ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 56699— 2015

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Доклинические исследования безопасности биотехнологических лекарственных препаратов. Общие рекомендации

(ICH S6(R1):2011, Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 458 «Разработка, производство и контроль качества лекарственных средств» на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 458 «Разработка, производство и контроль качества лекарственных средств»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11 ноября 2015 г. № 1760-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу ICH S6(R1):2011 «Доклинические исследования безопасности биотехнологических лекарственных средств [ICH S6(R1):2011 «Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals», IDT].

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе стандартов «Лекарственные средства для медицинского применения», а также для приведения в соответствие с ГОСТ Р 1.5—2012 (пункт 3.5)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Сентябрь 2019 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2016, 2019

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Требования к качеству используемых в исследованиях препаратов . . . 1
3 Доклинические исследования безопасности . . . 2
3.1 Общие принципы . . . 2
3.2 Оценка биологической активности/фармакодинамики . . . 2
3.3 Виды лабораторных животных/выбор модели . . . 3
3.4 Количество/пол животных в исследовании . . . 5
3.5 Путь введения/выбор дозы . . . 6
3.6 Дизайн исследования . . . 6
3.7 Иммуногенность . . . 7
4 Специальные исследования . . . 8
4.1 Фармакологическая безопасность . . . 8
4.2 Оценка экспозиции . . . 8
4.3 Исследования токсичности при однократном введении . . . 9
4.4 Исследования токсичности при многократном введении . . . 9
4.5 Исследования иммунотоксичности . . . 10
4.6 Исследования репродуктивной и онтогенетической токсичности . . . 10
4.7 Исследования генотоксичности . . . 13
4.8 Исследования канцерогенности . . . 14
4.9 Исследования местной переносимости . . . 15
Библиография . . . 16

Введение

Первые разработки биотехнологических лекарственных препаратов (биофармацевтических препаратов) были начаты в начале 1980-х годов. Спустя десять лет они были впервые зарегистрированы. Различными регуляторными органами были изданы несколько руководств и рекомендации в отношении оценки безопасности таких лекарственных препаратов. Данные документы являются источником полезной информации при разработке новых биотехнологических лекарственных препаратов.

В настоящее время накоплен богатый опыт, полученный при регистрации биотехнологических лекарственных препаратов. Всесторонняя оценка этого опыта послужила основой создания настоящего документа, предназначенного для установления общих принципов планирования научно обоснованных программ изучения доклинической безопасности.

В целом регуляторные требования Европейского союза, Японии и Соединенных Штатов к биотехнологическим лекарственным препаратам сопоставимы друг с другом. Все страны, применяющие международные руководства ICH, используют гибкие индивидуальные научно обоснованные подходы к исследованиям доклинической безопасности, необходимым для обоснования возможности проведения клинических исследований и государственной регистрации. В этой быстро развивающейся научной области существует необходимость достижения согласованного видения и постоянного обсуждения проблем странами, применяющими международные руководства ICH.

Главными целями доклинических исследований безопасности являются: 1) установление начальной безопасной клинической дозы и схем последующего повышения дозы при введении людям; 2) установление потенциальных органов-мишеней, подверженных токсическому влиянию, а также установление обратимости такой токсичности; 3) установление параметров безопасности для клинического наблюдения. Соблюдение принципов, установленных настоящим стандартом, позволит улучшить качество и согласованность доклинических данных по безопасности, необходимых для клинической разработки биотехнологических лекарственных препаратов.

Несмотря на то что в данном документе не рассмотрены вопросы использования методов оценки безопасности *in vitro*, их необходимо учитывать. Эти методы при условии их одобрения всеми регуляторными органами стран, применяющих руководства ICH, могут заменить собой текущие стандартные методики. Настоящий документ способствует безопасной и этичной разработке и доступности новых лекарственных препаратов для пациентов.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Доклинические исследования безопасности биотехнологических лекарственных препаратов. Общие рекомендации

Medicines for medical applications.
Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals. General recommendations

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает подходы к проведению доклинических исследований для оценки безопасности биотехнологических лекарственных препаратов. Стандарт распространяется на лекарственные препараты, полученные на хорошо описанных культурах клеток с использованием различных экспрессирующих систем, включая бактериальные клетки, клетки дрожжей, насекомых, растений и млекопитающих. Предполагаемые показания к применению этих препаратов могут включать диагностику, лечение и профилактику *in vivo*. Действующими веществами могут являться белки и пептиды, их производные и продукты, в которых они являются компонентами; они могут быть получены из культур клеток или с помощью технологии рекомбинантной ДНК, включая получение с использованием трансгенных растений и животных. Примерами таких препаратов являются (но не ограничиваются ими): цитокины, активаторы плазминогена, рекомбинантные факторы свертывания крови, факторы роста, гибридные белки (химерные белки), ферменты, рецепторы, гормоны и моноклональные антитела.

Принципы, изложенные в настоящем стандарте, могут быть применимы к белковым вакцинам, полученным по технологии рекомбинантной ДНК; пептидам, полученным путем химического синтеза; лекарственным препаратам, полученным из плазмы; эндогенным белкам, выделенным из тканей человека, и олигонуклеотидным лекарственным препаратам.

Область применения настоящего стандарта не распространяется на антибиотики, экстракты аллергенов, препараты гепарина, витамины, клеточные компоненты крови, традиционные бактериальные или вирусные вакцины, ДНК-вакцины, препараты для генной и клеточной терапии.

Для биотехнологических лекарственных препаратов, предназначенных для применения в онкологии, следует применять руководство [4] по доклинической оценке противоопухолевых лекарственных препаратов.

2 Требования к качеству используемых в исследованиях препаратов

Наличие примесей или контаминантов может оказывать негативное влияние на безопасность. Более предпочтительным считается введение в технологический процесс процедур очистки продуктов от примесей и контаминантов, проведение доклинических исследований для оценки их безопасности. В любом случае разрабатываемый препарат должен быть охарактеризован в достаточной мере для надлежащего планирования доклинических исследований безопасности.

Контаминанты из клетки-хозяина бактериальной природы, клеток дрожжей, насекомых, растений и млекопитающих являются возможными источниками риска. Наличие в препарате контаминантов из клеток-хозяина может привести к развитию аллергических реакций и проявлению иных иммунопатологических эффектов. Теоретически могут возникать нежелательные явления, обусловленные контаминацией препарата нуклеиновыми кислотами, к ним относится и возможное встраивание нуклеиновых кислот в геном реципиента. Лекарственные препараты, полученные из клеток насекомых, растений и

Издание официальное

млекопитающих, трансгенных растений и животных могут обладать дополнительным риском, связанным с вирусными инфекциями.

Лекарственные препараты, используемые в определенных фармакологических и токсикологических доклинических исследованиях, должны быть сопоставимы с препаратами, предполагаемыми для клинических исследований. Однако допускается, что в ходе реализации программ разработки с целью улучшения качества лекарственного препарата и эффективности его производства в технологический процесс могут быть внесены изменения. Потенциальное влияние таких изменений на возможности экстраполяции данных, полученных у животных, на человека должно быть учтено.

Если в ходе реализации программы разработки вводятся новые или модифицированные технологические процессы, вносятся значительные изменения в действующее вещество или состав лекарственного препарата, необходимо подтвердить сопоставимость используемых в исследованиях препаратов. Сопоставимость изучают путем сравнения биохимических и биологических свойств (подлинности, чистоты, стабильности и активности). В некоторых случаях могут потребоваться дополнительные исследования (фармакокинетические, фармакодинамические и/или исследования безопасности). Необходимо представить научное обоснование принятому подходу.

3 Доклинические исследования безопасности

3.1 Общие принципы

Целью доклинических исследований безопасности является определение фармакологических и токсикологических аффектов не только до начала исследований у человека, но на протяжении всей программы клинической разработки. Для этого проводят исследования как *in vitro*, так и *in vivo*. Для биотехнологических лекарственных препаратов, сопоставимых по структуре и фармакологическим свойствам с лекарственными препаратами с широким опытом клинического применения, может потребоваться меньший объем токсикологических исследований.

В планировании доклинических исследований безопасности необходимо учитывать:

1) выбор подходящих видов животных;

2) возраст;

3) физиологическое состояние;

4) способ введения, включая дозу, путь введения, режим дозирования;

5) стабильность исследуемого препарата в условиях применения.

Токсикологические исследования рекомендуется проводить в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice, GLP), однако некоторые исследования с использованием специализированных тест-систем, которые часто требуются при исследованиях биотехнологических лекарственных препаратов, могут не в полной мере соответствовать требованиям GLP. Необходимо определить такие несоответствия и оценить их значимость в отношении общей оценки безопасности. В некоторых случаях неполное соответствие правилам GLP не ведет к неприменимости полученных результатов для обоснования возможности проведения клинических исследований и государственной регистрации.

Ввиду уникальных различных структурных и биологических свойств биотехнологических лекарственных препаратов, включающих видоспецифичиость, иммуногенность и непредсказуемую плейотропную активность, традиционные подходы к исследованию токсичности лекарственных препаратов могут быть не применимы.

3.2 Оценка биологической активности/фармакодинамики

Для определения клинической значимости эффектов лекарственного препарата может проводиться оценка биологической активности *in vitro* с помощью количественных методов. Использование клеточных линий и/или первичных культур клеток может быть информативно для изучения прямого действия на клеточный фенотип и пролиферацию клеток. Ввиду видоспецифичности большинства биотехнологических лекарственных препаратов большое значение для исследований токсичности имеет правильный выбор соответствующих видов лабораторных животных. Данные исследований *in vitro* на клеточных линиях, полученные из клеток млекопитающих, могут быть использованы для прогнозирования определенных параметров активности препарата *in vivo* и количественной оценке относительной чувствительности различных видов животных (а также человека) к биотехнологическому лекарственному препарату. Например, такие исследования проводят для

определения связывания с рецептором, аффинности связи с рецептором и/или фармакологических эффектов, а также для определения подходящих видов животных для дальнейших фармакологических и токсикологических исследований *in vivo*. Совокупные данные исследований *in vitro* и *in vivo* помогают провести экстраполяцию полученных результатов на человека. Исследования *in vivo*, направленные на изучение фармакологической активности, включая определение механизма(ов) действия, часто используют для обоснования предлагаемого применения лекарственного препарата в клинических исследованиях.

Для моноклональных антител необходимо подробно описать их иммунологические свойства, включая антигенную специфичность, связывание с комплементом и любую неспецифическую реактивность и/или цитотоксичность в отношении тканей человека, отличных от предполагаемых мишеней. Необходимо провести исследования перекрестной реактивности с использованием соответствующих иммуногистохимических методик на различных тканях человека.

3.3 Виды лабораторных животных/выбор модели

Биологическая активность наряду с видо- и/или тканеспецифичностью многих биотехнологических лекарственных препаратов предопределяют дизайн стандартных токсикологических исследований на широко используемых видах животных (например, крысы и собаки). В программы оценки безопасности должны быть включены подходящие виды лабораторных животных. Подходящими видами животных являются виды, у которых исследуемый препарат (материал) проявляет фармакологическую активность вследствие экспрессии рецептора или эпитопа (для моноклональных антител). Для установления подходящих видов животных могут применяться различные методики (например, иммунохимические или функциональные тесты). Данные о распределении рецептора/эпитопа могут предоставить более углубленное понимание потенциальной токсичности *in vivo*.

Подходящими видами животных для изучения моноклональных антител являются те из них, которые экспрессируют требуемый эпитоп и обладают аналогичным профилю перекрестной тканевой реактивности у человека. Это позволяет улучшить возможность изучения токсичности, обусловленной связыванием с эпитопом и любой неспецифической перекрестной тканевой реактивностью. Виды животных, не экспрессирующие требуемый эпитоп, могут все же оказаться частично пригодными для изучения токсичности, если подтверждена сопоставимая с человеком неспецифическая перекрестная тканевая реактивность.

Обычно в программу оценки безопасности включают два подходящих вида животных. Однако в определенных случаях при достаточном обосновании допускается использовать один подходящий вид животных (например, если подходящим оказывается только один вид животных или биологическая активность исследуемого лекарственного препарата хорошо изучена). К тому же даже если изучение токсичности на двух видах лабораторных животных необходимо в краткосрочных исследованиях, то при наличии достаточного обоснования допускается использование лишь одного вида животных в последующих долгосрочных исследованиях токсичности (например, если профили токсичности у двух видов животных схожи между собой в краткосрочных исследованиях).

Данные токсикологических исследований на неподходящих видах животных могут вводить в заблуждение, и поэтому их проведение не рекомендуется. В отсутствие подходящих видов животных следует рассмотреть возможность использования подходящих трансгенных животных, экспрессирующих человеческий рецептор, или использование гомологичных белков. Данные, полученные при использовании в исследованиях трансгенных животных моделей, экспрессирующих человеческий рецептор, подвергают оптимизации, если взаимодействие между лекарственным препаратом и гуманизированным рецептором имеет схожие с ожидаемыми у человека физиологические последствия. Несмотря на то что требуемые данные можно получить путем использования гомологичных белков, необходимо учитывать, что процесс производства, профиль примесей/контаминантов, фармакокинетические параметры и точный(е) механизм(ы) действия гомологичного белка могут отличаться от лекарственного препарата, предназначенного для клинического применения. При невозможности использования трансгенных животных и гомологичных белков допускается оценивать некоторые аспекты потенциальной токсичности в ограниченных токсикологических исследованиях на одном виде животных, например исследование токсичности при многократном введении длительностью менее или равном 14 дням, которое включает изучение важных функциональных конечных точек, таких как сердечно-сосудистые и дыхательные.

В последние годы наметился значительный прогресс в разработке животных моделей заболеваний, которые считаются подобными заболеваниям человека. Такие животные модели включают

спонтанные и индуцированные модели заболевании, нокаут гена(ов) и трансгенные животные. Эти модели позволяют определить не только фармакологическое действие лекарственного препарата, фармакокинетические параметры и подбор дозы, но и изучить безопасность (например, оценить нежелательное стимулирование прогрессирования заболевания). В определенных случаях исследования, проведенные на животных моделях заболеваний, могут быть использованы в качестве приемлемой альтернативы токсикологическим исследованиям у нормальных животных (примечание 1) при наличии научно обоснованного использования таких животных моделей заболевания для демонстрации безопасности препарата.

Примечание 1 — Модели заболевания у животных могут способствовать определению конечных точек для токсикологических исследований, выбору показаний клиническому применению и определению наиболее оптимальных составов препарата, пути введения и режима дозирования. Следует отметить, как правило, в исследованиях на животных моделях заболевания недостаточно архивных данных для использования их в качестве сравнения. Поэтому в оптимальном плане исследования должны быть предусмотрены сбор данных сопутствующих контрольных групп и исходных данных.

3.3.1 Общие принципы выбора подходящих видов животных

При определении пригодных для исследования видов лабораторных животных необходимо учитывать ряд факторов. Начальной точкой программы может быть сравнение гомологичности последовательностей мишеней у различных видов животных с последующими испытаниями *in vitro*, направленными на проведение качественных и количественных межвидовых сравнений относительной связывающей способности (сродства) исследуемого препарата с мишенью, связывания с рецептором/лигандом и кинетики такого связывания.

