклинические исследования:

- препарата Эфитер
- препарата Наносенс
- препарата Фталосенс
- препарата Бактериосенс
- препарата Еленаген

## 4. Препараты, находящиеся на различных этапах доклинических исследований:

- препарат Динавир
- препарат АнтионкоРАН-М
- препарат АнтионкоРАН-F
- препарат  $^{111}\text{In}$ -МНТ-ЭФР
- препарат  $^{111}\text{In}$ -МНТ-МСГ
- препарат КарпХем- $^{153}\text{Sm}$
- препарат БиоНАФ

## УЧАСТНИКИ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н. Ф. Гамалеи» (ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи»)*

*Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба (МРНЦ – филиал НМИРЦ МЗ РФ)*

*Федеральное государственное унитарное предприятие Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»)*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена РАН (ИБГ РАН)*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики (ИМГ РАН)*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН)*

*Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова*

*ФГБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора (ЦНИИЭ)*

*Акционерное общество «Ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский физико-химический институт имени Л.Я. Карпова» (АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова»)*

*Общество с ограниченной ответственностью «НТЦ Амплитуда» (ООО «НТЦ Амплитуда»)*

*Общество с ограниченной ответственностью «Иммафарма» (ООО «Иммафарма»)*

*Общество с ограниченной ответственностью «СЛ Онколоджи» (ООО «СЛ Онколоджи»)*



***СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ***