

RESEARCH ARTICLE
3. Medical sciences
УДК 615.072

Corresponding Author: Zyryanov Oleg Anatolyevich – Senior
Researcher, Center for Pharmaceutical Technologies, First Moscow State
Medical University. (Sechenov University).
E-mail: zurianov2009@gmail.com

©Brkich G.E., Pyatigorskaya N.V., Kargin V.S., Zyryanov O.A. - 2022

Received: 07.04.2022 | Accepted: 20.05.2022

Doi: <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-5-17-21>

DEVELOPMENT OF THE DESIGN OF A STUDY TO DETERMINE THE EFFICIENCY AND SAFETY OF INNOVATIVE DRUG

Brkich G.E., Pyatigorskaya N.V., Kargin V.S., Zyryanov O.A.

First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

РАЗРАБОТКА ДИЗАЙНА ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ИННОВАЦИОННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

Брких Г.Э., Пятигорская Н.В., Каргин В.С., Зырянов О.А.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Abstract. The review is devoted to the development of a plan for conducting research on an innovative drug, which will allow timely assessment of its effectiveness and safety, and study of its pharmacological and toxic properties. These data will be used to determine the initial safe dose and dose range for clinical studies, as well as to establish parameters for clinical monitoring of potential adverse effects. The aim of this study is to develop a study design to determine the efficacy and safety of an innovative drug. The development of drug study design was carried out using information and analytical materials and methods.

Preclinical studies are carried out according to the developed plan with the introduction of the study protocol and the preparation of a report containing the results of this study, which are used later to conclude on the possibility of conducting clinical studies. Serious adverse clinical and preclinical effects may affect the continuation of clinical development. One of the most significant sections of preclinical studies is the assessment of the specific activity of an innovative drug. In order to determine the feasibility of conducting and designing additional non-clinical and/or clinical studies, these data should be considered as part of the overall clinical development plan. The results of these studies, along with an assessment of the physicochemical, immunochemical properties, potential toxicity, immunogenicity and immunological safety, are the basis for deciding whether it is possible to conduct further clinical trials of an innovative drug for the purpose of its state registration.

The decision to conduct further clinical studies is based on the results obtained in preclinical studies of the medicinal product.

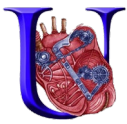
Key words: innovative drugs, preclinical studies, efficacy and safety.

Аннотация. Обзор посвящен разработке плана проведения исследований инновационного лекарственного средства, которые позволят своевременно оценить его эффективность и безопасность, изучить его фармакологические и токсические свойства. Эти данные будут использованы для определения исходной безопасной дозы и диапазона доз для клинических исследований, а также для установления параметров клинического мониторинга потенциальных нежелательных эффектов. Целью настоящего исследования является разработка дизайна исследований по определению эффективности и безопасности инновационного лекарственного средства. Разработка дизайна исследований лекарственных средств была осуществлена с помощью информационно-аналитических материалов и методов.

Доклинические исследования проводятся по разработанному плану с введением протокола исследования и составлением отчета, в котором содержатся результаты данного исследования, используемые в дальнейшем для заключения о возможности проведения клинических исследований. Серьезные нежелательные клинические и доклинические эффекты могут повлиять на продолжение клинической разработки. Одним из наиболее значимых разделов доклинических исследований является оценка специфической активности инновационного лекарственного средства. В целях определения целесообразности проведения и дизайна дополнительных доклинических и/или клинических исследований эти данные необходимо рассматривать в рамках общего плана клинической разработки. Результаты этих исследований, наряду с оценкой физико-химических, иммунохимических свойств, потенциальной токсичности, иммуногенности и иммунологической безопасности, являются основанием для решения вопроса о возможности проведения дальнейших клинических исследований инновационного лекарственного средства с целью его государственной регистрации.

Решение о проведении дальнейших клинических исследований базируется на результатах, полученных при доклинических исследованиях лекарственного средства.

Ключевые слова: инновационные лекарственные средства, доклинические исследования, эффективность и безопасность



Введение. Проведение доклинических исследований является первым этапом разработки инновационного лекарственного средства, которые позволяют своевременно оценить эффективность и безопасность лекарственного средства (ЛС), изучить его фармакологические и токсические свойства. Эти данные используют для определения исходной безопасной дозы и диапазона доз для клинических исследований, а также для установления параметров клинического мониторинга потенциальных нежелательных эффектов [1].

Доклинические исследования безопасности, несмотря на их ограниченный характер в начале клинической разработки, должны быть достаточными для указания потенциальных нежелательных эффектов, которые могут возникнуть в условиях планируемых клинических исследований [2].

Доклинические исследования проводятся по разработанному плану с введением протокола исследования и составлением отчета, в котором содержатся результаты данного исследования, используемые в дальнейшем для заключения о возможности проведения клинических исследований. В целях определения целесообразности проведения и дизайна дополнительных доклинических и/или клинических исследований эти данные необходимо рассматривать в рамках общего плана клинической разработки. Количество экспериментальных животных по этическим соображениям желательно минимизировать путем соблюдения принципа «трех R» («reduction, refinement and replacement», т. е. сокращение, замена и оптимизация), кроме того, необходимо рассмотреть возможность проведения исследований по оценке безопасности с использованием альтернативных методов *in vitro*. Ограничения, связанные с недостатком выборки, которые часто наблюдаются в случае исследований на nHPs, могут быть частично компенсированы повышением частоты и продолжительности мониторинга за их состоянием [1,3].

Способ и частота введений ЛС экспериментальным животным должны быть максимально приближены к предполагаемым для клинического использования. Диапазон доз подбирают таким образом, чтобы обеспечить получение информации о зависимости «доза–эффект», токсической дозе и максимальной дозе, не вызывающей развитие видимых нежелательных реакций (nOAEI). Полученные данные могут быть использованы для оценки максимальной рекомендуемой начальной дозы, назначаемой в первоначальных клинических исследованиях [2,3].

При обосновании выбора высокой дозы препарата необходимо учитывать ожидаемые фармакологические/физиологические эффекты от введения, исследуемого ЛС и планируемое клиническое его использование.

Целью настоящего исследования является разработка дизайна исследований по определению эффективности и безопасности инновационного лекарственного средства.

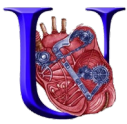
Материалы и методы. Разработка дизайна исследований ЛС была осуществлена с помощью информационно-аналитических материалов и методов. Системный анализ, целостная и критическая оценка фактических результатов доклинических исследований ЛС, проведенных *in vitro* и на животных, а также обсуждение и обоснование стратегии исследования при необходимости отклонения от соответствующих основополагающих принципов проводилась согласно руководствам ICH S7A:2001 "Safety Pharmacology studies for human pharmaceuticals" и ICH M3(R2):2009 "Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals" [4,5].

Результаты и обсуждения. Как только ЛС синтезировано, установлены его структура и свойства, приступают к доклиническому этапу испытаний. Этот этап включает изучение фармакодинамики или, выражаясь языком специалистов «определение специфической активности», а также изучение фармакокинетики и токсичности.

Основные приоритеты доклинического этапа фармакодинамики ЛС состоят из: исследований первичной фармакодинамики – изучения механизма действия и/или эффектов действующих веществ (ДВ) в отношении его целевой терапевтической мишени; исследований вторичной фармакодинамики – изучения механизма действия и/или эффектов ДВ, не связанные с его целевой терапевтической мишенью.

Изучение фармакокинетики нового ЛС на этом этапе проводят по стандартным фармакокинетическим параметрам в режиме однократного введения пероральным путем, показанным для клинического применения. В качестве тест-системы в первую очередь используют крыс, признанных наиболее подходящим видом. На основании результатов фармакокинетики для прототипов ЛС определяют площадь под кривой концентрация/время (AUC). Показатель AUC является одним из ключевых в скрининговых исследованиях с точки зрения понимания биодоступности.

Математически значение определяется как интеграл от 0 до ∞ функции концентрации ЛС в



плазме крови от времени и равен площади фигуры, ограниченной фармакокинетической кривой и осями координат. ДВ с низким значением AUC признаются низко-биодоступными и потенциально высоко-рискованными для дальнейшей разработки ЛС на их основе. Значение AUC ранжируются как «низкие» в зависимости от концентрации ЛС, введенного в биологическую модель.

Острая токсичность – характеристика ЛС, выражающая его способность вызывать гибель животных при однократном введении или при введении через короткие (не более 6 ч) интервалы времени в течение суток.

