

4. При планировании исследований фармакологической безопасности и их проведении следует придерживаться рационального подхода. Вид исследований и их дизайн зависят от индивидуальных свойств и предполагаемого применения лекарственных препаратов. Следует использовать научно-обоснованные, предпочтительно признанные в мире методы изучения лекарственных препаратов и использовать новые технологии и методологии, отвечающие строгим научным принципам.

5. Часть конечных точек фармакологической безопасности допускается включать в дизайн токсикологических, кинетических, клинических исследований и т. д., однако окончательная оценка безопасности проводится только в специальных исследованиях фармакологической безопасности. Хорошо спланированные исследования фармакологической безопасности позволяют обнаружить нежелательные реакции, которые могут быть не выявлены в ходе стандартных токсикологических исследований.

6. Для целей настоящего Руководства используются понятия и определения которые означают следующее:

«исследования фармакологической безопасности» – исследования, направленные на изучение потенциальных нежелательных фармакодинамических эффектов вещества на физиологические функции в дозах, соответствующих терапевтическому диапазону и выше, и включающие три категории исследований: исследования первичной фармакодинамики, исследования вторичной фармакодинамики и исследования фармакологической безопасности.

«исследования первичной фармакодинамики» – изучение механизма действия и (или) эффектов вещества в отношении его целевой терапевтической мишени;

«исследования вторичной фармакодинамики» – изучение механизма действия и (или) эффектов вещества, не связанные с его целевой терапевтической мишенью, иногда рассматриваются как часть исследований общей фармакологии исследуемого вещества.

7. В некоторых случаях информация о первичных и вторичных фармакодинамических эффектах вещества может вносить вклад в оценку безопасности лекарственного препарата и вызываемых им потенциальных нежелательных реакций у человека, поэтому эта информация рассматривается вместе с результатами исследований фармакологической безопасности.

II. Планирование и организация исследований фармакологической безопасности

8. Целями исследований фармакологической безопасности являются:

выявление нежелательных фармакодинамических свойств исследуемого вещества, которые могут оказаться значимыми для безопасности человека;

оценка нежелательных фармакодинамических и (или) патофизиологических эффектов исследуемого вещества, выявленных в токсикологических и (или) клинических исследованиях;

исследование механизма наблюдаемых и (или) подозреваемых нежелательных фармакодинамических эффектов исследуемого вещества.

В разделе 2.4 модуля 2 регистрационного досье лекарственного препарата следует представить и подробно описать план исследования, направленный на достижение перечисленных целей.

1. Общие вопросы выбора и планирования исследований фармакологической безопасности

9. Поскольку фармакологические эффекты зависят от свойств конкретного исследуемого вещества, следует соответствующим образом выбирать и планировать исследования, учитывая следующие факторы (перечень не является исчерпывающим):

эффекты, характерные для фармакологического класса, к которому относится исследуемое вещество, поскольку на основании механизма действия можно заподозрить определенные нежелательные реакции (например, аритмогенная нежелательная реакция является общим свойством антиаритмических лекарственных препаратов);

нежелательные реакции, характерные для химического и фармакологического классов, но не зависящие от первичной фармакодинамики (например, способность антипсихотических лекарственных препаратов удлинять интервал QT);

данные о связывании с рецептором или влиянии на ферментные системы, свидетельствующие о потенциале развития нежелательных реакций;

результаты ранее проведенных исследований фармакологической безопасности, изучения вторичной фармакодинамики, токсикологических исследований или клинического применения, требующие дальнейшего изучения, чтобы установить и охарактеризовать значимость этих результатов для потенциальных нежелательных реакций у человека.

10. На ранних стадиях разработки могут отсутствовать данные, необходимые для рационального выбора и планирования исследований в соответствии с положениями пункта 9 настоящего Руководства (например, сравнительный метаболизм), в этом случае применяются

более общие подходы к проведению исследований фармакологической безопасности.

11. В зависимости от значимости для жизненно важных функций можно разработать иерархию систем органов. Наиболее жизненно важными органами и системами, которые следует изучить в исследованиях фармакологической безопасности, являются сердечно-сосудистая, дыхательная и центральная нервная системы. Остальные системы органов, такие как мочевыделительная и пищеварительная системы, функции которых могут временно нарушаться ввиду нежелательных фармакодинамических эффектов без причинения необратимого вреда, не требуют немедленного изучения. При учете таких факторов, как планируемое клиническое исследование или популяция пациентов может потребоваться оценка фармакологической безопасности влияния на другие системы (например, на пищеварительную систему при болезни Крона, функцию почек при первичной ренальной артериальной гипертензии, иммунную систему у иммунокомпрометированных пациентов).

2. Тест-системы

Общие положения по выбору тест-систем

12. Чтобы получить достоверные научные данные, следует обосновать выбор подходящей животной модели или других тест-систем. Факторы выбора включают в себя:

способность модели реагировать на фармакодинамические эффекты;

фармакокинетический профиль, вид, породу, пол и возраст экспериментальных животных:

восприимчивость, чувствительность и воспроизводимость тест-системы;

доступность ранее полученных данных об исследуемом веществе. При выборе тест-системы следует учитывать данные, полученные у человека (например, метаболизм *in vitro*), при их наличии. Сроки осуществления измерений должны определяться фармакодинамическими и фармакокинетическими свойствами. Следует представить обоснование выбора конкретной животной модели или тест-системы.

Исследования фармакологической безопасности *in vitro* и *in vivo*

13. В качестве тест-систем допускается использовать животные модели, а также препараты *ex vivo* и *in vitro*. К системам *ex vivo* и *in vitro* относятся (но не ограничиваются ими):

изолированные органы и ткани;

клеточные культуры;

клеточные фрагменты;

органеллы клеток;

рецепторы;

ионные каналы;

переносчики;

ферменты.

In vitro системы допускается использовать во вспомогательных исследованиях (например, для установления профиля активности исследуемого вещества или для исследования механизма эффектов наблюдаемых *in vivo*).

