

до Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення (пункт 4 Розділу IV)

Звіт про доклінічні дослідження

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення):	АКЛПФ крем 0,005 %
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	Лікарський засіб за повним досьє
2) проведені дослідження	<input checked="" type="checkbox"/> так <input type="checkbox"/> ні якщо ні, обґрунтувати
<p>2. Фармакологія:</p> <p>Трифаротен (CD5789) є потужним агоністом RARγ (агоніст γ-рецептора ретиноїдної кислоти) та виявляє високу RAR активність та високу селективність щодо RARγ (EK50 = 7,7 nM), порівняно у 65 та 16 разів нижчою активністю для RARα та RARβ, відповідно. Доведено, що селективність трифаротену до RARγ є більш вираженою, ніж селективність третиноїну та тазаротену. Трифаротен не виявляв активності щодо RXRα або RXRβ.</p> <p>У іморталізованих кератиноцитах людини трифаротен продемонстрував модуляцію всіх ретиноїд-орієнтованих генів щодо ороговіння, метаболізму та адгезії у концентраціях, які були приблизно в 10 разів нижчими, ніж для тазаротену, і приблизно у 100 разів нижчими, ніж для третиноїну. Крім того, у реконструйованому епідермісі людини та моделі експлантату шкіри людини трифаротен модулював експресію ретиноїд-орієнтованих генів, які беруть участь, наприклад, у проліферації, диференціації та запаленні і, здавалося, є більш потужними, ніж третиноїн та тазаротен, відповідно.</p> <p>Під час аналізу фармакологічної активності метаболітів трифаротену за допомогою аналізу трансактивації та стабільно трансфікованих репортерних клітинних ліній, CD09986 виявляв таку ж селективну активність антагоністів RAR гамма, як трифаротен, а CD06700 та CD06530 виявляли активність антагоністів RAR альфа/бета та агоністичну активність RAR гамма. Було виявлено, що CD09717 є слабким активним модулятором для всіх трьох ізоформ RAR. Слід зазначити, що після місцевого введення трифаротену спостерігається низьке утворення метаболітів, а отже, менша ймовірність того, що активність метаболітів має значний фармакологічний ефект після введення трифаротену.</p> <p>Камедонолітичну ефективність трифаротену у кремі В аналізували in vivo за допомогою моделі мишей-носорогів та порівнювали з препаратом Ретакніл® 0,05% та Зорак® 0,1%. Трифаротен викликав помітне зменшення кількості камедонів та збільшення товщини епідермісу у мишей-носорогів, які порівнювалися з ефектами, що спостерігалися при лікуванні третиноїном або тазаротеном, але приблизно у 10 разів меншій дозі. Запропонований текст розділу 5.1 містить прийнятний опис результатів, отриманих у доклінічних дослідженнях.</p> <p>Вторинні фармакологічні дослідження показують протизапальні ефекти трифаротену в моделі набряку вуха, викликаного ТРА, у мишей, подібних до ефектів тазаротену та депігментації in vivo у природній моделі пігментації, яка була сильнішою та швидшою, ніж викликана третиноїном. Трифаротен також виявляв депігментуючу та антипігментуючу активність in vivo в моделі УФ-індукованої пігментації у мишей.</p> <p>У тесті Ірвіна спостерігався дозозалежний седативний/міорелаксуючий ефект, а смертельний ефект спостерігався під час застосування дози 32 мг/кг та 64 мг/кг у всіх тварини, які загинули після введення трифаротену. Ці ефекти не вважаються клінічно значущими, оскільки вплив препарату в</p>	

найменшій дозі (2 мг/кг) був щонайменше в 1000 разів вищим порівняно з очікуваним впливом в клініці після місцевого застосування.

Не виявлено значної hERG-активності in vitro з очікуваною $IC_{50} > 10$ мкМ, а застосування трифаротену в дозі до 2,5 мг/кг, що спричиняє експозицію 614 нг/мл, не суттєво змінювало артеріальний тиск та істотно не змінювало частоту серцевих скорочень, PR-інтервал, інтервал QT або інтервали QTc. Жодних аритмій та інших змін у морфології електрокардіограми, які могли б бути пов'язані із застосуванням трифаротеном, також не спостерігалось. Можна відзначити, що було проведено ретельне клінічне дослідження інтервалів QT/QTc, в ході якого було зроблено висновок, що трифаротен не впливає на реполяризацію серця (див. Клінічний ЦЗ).

Трифаротен не мав значного впливу на жоден з параметрів дихання, що оцінювалися у щурів. Таким чином, в проведених дослідженнях не було виявлено жодних проблем фармакологічної безпеки під час застосування доз, що значно перевищують дози, передбачені у клінічній практиці.

На основі незначних плазмових концентрацій трифаротену та його метаболітів у плазмі крові, виявлених після місцевого введення людям, не передбачається значного ризику для системної фармакодинамічної взаємодії.

1) Первинна фармакодинаміка

1. RDS.03.SRE.48079 - Оцінка камедонолітичного ефекту препарату CD5789 у формі крему В та порівняння Ретакніл® 0,05% та Зорак® 0,1% після місцевого застосування в моделі на мишах носорогах.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити дозозалежний ефект препарату CD5789 у формі крему В в концентрації 0,001%, 0,0025%, 0,005% та 0,01% та порівняти його дію з дією Ретакніл® (третиноїн) 0,05% та Зорак® (Тазаротен) 0,1% в моделі на мишах носорогах. Крем В раніше називався крем від акне, що відповідає такому застосуванню.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Мишам-носорогам місцево застосовували плацебо крем, Ретакніл® 0,05%, Зорак® 0,1% або препарату CD5789 в концентрації 0,001%, 0,0025%, 0,005% та 0,01% в концентрації 25 мг/миша один раз на день протягом 11 днів. Тварин зважували у 1-й та 11-й день. Трансепідермальну втрату вологи (TEBB) контролювали у іммобілізованих тварин на 1-й, 5-й, 8-й та 12-й день за допомогою пристрою Tewameter®. Клінічну оцінку подразнення реєстрували кожний день, починаючи з першого дня застосування та закінчуючи через 24 години після останнього застосування.

Наприкінці експериментальної фази проводили біопсію шкіри в зоні обробки для підготовки гістологічних зрізів. Кількість камедонів і товщину епідермісу визначали за допомогою аналізу зображень (mScore) на відсканованих знімках слайдів (NanoZoomer). Статистичний аналіз проводили з використанням множинних порівнянь за допомогою тесту Уїлкоксона та корекції величини р Бонферроні. Оскільки плацебо препаратів Ретакніл® 0,05% та Зоракс® 0,1% були недоступні для тестування, результати представлені порівняно з групою, що не отримувала лікування.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 в концентрації 0,001%, 0,0025%, 0,005% та 0,01% в кремі В виявляли дозозалежну камедонолітичну активність, яка була відзначена для дози 0,0025% (зниження на 45%) і дуже сильна для 0,01% (зниження на 98%). У порівнянні з клінічними сталонними препаратами, він чинив такий же ефект, як Зорак® 0,1% або Ретакніл® 0,05% в дозі приблизно в десять разів меншій. У порівнянні з препаратом Зорак® 0,1% виявилось, що подразнення після місцевого застосування препарату CD5789 було значним, але дуже тимчасовим і зникало майже у всій групі на 12-й день, хоча на початку дослідження препарат Зорак® 0,1% добре переносився, але викликав подразнення, яке збільшувалося з тривалістю лікування. Препарат Зорак® 0,1% сильно зменшував приріст маси тіла і спричинив значну зміну TEBB, яка продовжує зростати на 12-й день, тоді

як препарат CD5789 не змінював приріст маси тіла та викликав більш короткочасну модифікацію TEBB.

2. RDS.03.SRE.82058 – Огляд фармакологічних даних in vitro препарату CD5789

МЕТА:

Метою дослідження було охарактеризувати молекулярну фармакологію препарату CD5789 з використанням молекулярного скринінгу in vitro за допомогою аналізу генів-репортерів та охарактеризувати клітинну фармакологію in vitro препарату CD5789 з використанням іморталізованих кератиноцитів людини, моделей реконструйованого епідермісу людини та шкіри людини шляхом вивчення експресії ретиноїд-орієнтованих генів.

a. Молекулярна фармакологія

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

В основі фармакологічних моделей, використаних для цих досліджень, лежали технології гена-репортера (або люциферази, або бета-лактамази). Ці аналізи на основі клітин забезпечують чутливий метод аналізу внутрішньоклітинного впливу досліджуваних сполук на ядерні рецептори (ЯР). Ці функціональні аналізи дозволяють вимірювати агонізм або антагонізм рецепторів за допомогою сполук та можуть використовуватися для визначення активності, ефективності та селективності сполук.

Для вимірювання активації RAR, химерні RAR (альфа або бета або гамма) ліганд-зв'язуючі домени, злиті з елементом, чутливим до GAL4, були вставлені для регулювання експресії гена люциферази у плазмідах, трансфікованих у клітинах HeLa. В аналізах трансактивації ядерних рецепторів ретиноевої кислоти (RAR) активація рецепторів RAR агоністом призводить до експресії гена-репортера люциферази, який генерує світло у присутності свого субстрату (люциферину). Після інкубації з препаратом CD5789 або референтними сполуками готували лізати клітин і кількісно визначали активність Luc методом люмінесценції.

Для вимірювання активації RXR, химерні RXR (альфа або бета) ліганд-зв'язуючі домени, злиті з елементами, чутливими до GAL4, були вставлені для регулювання експресії гена беталактамази (bla) у плазмідах, трансфікованих у клітинах UAS-bla HEK293T. Моделі, використані для цього дослідження, ґрунтовані на технології GeneBLAzer®. Після інкубації з препаратом CD5789 або референтними сполуками клітинні лізати завантажували інженерним флуоресцентним субстратом, і активність беталактамази (бла) визначали кількісно методом флуоресценції.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 є повноцінним та селективним агоністом для RAR γ (EK50 = 7,7 нМ) і має у 16-65 разів слабкішу спорідненість до RAR α та RAR β , відповідно.

b. Клітинна фармакологія

- Активність на іморталізовані кератиноцити людини (DK-7)

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Кератиноцити (DK-7) висівали в 96-лункові планшети по 60000 клітин в кожному лунку в поживному середовищі повного складу. Через чотири дні клітини обробляли серійними розведеннями препарату CD5789, третиноїном або тазаротеном. ДМСО та ароматична кислота ((4-[(E)-2-(5,6,7,8-тетрагідро-5,5,8,8-тетраметил-2-нафталініл)-1-пропеніл] бензойна кислота або ТТНФБ, потужний панангоніст RAR) в концентрації 125 нМ додавали як негативний та позитивний контроль, відповідно. Через три дні після початку інкубації клітини піддавали лізису і проводили аналіз ММП (мультиплексне визначення

молекулярного профіля з НТГ, високопродуктивного секвенування геному) відповідно до протоколу виробника.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 продемонстрував сильну модуляцію ретиноїд-орієнтованих генів для ороговіння, метаболізму та адгезії, і був приблизно у 10 разів потужнішим за тазаротен і приблизно у 100 разів потужнішим за третиноїн.

- Активність у реконструйованому епідермісі людини (РЕЛ)

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Реконструйований протягом вісімнадцяти днів епідерміс людини (РЕЛ) від SkinEthic® місцево обробляли (10 мкл/см²) етанолом, препаратом CD5789, тазаротеном (у етанолі) або третиноїном та інкубували при температурі 37°C протягом 24 годин. Потім зразки збирали та зберігали при температурі -20°C в буфері для лізису. Потім РНК елюювали і кількісно визначали спектрофотометром Nanodrop. Було проаналізовано 45 генів, які беруть участь у різних процесах (включаючи проліферацію, диференціювання та запалення). Дані експресії генів були отримані за допомогою аналізів експресії генів TaqMan® (Applied Biosystems). Після зворотної транскрипції проводили реакцію кількісної ПЦР за допомогою термоциклера ABI Prism 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems) згідно протоколу виробника. Кожне значення Ct («пороговий цикл») (<35Ct) було нормалізовано до середнього Ct конститутивних генів, а порівняльний метод Ct використовували для обчислення відносної експресії генів порівняно з необробленим контролем.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 був таким же потужним, як тазаротен, щодо модуляції ретиноїд-орієнтованих генів, пов'язаних з процесом диференціації та процесом запалення, і приблизно в 10 разів потужнішим, ніж третиноїн.

- Активність в моделі експлантації шкіри людини

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Для приготування 4-мм зразків, оброблених місцево в кількості 5 мг/см² етанолом, препаратом CD5789 або тазаротеном в етанолі в семи концентраціях від 3 до 1000 частин на мільйон були використані біопсії шкіри людини з пластичної хірургії в черевній області. Сполуки інкубували протягом 48 годин у інкубаторі із зволуженим CO₂ (5%) при температурі 37°C. Готували РНК та отримували експресію гена за допомогою TaqMan Low Density Arrays (TLDA) (Applied Biosystems). Було проаналізовано 45 генів, які беруть участь у різних процесах (включаючи проліферацію, диференціювання та запалення). Значення Ct, не визначені програмним забезпеченням для розрахунків («Не визначено»), що перевищують значення 35 або відхилені, були приведені до 35. Кожне значення Ct було нормалізовано до середнього Ct конститутивних генів, щоб виправити будь-які зміни в окремих експериментах щодо ефективності зворотної транскрипції та кількість загальної РНК, доданої до кожної реакції. Для розрахунку відносної експресії генів порівняно з необробленим контролем використовували метод порівняння Ct. Відносну експресію (кратну модуляцію) порівняно з необробленим контролем розраховували для десяти обраних генів для препарату CD5789 та тазаротену. Було відібрано десять генів зі значною модуляцією: KRT4, KRT10 та KTR2 для ороговіння, KLK13 для лушення, PLAT для міграції клітин та рубцювання, ICAM1 для запалення, DHRS3 для метаболізму ретиноїдів, TGM3 та LOR для ороговіння та DSC1 для адгезії клітин. Для всіх семи концентрацій препарату CD5789 та тазаротену, протестованих в діапазоні від 3 та 1000 ppm, середній рівень експресії був розрахований для всіх десяти генів, і були складені графіки для визначення загальної середньої ЕК50 для всіх ретиноїд-орієнтованих генів.

ВИСНОВОК:

	<p>Препарат CD5789 індукував ретиноїд-орієнтовані гени у моделі експлантації шкіри людини з дещо вищою активністю порівняно з тазаротеном.</p>																		
<p>2) Вторинна фармакодинаміка</p>	<p>3. RDS.03.SRE.16654 - Оцінка протизапальної дії препарату CD* після одноразового місцевого застосування в моделі ТРА-індукованого набряку вуха у мишей.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було оцінити протизапальний ефект препарату CD5789 в етанолі в концентрації 0,1% після одноразового місцевого застосування в моделі ТРА-індукованого набряку вуха у мишей.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Вухо кожної миші лінії Balb/c ВуJlco (5 самиць/група) одноразово обробляли 20 мкл етанолу (негативний контроль) або ТРА, розчиненим в етанолі в концентрації 0,01%, чистим або в комбінації з адапаленом, препаратом CD5789 або тазаротеном, всі випробовували в концентрації 0,1% в етанолі. Товщину вуха вимірювали до нанесення та через 6 годин після нанесення з метою оцінити ТРА-індукований набряк вуха. Хоча в цьому експерименті досліджували кілька сполук, далі повідомляється лише про результати для CD5789, адапалену та тазаротену в якості еталонних сполук.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Препарат CD5789 чинив сильну протизапальну дію в моделі ТРА-індукованого набряку вуха у мишей.</p> <p>4. RDS.03.SRE.46005 - Оцінка депігментуючої дії препарату CD5789 через 6 тижнів місцевого застосування на хвості миші лінії SKH2, що застосовувався окремо або в комбінації з гідрохіноном (CD3139). Порівняння з адапаленом та третиноїном.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було оцінити депігментуючу дію препарату CD5789 через 6 тижнів місцевого застосування на хвості миші лінії SKH2 та порівняти цей ефект з дією адапалену (CD0291) та третиноїну (CD0014).</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Самицям мишей лінії SKH2 (5/група) на хвіст (20 мкл) місцево наносили різні сполуки в суміші з ацетоном (див. таблицю далі) протягом 6 тижнів (5 днів/тиждень).</p> <table border="1" data-bbox="491 1406 1501 1581"> <thead> <tr> <th>Група*</th> <th>Сполука</th> <th>Концентрація</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Гр 1</td> <td>Апетон (плацебо)</td> <td>НЗ</td> </tr> <tr> <td>Гр 2</td> <td>Адапален</td> <td>0,1%</td> </tr> <tr> <td>Гр 3</td> <td>Третиноїн</td> <td>0,01%</td> </tr> <tr> <td>Гр 4</td> <td>CD5789</td> <td>0,001%</td> </tr> <tr> <td>Гр 5</td> <td>CD5789</td> <td>0,01%</td> </tr> </tbody> </table> <p>Інші групи, які отримували гідрохінон (CD3139) окремо або в комбінації з іншими сполуками, досліджувалися в цьому дослідженні, але результати, отримані для цих груп у цьому документі не повідомляються.</p> <p>НЗ: Не застосовується</p> <p>Хвіст кожної миші оглядали раз на тиждень, щоб оцінити пігментацію шкіри (від 0 (природна пігментація) до +4 (повністю чорна) або -4 (повністю депігментована)) та подразнення. Крім того, під час дослідження на хвості миші тричі проводили хроматометричні вимірювання: у 1-й день, через 3 та 6 тижнів. Після 6 тижнів лікування відбирали зразки шкіри хвоста та проводили гістологічну оцінку за допомогою фарбування Фонтана Массона та L-ДОФА.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u></p>	Група*	Сполука	Концентрація	Гр 1	Апетон (плацебо)	НЗ	Гр 2	Адапален	0,1%	Гр 3	Третиноїн	0,01%	Гр 4	CD5789	0,001%	Гр 5	CD5789	0,01%
Група*	Сполука	Концентрація																	
Гр 1	Апетон (плацебо)	НЗ																	
Гр 2	Адапален	0,1%																	
Гр 3	Третиноїн	0,01%																	
Гр 4	CD5789	0,001%																	
Гр 5	CD5789	0,01%																	

	<p>Після 6 тижнів місцевого застосування на хвості миші лінії SKH2, препарат CD5789 чинив значну депігментуючу дію в концентрації 0,01%, тільки вона була сильнішою та швидшою, ніж дія третиноїну в концентрації 0,01%. Активність CD5789 була максимальною після 4 тижнів застосування. Обидві сполуки викликали важку епідермальну гіперплазію, яка була сильнішою під час застосування препарату CD5789 0,01%, ніж під час застосування третиноїну 0,01%.</p> <p>5. RDS.03.SRE.47078 - Оцінка активності 2 інгібіторів тирозинази (CD06972, CD07629) та 1 агоніста RAR (CD5789) на природну та УФ-індуковану пігментацію на хвості миші лінії SKH2 після 6 тижнів місцевого застосування.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було оцінити депігментуючу дію препарату CD5789 на природну та УФ-індуковану пігментацію на хвості миші лінії SKH2 після 6 тижнів місцевого застосування.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Самицям мишей лінії SKH2 (5/групу) на хвіст (20 мкл) місцево наносили препарат CD5789 в суміші з ацетоном 0,003% протягом 6 тижнів (5 днів/тиждень). Крім того, хвіст кожної тварини опромінювали при 90 мДж/см² (UVB) протягом 3 днів на тиждень. Коли опромінення тварин виконували в той же день, що й наносили препарат, препарат наносили після УФ-опромінення. Хвіст кожної миші оглядали один раз на тиждень, щоб оцінити пігментацію шкіри (від 0 (природна пігментація) до +4 (повністю чорна) або -4 (повністю депігментована)) та подразнення. Крім того, на початку та в кінці дослідження на хвості миші проводили хромаметричні вимірювання. Після 6 тижнів лікування відбирали зразки шкіри хвоста, а гістологічні оцінки проводили за допомогою фарбування Фонтана Массона та L-ДОФА.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Це дослідження показало, що препарат CD5789 має сильну депігментаційну та антипігментаційну дію в концентрації 0,003%, яка помітна вже через 2 тижні та максимум через 4 тижні. Ця дія супроводжується вираженою або тяжкою епідермальною гіперплазією.</p>
3) Фармакологія безпеки	<p>6. RDS.03.SRE.12657 - Оцінка препарату CD5789 в тесті первинного спостереження (Ірвіна) у щурів (в/в застосування).</p> <p><u>МЕТА:</u> Вплив на центральну нервову систему</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Вплив препарату CD5789 (2, 4, 8, 16, 32 та 64 мг/кг) на поведінку та фізіологічну функцію щурів досліджували після одноразового внутрішньовенного (в/в) введення у хвостову вену за допомогою теста Ірвіна. Протягом дослідження в кожній групі використовували по чотири тварини. В якості контрольних речовин використовували плацебо з поліетиленгліколю (ПЕГ) 400/етанолу/фізіологічного розчину (70/10/20 м/м/м) та фізіологічний розчин.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Вважали, що максимальною стерпною в/в дозою є доза, що дорівнює 16 мг/кг, а доза від 32 мг/кг вважається летальною. Препарат CD5789 чинить чіткий та дозозалежний седативний /міорелаксуючий ефект, пов'язаний з прискореним диханням, в дозі від 2 до 32 мг/кг.</p> <p>7. RDS.03.SRE.12528 - In-vitro ефекти препарату CD5789 на струм hERG (I_{KR}), виражений в ембріональних клітинах нирок людини (HEK).</p> <p><u>МЕТА:</u></p>

Вплив на серцево-судинну та дихальну систему

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Вплив препарату CD5789 на калієвий струм відкладеного випрямлення (IKr), кодований hERG, у стабільно трансфікованих ембріональних клітинах нирок людини (HEK293) досліджували після суперфузії при кумулятивних концентраціях 0,01, 0,1, 1 та 10 мкМ з частотою стимуляції 6 імпульсів/хв (0,1 Гц). Для порівняння до дослідження було включено групу плацебо (4 послідовні періоди суперфузії із специфічним наповнювачем, що використовується для приготування CD5789, тобто диметилсульфоксид (ДМСО), розведений у позаклітинному розчині). Терфенадин (1 мкМ), суперфузію якого виконували після чотирьох суперфузій наповнювача, використовували як еталонну речовину.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 продемонстрував дуже низьку активність щодо подовження інтервалу QT лише в дозі 10 мкМ.

8. RDS.03.SRE.12617 – Оцінка серцево-судинного ризику препарату CD5789 у собак у свідомому стані, який контролювали за допомогою телеметрії (пероральне застосування).

МЕТА:

Вплив на серцево-судинну та дихальну систему

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Ефекти препарату CD5789 після одноразового перорального введення в дозі 0,25, 1 або 2,5 мг/кг на артеріальний тиск, частоту серцевих скорочень та основні параметри електрокардіограми оцінювались у самців та самиць собак породи Бігль у стані свідомості, які відстежувалися за допомогою телеметрії. Собакам (3/стать) спочатку перорально вводили плацебо (тобто 0,5% карбоксиметилцелюлози (КМЦ) та 0,1% Твін 80 у дистильованій воді), а потім 3 дози препарату CD5789, які поступово збільшували. Вимірювання проводили за 30 хвилин до введення та через 24 години після введення. Між кожним введенням витримували період вимивання протягом щонайменше 48 годин. Плацебо (0,5% КМЦ та 0,1% Твін 80 у дистильованій воді) використовували як контрольну речовину. Оцінювали плазмову концентрацію препарату CD5789, зразки крові збирали перед кожним введенням та через 1 та 3 години після кожного введення.

ВИСНОВОК:

Після перорального введення препарату CD5789 в дозі 0,25, 1 або 2,5 мг/кг у свідомих самців та самиць собак породи Бігль максимальна концентрація у плазмі крові становила 123, 316 та 614 нг/мл через 3 години після кожного введення. Лікування суттєво не змінювало артеріальний тиск, частоту серцевих скорочень, інтервал PR, інтервал QT та інтервал QTc (формули Фрідеріка та ван де Вотера). Жодних аритмій та інших змін у морфології електрокардіограми, які можна було б віднести до препарату CD5789, не спостерігалось.

9. RDS.03.SRE.12981 – Дослідження фармакологічної безпеки препарату CD5789 на дихальну функцію у свідомих щурів (загальна плетизмографія) (пероральне застосування).