Целью изучения острой токсичности является определение переносимых, токсических и летальных доз ЛС, причин наступления гибели животных; качественной и количественной характеристики токсических реакций (возможные примеси) возникающих после однократного введения ЛС. При исследовании токсического действия в качестве тест-систем для установления параметров острой токсичности используют два вида лабораторных животных: беспородные белые мыши и беспородные белые крысы, являющиеся стандартным объектом токсикологических исследований. Параметры острой токсичности ЛС могут быть вычислены с помощью различных статистических методов, однако предпочтительнее пользоваться методами, позволяющими провести сравнительную оценку исследованных параметров для двух или более ДВ.

При этом устанавливается ориентировочная ЛД₅₀ методом Кербера и Миллера. Затем определяются точные показатели ЛД₁₆, ЛД₅₀ ± m, ЛД₈₄ методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксона [3].

Степень и класс токсичности ЛС оценивают по Н. Hodge et al. [7] Использованный метод расчета среднелетальных доз обязательно указывается в отчете. В исследованиях с использованием крупных животных достаточно описания токсических эффектов без достижения летальности.

От взаимодействия ДВ и вспомогательных веществ зависит их фармацевтическая совместимость. На этом этапе доклинические исследования проводят с целью изучения специфической токсичности, хронической токсичности и изучения фармакокинетики [7, 8]. Специфическая токсичность обусловлена воздействием токсического ДВ на структуры или процессы, не жизненно необходимые для самой клетки-мишени, но являющиеся критическими для организма в целом. Для комплексного исследования токсического действия химических соединений *in vitro* необходимо сочетание нескольких экспериментальных моделей: изучение подавления жизнеспособности

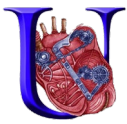
дифференцированных клеток; исследование влияния биотрансформации на цитотоксичность; изучение подавления пролиферации на активно делящихся культурах; исследование воздействия на специфические функции клеток.

Изучение иммунотоксических свойств проводится с целью определения влияния потенциальных ЛС на иммунную систему, чтобы в эксперименте на животных доказать или исключить возможность развития иммунотоксического действия, вызванного ЛС или его метаболитами. Сущность данного метода заключается в оценке влияния, введенного в организм животных испытуемого ЛС на генетический аппарат клеток костного мозга, чувствительный к воздействиям химических ДВ и физических факторов. Аберрации хромосом анализируют после введения, изучаемого ЛС по разработанной схеме [8].

Исследование мутагенности новых ЛС и вспомогательных веществ проводится для доклинического изучения безопасности их применения. Тест Эймса предназначен для выявления способности ДВ или их метаболитов индуцировать генные мутации у индикаторных штаммов *S.typhimurium* и *E.coli*. Используют штаммы бактерий, в гистидиновый (*S.typhimurium*) или триптофановый (*E.coli*) оперон которых внесены точковые мутации, ведущие к нарушению синтеза этих аминокислот и неспособности бактерий к росту на среде, не содержащей указанные аминокислоты (гистидин и триптофан). Индукция в результате мутагенного воздействия обратных мутаций по типу замены пар оснований или сдвига рамки считывания, соответственно, в генах His или Trp этих тестерных штаммов приводит к реверсии прототрофности бактерий по этим аминокислотам и способности к росту на безгистидиновой или безтриптофановой среде, соответственно.

Для определения ЛД₅₀, перед проведением экспериментов проводят тестирование ЛС на цитотоксичность для клеточных культур. При изучении токсичности ЛС на клеточной культуре нормальной печени человека выбирают концентрации ЛД₅₀, ЛД 100 и максимально нетоксичная концентрация ЛД 0. Метод позволяет изучить как прямое действие исследуемого ЛС на тестируемые штаммы, так и действие его метаболитов, образующихся под влиянием ферментов микросомального окисления, содержащихся в постмитохондриальном супернатанте гомогената печени крысы — индуцированной микросомальной фракции печени крысы S9. Положительным контролем к S9 является 2-аминоантрацен (Sigma, США), 5 мкг/мл [8].

Канцерогенность – способность препарата повышать риск развития новых злокачественных новообразований. При оценке канцерогенности необходимо также учитывать способность ЛС активировать процессы пролиферации опухолевых



клеток и прогрессирования существующих опухолей. Необходимость в оценке канцерогенного потенциала, исследуемого ЛС определяют с учетом популяции с предполагаемой патологией и продолжительности его клинического использования. В случае двух позитивных результатов в цитогенетическом тесте и тесте Эймса делается заключение о канцерогенной опасности и ЛС не подвергается дальнейшим исследованиям. В случае трех отрицательных тестов следует заключение об отсутствии канцерогенной опасности [9].