14. При проведении исследований *in vivo* предпочтительно использовать животных, в отношении которых не выполнялась

анестезия. Данные, полученные от необездвиженных животных, которые можно использовать в течение длительного срока путем телеметрии, или к которым можно применить другие подходящие методы, предназначенные для животных, находящихся в сознании, или животных, приспособленных к лабораторным условиям, предпочтительны данным, полученным от обездвиженных или неприспособленных животных. Одним из главных условий при использовании животных, в отношении которых не выполнялась анестезия, является предотвращение развития у животных дискомфорта и боли.

Экспериментальный дизайн

Размер выборки и использование контролей

15. Размер групп должен быть достаточным, чтобы обеспечить полноценную научную интерпретацию полученных данных. Количество животных или препаратов изолированных органов должно быть достаточным, чтобы подтвердить или исключить наличие биологически значимого эффекта исследуемого вещества. При этом следует учитывать величину биологического эффекта, который потенциально наиболее вероятен для проявления у человека. В дизайн экспериментального исследования следует включить достаточное количество отрицательных и положительных контрольных групп. Для хорошо охарактеризованных *in vivo* тест-систем положительные контрольные группы могут не понадобиться. Исключение контрольных групп из исследований следует обосновать.

Путь введения исследуемого вещества

16. При проведении исследований целесообразно использовать предполагаемый клинический путь введения исследуемого вещества. Независимо от пути введения экспозиция исследуемого вещества или его основных метаболитов должна быть сопоставима или превышать значения, достигаемые у человека (при наличии таких данных). Если исследуемое вещество предназначено для введения несколькими путями (например, внутрь и парентерально) или если наблюдаются или ожидаются значительные качественные и количественные различия между системной и местной экспозицией, оценку эффектов исследуемого вещества рекомендуется проводить для более чем одного пути его введения.

3. Величины доз или концентрации исследуемого вещества

Исследования *in vivo*

17. Исследования фармакологической безопасности следует планировать таким образом, чтобы установить зависимость «доза-ответ» для наблюдаемых нежелательных реакций. По возможности следует изучить зависимость нежелательных реакций от времени (например, начало и длительность эффекта). Как правило, следует сравнить дозы, вызывающие нежелательные реакции, с дозами, вызывающими первичный фармакодинамический эффект у исследуемых видов животных или вызывающими предполагаемый терапевтический эффект у человека (если это возможно). Доказано наличие межвидовых различий в фармакодинамической чувствительности. Поэтому дозы исследуемого вещества должны включать и превышать первичный фармакодинамический и

терапевтический диапазоны. При отсутствии нежелательных реакций в исследовании по изучаемым показателям фармакологической безопасности, в качестве высшей исследуемой дозы необходимо выбрать такую дозу, которая вызывает нежелательные реакции средней тяжести в этом или других исследованиях с аналогичным путем введения и эквивалентными по длительности. Такие нежелательные реакции могут включать в себя дозолIMITИРУЮЩИЕ фармакодинамические эффекты и другую токсичность. На практике некоторые эффекты, возникающие в диапазоне токсичности (например, тремор и фасцикуляция во время снятия электрокардиограммы), могут искажать интерпретацию результатов, а также ограничивать величину дозы исследуемого вещества. Исследование одной группы при ограничивающей дозе по указанной выше схеме может быть достаточным, если нежелательные реакции по конечным точкам фармакологической безопасности у экспериментальных видов животных отсутствуют.

Исследования *in vitro*

18. Исследования *in vitro* следует планировать таким образом, чтобы установить зависимость «концентрация – ответ» для исследуемого вещества. Следует выбрать такой диапазон концентраций исследуемого вещества, чтобы увеличить вероятность выявления ответа на используемой тест-системе. На верхнюю границу указанного диапазона могут повлиять физико-химические свойства исследуемого вещества и другие специфичные для метода факторы. При отсутствии эффекта следует обосновать выбранный диапазон концентраций.

4. Длительность исследований

19. Исследования фармакологической безопасности, как правило, проводятся с однократным введением исследуемого вещества. В случае если фармакодинамические эффекты проявляются после определенной продолжительности лечения или результаты доклинических исследований с повторным (многократным) введением исследуемого вещества или результаты применения исследуемого вещества у человека вызывают опасения в отношении его фармакологической безопасности, необходимо выбрать длительность исследований фармакологической безопасности таким образом, чтобы учесть возможность установления таких эффектов в эксперименте.

5. Изучение метаболитов, изомеров и готовых лекарственных препаратов

20. В исследованиях фармакологической безопасности, как правило, следует изучить каждое исходное вещество и его основные метаболиты, достигающие или способные достичь системной экспозиции у человека. Оценку основных метаболитов зачастую осуществляют в рамках исследований исходного вещества у животных. Если выясняется, что основные метаболиты у человека отсутствуют или образуются у животных только в относительно низких концентрациях, следует изучить влияние таких метаболитов на конечные точки фармакологической безопасности. Кроме того, если известно, что метаболиты человека вносят значительный вклад в фармакологическое действие лекарственного препарата, такие активные метаболиты следует изучить. Если в исследованиях *in vivo* исходного соединения метаболиты должным образом не изучались, из практических соображений допускается изучать метаболиты в *in vitro* системах.

21. Если лекарственный препарат представляет собой смесь изомеров исследуемого вещества, следует изучить каждый отдельный изомер *in vitro* или *in vivo*.

22. Исследования фармакологической безопасности готового лекарственного препарата проводятся только в случае, если производственная рецептура и (или) специфика производства готовой лекарственной формы изменяют фармакокинетику и (или) фармакодинамику действующего вещества по сравнению с ранее изученными производственной рецептурой и (или) спецификой производства готовой лекарственной формы (то есть за счет активных вспомогательных веществ, таких как усилители проникающей способности, липосомы и другие изменения, например полиморфизм).

6. Основная батарея исследований фармакологической безопасности

23. Целью основной батареи исследований фармакологической безопасности является изучение влияния исследуемого вещества на жизненно важные функции организма человека. В этой связи сердечно-сосудистая, дыхательная и центральная нервная системы, как правило, считаются витальными системами органов, требующими изучения в рамках основной батареи исследований фармакологической безопасности. В некоторых случаях, на основании научных данных, основная батарея исследований фармакологической безопасности должна включать в себя дополнительные исследования, перечисленные в подразделе 7 раздела II настоящего Руководства или при наличии условий, приведенных в подразделе 8 раздела II настоящего Руководства, основная батарея исследований фармакологической безопасности может не проводиться.

24. Исключение из основной батареи исследований фармакологической безопасности отдельного теста (тестов) или исследования определенных органов, систем или функций следует обосновать, опираясь на научные данные.

Центральная нервная система

25. Следует должным образом изучить влияние исследуемого вещества на центральную нервную систему и оценить двигательную активность, изменение поведения, координацию движений, сенсорные рефлексы (моторные рефлексы) и температуру тела у тест-системы (субъекта исследования) (например, использовать батарею тестов функционального наблюдения, модифицированный тест Ирвина или другие тесты).

Сердечно-сосудистая система

26. Следует надлежащим образом изучить влияние исследуемого вещества на сердечно-сосудистую систему, оценить артериальное давление, частоту сердечных сокращений и электрокардиограмму, а также изучить данные, полученные *in vivo*, *in vitro* и (или) *ex vivo*, включая методы оценки нарушений реполяризации и проведения в миокарде (в том числе в соответствии с приложением к настоящему Руководству).

Дыхательная система

27. Следует надлежащим образом изучить влияние исследуемого вещества на дыхательную систему, оценить частоту дыхания и другие параметры функции дыхания (например, дыхательный объем или насыщение гемоглобина кислородом). В целях оценки функции

дыхания клинического наблюдения за лабораторными животными, как правило, недостаточно, поэтому, используя подходящую методологию, следует проводить количественное измерение указанных параметров.

7. Последующие и дополнительные исследования фармакологической безопасности

28. Основываясь на фармакологических свойствах и химическом классе исследуемого вещества, можно предположить возможность развития нежелательных реакций. Кроме того, по результатам основной батареи исследований фармакологической безопасности, клинических исследований, фармаконадзора, экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo* или по данным научной литературы могут возникать дополнительные опасения. Если подобные нежелательные реакции служат причиной настороженности в отношении безопасности человека, их следует должным образом изучить в рамках последующих или дополнительных исследований фармакологической безопасности.

Последующие исследования основной батареи исследований фармакологической безопасности

29. Последующие исследования основной батареи исследований фармакологической безопасности направлены на обеспечение более глубокого понимания результатов основной батареи исследований витальных функций или получения дополнительных данных. В пунктах 30-37 приводится перечень исследований, направленных на дальнейшее изучение указанных систем на предмет потенциальных нежелательных фармакодинамических эффектов. Указанный перечень не является полным или обязательным, описанные исследования следует подбирать в индивидуальном порядке после учета

таких факторов, как ранее полученные доклинические и клинические данные. В некоторых случаях подобные нежелательные реакции целесообразно изучать в рамках других доклинических и (или) клинических исследований.

Исследования центральной нервной системы

30. Следует изучить поведенческую фармакологию, обучение и память, лиганд-специфическое связывание, нейрохимию, зрительные, слуховые и (или) электрофизиологические исследования и т. д.

Исследования сердечно-сосудистой системы

31. Следует изучить сердечный выброс, сократимость желудочков, сопротивляемость сосудов, влияние эндогенных и (или) экзогенных веществ на сердечно-сосудистую систему и т. д.

Исследования дыхательной системы

32. Следует изучить сопротивление дыхательных путей, эластичность легочной ткани, легочное артериальное давление, газы крови, рН крови и т. д.

Дополнительные исследования фармакологической безопасности

33. Дополнительные исследования фармакологической безопасности проводятся для оценки потенциальных нежелательных фармакодинамических эффектов со стороны функций систем органов, не изученных в основной батарее исследований или исследованиях токсичности с повторным (многократным) введением исследуемого вещества, при наличии основания для проведения такой оценки.

Исследования мочевыделительной системы

34. Следует изучить влияние исследуемого вещества на показатели работы почек (например, исследовать объем и плотность мочи, осмоляльность, рН, водно-электролитный баланс, содержание белка в моче, цитологии мочи, а также показателей биохимии крови (азот мочевины крови, креатинин и белки плазмы)).

Исследования автономной нервной системы

35. Следует изучить влияние исследуемого вещества на автономную нервную систему (например, исследование связывания исследуемого вещества с рецепторами автономной нервной системы, исследование функциональной реакции на применение агонистов или антагонистов *in vitro* или *in vivo*, прямая стимуляция автономных нервов и измерение реакции сердечно-сосудистой системы, оценка барорефлексов, вариация ритма сердца).

Исследования пищеварительной системы

36. Следует изучить влияние исследуемого вещества на пищеварительную систему (например, проведение исследования желудочной секреции, потенциала поражения желудочно-кишечного тракта, секреции желчи, длительность транзита *in vivo*, сократимость подвздошной кишки *in vitro*, измерение значения рН желудка и задержка пищи в желудке).

Исследование других систем органов

37. При наличии оснований следует оценить влияние исследуемого вещества на системы органов, не изученных ранее (например,

проведение исследований потенциала развития лекарственной зависимости, мышечной, иммунной и эндокринной функции).

8. Условия, при которых исследования фармакологической безопасности не проводятся

38. Если фармакологические свойства исследуемого вещества для местного применения хорошо охарактеризованы и установлена его низкая системная экспозиция или распределение в другие органы и ткани, то исследования фармакологической безопасности могут не проводиться.

39. Исследования фармакологической безопасности до первого введения людям могут не потребоваться в случае цитотоксических лекарственных препаратов, предназначенных для лечения пациентов с терминальными формами рака. Результаты исследований фармакологической безопасности цитотоксических лекарственных препаратов с новым механизмом действия могут представлять ценность.

40. В отношении биотехнологических лекарственных препаратов с высокой специфичностью в отношении рецептора-мишени достаточно оценить конечные точки фармакологической безопасности в рамках токсикологических и (или) фармакодинамических исследований, поэтому программа исследований фармакологической безопасности таких лекарственных препаратов может быть сокращена или исключена.

41. В отношении биотехнологических лекарственных препаратов, представляющих собой новый терапевтический класс, и (или) подобных лекарственных препаратов, не обладающих высокой специфичностью в отношении рецептора-мишени, следует предусмотреть более детальные исследования фармакологической безопасности.

42. Встречаются и другие исключения, не требующие проведения исследований фармакологической безопасности (например, новая соль, обладающая теми же фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами).

9. Сроки проведения исследований фармакологической безопасности по отношению к клинической разработке

43. При планировании программы изучения фармакологической безопасности следует учитывать условия, указанные в пунктах 38-42 настоящего Руководства, чтобы определить необходимость выполнения определенных исследований.

Исследования, которые следует провести до первого введения исследуемого вещества человеку

44. Перед первым введением человеку следует изучить влияние исследуемого действующего вещества на функции, перечисленные в основной батарее исследований фармакологической безопасности. Следует провести все последующие и дополнительные исследования, в отношении которых выявлена необходимость их проведения. Данные из хорошо спланированных и проведенных токсикологических исследований, в которых изучались конечные точки фармакологической безопасности, могут сократить или исключить необходимость проведения отдельных исследований фармакологической безопасности.

Исследования, проводимые в ходе клинической разработки

45. В целях прояснения наблюдавшихся или подозреваемых нежелательных реакций у животных или человека в ходе клинической

разработки может потребоваться проведение дополнительных исследований.

Исследования, проводимые до регистрации лекарственного препарата

46. До регистрации лекарственного препарата следует оценить его влияние на системы, перечисленные в подразделе 7 раздела II настоящего Руководства, отсутствие необходимости проведения таких исследований следует обосновать. Доступные данные из хорошо спланированных и проведенных токсикологических исследований, в которых изучались конечные точки фармакологической безопасности, и данные клинических исследований могут способствовать такой оценке и заменить собой исследования фармакологической безопасности.

10. Соответствие Правилам надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза

47. Доклинические исследования фармакологической безопасности, как правило, должны проводиться в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики. Вследствие уникального дизайна и практических особенностей некоторых исследований фармакологической безопасности обеспечить их соответствие Правилам надлежащей лабораторной практики не всегда возможно. Даже при несоблюдении Правил надлежащей лабораторной практики необходимо обеспечить высокое качество получаемых данных и целостность исследований фармакологической безопасности. Если исследования не отвечают Правилам надлежащей лабораторной практики, следует обеспечить возможность воссоздания исследования путем надлежащего ведения документации исследования и

архивирования данных. Любое исследование (или его часть), не соответствующее Правилам надлежащей лабораторной практики, следует должным образом обосновать и описать потенциальное влияние на оценку конечных точек фармакологической безопасности.

48. Основная батарея исследований фармакологической безопасности, как правило, проводится в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики. Последующие и дополнительные исследования должны максимально возможно соответствовать Правилам надлежащей лабораторной практики. Изучение фармакологической безопасности может являться частью токсикологических исследований, в этом случае последние следует проводить в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики.

49. Исследования первичной фармакодинамики не требуется проводить в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики. Исследования вторичной фармакодинамики, как правило, могут не соответствовать Правилам надлежащей лабораторной практики. Результаты исследований вторичной фармакодинамики, проведенные в ходе процесса выбора соединения, могут учитываться при проведении оценки фармакологической безопасности. При отсутствии оснований для отрицательной оценки качества проведенных исследований (например, конечные точки фармакологической безопасности не достигнуты, результаты по химическому или терапевтическому классу не достигнуты), нет необходимости повторять исследования, соблюдая Правила надлежащей лабораторной практики. В некоторых случаях результаты исследований вторичной фармакодинамики могут вносить основной вклад в оценку безопасности потенциальных нежелательных реакций у

человека, такие исследования, как правило, проводят в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики.

ПРИЛОЖЕНИЕ

к Руководству по исследованию
фармакологической безопасности
лекарственных препаратов для
медицинского применения

УКАЗАНИЯ

**по доклинической оценке способности исследуемого вещества
вызывать замедление реполяризации желудочков сердца
(удлинять интервал QT)**

I. Общие положения

1. Оценка влияния лекарственных препаратов на реполяризацию желудочков и аритмогенный риск является предметом активного изучения на доклиническом и клиническом этапе.

2. Настоящий документ описывает стратегию доклинических исследований оценки потенциала исследуемого действующего вещества замедлять реполяризацию желудочков. Настоящее приложение содержит сведения о доклинических анализах и интегральной оценке риска.

3. Интервал QT (время от начала комплекса QRS до конца зубца T) на электрокардиограмме (ЭКГ) – мера длительности деполяризации и реполяризации желудочков. Удлинение интервала QT может быть врожденным или приобретенным (например, лекарственно обусловленным). При замедлении реполяризации желудочков и удлинении интервала QT повышается риск желудочковых тахиаритмий, включая пируэтную тахикардию, особенно в сочетании с другими

факторами риска (например, гипокалиемией, органическими заболеваниями сердца, брадикардией). В связи с этим уделяется большое внимание потенциальным аритмогенным эффектам лекарств, связанных с удлинением интервала QT.

4. Реполяризация желудочков, определяемая по длительности потенциала действия миокарда, – сложный физиологический процесс. Это совокупный результат работы многих мембранных ионных каналов и переносчиков. В физиологических условиях функции указанных ионных каналов и переносчиков сильно взаимосвязаны. На активность каждого ионного канала или переносчика влияют множество факторов, включая внутриклеточную и внеклеточную концентрацию ионов, мембранный потенциал, межклеточное электрическое взаимодействие, ритм сердца и активность автономной нервной системы, но не ограничиваясь ими. Также важно метаболическое состояние (например, кислотно-основной баланс), расположение и вид кардиомиоцита. Потенциал действия желудочков человека состоит из пяти последовательных фаз:

фаза 0: нарастание потенциала действия главным образом обусловлено быстрым транзиторным входящим током Na^+ (I_{Na}) через Na^+ -каналы;

фаза 1: прекращение нарастания потенциала действия и фаза ранней реполяризации происходят за счет инактивации Na^+ -каналов и транзиторного выходящего тока K^+ (I_{to}) через K^+ -каналы;

фаза 2: плато потенциала действия отражает баланс между входящим током Ca^{2+} (I_{Ca}) через Ca^{2+} -каналы L-типа и выходящими реполяризующими K^+ -токами;

фаза 3: устойчивый нисходящий ход потенциала действия и фаза поздней реполяризации происходят за счет выходящего тока K^+ (I_{Kr} и I_{Ks}) через K^+ -каналы задержанного выпрямления;

фаза 4: потенциал покоя поддерживается за счет входящего выпрямляющего K^+ -тока (I_{Ki}).

5. Удлинение потенциала действия может происходить из-за сниженной инактивации входящих Na^+ - или Ca^{2+} -токов, повышенной активации Ca^{2+} -тока или ингибирования одного либо нескольких выходящих K^+ -токов. Быстро и медленно активирующиеся компоненты калиевого тока задержанного выпрямления (I_{Kr} и I_{Ks}), видимо, играют наиболее важную роль в определении продолжительности потенциала действия и тем самым интервала QT. Ген hERG (human ether-a-go-go-related gene) и ген KvLQT1 кодируют порообразующие белки KCNH2 и KCNQ1, которые предположительно представляют α -субъединицу калиевых каналов человека, отвечающих за I_{Kr} и I_{Ks} соответственно. Указанные α -субъединичные белки могут образовывать гетеро-олигомерные комплексы со вспомогательными β -субъединицами (то есть продуктами генов MiRP и MinK), которые, видимо, модулируют пропускные свойства белков каналов. Наиболее распространенным механизмом удлинения интервала QT лекарствами является ингибирование калиевого тока задержанного выпрямления, отвечающего за I_{Kr} .

6. Настоящий документ применяется к новым химическим соединениям для медицинского применения и зарегистрированным лекарственным препаратам (например, если нежелательные клинические явления, новая популяция пациентов или новый путь введения вызывают риск развития такого нежелательного эффекта, не

изученный ранее). Условия, при которых исследования не требуются, описаны в основном документе.

7. *In vitro* I_{Kr}- и *in vivo* QT-анализы, описанные в пунктах 16, 17 настоящего приложения, проводимые в целях регистрации лекарственных препаратов, следует проводить в соответствие с Правилами надлежащей лабораторной практики. Исследования последующего наблюдения, описанные в пунктах 20-22 настоящего приложения, должны максимально возможно соответствовать Правилам надлежащей лабораторной практики.

8. Поскольку *in vitro*- и *in vivo*-анализы являются комплементарными подходами, следует проводить оба вида анализа.

9. Экспериментальный подход и признаки риска необходимо индивидуализировать под исследуемое вещество в зависимости от его профилей фармакодинамики, фармакокинетики и безопасности.

II. Планирование и организация исследований влияния на реполяризацию желудочков сердца

10. Цели исследований включают в себя:

установление способности исследуемого вещества и его метаболитов замедлять реполяризацию желудочков на тест-системе;

соотнесение степени замедления реполяризации желудочков с концентрациями исследуемого вещества и его метаболитов.

11. Результаты исследования следует использовать для:

выяснения механизма действия исследуемого вещества;

оценки риска замедления реполяризации желудочков и удлинения интервала QT у человека при рассмотрении вместе с другими сведениями.

Принципы выбора и планирования исследований
фармакологической безопасности лекарственных
препаратов для медицинского применения

12. Доклиническая методология позволяет выяснить следующее:

ионные токи, измеряемые в изолированных животных или человеческих кардиомиоцитах, культурах клеточных линий сердца и гетерологичных экспрессирующих системах клонированных ионных каналов человека;

параметры потенциала действия в изолированных препаратах сердца или определенные электрофизиологические параметры, характеризующие продолжительность потенциала действия у анестезированных животных;

параметры электрокардиограммы, измеряемые у находящихся в сознании или анестезированных животных;

аритмогенные эффекты, измеряемые в изолированных препаратах сердца или на животных.

Указанные четыре функциональных уровня можно изучать, используя методы *in vitro* и (или) *in vivo*. Данные от функциональных уровней, перечисленных выше, считаются полезными и комплементарными.

13. Электрофизиологические исследования *in vitro* позволяют изучить потенциальные клеточные механизмы, не очевидные из данных *in vivo*. Изменения других сердечно-сосудистых параметров или влияние на несколько ионных каналов может осложнять интерпретацию данных. Эту проблему можно решить с помощью комплементарных оценок на других системах. Несмотря на то что замедление реполяризации может происходить за счет модуляции ионных каналов нескольких видов, ингибирование I_{Kr} — наиболее частый механизм

реализации индуцируемого лекарством удлинения интервала QT у человека.

14. Модели *in vivo*, обладающие полным набором молекулярных, биохимических и физиологических систем, также могут быть информативны с точки зрения ответа человека на исследуемое вещество. Тщательно спланированные и проведенные исследования *in vivo* позволяют оценить исходное вещество и метаболиты и позволяют оценить запасы безопасности. Оценка ЭКГ *in vivo* позволяет получить сведения о свойствах проведения и внесердечных влияниях (например, тонусе автономной нервной системы). Исследования параметров потенциала действия позволяет получить сведения об интегральной активности нескольких ионных каналов сердца.

Стратегия доклинических исследований
фармакологической безопасности лекарственных
препаратов для медицинского применения

15. Общая стратегия доклинических исследований для оценки риска замедления реполяризации желудочков и удлинения интервала QT, представлена на рисунке 1.