МЕТА:

Вплив на серцево-судинну та дихальну систему

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Вплив препарату CD5789 (5, 15 та 45 мг/кг) на функцію дихання досліджували після перорального введення у свідомих самиць щурів лінії Вістар (8 щурів/доза). Для введення препарат CD5789 диспергували у 0,5%

	<p>карбоксиметилцелюлози та 0,1% Твін® 80 у дистильованій воді, яку використовувалася в якості контрольної речовини. В якості еталонної речовини вводили теofilin у дозі 100 мг/кг, диспергований у 0,2% гідроксипропілметилцелюлози. Аналіз складу показав, що всі досягнуті середні концентрації зразків препаратів були задовільними (у межах $\pm 15\%$ від номінальних значень). Крім того, препарат CD5789 не був виявлений у складі плацебо.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Препарат CD5789, що вводили перорально самцям щурів лінії Вістар у свідомості в дозах 5, 15 та 45 мг/кг, не впливав на функцію дихання протягом випробування тривалістю 240 хвилин.</p>
<p>4) Фармакодинамічні взаємодії</p>	<p><u>Не застосовується</u></p>
<p>3. Фармакокінетика:</p> <p>Був представлений повний пакет фармакокінетичних досліджень трифаротену.</p> <p>Абсорбція трифаротену після місцевого застосування є низькою. При аналізі проникнення препарату <i>in vitro</i> на неоклюдованій парній шкірі миші у повній товщині, розташовану на дифузійних клітинах, в дозі 10 мг/см² концентрація у рецепторній рідині через 24 години була нижчою за межу кількісного визначення (МКВ) (0,25 нг/мл). Загальне проникнення трифаротену становило 21 % від застосованої дози та виводилося виключно зі шкіри.</p> <p>Біодоступність після нанесення на шкіру була низькою та становила приблизно 5% у щурів, а також була нижчою за МКВ (0,05 нг/мл) після одноразового введення у мініпігів. Після 12 днів місцевого застосування крему в концентрації 100 мкг/г у мініпігів, найвища середня концентрація Стах у плазмі крові становила 1,05 нг/мл, що свідчить про обмежений системний вплив після місцевого застосування. (Крем в концентрації 50 мкг/г не перевіряли.) Пероральна біодоступність трифаротену становила 17% та 27% у самців та самиць щурів, відповідно, та 26% до 37% у самців та самиць собак. Кліренс був низьким або помірним та нижчим за серцевий викид у всіх трьох досліджених видів, а період напіввиведення становив 3, 4 та 6,5 годин у щурів, собак та мініпігів, відповідно. Обсяг розподілу був у 24 – 42 рази вищим у самиць та самців щурів відповідно, порівняно з відповідним об'ємом плазми, у 20 разів вище у собак та у 32 рази вище у мініпігів, що свідчить про високий рівень розподілу препарату.</p> <p>У щурів спостерігався помітний гендерний ефект, при цьому Стах та системний вплив були вищими для самиць, ніж для самців. Самиці щурів після внутрішньовенного, перорального та шкірного введення піддавалися у 3,6, 5,8 та 3,3 рази більшому впливу відповідно, ніж самці. У собак відповідний гендерний ефект не спостерігався. Розподіл в тканинах вивчали на щурах лінії Вістар (альбінос) або на щурах лінії Лістер Худид (пігментовані) з використанням доз 1,5 мг/кг внутрішньовенно або 2 мг/кг перорально та методу рідинної сцинтиляційної детекції або QWBA для кількісного визначення радіоактивності. Трифаротен широко розподілявся в організмі щурів після перорального та внутрішньовенного введення. Найвищі рівні радіоактивності вимірювали в печінці, нирках, препуциальній залозі, корі надниркових залоз та в слинних залозах, з найвищими концентраціями в печінці. Розподіл у мозку та тканинах, що містять меланін, був відносно низьким. У більшості тканин через 48 та 72 години після прийому дози для чоловіків та жінок, відповідно, радіоактивність не виявлена. Таким чином, отримані дані не припускають ризику накопичення або зв'язування з меланіном. Трифаротен проникає через плацентарний бар'єр і, здається, швидко виводиться. Зв'язування з білками плазми крові було високим (> 99,7%) і в усіх аналізованих видів (миша, щур, кролик, собака, мініпіг, людина) не насичувалися, а зв'язування з HSA виявилось таким же високим. Зв'язування з $\alpha 1$-глікопротеїном людини було дещо меншим (97,4%).</p> <p>Трифаротен був основним циркулюючим радіоактивним компонентом у плазмі крові як щурів, так і собак після внутрішньовенного та перорального введення, при цьому виявлено лише два або три метаболіти. У щурів однозначно виявляли два метаболіти: CD06530 (самці 5%, самиці 3%) та CD06700 (лише <2% у самиць), крім того, до одного метаболіту була призначена одинична структура, CD09986 (самці 11%, самиці 5%). У собак на додаток до вихідної сполуки були виявлені два піки, але їх концентрація в плазмі була недостатньою для ідентифікації методом РХ-МС/МС. Трифаротен також</p>	

