

Качественные доклинические исследования — необходимый этап разработки и внедрения в клиническую практику новых лекарственных препаратов

А. Н. ВАСИЛЬЕВ

ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Центр экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, Москва

Good Preclinical Study, as an Obligatory Stage in Design and Clinical Use of New Medicinal Preparations

A. N. VASILYEV

Centre Examination of Drugs, Centre for Examination and Control of Medical Preparations, Moscow

Доклинические исследования — это испытания, проводимые обычно в условиях *in vitro* и *in vivo* на животных, до начала клинических исследований лекарственных веществ у человека. Они играют ключевую роль в разработке лекарственных препаратов. В рамках доклинических исследований выявляются новые соединения, обладающие полезными для человека биофармацевтическими и фармакокинетическими свойствами. В дополнение к этому, они позволяют ускорить переход от открытия нового действующего вещества к его последующей разработке в рамках клинических исследований, а также снизить временные и материальные затраты на последние. В рамках процесса доклинической разработки лекарственного препарата выделяют три основных направления: изучение фармакологической активности действующего вещества; изучение фармакокинетических свойств действующего вещества и лекарственной формы; изучение токсикологических свойств действующего вещества. В статье приводятся современные требования к проведению доклинических исследований лекарственных препаратов с практическими примерами.

Ключевые слова: GLP — Надлежащая лабораторная практика, иммуномодулирующие препараты.

Preclinical studies are investigations, performed *in vitro* and *in vivo* (on animals) prior to clinical trials in men. They play the main role in design of medicinal preparations. Preclinical studies provide research of new compounds with useful biopharmaceutical and pharmacokinetic properties. In addition, they to make shorter the period between isolation of a novel active substance and its further development within the clinical trials, as well as to lower the time and materials expenditures for the clinical trials. There are three aspects of the preclinical study: investigation of the pharmacological activity of the main substance, investigation of the pharmacokinetic properties of the active substance and its medicinal preparation and investigation of the toxicological properties of the active substance. The requirements for preclinical studies on medicinal preparations and practical examples are presented.

Key words: Good Laboratory Practice (GLP), immunomodulators.

Введение

Доклинические исследования — это испытания, проводимые обычно на различных моделях в условиях *in vitro* и *in vivo*, до начала клинических исследований лекарственных веществ у человека. Они играют ключевую роль в разработке лекарственных препаратов. В рамках доклинических исследований выявляются новые соединения, обладающие полезными для человека биофармацевтическими и фармакокинетическими свойствами. В дополнение к этому, они позволяют ускорить переход от открытия

нового действующего вещества к его последующей разработке в рамках клинических исследований, а также снизить временные и материальные затраты на последние.

В процессе доклинической разработки лекарственного препарата выделяют три основных направления:

1. Изучение фармакологической активности действующего вещества.
2. Изучение фармакокинетических свойств действующего вещества и лекарственной формы.
3. Изучение токсикологических свойств действующего вещества.

Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекар-

© А. Н. Васильев, 2012

Адрес для корреспонденции: 123182, Москва, ул. Щукинская, д.6, корп. 1. НЦЭСМП

ственных препаратов для медицинского применения (ICH) является основной международной организацией, регламентирующей требования к проведению доклинических исследований [1]. Стандартизация требований позволяет снизить различие в подходах к проведению доклинических исследований [2]. Требования ICH конкретизируются, а по неурегулированным вопросам — дополняются, национальными ведомствами с сфере регулирования обращения лекарственных средств [3, 4]. Стандарты проведения доклинических исследований должны соответствовать Надлежащей лабораторной практике (GLP) [5].

Изучение фармакологической активности действующего вещества

В рамках изучения фармакологической активности (фармакодинамики) исследуются биохимические и физиологические эффекты действующего вещества на организм, микроорганизмы или паразиты в тканях и жидкостях или на поверхности тела и механизм действия, и взаимосвязь между концентрацией действующего вещества и его эффектами [6].

Изучение фармакологической активности должно включать следующие виды исследований: первичная фармакодинамика (включая, по возможности, сравнительные исследования с лекарственными средствами того же класса), вторичная фармакодинамика, фармакологическая безопасность и фармакодинамические лекарственные взаимодействия [7].

При этом исследования фармакологической безопасности проводятся, чтобы защитить субъектов клинических исследований и лиц, принимающих зарегистрированные лекарственные препараты, от потенциальных нежелательных реакций лекарственных средств, избегая, по возможности, ненужного использования животных и других ресурсов [8, 9]. Учитывая особую клиническую значимость, в рамках исследования фармакологической безопасности предусматривается изучение потенциала лекарственного средства замедлять реполяризацию желудочков (удлинять интервал QT) [10].

В непосредственной взаимосвязи с изучением фармакодинамических свойств лекарственного препарата изучают его фармакокинетические параметры.

Изучение фармакокинетических свойств действующего вещества и лекарственной формы

Фармакокинетика изучает механизмы абсорбции и распределения действующего вещества, время начала и длительность фармакологиче-

ских эффектов, химические изменения фармацевтической субстанции в организме и способы и пути экскреции её метаболитов [11].

В рамках изучения фармакокинетических свойств действующего вещества и лекарственной формы исследуют степень и скорость абсорбции, биоэквивалентность и (или) биодоступность; распределение, включая объём распределения, связь с белками плазмы, проникновение через плацентарный барьер; метаболизм, включая химическую структуру и содержание метаболитов в биологических образцах, степень пресистемного метаболизма, участие микросомальных ферментов печени, способность к их индукции или ингибированию; экскрецию, включая пути и степень экскреции и способность выделяться с грудным молоком; фармакокинетические лекарственные взаимодействия [7, 12]. Практическое изучение биодоступности иммунобиологических препаратов рассмотрим на примере известного отечественного препарата ВИФЕРОН® — интерферон человеческого рекомбинантный альфа-2b с антиоксидантами (витамины Е и С) при его введении ректально в виде суппозиторий и через катетер.

Методика проведения исследования, используемый препарат и дозы. Исследование выполнялось на кроликах породы Шиншилла. Использовались взрослые самки массой 2 кг и новорожденные кролики обоего пола массой 100 г. Препарат, содержащий рекомбинантный альфа-2b ИФН в дозе 150000 МЕ, токоферола ацетат, аскорбиновую кислоту и масло какао вводили однократно ректально и через катетер каждому животному. Забор крови осуществляли из ушной вены через 0,5 ч после введения, затем — каждый час в течение 8 ч. Содержание ИФН в плазме крови определяли биологическим методом. Определение специфической противовирусной активности проводят в планшетах типа «Costar» (США) на 1—2-суточном монослое культуры клеток — MDBK (перевиваемая линия клеток почек молодого бычка), или Vero (перевиваемая линия клеток почки зелёной мартишки), или СПЭВ (перевиваемая линия клеток почек эмбриона свиньи), используя индикаторный штамм вируса везикулярного стоматита (VSV) или энцефаломиокардита мышей (ЕМС). В качестве стандарта противовирусной активности используют Международный стандартный образец активности (WHO International Standard Interferon alpha 2b, NIBSC code: 95/566 (MCO), или Отраслевой стандартный образец активности интерферона (ОСО 42-28-369-03) (ОСО), или Стандартный образец предприятия (СО). Готовят последовательные десятикратные разведения испытуемых образцов и стандартного образца активности до кон-

центрации 50—500 Ед/мл (исходя из ожидаемой активности препарата). С помощью многоканальной пипетки раститровывают образцы интерферона и стандартных образцов активности.

Через 24 ч инкубации из планшетов удаляют разведения образцов и вносят рассчитанную дозу вируса-индикатора (100 ТЦД₅₀/0,1 мл) по 0,1 мл во все лунки, исключая контрольные.

Учёт результатов проводят при соответствии заражающей дозы вируса 100 ТЦД₅₀/0,1 мл и при отсутствии дегенерации клеточного монослоя в контрольных лунках. За титр образца или стандарта в данном опыте (ED₅₀) принимают величину, обратную разведению препарата, в котором 50% лунок с клеточной культурой оказалась защищённой от цитопатического действия вируса.

Основные полученные результаты. Как при ректальном, так и при введении через катетер фармакокинетические кривые изменения концентрации препарата ВИФЕРОН® в плазме крови не отличаются по своему аналитическому виду и формально описываются двухэкспоненциальной кривой. При этом время полувыведения препарата в обоих случаях не отличалось и составляло 50—100 мин. При ректальном введении препарата ВИФЕРОН® площадь под фармакокинетической кривой уменьшается примерно на 20% по сравнению с введением через катетер, клиренс — на 35%, время достижения максимальной концентрации возрастает на 4 мин. Максимальная концентрация препарата в крови при обоих путях введения сравнима.

Выводы. Ректальное введение препарата ВИФЕРОН® в суппозиториях не приводит к существенному изменению его фармакокинетических параметров по сравнению с введением через катетер. Это позволяет использовать ректальное введение в дальнейших исследованиях как наиболее удобное.

Изучение токсикологических свойств действующего вещества

Целью изучения доклинической безопасности является описание токсических эффектов в отношении органов-мишеней, дозозависимости, взаимосвязи с экспозицией и потенциальной обратимости таких эффектов [2].

В рамках токсикологических исследований предусмотрено изучение общетоксических свойств, местной переносимости, токсикокинетики, репродуктивной токсичности и генотоксичности, а в случае длительного применения лекарственного препарата — канцерогенности. В отдельных случаях также предусмотрено изучение фототоксичности, иммунотоксичности, токсичности на неполовозрелых животных и способности вызывать лекарственную зависимость [2].

Исследование острой токсичности

Исследования острой токсичности направлены на получение сведений о токсических эффектах в остром эксперименте при однократном или многократном введении фармацевтической субстанции в течение короткого промежутка времени (в течение 24 часов) [13]. Исследованием острой токсичности как фундаментальным требованием к безопасности начинаются любые доклинические исследования лекарственных средств. После подтверждения безопасности исследуемого препарата в остром эксперименте переходят к изучению безопасности при длительном (регулярном) применении лекарственного препарата.

Исследования хронической токсичности

Целью исследования хронической токсичности (токсичности при многократном введении лекарственного препарата) является описание токсикологического профиля исследуемого соединения при его многократном введении; оно включает в себя выявление потенциальных органов-мишеней, которые могут подвергнуться токсикологическому воздействию, установление взаимосвязи между экспозицией и ответом на нее, а также потенциальной обратимости токсических эффектов [14].

Требования к дизайну исследования, включая выбор лабораторных животных, диапазон доз, путь и частоту введения, должны основываться на доступных фармакодинамических, фармакокинетических и токсикологических данных, а также предполагаемом клиническом применении [14, 15]; длительность исследования хронической токсичности зависит от последующего способа применения лекарственного препарата в клинической практике [16]. Начальная доза в впервые проводимых клинических исследованиях должна базироваться как на фармакодинамических данных, так и на концентрации, при которой не наблюдается нежелательных явлений (NOAEL) [2].

Практическое изучение хронической токсичности иммунобиологических препаратов рассмотрим на примере препарата ВИФЕРОН®.

Исследование проведено на 10 кроликах-самцах первоначальной массой 2—2,5 кг. Препарат вводили внутримышечно 2 раза в день по 1 свече с 12-часовым интервалом. Каждый суппозиторий содержал 4×10⁶ МЕ ИФН-α, 12,5 мг аскорбиновой кислоты и 2,5 мг токоферола ацетата.

Хроническое введение препарата не влияло на общее состояние и поведение животных. В течение всего срока наблюдения не было отмечено отличий между животными экспериментальной и контрольной групп.

Через 4 недели было отмечено снижение в периферической крови кроликов экспериментальной группы содержания эритроцитов и тромбоцитов, при этом уровень гемоглобина, содержание лейкоцитов и ретикулоцитов не изменилось. В течение всего срока наблюдения свертываемость крови животных обеих групп не отличалась. Также не было отмечено влияния препарата ВИФЕРОН® на биохимические показатели крови. Не было обнаружено различий в активности ферментов печени, уровне креатинина и мочевины в течение всего срока наблюдения. В конце наблюдения не было выявлено различий во влиянии сывороток кроликов двух групп в реакции бласттрансформации.

После эвтаназии при макроскопическом исследовании внутренних органов не было отмечено какого-либо токсического влияния препарата ВИФЕРОН®. Микроскопическому изучению подвергали печень, селезёнку, семенники, надпочечники, кишечник, лимфатические узлы. При микроскопии не было отмечено каких-либо изменений, которые можно было бы связать с токсическим воздействием изучаемого препарата.

Выводы. При хроническом введении препарата ВИФЕРОН® в дозе в 120 раз превышающей терапевтическую препарат не обладает токсическим действием.

Исследование местной переносимости

Целью изучения местной переносимости является установление влияния лекарственного препарата (фармацевтической субстанции и вспомогательных веществ) на ткани и органы в месте его предполагаемого введения в клинической практике. При этом стратегия исследования должна быть построена так, чтобы отличить механическое воздействие или чистое физико-химическое действие от токсикологических и фармакодинамических эффектов исследуемого продукта [17].

В последние годы ввиду разработки новых методов доставки лекарственных препаратов в организм возросло внимание к проблеме местной переносимости. Исследования *in vitro* становятся интегральной частью программы доклинических исследований местной переносимости лекарственных препаратов для медицинского применения, поэтому в современных руководствах предпринимается попытка ограничения таких исследований на животных [18].

Изучение местно-раздражающего действия препарата ВИФЕРОН® в виде мази и геля проведено на лабораторных животных: кроликах породы Шиншилла, морских свинках, крысах линии Вистар и мышах.

Изучение кожно-раздражающего действия. Исследования проведены на кроликах и морских

свинках, группы по 10 животных. На боках симметрично выстригали шерсть. В день эксперимента на один из боков наносили мазь в дозе до 1 г/кг, а на другой — мазевую основу. Реакцию кожи оценивали через 1, 4, 24, 48 и 72 ч.

Для оценки реакции конъюнктивы препарат в дозе 50 мг вводили в конъюнктивальный мешок кролика. Другой глаз служил контролем.

Изучение кожно-резорбтивного действия. Исследования выполнены на кроликах. Мазь и гель наносили ежедневно на предварительно выстриженную боковую поверхность. Дозы — 30 и 300 мг/кг. Животным контрольной группы наносили мазевую основу.

Изучение сенсibilизирующего действия. Эксперименты проводили на мышах. Животных сенсibilизировали однократно подкожно эмульсией альфа2-ИФН в дозе 15000 МЕ/кг (эквивалентная доза). Разрешающую дозу вводили через 5 суток в подушечки задних лапок.

Основные полученные результаты. ВИФЕРОН®, мазь и ВИФЕРОН®, гель не обладают местным раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки при остром и хроническом введении. При изучении морфологического состава крови не было обнаружено различий между животными двух групп. Морфопсия также не выявила особенностей у животных, получавших ВИФЕРОН®. Не выявлено аллергогенного действия препарата ВИФЕРОН® в виде мази и геля.

Исследование генотоксичности

Исследование влияния лекарственного препарата на его способность повреждать ДНК и её репарацию — генотоксичность — является важным аспектом разработки низкомолекулярных лекарственных препаратов.

Первые международные стандарты по проведению исследования генотоксичности были приняты в 1995 г. [19, 20]. С целью оптимизации стандартного набора исследований по выявлению генотоксичности для выявления потенциальных угроз благополучию человека и обеспечению единого руководства по интерпретации их результатов, конечной целью которого является улучшение профиля безопасности по канцерогенному эффекту, возникающему вследствие повреждения генетического материала, в 2011 г. ИСН утвердило новые рекомендации — «Руководство по исследованию генотоксичности и интерпретации данных о лекарственных препаратах для медицинского применения» [21].

В дополнение к этим требованиям на сегодняшний день также разработаны международные требования к примесям, которые могут содержаться в новых действующих веществах и потенциально обладать генотоксичностью [22].

Ввиду особой значимости и генотоксическом потенциале отдельно регламентируются требования к исследованию генотоксичности отдельных химических классов: антисмысловых олигонуклеотидов [23] и иногда индивидуальных веществ [24].

Результаты исследования генотоксичности рассматриваются совместно с данными, полученными в ходе изучения канцерогенности.

Исследование канцерогенности

Целью исследования канцерогенности является выявление онкогенного потенциала на животных и оценить соответствующий риск для человека. Любые опасения, возникшие в ходе лабораторной разработки, токсикологических исследованиях на животных и данных о применении у человека должны влечь за собой изучение канцерогенного потенциала [25]. В связи с чем для лекарственных препаратов были разработаны требования, предъявляемые к проведению таких исследований [26, 27], при этом в силу различий в свойствах и особенностях применения отдельных лекарственных препаратов также регламентируются выбор исследуемой дозы с целью выявления потенциальной канцерогенности [28].

В свете последних достижений биотехнологии и генной инженерии в токсикологических исследованиях всё чаще используются генетически модифицированные организмы, поэтому с целью единого подхода к изучению канцерогенности на трансгенных и других модифицированных животных были разработаны соответствующие рекомендации [29]. В силу высокой клинической и социальной значимости также подготовлены рекомендации к изучению канцерогенности в доклинических исследованиях аналогов инсулина [30] и лекарственных препаратов для лечения инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека [31].

Исследование репродуктивной и онтогенетической токсичности

Считается, что исследования лекарственных препаратов на животных, находящихся в определённой фазы репродуктивного цикла, лучше отражает их влияние на человека и позволяет более точно идентифицировать фазы, подверженные наибольшему риску, поэтому целью исследования репродуктивной токсичности является выявление любых эффектов одного или более действующих веществ на репродукцию млекопитающих на протяжении всего их жизненного цикла (от зачатия особи в первом поколении до зачатия особи во втором) [32].

При этом оценка риска применения лекарственного препарата во время беременности с целью снижения угрозы возникновения врождён-

ных дефектов развития, основанная на всесторонней оценке данных, и снижения неблагоприятного воздействия действующего вещества или его метаболитов на ребёнка, находящегося на грудном вскармливании, установленных по результатам их применения у животных и человека, является принципиальной задачей [33].

В силу особой клинической и социальной значимости нарушений углеводного обмена разработаны подробные требования к изучению репродуктивной токсичности для аналогов человеческого инсулина [34].

В дополнение к стандартным исследованиям репродуктивной токсичности при изучении возможности применения лекарственных препаратов у детей требуется, помимо прочего, проведение исследований на неполовозрелых животных [35].

Приводим пример практического изучения эмбриотоксического действия препарата ВИФЕРОН® в форме суппозиторий в течение всего срока беременности крыс.

Исследования проведены на 50 крысах Вистар (30 самок, 20 самцов), вес 180—200 г. Первым днём беременности считали день обнаружения сперматозоидов в вагинальных мазках самок, подсаженных накануне к самцам в соотношении 3:2. Наблюдение за животными вели в течение всего срока беременности. Самок взвешивали на 1, 7 и 14 дни гестации. Животным вводили дозу препарата ВИФЕРОН®, в 20 раз превышающую максимальную терапевтическую для человека. В пересчёте на 1 кг веса она составляла 285720 МЕ ИФН. Контрольной группе вводили наполнитель. Препарат и контрольное вещество вводили в инертном наполнителе в объёме 0,2 мл на крысу. Препарат и наполнитель перед введением разогревали на водяной бане до 37—39°C, вводили в прямую кишку на глубину 2—2,5 см при помощи туберкулинового шприца и иглы с оливой.

На 22-й день беременности животных умерщвляли путём цервикальной дислокации. При вскрытии брюшной полости исследовали состояние репродуктивных органов: определяли количество жёлтых тел беременности в яичниках, мест имплантации в матке, живых и мёртвых плодов, резорбции. Извлечённые плоды осматривали на предмет выявления аномалий, взвешивали, определяли их краниокаудальный характер.

Основные полученные результаты. Препарат не оказывал влияния на общее течение беременности. Не было отмечено случаев прерывания беременности. ВИФЕРОН® не вызывал аномалий антенатального развития плода. При внешнем осмотре не было отмечено аномалий развития.

Выводы. ВИФЕРОН® не обладает эмбриотоксическим действием.

Изучение эмбриотоксических эффектов препарата ВИФЕРОН® в форме суппозиторий,

проявляющихся в постнатальном периоде жизни потомства

Исследования проведены на крысах Вистар, масса 180—200 г. Животным вводили дозу препарата ВИФЕРОН®, в 20 раз превышающую максимальную терапевтическую для человека. В пересчёте на 1 кг веса она составляла 285720 МЕ ИФН. В опытной группе исследовано потомство от 13 крыс, в контрольной — 12. Для исследований оставляли по 8 крысят в помёте. Изучали физическое развитие, скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов, обучаемость и память.

Основные полученные результаты. В течение всей беременности не было отмечено каких-либо особенностей. Случаев спонтанной прерывания беременности не было.

Не было отмечено различий в физическом развитии животных двух групп. Формирование сенсорных рефлексов (переворачивание на плоскости, отрицательный геотаксис, избегание обрыва, обонятельная реакция, реакция на акустический стимул, открытое поле) также было без особенностей. Способность к тонкой координации движений (переворачивание в воздухе, удержание на вращающемся цилиндре, открытое поле) не отличалась у животных двух групп. Обучаемость и память (активное избегание и его угасание) также не отличались.

Выводы. ВИФЕРОН® в форме суппозиторий не влияет на течение беременности, физическое развитие, скорость развития сенсорно-двигательных рефлексов, эмоционально-двигательное поведение и тонкую координацию движений в постнатальном периоде.

Прочие виды исследований

Исследование **токсикокинетики** — это сбор фармакокинетических данных как компонента доклинических токсикологических исследований или отдельные вспомогательные исследования, направленные на оценку системного воздействия лекарственного препарата с целью интерпретации токсикологических находок [36].