Также рекомендуется проведение оценки функциональной активности. Функциональная активность продукта может быть показана на видоспецифичных клеточных системах и/или в рамках фармакологических или токсикологических исследований *in vivo*. Для обоснования пригодности вида животных для исследования подтверждением наличия функциональной активности может служить модуляция известной биологической реакции или показателей фармакодинамического (ФД) маркера.

Результаты изучения различий между видами по связыванию с мишенью и функциональной активности с точки зрения предлагаемого режима дозирования должны подтверждать способность биологической модели в отношении выявления потенциально нежелательных последствий модуляции мишени. Если экспрессия мишени у типичных здоровых видов лабораторных животных очень низкая (например, воспалительные цитокины или опухолевые антигены), для выбора видов животных достаточно исследований связывающей способности и активности на клеточных системах.

Оценка перекрестной тканевой реактивности на тканях животных представляет ограниченную ценность для выбора подходящих видов лабораторных животных (примечание 2). Однако в отдельных случаях (когда с помощью вышеописанных подходов невозможно найти фармакологически подходящие виды животных) исследования перекрестной тканевой реактивности (ПТР) могут помочь в выборе видов лабораторных животных для токсикологических исследований, так как позволяют провести сравнение профилей связывания с тканями у человека и животных, с которыми ожидается связывание мишени.

Примечание 2 — Исследования перекрестной тканевой реактивности (ПТР) представляют собой изучение связывания с тканями *in vitro* с использованием иммуногистохимических (ИГХ) методов, проводимых с целью определения связывающей способности антител и подобных им лекарственных препаратов с антигенными детерминантами в тканях. С целью показать распределение мишеней/участков связывания вместо ИГХ допускается использовать другие методы. Проведение исследования ПТР на панели тканей человека рекомендуется как компонент оценки безопасности, необходимый для начала клинической разработки. Однако в некоторых случаях исследуемый лекарственный препарат плохо поддается ИГХ-определению, поэтому проведение исследования ПТР в таких случаях невозможно. По результатам исследований ПТР можно получить ценную информацию о распределении мишени, а также сведения о потенциально неожиданном связывании. Связывание с тканями *per se* не предопределяет наличие биологической активности *in vivo*. К тому же связывание с участками, которые обычно недоступны для антител *in vivo* (например, цитоплазмой), как правило, считается незначимым. Результаты необходимо оценивать и интерпретировать на основании всего набора данных по изучению фармакологических и токсикологических свойств. При обнаружении неожиданного связывания с тканями человека оценка определенных тканей животных может представлять дополнительные сведения о потенциальной взаимосвязи или отсутствии таковой с доклинической токсикологией. Проведение исследования ПТР с полным набором тканей животных не рекомендуется. В силу того, что лекарственные препараты биспецифичных антител подлежат исследованию ПТР на панели тканей человека, отдельные связывающие компоненты исследовать не требуется. Изучение связывания с тканями гомологичных белков не рекомендуется, так как оно не обеспечивает дополнительную ценность, если исследования ПТР проведены с исследуемым лекарственным препаратом на панели тканей человека.

Исследования ПТР не способны обнаружить незначительные изменения ключевых параметров качества. Поэтому проведение исследований ПТР с целью оценки сопоставимости опытного образца, полученного вследствие изменения процесса производства в ходе программы разработки, не рекомендуется.

При отсутствии подходящих видов животных вследствие отсутствия взаимодействия биотехнологического лекарственного препарата с ортологическими мишенями любого из исследованных видов допускается использовать гомологичные молекулы или трансгенные модели.

Для моноклональных антител и других препаратов антител, направленных на чужеродные мишени (бактериальные, вирусные и т. д.), допускается проведение краткосрочного исследования безопасности (см. 3.3) на одном виде животных (такой выбор необходимо обосновать). Дополнительные исследования токсичности, включая исследование репродуктивной токсичности, не требуются. В качестве альтернативы, при использовании для подтверждения принципа действия лекарственного препарата животных моделей заболевания, допускается включать в дизайн исследований оценку безопасности с целью получения информации о потенциальных рисках безопасности, связанных с мишенью. Если такой дизайн исследования нецелесообразен, необходимо разработать надлежащие стратегии по управлению рисками при проведении клинических исследований.

При выборе видов лабораторных животных для токсикологических исследований конъюгата антитело-лекарственного препарата/токсина (КАЛП), включающего новый токсин/токсикант, следует руководствоваться общими принципами, применяемыми в отношении неконъюгированных антител (см. выше и примечание 3).

Примечание 3 — Если для оценки безопасности КАЛП использовались два вида животных, необходимо провести краткосрочное исследование или включить группу в краткосрочное исследование не менее чем на одном виде животных неконъюгированного токсина. Если токсин обладает активностью у грызунов, то в этих случаях предпочтительно использовать эти виды животных. Если существует только один фармакологически подходящий вид животных, то КАЛП изучают на нем. При изучении нового токсиканта используют подход к выбору вида животных, подобный тому, который используют при изучении нового химического соединения, — поэтапно (например, противоопухолевые лекарственные препараты изучают в соответствии с методическими рекомендациями по доклинической оценке противоопухолевых лекарственных препаратов). Для известных токсинов и токсикантов, в отношении которых накоплен достаточный научный опыт, отдельное изучение неконъюгированного токсина не требуется. Необходимо представить данные, позволяющие сравнить метаболическую стабильность КАЛП у животных и человека.

3.3.2 Определение использования одного или двух видов животных

Если для исследования имеются два фармакологически пригодных вида животных (один — грызуны и другой — не принадлежащий к этому отряду), то краткосрочные (продолжительностью до одного месяца) общетоксикологические исследования должны быть проведены на обоих видах. Если результаты таких исследований схожи или объяснимы механизмом действия исследуемого лекарственного препарата, то долгосрочные общетоксикологические исследования на одном виде животных считаются, как правило, приемлемыми. В отсутствие научных обоснований для этих исследований следует выбрать грызунов. Исследования на двух видах негрызунов недопустимы.

Использование одного вида животных для всех исследований общей токсичности допустимо, если исследуемый лекарственный препарат проявляет фармакологическую активность только в отношении этого вида. Считается, что исследования на другом виде с использованием гомолога не дают дополнительных данных для оценки риска безопасности и поэтому не рекомендуются.

3.3.3 Использование гомологичных белков

Одним из альтернативных подходов, описанных в 3.3, является использование в токсикологических исследованиях гомологичных белков. Такие исследования можно использовать для обнаружения возможных рисков и изучения вероятности наличия нежелательных эффектов, связанных с усиленными фармакологическими эффектами, но для количественной оценки возможных рисков они, как правило, не подходят. Таким образом, с целью выявления возможных рисков допускается проведение исследования для оценки безопасности с использованием контрольной и одной исследуемой групп при условии, что дизайн исследования и выбранная доза (например, максимальная фармакологическая доза) обоснованы.

3.4 Количество/пол животных в исследовании

Количество животных в группе, получающей соответствующую дозу препарата, напрямую влияет на мощность исследования по выявлению токсичности. Малая выборка может не позволить выявить токсические явления вследствие низкой частоты их возникновения, независимо от тяжести.

Ограничения по размеру выборки, возникающие, как правило, при использовании в исследованиях нечеловекообразных приматов, можно частично компенсировать, увеличив частоту и длительность наблюдения. В исследование должны быть включены животные обоих полов, в иных случаях необходимо представить соответствующие обоснования.

3.5 Путь введения/выбор дозы

Путь и частота введения должны быть максимально схожи с предполагаемыми при клиническом применении. Следует учесть фармакокинетические параметры препарата и его биодоступность у используемых в исследовании видов лабораторных животных, а также допустимый с точки зрения безопасности и биоэтики объем, которой можно ввести животному. Например, частоту введения лабораторным животным (по сравнению с режимом дозирования в рамках клинических исследований) можно увеличить с целью компенсации более быстрого клиренса или плохой растворимости действующего вещества. В таких случаях необходимо определить относительную величину экспозиции у исследуемых животных по отношению к величине клинической экспозиции. Необходимо также учесть влияние объема, концентрации, состава и места введения. Использование иных путей введения, чем предполагается при клиническом применении, допустимо, если путь введения необходимо изменить вследствие ограниченной биодоступности, ограничений, обусловленных путем введения или размером/физиологией используемых в исследовании видов животных.

Исследуемые дозы следует выбирать для обеспечения получения информации о зависимости «доза — эффект», включая токсическую дозу и высокую нетоксическую дозу [ВНТД, no observed adverse effect level (NOAEL)]. Для некоторых групп лекарственных препаратов, обладающих низкой токсичностью или вообще не проявляющих токсичность, невозможно установить максимальную дозу. В таких случаях необходимо представить научное обоснование стратегии выбора доз и предполагаемой кратности превышения экспозиции у человека. При обосновании выбора высоких доз необходимо учитывать ожидаемые фармакологические/физиологические эффекты, доступность пригодного исследуемого препарата (материала) и предполагаемое клиническое применение. Если лекарственный препарат обладает низкой аффинностью или активностью в отношении клеток выбранного вида лабораторных животных по сравнению с клетками человека, может потребоваться использование более высоких доз. Кратность превышения дозы у человека, подлежащая определению в исследованиях и составляющая границы безопасности, может варьировать в зависимости от класса биотехнологических лекарственных препаратов и показаний к применению.

3.6 Дизайн исследования

3.6.1 Выбор дозы и применение фармакодинамических/фармакокинетических принципов

Токсичность большинства биотехнологических лекарственных препаратов связана с их механизмом действия на мишень, поэтому введение относительно высоких доз может выявить нежелательные явления, которые, по сути, являются усилением фармакологических эффектов.

Необходимо представить обоснование при выборе дозы, учитывающее характеристики взаимосвязи между дозой и эффектом. Фармакокинетический и фармакодинамический (ФК/ФД) подходы (например, простые отношения «экспозиция — эффект» или более сложные подходы, основанные на моделировании и симуляции) могут способствовать выбору высоких доз путем выявления дозы, которая обеспечивает максимально желаемый фармакологический эффект у лабораторных животных, и дозы, которая обеспечивает достижение 10-кратной максимальной экспозиции, подлежащей изучению при клиническом применении. При отсутствии оснований для использования более низкой дозы (например, максимальной допустимой дозы) в рамках доклинических токсикологических исследований в качестве высокой дозы группе животных вводится наивысшая из указанных доз.

При отсутствии данных о фармакологических конечных точках *in vivo/ex vivo* выбор высоких доз может быть основан на фармакокинетических данных, а также доступных данных о связывании с рецептором и/или иных фармакологических данных *in vitro*. Для достижения ожидаемой верхней границы экспозиции в клинических условиях необходимо сделать поправки на различия в связывании с мишенью и фармакологической активности *in vitro* между животными моделями и человеком. Например, большие относительные различия по связывающей способности и/или активности *in vitro* могут предполагать необходимость изучения более высоких доз в доклинических исследованиях. Если, применяя указанный подход, не удается продемонстрировать токсичность выбранных доз, то маловероятно, что дополнительные токсикологические исследования более высоких доз, кратных человеческим, позволят собрать дополнительные информативные данные.

3.6.2 Длительность исследований

В отношении биотехнологических лекарственных препаратов для длительного применения исследование токсичности при повторном введении на грызунах или других видах животных длительностью 6 месяцев считается достаточным, если высшие дозы выбраны в соответствии с принципами, изложенными в 3.6.1. Считается, что более длительные исследования не предоставляют дополнительные информативные данные, которые могли бы повлиять на клиническую разработку.

При определении длительности токсикологических исследований биотехнологических лекарственных препаратов для длительного применения, предназначенных для лечения пациентов с распространенным раком, необходимо руководствоваться принципами, изложенными в руководстве [4].

3.6.3 Восстановление

Требуется изучение восстановления (обратимости) от фармакологических и токсикологических эффектов, наблюдаемых при введении клинически значимых доз и обладающих потенциалом в отношении побочных эффектов у человека. Эти данные получают или устанавливая обратимость/необратимость соответствующего наблюдаемого эффекта, или путем включения в дизайн не менее одного исследования периода наблюдения за не менее одной опытной группой животных без введения лекарственного препарата (спонсор обязан обосновать выбор уровня дозы для наблюдения). Цель включения в исследование такого периода (без введения лекарственного препарата) — изучение обратимости таких эффектов, а не оценка отсроченной (поздней) токсичности. Подтверждение полного восстановления не является обязательным. Включение в план исследования периода восстановления с единственной целью — оценить потенциальную иммуногенность не требуется.

3.6.4 Поисковые клинические исследования

В отношении биотехнологических лекарственных препаратов применимы гибкие подходы, описанные в руководстве [3], посвященном доклиническим исследованиям безопасности с целью проведения клинических исследований и государственной регистрации лекарственных препаратов, и применяемые для обоснования проведения поисковых клинических исследований. Рекомендуется их обсуждение и согласование с регуляторным органом.

3.7 Иммуногенность

Многие биотехнологические лекарственные препараты иммуногенны у животных. Поэтому для улучшения интерпретации результатов при проведении исследований токсичности с многократным введением необходимо проводить оценку антител, вырабатывающихся вследствие введения таких лекарственных препаратов. Развивающийся иммунный ответ должен быть охарактеризован (например, титр, количество животных, у которых развился иммунный ответ, наличие или отсутствие у антител нейтрализующей способности); необходимо оценить корреляцию его появления с любыми фармакологическими и/или токсикологическими изменениями. В частности, при интерпретации результатов исследований иммуногенности необходимо изучить влияние антител на фармакокинетические/фармакодинамические параметры, частоту и/или тяжесть нежелательных эффектов, активацию комплемента или возникновение новых токсических явлений. Необходимо также провести оценку возможных патологических изменений, обусловленных формированием иммунных комплексов и их накоплением.

Если только иммунный ответ не нейтрализует фармакологические и/или токсикологические эффекты биотехнологического лекарственного препарата у большей доли животных, обнаружение антител не рекомендуется использовать для единственного обоснования решения о раннем прекращении доклинического исследования безопасности или изменения его продолжительности. Подобно иммунному ответу у человека, в большинстве случаев иммунный ответ на биотехнологический лекарственный препарат у животных сильно варьирует. Если эти проблемы не повлияли на интерпретацию результатов исследования безопасности, то гуморальному иммунному ответу особого значения не придают.

Формирование антител у животных не обладает прогностической ценностью в отношении их выработки у человека. У людей могут формироваться сывороточные антитела к гуманизированным белкам, но зачастую терапевтический эффект в их присутствии сохраняется. Тяжелые анафилактические реакции к рекомбинантным белкам у человека возникают редко. В связи с этим результаты анафилактических тестов на морских свинках, которые, как правило, являются положительными для белковых лекарственных препаратов, не являются прогностическими в отношении реакций у человека, поэтому считают, что такие исследования обладают низкой ценностью при стандартном изучении лекарственных препаратов этой группы.

Оценку иммуногенности осуществляют с целью способствования интерпретации результатов и планирования последующих исследований. Такого рода анализы на доклиническом этапе при прогнозировании потенциальной иммуногенностн человеческих или гуманизированных белков у человека неинформативны. Оценку содержания антител к лекарственному препарату в рамках доклинических исследований необходимо осуществлять:

- при снижении (нарушении) ФД-активности;
- при неожиданных изменениях экспозиции в отсутствие ФД-маркеров;
- при развитии иммуноопосредованных реакций (болезнь иммунных комплексов, васкулит, анафилаксия и т. д.).

Учитывая невозможность прогнозирования необходимости проведения такого рода оценки до завершения прижизненной фазы исследования, рекомендуется в ходе исследования осуществлять отбор образцов, которые впоследствии могут быть проанализированы, если это будет необходимо для улучшения интерпретации результатов исследования. При обнаружении антител к лекарственным препаратам следует оценить их влияние на интерпретацию результатов исследования (также см. абзац 2 настоящего подраздела).

Определение нейтрализующей активности антител требуется в случаях их присутствия и невозможности подтвердить устойчивость ФД-активности в токсикологических исследованиях *in vivo* (соответствующие маркеры отсутствуют). Нейтрализующую активность антител можно оценить косвенно с помощью биологических методов *ex vivo* или путем надлежащего сочетания методов ФК/ФД, а также прямым способом с помощью специальных методов количественного определения их нейтрализующей способности.

4 Специальные исследования

4.1 Фармакологическая безопасность

Следует провести оценку наличия у препарата нежелательной фармакологической активности на подходящих животных моделях и при необходимости включить соответствующий мониторинг ее проявления в планы токсикологических и/или клинических исследований. В исследованиях фармакологической безопасности определяют функциональные индексы потенциальной токсичности. Такие индексы изучают в рамках отдельных исследований или предусматривают планами токсикологических исследований. Целью исследований фармакологической безопасности является обнаружение любых функциональных эффектов в отношении основных физиологических систем (например, сердечно-сосудистой, дыхательной, выделительной и центральной нервной систем). Исследования могут также включать использование изолированных органов или других тест-систем без участия животных. Все эти исследования могут позволить объяснить механизм возникновения органоспецифической токсичности, который необходимо тщательно изучить с учетом медицинского применения и показаний к применению у человека.

4.2 Оценка экспозиции

4.2.1 Фармакокинетика и токсикокинетика

Достаточно сложно установить универсальные рекомендации по изучению фармакокинетики биотехнологических лекарственных препаратов. Рекомендуется проводить исследование фармакокинетики при однократном и многократном введениях, исследования токсикокинетики и распределения в тканях на подходящих видах животных, однако стандартные исследования, направленные на оценку материального баланса, не являются информативными. Различия фармакокинетических параметров у различных видов животных могут оказывать значительное влияние на прогностическую ценность исследований на животных или на оценку зависимости «доза — эффект» в рамках токсикологических исследований. Изменения фармакокинетического профиля вследствие иммуноопосредованных механизмов элиминации могут повлиять на кинетические профили и интерпретацию результатов токсикологических исследований. Некоторым лекарственным препаратам присущи значительные задержки в проявлении фармакодинамических эффектов по сравнению с фармакокинетическим профилем (например, у цитокинов), или возможно пролонгирование фармакодинамических эффектов по сравнению с содержанием действующего вещества в плазме.

В рамках фармакокинетических исследований необходимо по возможности применять препараты, которые аналогичны по своим свойствам продукту, предназначенному для изучения токсичности и

клинического применения, и использовать путь введения, соответствующий предполагаемым клиническим исследованиям. На характер абсорбции могут влиять состав препарата, концентрация, место введения и/или вводимый объем. По возможности в рамках токсикологических исследований необходимо изучать системную экспозицию.

При использовании радиоактивно меченых белков необходимо подтвердить, что радиоактивно меченый исследуемый материал обладает эквивалентными активностью и биологическими свойствами, что и немеченый материал. Данные о концентрации радиоактивности в тканях и/или ауторадиографии с использованием радиоактивных белков могут быть трудно интерпретируемыми ввиду быстрого метаболизма или нестабильной связи с радиоактивной меткой *in vivo*. Необходимо соблюдать осторожность при интерпретации результатов исследований, в которых радиоактивной меткой были помечены определенные аминокислоты, так как последние могут включаться в состав других белков/пептидов, не имеющих отношения к лекарственному препарату.

Для расчета диапазона безопасности, основанного на величине экспозиции и дозе, до начала клинических исследований необходимо получить данные об абсорбции, распределении и клиренсе исследуемого препарата у подходящих животных моделей.

4.2.2 Аналитические методики количественного определения

Выбор одной или более аналитических методик количественного определения осуществляется индивидуально в каждом случае и должен быть научно обоснован. Как правило, достаточно использовать одну валидированную методику. Например, количественное определение преципитируемой трихлоруксусной кислотой радиоактивности, наблюдаемой после введения радиоактивно меченого белка, может обеспечить достаточную информацию, однако предпочтительно использовать специфичные для определяемого аналита методики. В идеальном случае в исследованиях у человека и животных используют одинаковые (по принципу действия) количественные методики. Потенциальное влияние плазменных связывающихся белков и/или сывороточных/плазменных антител на работоспособность методики должно быть определено.

4.2.3 Метаболизм

Ожидаемыми последствиями метаболизма биотехнологических лекарственных препаратов является их разложение до небольших пептидов и отдельных аминокислот. Следовательно, пути метаболизма таких препаратов в достаточной мере известны, и классические исследования биотрансформации, проводимые в отношении химических синтетических лекарственных средств, проводить не требуется.

Для понимания фармакодинамических эффектов необходимо описание поведения биотехнологических лекарственных препаратов в биологических средах (например, плазме, сыворотке, цереброспинальной жидкости) и возможного влияния связывающих белков.

4.3 Исследования токсичности при однократном введении

Токсикологические исследования с однократным введением могут предоставить данные, позволяющие описать взаимосвязь между дозой и системной и/или местной токсичностью. Эти данные используют при выборе доз для исследований токсичности с многократным введением. Данные о взаимосвязи «доза — эффект» можно получить путем проведения исследования токсичности с однократным введением, включенным в план исследований фармакологических эффектов, или изучения эффективности на животных моделях. В рамках этих исследований необходимо рассмотреть возможность изучения фармакологической безопасности.

4.4 Исследования токсичности при многократном введении

Вопросы выбора видов животных для исследований токсичности с многократным введением рассмотрены в 3.3. Путь введения и режим дозирования (например, ежедневный или периодический) должны отражать предполагаемое клиническое применение или обеспечить предполагаемую экспозицию. По возможности в рамках этих исследований необходимо изучать токсикокинетику.

С целью определения обратимости или вероятности утяжеления фармакологических/токсикологических эффектов и/или выявления отсроченной потенциальной токсичности в рамках исследования необходимо предусмотреть период восстановления (период обратимости токсического действия). Для биотехнологических лекарственных препаратов, которые оказывают пролонгированные фармакологические/токсикологические эффекты, животных из группы восстановления (оценки обратимости токсического действия) необходимо наблюдать до получения свидетельств обратимости этих эффектов. Длительность исследований с многократным введением должна устанавливаться

на основании предполагаемой длительности клинической экспозиции препарата и изучаемого заболевания. Для большинства биотехнологических лекарственных препаратов длительность таких исследований составляет от 1 до 3 месяцев. Для биотехнологических лекарственных препаратов, предназначенных для краткосрочного применения (например, менее 7 дней) или лечения острых угрожающих жизни заболеваний, достаточной для последующего проведения клинических исследований и государственной регистрации считается двухнедельная продолжительность исследований токсичности с многократным введением. Для биотехнологических лекарственных препаратов, предназначенных для лечения хронических заболеваний, шестимесячная длительность исследований, в общем, считается достаточной, однако в ряде случаев для государственной регистрации были достаточны более короткие исследования или, наоборот, требовалось более продолжительное исследование. Продолжительность долгосрочных токсикологических исследований биотехнологических лекарственных препаратов, предназначенных для лечения хронических заболеваний, должна быть научно обоснована.

4.5 Исследования иммунотоксичности

Одним из аспектов иммунотоксикологической оценки является изучение потенциальной иммуногенности (см. 3.6). Большинство биотехнологических лекарственных препаратов направлено на стимуляцию или подавление иммунной системы, поэтому они могут влиять не только на гуморальный, но и на клеточный иммунитет. Воспалительные реакции в месте введения могут служить признаком стимуляции иммунной системы. При этом следует учитывать, что токсические изменения в месте введения могут быть обусловлены повреждением вследствие введения и/или отдельными токсическими эффектами веществ, входящих в состав лекарственного препарата. К тому же может быть нарушена экспрессия поверхностных антигенов на клетках-мишенях, что может играть определенную роль в реализации аутоиммунного потенциала. Для рассмотрения этих вопросов в рамках стратегии оценки иммунотоксикологических свойств может потребоваться проведение скрининговых исследований с последующими исследованиями по изучению механизма действия. Однако применение стандартного пошагового подхода или проведение стандартного набора тестов в отношении биотехнологических лекарственных препаратов не рекомендуется.

4.6 Исследования репродуктивной и онтогенетической токсичности

Необходимость проведения исследований репродуктивной/онтогенетической токсичности зависит от свойств лекарственного препарата, показаний к клиническому применению и целевой популяции пациентов (примечание 4). Дизайн исследования и схема введения могут быть изменены с учетом специфических особенностей используемых видов лабораторных животных, иммуногенности, биологической активности и/или длительного периода полувыведения препарата. Например, при наличии сомнений в отношении потенциальной онтогенетической иммунотоксичности, которые могут быть справедливы для определенных моноклональных антител с пролонгированным иммунологическим эффектом, в дизайн исследования могут быть внесены изменения с целью оценки иммунологического статуса новорожденного.

Примечание 4 — Существуют ситуации, когда имеется общедоступная обширная информация о потенциальных репродуктивных и/или онтогенетических эффектах определенного класса соединений (например, интерферонов), когда единственным подходящим видом животных являются нечеловекообразные приматы. В этих случаях, если исследования механизма действия демонстрируют, что новая, но близкая по строению молекула может обладать подобными эффектами, проведение формальных подтверждающих исследований репродуктивной/онтогенетической токсичности может не потребоваться. В каждом случае необходимо представить научное обоснование оценки вероятности наличия у исследуемого препарата репродуктивной/онтогенетической токсичности.

Исследование репродуктивной токсичности необходимо проводить в соответствии с принципами, изложенными в руководстве [1], по оценке токсического действия лекарственных препаратов на мужскую фертильность; однако дизайн определенного исследования и режим дозирования могут быть изменены в зависимости от особенностей видов лабораторных животных, природы лекарственного препарата, его механизма действия, иммуногенности и/или фармакокинетических свойств, а также экспозиции в период эмбрионального и фетального развития.

В целом оценку репродуктивной токсичности разрабатываемого лекарственного препарата рекомендуется осуществлять на подходящих видах животных. Изучение токсических влияний на репродуктивные функции необходимо проводить только на фармакологически подходящих видах

животных. Если исследуемый лекарственный препарат фармакологически активен у грызунов и кроликов, и тех и других следует использовать для проведения исследований эмбрионального и фетального развития, если для одного из видов не выявлена эмбриональная и фетальная летальность или тератогенность.

Исследования онтогенетической токсичности на нечеловекообразных приматах (НЧП) допускается проводить только в отсутствие других подходящих видов животных.

Если исследуемый лекарственный препарат фармакологически активен только у НЧП, его свойства все равно подлежат изучению. При этом, при достаточном научном обосновании, вместо НЧП допускается использовать альтернативные модели.

В отсутствие подходящих видов животных следует рассмотреть возможность использования трансгенных мышей, экспрессирующих человеческую мишень, или гомологичных белков у видов, экспрессирующих ортологи мишеней человека (при наличии достаточных данных об указанных моделях, например ретроспективных данных) (см. примечание 1). Для лекарственных препаратов, нацеленных на иные мишени, например бактериальных или вирусных, в целом проведение исследований репродуктивной токсичности не требуется (см. 2.1).

Если имеющиеся сведения (например, механизм действия, фенотипические данные от генетически модифицированных животных, класс-эффекты) предполагают наличие нежелательного влияния на фертильность или исход беременности и могут быть использованы для предупредительных действий в отношении репродуктивной токсичности, то в таких случаях дополнительные доклинические исследования могут не потребоваться.

4.6.1 Фертильность

Если для исследуемого лекарственного препарата мыши и крысы являются фармакологически подходящими видами животных, то оценку влияния на фертильность можно провести на одном из этих видов грызунов в соответствии с руководством [1]. Предложенные в этом руководстве дизайны исследований могут быть адаптированы к другим видам животных, если последние являются фармакологически подходящими; также дизайн исследования следует дополнить, например, с целью учета природы лекарственного препарата и потенциальной иммуногенности.

Считается, что проведение исследований репродуктивной функции (mating studies) на НЧП нецелесообразно. Однако если НЧП являются единственным подходящим видом животных, потенциальное влияние на мужскую и женскую фертильность оценивают путем изучения репродуктивного тракта (взвешивание органов и патогистологическая оценка) в рамках исследований токсичности длительностью не менее 3 месяцев при многократном введении половозрелым НЧП. При наличии определенных подозрений на наличие у препарата репродуктивной токсичности, обусловленных фармакологической активностью или результатами предыдущих исследований, в рамках исследований токсичности с многократным введением может проводиться оценка специфических параметров, как то: оценка менструального цикла, подсчет числа сперматозоидов, изучение морфологии/подвижности сперматозоидов и определение гормонального профиля самцов и самок.

Если фармакологическое действие препарата предполагает потенциальное влияние на зачатие/имплантацию яйцеклетки, а НЧП являются единственным подходящим видом животных, такие предположения проверяют экспериментально. Единственным практически осуществимым способом оценки потенциального влияния на зачатие или имплантацию является использование гомологичных белков и трансгенных моделей. Однако нарабатывать гомологичные белки и трансгенные модели с единственной целью — провести исследования репродуктивной функции у грызунов — не рекомендуется. В отсутствие доклинических данных минимизацию риска для пациентов следует осуществлять путем соответствующих процедур в рамках клинических исследований, информированного согласия и соответствующей маркировки исследуемого лекарственного препарата.

4.6.2 Эмбриональное и фетальное развитие (EFD) и препостнатальное развитие (PPND)

При планировании исследований онтогенетической токсичности и интерпретации их результатов необходимо учитывать возможные различия по способности биотехнологических лекарственных препаратов проникать через плацентарный барьер (см. примечание 5).

Для лекарственных препаратов, фармакологически активных только у НЧП, основываясь на предполагаемом клиническом применении и ожидаемых фармакологических эффектах, можно использовать несколько дизайнов исследования. Допустимы отдельные исследования EFD и/или PPND или другие дизайны исследования (обоснованные спонсором), особенно при наличии определенных подозрений, что механизм действия препарата может способствовать развитию нежелательных эффектов на эмбриональное и фетальное развитие или прерыванию беременности. Тем не менее

рекомендуется проведение одного тщательно спланированного исследования у НЧП, включающего введение лекарственного препарата с 20-го дня гестации до рождения (усиленное PPND, ePPND), чем отдельные исследования EFD и/или PPND.

Примечание 5 — При интерпретации результатов исследований необходимо учитывать видоспецифичный профиль эмбриональной и фетальной экспозиций в течение беременности. Высокомолекулярные белки (> 5000 Да) не проникают через плаценту путем простой диффузии. Для моноклональных антител с молекулярной массой 150 000 Да существует специальный транспортный механизм — Fc-рецептор (FcRn) новорожденных, который влияет на экспозицию у новорожденных и различается от вида к виду.