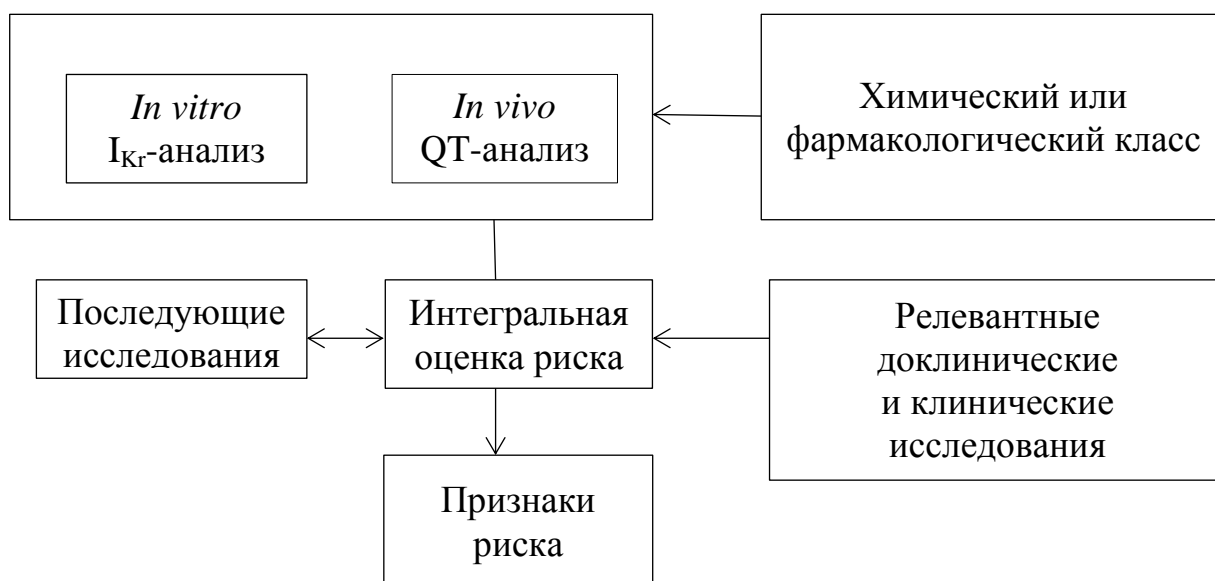


Рис.1 Стратегия доклинических исследований фармакологической безопасности лекарственных препаратов

Изучение I_{Kr} *in vitro*

16. *In vivo* I_{Kr} -анализ оценивает влияние на ионный ток через нативный или экспрессирующий I_{Kr} -канальный белок, например, кодируемый геном hERG (пункты 29-34 настоящего приложения).

In vivo QT-анализ

17. *In vivo* QT-анализ измеряет такие показатели реполяризации желудочков, как интервал QT (пункты 35-40 настоящего приложения). Указанный анализ можно спланировать так, чтобы достичь целей как основной батареи исследований фармакологической безопасности (серечно-сосудистое исследование из основной батареи), так и целей исследования по настоящему приложению. Это позволит снизить использование животных в эксперименте и других ресурсов.

Химический или фармакологический класс исследуемого вещества

18. Необходимо рассмотреть, принадлежит ли исследуемое вещество химическому или фармакологическому классу, некоторые члены которого проявляли способность удлинять интервал QT у человека (например, нейролептики, блокаторы H₁-гистаминовых рецепторов, фторхинолоны). Указанный фактор следует учитывать (если это имеет значение) при выборе референтного соединения (соединений) и включать в интегральную оценку риска.

Релевантные доклинические и клинические сведения

19. Дополнительные сведения, необходимые для интегральной оценки риска, включают в себя результаты:

- фармакодинамических исследований;
- токсикологических исследований или исследований безопасности;
- фармакокинетических исследований, включая плазменные концентрации исходного вещества и метаболитов (в том числе данные человека при наличии);
- исследований лекарственных взаимодействий;
- исследований распределения и кумуляции в тканях;
- пострегистрационного изучения.

Последующие исследования

20. Последующие исследования направлены на получение более глубокого понимания или дополнительных знаний о способности исследуемого вещества замедлять реполяризацию желудочков и удлинять интервал QT у человека. Подобные исследования могут позволить получить дополнительные сведения об активности,

механизме действия, наклоне кривой «доза — ответ» или величине ответа. Последующие исследования направлены на решение конкретных задач, поэтому применимы различные дизайны исследований *in vivo* и *in vitro*.

21. Если результаты разных доклинических исследований не согласованы и (или) результаты клинических исследований отличаются от таковых доклинических, ретроспективная оценка и последующие доклинические исследования могут пролить свет на возникшие расхождения. Результаты последующих исследований могут являться существенным компонентом интегральной оценки риска.

22. При выборе и планировании последующих исследований наряду с релевантными доклиническими и клиническими сведениями необходимо учитывать следующее:

выполнение анализов реполяризации желудочков, измеряющих параметры потенциала действия на изолированных препаратах сердца (пункты 29-34 настоящего приложения);

использование специфических электрофизиологических параметров, характеризующих продолжительность потенциала действия у анестезированных животных (пункты 35-40 настоящего приложения)

повторное (многократное) введение исследуемого вещества;

выбор вида и пола животных;

использование индукторов и ингибиторов метаболизма;

использование сопутствующих положительных контрольных веществ и референтных соединений (см. пункты 27-28 настоящего приложения);

ингибирование других ранее не оцененных каналов;

измерение электрофизиологических параметров в нескольких временных точках;

искажающие эффекты у находящихся в сознании животных, ограничивающие интерпретацию данных, таких как индуцированные исследуемым веществом влияния на ритм сердца или автономный тонус, либо такой токсичности, как тремор, судороги или рвота.

Интегральная оценка риска

23. Интегральная оценка риска — оценка результатов доклинических исследований, включающая в себя результаты последующих исследований и другие релевантные сведения. Интегральная оценка риска должна быть научной и индивидуализированной под исследуемое вещество. Такая оценка может помогать планированию клинических исследований и интерпретации их результатов. При наличии интегральную оценку риска следует включить в брошюру исследователя и доклинический обзор модуля 2 регистрационного досье на лекарственный препарат. В зависимости от стадии разработки лекарства интегральная оценка риска должна также учитывать:

чувствительность и специфичность анализа;

активность исследуемого вещества по отношению к референтному соединению (соединениям);

зависимость между экспозициями, связанными с влиянием на реполяризацию, и экспозициями исследуемого вещества, обеспечивающими первичное фармакодинамическое действие на доклинические экспериментальные виды животных или предлагаемое терапевтическое действие на человека;

вклад метаболитов в удлинение интервала QT, а также метаболические различия между человеком и животными.