В настоящее время при разработке лекарственных препаратов также рекомендуется исследование их **иммунотоксических свойств**: способности подавлять или, наоборот, усиливать иммунный ответ. Первая ведет к снижению резистентности к инфекционным агентам и ослаблению противоопухолевой защиты, вторая — к возникновению и (или) усугублению аутоиммунных заболеваний и реакциям гиперчувствительности [37], поэтому изучение иммунотоксичности является важным элементом при оценке профиля безопасности новых лекарственных средств.

Для лекарственных препаратов, проникающих в кожу при их наружном или системном при-

менении важно изучить их **фотосенсибилизирующие свойства** — способность действующего вещества вызывать нежелательные лекарственные реакции в присутствии света. Целью таких исследований является выявление фототоксичности, фотоаллергенности, фотогенотоксичности и фотоканцерогенности [38, 39].

Поражение печени, обусловленное применением лекарственных средств, является частым явлением как в доклинических, так и в клинических исследованиях новых лекарственных веществ. Выявление **гепатотоксических нарушений** — процесс, охватывающий весь период разработки лекарственного препарата, а обнаружение гепатотоксического потенциала в доклинических исследованиях часто приводит к замедлению или отмене его разработки [40], поэтому важным требованием к проведению доклинических исследований является выработка единых подходов к оценке таких явлений.

Другим немаловажным, особенно в современных социальных условиях, является обнаружение и выявление потенциала разрабатываемого нового препарата **вызывать лекарственную зависимость**, в связи с чем приняты некоторые подходы к раннему (доклиническому) его выявлению [41—43].

Особенности доклинической разработки отдельных групп лекарственных препаратов

Подходы к **доклинической разработке противоопухолевых средств**, которые заведомо обладают «тяжелым» токсикологическими свойствами, также отличаются от стандартных, поэтому чтобы соблюсти баланс между ожидаемой пользой и возможным риском, к этой терапевтической группе на сегодняшний день предъявляются особые требования [44].

Ввиду особых физико-химических свойств **медицинские газы** также полностью не укладываются в стандартную схему токсикологических исследований, и поэтому для них разработаны особые требования, направленные, преимущественно, на изучение токсичности на дыхательную систему [45].

Доклиническая разработка **комбинированных лекарственных препаратов** должна учитывать возможное взаимодействие между действующими веществами, которое может привести к возникновению новых токсических эффектов, не свойственных отдельным действующим веществам [46].

При наличии у действующего вещества **хиральных свойств** предполагается проведение токсикологических исследований отдельных энантиомеров [47].

Все большее место в современной фармакологии занимают **лекарственные средства биотехнологического происхождения**. При их изучении применимы не все методы доклинической токсикологии.

кологии, разработанные в отношении «классических» лекарственных средств. Данное обстоятельство обуславливает необходимость изучения их эффективности и безопасности по другим программам, в рамках которой предусматривается изучение иммуногенности, но при этом не всегда требуется изучения стандартных токсикологических характеристик, как то: канцерогенность, генотоксичность и др. [48, 49]. При этом особые требования предъявляются к проведению токсикологических исследований **вакцин** [50].

Генная терапия, включающая в себя плазмидные ДНК, вирусные и невирусные векторы, генетически модифицированные вирусы и клетки, разработанные с целью профилактики и лечения заболеваний человека, является современным направлением в медицине. Потенциальная биологическая угроза, которую может нести в себе генная терапия, должна быть выявлена на ранних этапах, в том числе благодаря доклиническим исследованиям [51].

Таким образом, современная доклиническая токсикология учитывает последние достижения фундаментальной фармакологии и разрабатывает дифференцированные методы оценки безопасности лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: <http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html> (дата обращения: 28.11.2011).
2. Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization For Pharmaceuticals, M3(R2). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M3_R2/Step4/M3_R2_Guideline.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
3. Европейское агентство по лекарственным средствам [официальный сайт]. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000083.jsp&mid=WC0b01ac0580027548 (дата обращения: 28.11.2011).
4. Администрация по товарам медицинского потребления Австралии [официальный сайт]. URL: <http://www.tga.gov.au/industry/pm-euguidelines-adopted-nonclinical.htm> (дата обращения: 28.11.2011).
5. Handbook: good laboratory practice (GLP): quality practices for regulated non-clinical research and development - 2nd ed. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data [официальный сайт ВОЗ]. URL: <http://apps.who.int/tdr/publications/training-guideline-publications/good-laboratory-practice-handbook/pdf/glp-handbook.pdf> (дата обращения: 29.11.2011).
6. Lees P., Cunningham F. M., Elliott J. Principles of pharmacodynamics and their applications in veterinary pharmacology. J Vet Pharmacol Ther 2004; 27: 6: 397—414.
7. The Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Safety - M4S(R2). Nonclinical overview and nonclinical summaries of module 2, organisation of module 4. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/CTD/M4_R2_Safety/M4S_R2_.pdf (дата обращения: 28.11.2011).
8. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals, S7A. Международная конференция по гармонизации технических требований к