У НЧП и человека степень проникновения IgG через плаценту в период органогенеза достаточно низкая, она начинает повышаться в начале II триместра, достигая максимума в конце III триместра (5). Поэтому стандартные эмбриональные и фетальные исследования у НЧП, которым вводят препарат с ранних сроков беременности и до 50-го дня гестации, могут не представлять ценности при оценке прямых эмбриональных и фетальных эффектов в период органогенеза, хотя и позволяют оценить эмбриональное и фетальное развитие как непрямой результат влияния на организм матери. Более того, введение лекарственного препарата самкам НЧП после родов не имеет значения, так как IgG экскретируются в грудное молоко только в раннем периоде (то есть в молозиво), но не в течение поздней лактации и период кормления грудью.

Грызуны отличаются от НЧП и человека: IgG проникают через желточный мешок грызунов с помощью FcRn-транспортного механизма, поэтому экспозиция возникает на достаточно ранних по сравнению с НЧП и человеком сроках гестации. К тому же роды у грызунов происходят на таком этапе развития, когда потомство не настолько зрело, как новорожденные НЧП и человека. Поэтому с целью получения лекарственного препарата потомством через грудное молоко введение лекарственного препарата самкам необходимо осуществлять во время лактации не менее чем до девятого дня грудного вскармливания, когда зрелость потомства достигает того же этапа развития, что и новорожденные человека.

Для описанного выше отдельного исследования ePPND не требуется включение группы животных, подлежащих кесаревому сечению, однако должна быть проведена оценка исходов беременностей, завершившихся естественными родами. В рамках такого исследования также необходимо оценить жизнеспособность потомства, наличие внешних пороков развития, изменения скелета (например, с помощью рентгенографии) и, наконец, морфологию внутренних органов при вскрытии. Для подтверждения сохранности беременности используют ультразвук, но его применение неэффективно для выявления пороков развития. Данные о пороках развития получают после родов. Учитывая неблагоприятное влияние на вскармливание, введение лекарственного препарата самкам после родов, как правило, не рекомендуется. Если уместно с точки зрения фармакологической активности, оценивают и другие конечные точки потомства. Длительность наблюдения в постнатальной фазе зависит от дополнительных конечных точек, подлежащих оценке с позиций механизма действия (примечание 6).

Примечание 6 — Длительность наблюдения в постнатальную фазу должна составлять не менее 1 месяца, чтобы получить результаты ранних функциональных тестов (например, оценка прироста и поведения).

В целом при наличии данных о наличии у препарата нежелательного влияния на иммунную систему или ее функцию, полученных в ходе общих токсикологических исследований, требуется проведение исследования иммунных функций у потомства в послеродовую фазу расширенного исследования ePPND. По возможности иммунофенотипирование необходимо провести до 28 дня после рождения. В зависимости от используемых функциональных тестов длительность постнатального наблюдения за иммунитетом может составлять 3—6 месяцев.

Нейроповеденческая оценка может быть ограничена наблюдением за поведением в клинических условиях. Обучение навыкам требует определенного времени, что может привести к 9-месячной длительности постнатального наблюдения, и поэтому не рекомендуется.

В ходе исследований онтогенетической токсичности на НЧП можно только выявить вредное воздействие. Количество животных на группу должно быть достаточным для надежной интерпретации полученных данных (примечание 7).

Примечание 7 — Подробное обсуждение подходов при определении размера группы яванских макак для исследования ePPND приведено в [6]. Для оценки постнатального развития и обеспечения возможности осуществления специальных исследований (например, изучения иммунной системы) при проведении исследования ePPND в группы необходимо включить достаточное количество молодых животных (6—8 особей в возрасте до 7 дней на группу).

При включении беременных животных исследование ePPND продолжается неделями и месяцами. Если пренатальные потери в группе исследуемого лекарственного препарата свидетельствуют о наличии токсического эффекта препарата, необходимо рассмотреть возможность прекращения дальнейшего включения беременных животных в исследование и адаптации дизайна исследования (например, путем проведения кесарева сечения).

Повторное использование контрольных животных, получавших растворитель (vehicle-control treated maternal animals), приветствуется.

Если есть данные, что механизм действия может повлиять на EFD или приводить к прерыванию беременности, с целью подтверждения наличия этого эффекта допускается проводить исследования на ограниченном количестве животных.

При использовании других видов НЧП спонсор обязан обосновать дизайн такого исследования. Исследования онтогенетической токсичности на НЧП, описанные выше, проводят только с целью выявления токсического воздействия, поэтому допускается проводить их с использованием одной опытной группы (одна доза) и одной контрольной группы контроля при условии наличия научного обоснования выбранной дозы. Примером надлежащего научного обоснования могут служить моноклональные антитела, связывающиеся с растворимой мишенью при введении клинических доз, предназначенных для полного насыщения связываемой мишени. Если указанное насыщение связываемой мишени может быть показано на выбранных видах животных и это происходит в дозах, более чем в 10 раз превышающих терапевтические дозы у человека, то сравнение исследуемой группы (одна доза) с контрольной обеспечит получение достаточных данных о токсическом действии исследуемого препарата на эмбриональное и фетальное развитие.

4.6.3 Сроки проведения исследований

Если женщины с детородным потенциалом подлежат включению в клинические исследования до получения данных о влиянии на эмбриональное и фетальное развитие, необходимо принять особые меры управления возможными клиническими рисками, например использование высокоэффективных методов контрацепции (руководство [3]).

В отношении биотехнологических лекарственных препаратов, фармакологически активных только у НЧП, при принятии достаточных мер для предотвращения беременности (руководство [3], раздел 11.3, абзац 2) проведение исследований EFD и ePPND допустимо проводить параллельно с клиническими исследованиями III фазы, а результаты представить к моменту подачи регистрационного досье с целью государственной регистрации. Если спонсор не может принять надлежащие меры для предотвращения беременности в рамках клинических исследований, то отчет об исследовании EFD или промежуточный отчет об исследовании ePPND необходимо представить до начала III фазы (примечание 8). Если лекарственный препарат фармакологически активен только у НЧП, а его механизм действия вызывает серьезную озабоченность в отношении эмбрионального и фетального развития, то исследования онтогенетической токсичности не требуются, а в инструкции по применению необходимо указать, что женщинам с детородным потенциалом следует избегать назначения лекарственного препарата.

Примечание 8 — Конечные точки, подлежащие включению в промежуточный ответ исследования ePPND на НЧП:

- данные о самках: выживание, клинические наблюдения, масса тела, данные об экспозиции во время беременности (при наличии), любые ФД-конечные точки;
- данные о беременности: количество беременных животных, включенных в исследование;
- состояние беременности на момент завершения органогенеза (50-й день гестации) и на 100-й день гестации, частота абортов и их сроки. Ультразвуковое определение размеров плодов в рамках промежуточного отчета не требуется. Данные не требуются, так как сведения о массе тела при рождении будут доступны в дальнейшем;
- данные об исходах беременности: количество живорожденных и мертворождений, масса тела новорожденных, выживаемость новорожденных и их масса тела через 7 дней после родов, количественная внешняя морфологическая оценка (то есть подтверждение, что внешний вид укладывается в норму), данные об экспозиции потомства (при наличии), ФД-конечные точки у потомства, если применимо.

Если подходящими видами животных являются грызуны или кролики, то для определения сроков проведения исследований репродуктивной токсичности следует руководствоваться [3]. Этим же документом следует пользоваться для определения сроков проведения исследовании влияния на фертильность, если подходящими видами животных являются грызуны.

Для определения сроков проведения доклинических исследований онкологических лекарственных препаратов следует руководствоваться руководством [4], если эти лекарственные препараты подпадают под действие указанного руководства.

4.7 Исследования генотоксичности

Набор и виды исследований генотоксичности, обычно проводимые в отношении химико-синтетических лекарственных препаратов, не применимы в отношении биотехнологических лекарственных препаратов, поэтому их проведение не требуется. Более того, введение большого

количества пептидов/белков может приводить к получению неинтерпретируемых результатов. Прямого взаимодействия между данными веществами и ДНК или иным хромосомным материалом не ожидается (примечание 9).

Если в отношении лекарственного препарата имеются определенные подозрения (например, вследствие наличия органической молекулы-соединителя в лекарственном препарате, представляющем собой конъюгированный белок), необходимо провести исследования с использованием имеющихся и пригодных тест-систем, в том числе недавно разработанных. Использование стандартных дизайнов исследований генотоксичности для оценки потенциального генотоксичного эффекта контаминантов, появляющихся в ходе технологического процесса, не считается приемлемым. В случае проведения таких исследований их информативность должна быть научно обоснована.

Примечание 9 — При применении некоторых биотехнологических лекарственных препаратов существует потенциальная вероятность накопления в организме спонтанно мутированных клеток (например, путем избирательного усиления пролиферации), что может привести к развитию канцерогенного эффекта. Стандартный набор исследований генотоксичности не позволяет выявить такие случаи. Для решения таких проблем могут понадобиться разработка и оценка пригодности альтернативных моделей *in vitro* или *in vivo*.

4.8 Исследования канцерогенности

Стандартные биологические количественные методы оценки канцерогенности, как правило, неприменимы для исследования биотехнологических лекарственных препаратов. Однако в зависимости от продолжительности клинического применения, популяции пациентов и/или биологической активности лекарственного препарата (например, факторы роста, иммунодепрессанты и т. д.) может потребоваться оценка канцерогенного потенциала определенного препарата. При подозрении на наличие канцерогенного потенциала оценку риска можно провести, используя различные подходы.

Лекарственные препараты, которые потенциально могут вызывать или способствовать пролиферации трансформированных клеток и быстрому размножению (экспансии) клона, что может приводить к образованию опухолей, необходимо оценивать с позиций экспрессии рецептора на различных злокачественных и нормальных клетках человека, которые потенциально значимы для исследуемой популяции пациентов. Необходимо определить способность лекарственного препарата стимулировать рост нормальных или злокачественных клеток, экспрессирующих исследуемый рецептор. Если по результатам исследования *in vitro* возникают подозрения относительно канцерогенного потенциала, может потребоваться проведение исследования на подходящих видах животных. Может оказаться информативным включение чувствительных показателей пролиферации клеток в долгосрочные исследования токсичности с многократным введением.

Если лекарственный препарат является биологически активным и не обладает иммуногенными свойствами у грызунов, а по результатам других исследований невозможно достоверно установить отсутствие канцерогенного потенциала, необходимо рассмотреть необходимость проведения исследования на одном виде грызунов. Выбор доз для исследования требует тщательного научного обоснования. Использование комбинаций фармакокинетических и фармакодинамических конечных точек с учетом сравнительного описания свойств рецептора и предполагаемой экспозиции у человека представляет собой наиболее научно обоснованный подход для установления необходимых доз.

Необходимость оценки канцерогенного потенциала биотехнологических лекарственных препаратов определяется целевой популяцией и длительностью исследования (руководство [2]). Если требуется оценка, то спонсор обязан разработать стратегию разработки с учетом этих потенциальных рисков.

Стратегия должна основываться на совокупности данных, включая обзор значимых данных из различных источников. К таким источникам относятся опубликованные данные (например, информация о трансгенных, нокаутных или животных моделях заболевания, наследственных заболеваниях человека), сведения о класс-эффектах, подробные сведения о биологии мишени и механизме действия, данные *in vitro*, данные исследований хронической токсичности и клинические данные. В некоторых случаях доступной информации может быть достаточно для описания канцерогенного потенциала и выявления клинического риска без дополнительных доклинических исследований.

Механизм действия некоторых биотехнологических лекарственных препаратов может предполагать возможность канцерогенного потенциала (например, иммунодепрессанты и факторы роста). Если по совокупности данных (см. выше) возможность канцерогенного потенциала обоснована, то биологические исследования на грызунах не требуются. В этом случае лучшим способом снижения риска является внесение соответствующих указаний в инструкцию по применению и принятию мер предосторожности, направленных на снижение риска. Однако при наличии сомнений спонсор

может провести дополнительные исследования, которые позволили бы снизить вероятность наличия действия, связанного с механизмом действия (см. 3.7, абзац 2).

Для лекарственных препаратов, в отношении которых отсутствуют достаточные сведения об их свойствах и механизме действия с точки зрения канцерогенного потенциала, рекомендуется проводить более тщательную оценку (например, выяснение биологии мишени в отношении канцерогенного потенциала, включение дополнительных конечных точек в токсикологические исследования). Если совокупность данных, полученная после углубленной оценки, не предполагает наличия канцерогенного потенциала, проведение дополнительных доклинических исследований не рекомендуется. И наоборот, если по совокупности данных возникают подозрения относительно канцерогенного потенциала, то спонсор вправе провести дополнительные доклинические исследования, которые позволили бы обосновать низкую канцерогенность, иначе необходимо указывать в инструкции по применению соответствующие предостережения.

Индивидуальную оценку канцерогенного потенциала используют для указания наличия такого риска и учитывают в плане управления рисками (помимо внесения указаний в инструкцию по применению, клинического мониторинга, пострегистрационного наблюдения или комбинации этих подходов). При оценке канцерогенного потенциала исследуемого лекарственного препарата биологические исследования на грызунах (или краткосрочные исследования канцерогенности) с гомологичными белками в целом обладают низкой значимостью. По мере появления новых стратегий/методов исследования допускается использование альтернативных подходов.

4.9 Исследования местной переносимости

Местная переносимость биотехнологических лекарственных препаратов должна быть оценена. В исследовании следует использовать состав лекарственного препарата, предполагаемый к государственной регистрации, однако при достаточном обосновании допускается изучать репрезентативный состав. В некоторых случаях потенциальные нежелательные эффекты лекарственного препарата можно оценить в рамках исследований токсичности с однократным или многократным введением, что позволит исключить проведение отдельных исследований местной переносимости.

Библиография

[1] ICH S5(R2) Guideline Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products and Toxicity to Male Fertility; June 1993

[2] ICH S1A Guideline Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies for Pharmaceuticals; November 1995

[3] ICH M3(R2) Guideline Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorisation for Pharmaceuticals; June 2009

[4] ICH S9 Guideline Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; November 2008

[5] Pentsuk N., Van der Laan J.W. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth defects research (Part B) 2009; 86: 328—344

[6] Jarvis P., Srivastav S., Vogelwedde E., Stewart J., Mitchard T., Weinbauer G. The Cynomolgous Monkey as a model for Developmental Toxicity Studies: Variability of Pregnancy losses, Statistical power estimates, and Group Size considerations. Birth Defects Research (Part B) 2010, 89: 175—187

УДК 615.038:615.012/.014:615.2:006.354

ОКС 11.020
11.120.01
19.020

Ключевые слова: лекарственные средства, доклинические исследования, исследования безопасности, биотехнологические лекарственные препараты, государственная регистрация

Редактор *Г.Н. Симонова*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.И. Рычкова*
Компьютерная верстка *Г.В. Струковой*

Сдано в набор 26.09.2019. Подписано в печать 21.10.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,33. Уч.-изд. л. 2,10.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru stinfo.ru

gost.e-ecolog.ru