Признаки риска

24. Признаки риска – общий вывод по результатам интегральной оценки риска способности исследуемого вещества замедлять реполяризацию желудочков и удлинять интервал QT у человека.

Сроки доклинических исследований и интегральной оценки риска по отношению к клинической разработке

25. Следует предусмотреть проведение доклинических исследований, направленных на оценку риска замедления реполяризации желудочков и удлинения интервала QT, перед первым введением исследуемого вещества человеку. Их результаты в составе интегральной оценки риска могут обосновывать планирование и интерпретацию результатов последующих клинических исследований.

3.Тест-системы

Выбор тест-систем

26. Настоящий раздел содержит обзор методологий, в настоящее время используемых для оценки потенциала исследуемого вещества замедлять реполяризацию желудочков и удлинять интервал QT. При выборе наиболее подходящих тест-систем необходимо принимать во внимание следующее:

научную достоверность и устойчивость методологии анализа и экспериментальных конечных точек;

стандартизацию анализов и препаратов;

воспроизводимость результатов;

релевантность конечных точек или параметров анализов для оценки риска для человека.

Использование положительных контрольных веществ и референтных соединений

27. В целях демонстрации ответной реакции *in vitro* препаратов ионных каналов и анализов продолжительности потенциала действия необходимо использовать субмаксимальную эффективную концентрацию положительного контрольного вещества и включать его в каждое исследование. В случае исследований *in vivo* положительные контрольные вещества необходимо использовать для валидации и определения чувствительности тест-системы, но включать их в каждое исследование не требуется.

28. В отношении исследуемых веществ, принадлежащих к химическому или фармакологическому классу, ассоциированному с удлинением интервала QT у человека, следует предусмотреть использование в исследованиях *in vitro* и *in vivo* сопутствующего референтного соединения (соединений) (относящегося к тому же химико-фармакологическому классу веществ) в целях облегчения ранжирования активности исследуемого вещества по отношению к его компараторам.

Электрофизиологические исследования *in vitro*

29. Электрофизиологические исследования *in vitro* могут позволить получить ценные сведения о влиянии исследуемого вещества на продолжительность потенциала действия и (или) ионные токи в сердце. Эти исследования играют важную роль при оценке потенциала удлинения интервал QT и выяснении клеточных механизмов, влияющих на реполяризацию. В электрофизиологических исследованиях *in vitro* используются отдельные клетки (например, гетерологичные экспрессирующие системы, дезагрегированные кардиомиоциты), либо

многоклеточные препараты (например, волокно Пуркинье, сосочковая мышца, трабекулы, перфузируемый миокард, интактное сердце). Гетерологичные экспрессирующие системы (белки ионных каналов человека экспрессируются на несердечных клеточных линиях) используются для оценки влияния исследуемого вещества на определенный ионный канал. По сравнению с экспрессирующими системами дезагрегированные миоциты вызывают больше технических затруднений, но позволяют оценить влияние на продолжительность потенциала действия и ионные токи. Несмотря на то что одноклеточные препараты более хрупкие, в них минимизированы диффузионные барьеры в месте действия. Многоклеточные препараты являются стабильными тест-системами для изучения продолжительности потенциала действия. Анализ параметров каждой фазы потенциала действия, таких как V_{\max} для фазы 0 (I_{Na}), APD_{30} или APD_{40} для фазы 2 (I_{Ca}) и «триангуляция» — для фазы 3 (I_K), позволяет изучить влияние на определенные каналы, отвечающие за эти фазы. Кроме того, некоторые параметры, получаемые из препарата Лангендорффа, позволяют получить сведения об аритмогенном риске.

30. Препараты тканей и клеток для анализов *in vitro* получают из различных лабораторных видов животных, включая кроликов, хорьков, морских свинок, собак, свиней, а иногда и от человека. Ионные механизмы реполяризации у взрослых крыс и мышей отличаются от ионных механизмов более крупных видов животных, включая человека (основные ионные токи, контролирующие реполяризацию у взрослых крыс и мышей, — I_{to}), поэтому использование тканей этих видов животных не приемлемо. При выборе тест-системы следует учитывать межвидовые различия с точки зрения того, какие ионные каналы сердца вносят вклад в реполяризацию сердца и продолжительность потенциала

действия. При использовании нативных тканей или клеток сердца, следует учитывать свойства и источник получения лекарственного препарата, поскольку распределение ионных каналов зависит от расположения и вида клеток.

31. Концентрации исследуемого вещества в исследованиях *in vitro* должны охватывать широкий диапазон, покрывающий пределы ожидаемой максимальной терапевтической плазменной концентрации и выходящий за их границы. Возрастающие концентрации исследуются до установления характеристик кривой «концентрация — ответ» или пока физико-химические эффекты не начнут ограничивать концентрацию. В идеале продолжительность экспозиции должна быть достаточной для получения равновесных электрофизиологических эффектов, если этому не препятствует жизнеспособность препарата клеток или тканей. Следует указать продолжительность экспозиции. Для определения чувствительности *in vitro* систем анализа следует использовать соответствующие положительные контрольные вещества.

32. К факторам, способным исказить или ограничивать интерпретацию результатов электрофизиологических исследований *in vitro*, относятся:

испытание высоких концентраций исследуемого вещества может препятствовать его низкой растворимости в водных физиологических солевых растворах;

адсорбция на стекло или пластик либо неспецифическое связывание с исследуемой матрицей может снижать концентрацию исследуемого вещества в инкубационном или перфузионном растворе;

концентрации исследуемого вещества могут быть ограничены его цитотоксическими или физико-химическими свойствами,

нарушающими целостность клеточной мембраны, что не позволяет достичь электрофизиологических конечных точек;

клетки и ткани сердца обладают низкими метаболическими возможностями для метаболизма лекарственных препаратов, поэтому исследования *in vitro* с использованием исходного вещества не позволяют получить данные о влиянии метаболитов. Если доклинические или клинические исследования *in vivo* обнаруживают удлинение интервала QT, не согласующееся с результатами исследований *in vitro* с использованием исходного вещества, следует предусмотреть проведение исследований метаболитов в *in vitro* тест-системах.