Современные тенденции

Основополагающими принципами современных доклинических исследований является не только изучение риска для пациента, но и потенциального неблагоприятного влияния на медицинский персонал, лиц, ухаживающих за пациентом, других лиц, находящихся с ним в контакте, на «общество в целом», а также на животных, растения и микроорганизмы [52—54].

Другим общепризнанным принципом является защита животных, в том числе участвующих в доклинических исследованиях [55]. При этом в настоящее время рекомендуется во всех возможных случаях проводить исследования на клеточных и тканевых культурах *in vitro*, избегая включения лабораторных животных в исследование [56, 57].

Учитываются также проблемы контаминации контрольных животных исследуемым веществом [58].

Заключение

Таким образом, доклинические исследования являются важным этапом разработки лекарственных препаратов, являясь обязательным условием перед началом их применения в клинических исследованиях [59].

- регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A_Guideline.pdf (дата обращения: 28.11.2011).
9. Concept Paper on The Development of a CHMP Guideline on the Non-Clinical Requirements to Support Early Phase I Clinical Trials with Pharmaceutical Compounds. Committee for Medicinal Products for Human Use (EMA/CHMP/SWP/91850/2006) официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500003979.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
10. The Non-Clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals, S7B. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7B/Step4/S7B_Guideline.pdf (дата обращения: 28.11.2011).
11. Pharmacokinetics. In Mosby's Dictionary of Medicine, Nursing, & Health Professions, 2009 [электронный ресурс]. URL: <http://www.credoreference.com/entry/ehsmosbymed/pharmacokinetics> (дата обращения: 28.11.2011).
12. Pharmacokinetics and Metabolic Studies in the Safety Evaluation of New Medicinal Products in Animals. Директива 75/318/ЕЕС [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002886.pdf (дата обращения: 28.11.2011).
13. Questions and answers on the withdrawal of the 'Note for guidance on single dose toxicity. Committee for Medicinal Products for Human Use (EMA/CHMP/SWP/81714/2010) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/07/WC500094590.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
14. Repeated dose toxicity. Committee for Medicinal Products for Human Use (CPMP/SWP/1042/99). [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003102.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
15. Guideline on Repeated Dose Toxicity. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/SWP/1042/99 Rev 1 Corr*) [официальный сайт Ев-

- ропейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/03/WC500079536.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
16. Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non Rodent Toxicity Testing), S4. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S4/Step4/S4_Guideline.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
 17. Non-clinical local tolerance testing of medicinal products. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/SWP/2145/00) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003315.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
 18. Concept paper on the need for revision of the Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/SWP/2145/00) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/07/WC500109476.pdf (дата обращения: 29.11.2011).
 19. Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals, S2A. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003146.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 20. Genotoxicity: a Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals, S2B. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003147.pdf (30.11.2011).
 21. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use, S2(R1). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S2_R1/Step4/S2R1_Step4.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 22. Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities. Committee for Human Medicinal Products (EMA/CHMP/QWP/251344/2006) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002903.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 23. CHMP SWP Reflection Paper on The Assessment of the Genotoxic Potential of Antisense Oligodeoxynucleotides. Committee for Human Medicinal Products (Doc. Ref.EMA/CHMP/SWP/199726/2004) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003149.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 24. Position Paper on the genotoxic and carcinogenic potential of phenolphthalein. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/818/97) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Position_statement/2009/09/WC500003148.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 25. Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals, S1A. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S1A/Step4/S1A_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 26. Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals, S1B. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S1B/Step4/S1B_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 27. Carcinogenic potential. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/SWP/2877/00) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003258.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 28. Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals, S1C(R2). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S1C_R2/Step4/S1C_R2_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 29. CHMP SWP Conclusions and recommendations on the use of genetically modified animal models for carcinogenicity assessment. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/SWP/2592/02 Rev 1) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003257.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 30. Points to consider on the Non-clinical assessment of the carcinogenic potential of human insulin analogues. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/SWP/372/01) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003252.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 31. Carcinogenicity Evaluation of Medicinal Products for the Treatment of HIV Infection. Committee for Human Medicinal Products (EMA/194898/2006) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003255.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 32. Detection of Toxicity To Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility, S5(R2). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S5_R2/Step4/S5_R2_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 33. Risk Assessment of Medicinal Products on Human Reproduction and Lactation: From Data to Labelling. Committee for Human Medicinal Products (EMA/CHMP/203927/05) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003307.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 34. Points to consider on the Need for assessment of reproduction toxicity of human insulin analogues. Committee for Human Medicinal Products (CHMP/SWP/169215/05) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003309.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 35. Need for Non-Clinical Testing in Juvenile Animals on Human Pharmaceuticals for Paediatric Indications. Committee for Human Medicinal Products (CHMP/SWP/169215/05) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003305.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 36. Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies, S3A. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S3A/Step4/S3A_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 37. Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals, S8. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S8/Step4/S8_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 38. Guidance on Photosafety Testing. Committee for Human Medicinal Products (CHMP/SWP/398/01) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003353.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
 39. Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals, S10 (Final Concept Paper). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: [48](http://www.ich.org/filead-