Исследование аллергизирующих свойств и их оценка проводится по следующим тестам: реакция общей анафилаксии на морских свинках; активная кожная анафилаксия на морских свинках; конъюнктивальная проба на морских свинках; реакция гиперчувствительности «замедленного» типа; метод накожных аппликаций; дегрануляции тучных клеток; оценка уровня IgE методом иммуноферментного анализа (по требованию). Изучение по выявлению репродуктивной токсичности включают в себя следующие исследования: исследования по изучению влияния на генеративную функцию; исследования по изучению эмбрио- и фенотоксического действия, регистрируемых в антенатальном и постнатальном периодах развития.

Под эмбриотоксическими свойствами понимают способность того или иного ЛС оказывать токсическое действие на развивающиеся зародыши. Эмбриотоксичность может проявляться как в повышении уровня эмбриональной смертности, так и в виде анатомических, гистологических, цитологических, биохимических, нейрофизиологических отклонений от нормы, проявляющихся до или после рождения [10]. Исследования хронической токсичности при многократном введении направлены на выявление всех физиологических и анатомо-патологических изменений, обусловленных многократным введением испытуемого ЛС или комбинации ДВ, а также для установления, каким образом указанные изменения

соотносятся с дозой [1,8-10]. При оценке местно-раздражающего действия изучается возможное токсическое действие изучаемого ЛС в месте введения. Так, например, для ЛС, применяемых перорально, проводится макроскопическое и гистологическое изучение органов пищеварительного тракта. Для того чтобы доказать возможность ограниченного введения в организм человека не с терапевтической целью, например, однократной дозы для определения абсолютной биодоступности обычно достаточно исследования переносимости с местным введением однократной дозы на одном виде подопытных животных [10].

Целью исследования фармакокинетики разработанного ЛС является количественная характеристика процессов его всасывания, распределения и элиминации (метаболизм и экскреция). Знание фармакокинетических свойств ЛС позволяет обосновать выбор путей и методов его введения, выявить ткани, в которые оно проникает наиболее интенсивно и/или в которых удерживается наиболее длительно, установить основные пути элиминации [7,11]. На этом этапе основные приоритеты проведения исследований фармакокинетики и метаболизма состоят из: исследований фармакокинетического профиля в крови, биодоступность; исследований абсорбции и биофармацевтических свойств; исследований распределения по органам и тканям; исследований метаболизма; исследований выведения; исследований фармакокинетических лекарственных взаимодействий [12].

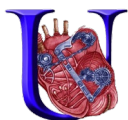
Выводы. Таким образом, клинические испытания можно начинать только в том случае, если соблюдены следующие основные требования: информация о доклинических испытаниях убедительно показывает, что препарат может быть использован при лечении данной конкретной патологии; план клинических испытаний разработан адекватно и, следовательно, клинические испытания могут обеспечить надежную информацию об эффективности и безопасности ЛС.

REFERENCES

- [1]. Guidelines for preclinical studies of drugs. (2012) Part One (Mironov A.N., ed.). M. Grif and K, 2012. P. 944.
- [2]. E. Sohlberg, M.M Halldin, A. Annas, K. Knigsson, B. Jansson, R. Pehrson, N. Borg. The impact of the site of blood sampling on pharmacokinetic parameters following sublingual dosing to dogs // J Pharmacol Toxicol Methods. 2012. V. 63. № 1. P. 1-4.
- [3]. Emelyanova N. B. Acute oral and cutaneous toxicity of antiparasitic salt briquettes on laboratory animals. Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal. 2013; 4: 97-99. (In Russ.)
- [4]. ICH S7A:2001 «Safety Pharmacology studies for human pharmaceuticals»
- [5]. ICH M3(R2):2009 «Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals».
- [6]. Hodge H.C., Sterner J.H. Tabulation of toxicity classes. Am Ind Hyg Assoc Q. 1949. № 10(4). P.93-96.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- [1]. Guidelines for preclinical studies of drugs. (2012) Part One (Mironov A.N., ed.). M. Grif and K, 2012. P. 944.
- [2]. E. Sohlberg, M.M Halldin, A. Annas, K. Knigsson, B. Jansson, R. Pehrson, N. Borg. The impact of the site of blood sampling on pharmacokinetic parameters following sublingual dosing to dogs // J Pharmacol Toxicol Methods. 2012. V. 63. № 1. P. 1-4.
- [3]. Емельянова Н.Б. Острая пероральная и накожная токсичность противопаразитарных солевых брикетов на лабораторных / Российский паразитологический журнал. 2013; 4: 97-99.
- [4]. ICH S7A:2001 «Safety Pharmacology studies for human pharmaceuticals»
- [5]. ICH M3(R2):2009 «Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals».
- [6]. Hodge H.C., Sterner J.H. Tabulation of toxicity classes. Am Ind Hyg Assoc Q. 1949. № 10(4). P.93-96.



- [7]. Brkich, G. E., Pyatigorskaya, N. V., Beregovykh, V. V., Nedorubov, A. A., Filippova, O. V., Zyryanov, O. A. (2020). Pharmacokinetic properties of an innovative nootropic agent based on a derivative of 3,7-diazabicyclo [3.3.1] nonane. *Biomed-itsinskaya Khimiya*, 66(1), 71-76. doi:10.18097/PBMC20206601071.
- [8]. Preclinical study of drugs: industrial pharmacy / Zh. I. Aladysheva, VV Beregovykh, NN Volkhin Nikita Nikol [and oth-ers]. - Moscow: R-Pharm Group of Companies, 2021. - 400 p. - ISBN 978-5-906499-72-1. (In Russ.)
- [9]. Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Under the general editorship of Cor-responding Member. RAMS, prof. R. U. Khabrieva M.: Medicine, 2005; 832. (In Russ.)
- [10]. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – old drug, new tricks? *Trends in parasitology*. 2017; 33(6). P. 463-472. Retskiy M. I., Kaverin N. N., Argunov M. N. Toxicology. Part 1. Textbook for universities. Voronezh, 2006; 55. (In Russ.).
- [11]. Retskiy M. I., Kaverin N. N., Argunov M. N. Toxicology. Part 1. Textbook for universities. Voronezh, 2006; 55. (In Russ.).
- [12]. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.
- [7]. Брких Г.Е. и соавт. Фармакокинетические свойства инновационного ноотропного средства на основе производного 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонана // Биомедицинская химия. - 2020. - Т. 66. - N 1. - С. 71-76.
- [8]. Доклиническое изучение лекарственных средств: промышленная фармация / Ж. И. Аладышева, В. В. Береговых, Н. Н. Вольхин Никита Никол [и др.]. – Москва: Группа компаний «Р-Фарм», 2021. – 400 с. – ISBN 978-5-906499-72-1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей редакцией член-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.
- [9]. Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Under the general editorship of Cor-responding Member. RAMS, prof. R. U. Khabrieva M.: Medicine, 2005; 832. (In Russ.)
- [10]. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – old drug, new tricks? *Trends in parasitology*. 2017; 33(6). P. 463-472.
- [11]. Рецкий М. И., Каверин Н. Н., Аргунов М. Н. Токсикология. Часть 1: учебное пособие для ВУЗов. Воронеж, 2006. 55 с.
- [12]. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Authors Contributions. G.E. Brkich - analysis of literary sources and writing the text of the manuscript; N.V. Pyatigorskaya - reviewer of the manuscript; O.A. Zyryanov - Evaluation of the relevance and information content of the written manuscript; V.S. Kargin - analysis of literary sources.

Conflict of interests. The authors declare no conflicts of interest.

Brkich G.E. – SPIN ID: 6677-0344 ORCID ID: 0000-0002-3469-9062

Pyatigorskaya N.V. – SPIN ID: 8128-1725 ORCID ID: 0000-0003-4901-4625

Zyryanov O.A. – SPIN ID: 7658-8201 ORCID ID: 0000-0001-9038-8720

Kargin V.S. – SPIN ID: 1557-6264 ORCID ID: 0000-0002-7584-1467

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90034/20.

For citation: Brkich G.E., Pyatigorskaya N.V., Kargin V.S., Zyryanov O.A. DEVELOPMENT OF THE DESIGN OF A STUDY TO DETERMINE THE EFFICIENCY AND SAFETY OF INNOVATIVE DRUG // Medical & pharmaceutical journal «Pulse». - 2022. - Vol.24. №5. - pp. 17-21. Doi: <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-5-17-21>.

Для цитирования: Брких Г.Э., Пятигорская Н.В., Каргин В.С., Зырянов О.А. РАЗРАБОТКА ДИЗАЙНА ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ИННОВАЦИОННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА // Медико-фармацевтический журнал "Пульс". - 2022. - Т.24. №5. - С. 17-21. Doi: <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-5-17-21>.