33. При разработке новых технологий анализа калиевых каналов, которые могут быть использованы для предварительного скрининга исследуемых веществ в целях выявления ведущих кандидатов, следует подтвердить согласованность новых и стандартных технологий перед началом использования таких новых технологий в целях экспертизы и регистрации лекарственного препарата.

34. Допускается использование протоколов конкурентного связывания, в которых исследуемые вещества изучаются на предмет их способности вытеснять радиоактивно меченый блокатор hERG-канала в клеточной линии, экспрессирующей hERG. Вместе с тем конкуренция за участки связывания с радиолигандами не позволяет получить сведения об агонистических или антагонистических эффектах испытуемого вещества на I_{Kr} . Более того, этот анализ не будет выявлять исследуемые вещества, связывающиеся с hERG в участках, отличных от участков связывания радиолиганда. Основываясь на этих потенциальных ограничениях, такой анализ не считается заменой

описанным в пунктах 29-33 настоящего приложения анализам фиксации потенциала (напряжения).

Электрофизиологические исследования *in vivo*

35. Модели с интактными животными позволяют изучить реполяризацию желудочков или ассоциированные с ней аритмии, в которых оценивается интегральное влияние всего комплекса ионных каналов и типов клеток. Кроме того, животные проявляют потенциальные нейрональные и гормональные влияния на фармакодинамический эффект лекарств.

36. Длина интервала QT на электрокардиограмме — наиболее часто используемая конечная точка, измеряющая влияние исследуемого вещества на реполяризацию желудочков. В специализированных электрофизиологических исследованиях сведения о реполяризации желудочков (например, продолжительность монофазного потенциала действия и эффективный рефрактерный период) можно также получить на моделях *in vivo*. Одновременно можно оценить дополнительные представляющие интерес параметры безопасности, включая артериальное давление, ритм сердца, интервал PR, ширину комплекса QRS и аритмии.

37. Интервал QT и ритм сердца имеют обратную нелинейную зависимость, варьирующая между видами и между особями одного вида. Таким образом, изменение ритма сердца влияет на интервал QT, что может исказить оценку влияния исследуемого вещества на реполяризацию желудочков и интервал QT. Есть две важные ситуации, когда имеет место вариабельность ритма сердца между особями: во-первых, в силу разницы в автономном тоне и, во-вторых, вследствие влияния исследуемого вещества на ритм сердца. В связи с этим при

интерпретации данных от *in vivo* тест-систем необходимо учитывать одновременные изменения ритма сердца. В идеале данные об интервале QT, получаемые после введения исследуемого вещества, следует сравнивать с контрольными и исходными данными при сопоставимых ритмах сердца. Если вариабельность ритма сердца не обусловлена исследуемым веществом, ее можно снизить путем акклиматизации или использованием животных моделей, в отношении которых выполнена анестезия. Если эффекты обусловлены исследуемым веществом, наиболее распространенным подходом является коррекция интервала QT на ритм сердца (QTc) с использованием формулы Базетта, Фредеричия и других подходов. Выбор формулы коррекции ритма сердца следует обосновать данными, полученными от тест-системы. Если различия в ритме сердца между вмешательством и контролем велики, то корректирующие формулы могут оказаться неэффективными для оценки риска удлинения интервала QT. Альтернативным подходом является поддержание постоянного ритма сердца с помощью искусственного водителя ритма. Иногда целесообразнее провести анализ отношения QT/RR, включая коррекцию интервала QT с использованием формул для отдельных экспериментальных животных.

38. К лабораторным видам животных, используемым в электрофизиологических исследованиях *in vivo*, относятся собаки, обезьяны, свиньи, кролики, хорьки и морские свинки. Ионные механизмы реполяризации у взрослых крыс и мышей отличаются от ионных механизмов реполяризации более крупных видов животных и человека (основные ионные токи, контролирующие реполяризацию у взрослых крыс и мышей, – I_{to}), поэтому использование крыс и мышей не приемлемо. Следует выбрать наиболее подходящие *in vivo* тест-системы и обосновать их выбор.

39. Диапазон доз должен согласовываться с диапазоном, который был использован в основной батарее исследований фармакологической безопасности и во всех выполнимых случаях включать или превышать ожидаемую экспозицию у человека. Диапазон доз может ограничиваться непереносимостью исследуемого вещества животными (например, рвота, тремор или гиперактивность). При проведении исследований, направленных на соотнесение степени замедления реполяризации желудочков с концентрациями исходного исследуемого вещества и его метаболитов, можно использовать контролируемую экспозицию с помощью постоянной внутривенной инфузии. Мониторинг экспозиции исследуемого вещества и метаболитов представляет возможность для интерпретации данных о зависимости «доза – ответ» и «концентрация – ответ» и планирования последующих исследований, если они целесообразны.

40. При проведении исследований и интерпретации результатов учитываются следующие факторы:

метод сбора и анализа данных;

чувствительность и воспроизводимость тест-систем;

период дозирования и измеряемые точки;

ритм сердца и другие эффекты, искажающие интерпретацию данных об интервале QT;

межвидовые и половые различия (например, электрофизиология сердца, гемодинамика или метаболизм лекарственных препаратов);

способность лекарственных препаратов, влияющих на несколько ионных каналов, давать сложный вид зависимости «доза — ответ» в эксперименте, который может плохо поддаваться интерпретации.

Имитация патологических состояний и аритмий

41. Точная зависимость между индуцируемым исследуемым веществом замедлением реполяризации желудочков и риском аритмии не известна. Целесообразно напрямую изучить аритмогенный риск лекарственных препаратов, удлиняющих интервал QT. При оценке аритмогенного действия могут использоваться животные модели и показатели аритмогенной активности (например, электрическая нестабильность, временная и (или) пространственная дисперсия рефрактерности, обратная частотная зависимость, изменения конфигурации потенциала действия). Приветствуется разработка заинтересованными сторонами описанных моделей и оценка их пригодности при определении риска для человека.