</div>
<div data-bbox=)

- min/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S10/Concept_Paper/S10_Final_Concept_Paper_June_2010x.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
40. Non-clinical guideline on drug-induced hepatotoxicity // Committee for Human Medicinal Products (CHMP/SWP/150115/06) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/07/WC500094591.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
41. Non-Clinical Investigation of the Dependence Potential of Medicinal Products. Committee for Human Medicinal Products (CHMP/SWP/94227/04) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003360.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
42. Background to the CPMP Position Paper on selective serotonin uptake inhibitors (SSRIs) and dependency/withdrawal reactions. Committee for Human Medicinal Products (EMA/CPMP/2775/99) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003357.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
43. Background to the CPMP Position Paper on possible pre-clinical studies to investigate addiction and dependence/withdrawal related to the use of selective serotonin uptake inhibitors (SSRIs). Committee for Human Medicinal Products (CPMP/2278/00) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003464.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
44. Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals, S9. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S9/Step4/S9_Step4_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
45. Medicinal Gases: Pharmaceutical Documentation (including recommendation on non-clinical safety requirements for well established medicinal gases). Committee for Human Medicinal Products (CPMP/QWP/1719/00) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003450.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
46. Non-Clinical Development of Fixed Combinations of Medicinal Products. Committee for Human Medicinal Products (CHMP/GTWP/125459/2006) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500003976.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
47. Investigation of chiral active substances. Директива Европейского Союза 75/318/ЕЕС) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002816.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
48. Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals, S6(R1). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения [официальный сайт]. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf (дата обращения: 30.11.2011).
49. Comparability of medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance -annex on non-clinical and clinical issues. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/3097/02*) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003963.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
50. Pre-clinical pharmacological and toxicological testing of vaccines. Committee for Human Medicinal Products (CPMP/SWP/465/95) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004004.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
51. Non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products. Committee for Human Medicinal Products (CHMP/GTWP/125459/2006) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003743.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
52. Guideline on Scientific Requirements for The Environmental Risk Assessment of Gene Therapy Medicinal Products. Committee for Human Medicinal Products (Doc. Ref. EMA/CHMP/GTWP/125491/2006) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003744.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
53. Environmental Risk Assessment for Human Medicinal Products Containing or Consisting of GMOs. Постановление Совета ЕС 2309/93 [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500003989.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
54. Questions and answers on the guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use. Committee for Human Medicinal Products (EMA/CHMP/SWP/44609/2010) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2011/04/WC500105107.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
55. Directive 86/609/EEC on the Protection of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. ATLA 30, Supplement 2, 217-219, 2002.
56. Replacement of Animal Studies by *in vitro* Models // Committee for Human Medicinal Products (CHMP/SWP/728/95) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003354.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
57. Concept paper on the Need for Revision of the Position on the Replacement of Animal Studies by *in vitro* Models (CPMP/SWP/728/95) // Committee for Human Medicinal Products (EMA/CHMP/SWP/169839/2011) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/04/WC500105110.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
58. Evaluation of Control Samples for Non - clinical Safety Studies: Checking for Contamination with the Test Substance. Committee for Human Medicinal Products (CHMP/GTWP/125459/2006) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500003974.pdf (дата обращения: 01.12.2011).
59. Guideline on Strategies to Identify and Mitigate Risks for First-Inhuman Clinical Trials with Investigational Medicinal Products. Committee for Human Medicinal Products (EMA/CHMP/SWP/28367/07) [официальный сайт Европейского агентства по лекарственным средствам]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002988.pdf (дата обращения: 01.12.2011).