був основним радіоактивним компонентом у фекаліях щурів (~ 25% у самців і ~ 60% у самиць) та собак (~70%). Вихідна сполука була другорядним компонентом у жовчі щурів, а найпоширенішим компонентом замість нього був глюкуронідний кон'югат трифаротену.

Багаторазове щоденне місцеве застосування крему з трифаротеном (50 мкг/г) у дорослих та дітей протягом 4 тижнів призвело до низького системного впливу (нижче або близько до МКВ 5 пг/мл) і лише 37% дорослих та 18% дітей мали кількісно виражені рівні трифаротену в плазмі крові. Вимірюваних метаболітів не виявлено. При використанні крему з трифаротеном у вищій концентрації (100 мкг/г) у 61 % дорослих та 69 % дітей концентрацію трифаротену у плазмі крові визначали кількісно, але метаболіти були виявлені лише у кількох осіб. У 2 дорослих суб'єктів з 18 спостерігали кількісно визначені рівні CD06530 (C_{max} = 13 та 15 пг/мл) та у одного - кількісно визначений рівень CD09986 (C_{max} = 33 пг/мл). Концентрації CD09717 та CD06700 у плазмі були нижчими за МКВ (<10 пг/мл). У педіатричних суб'єктів, які отримували трифаротен в дозі 100 мкг/г визначали концентрацію одного метаболіту (CD06530) кількісно визначали як низьку (C_{max} = 19 пг/мл у особи з найбільшим впливом). (Див. Клінічна ІЦЗ).

Незважаючи на низький рівень виявлених метаболітів, заявник представив дані, які показують, що системний вплив кожного метаболіту, що спостерігається під час доклінічних досліджень, включає вплив, що спостерігається у людини, і тому стосовно цього питання доклінічні токсикологічні дослідження є достатніми.

Фекалії був найважливішим шляхом виведення загальної радіоактивності після внутрішньовенного та перорального введення як у щурів, так і у собак, що становить майже 100% введеної дози, і виводився препарат майже повною протягом 48 годин. У щурів виведення препарату з жовчу становило в середньому 31% у самців і 38% у самиць. У лактуючих щурів після одноразового перорального введення препарат виділявся в грудне молоко, а середнє співвідношення молоко: плазма щодо загальної радіоактивності збільшувалося за період вибірки з 0,53 (через 1 годину після введення дози) до 2,42 (через 8 годин після прийому дози).

Потенціал міжлікарської взаємодії (DDI) препарату CD5789 на тваринах не вивчався. Дослідження проводили *in vitro* використовуючи біоматеріали людини та моделювання РВРК, а також досліджували в одному клінічному дослідженні DDI. (Див. Щорічний звіт з клінічної фармакокінетики)

1) аналітичні методики та звіти щодо їх валідації

Біоаналітичні методики та звіти про валідацію зазначені далі:

10. RDS.03.VRE.34257 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми мишей – Валідація.
11. RDS.03.VRE.34162 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми щурів методом ВЕРХ з детекцією EPI-МС/МС – Валідація.
12. RDS.03.VRE.34185 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми щурів методом ВЕРХ з детекцією EPI-МС/МС – Валідація.
13. RDS.03.VRE.34206 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми щурів методом ВЕРХ з детекцією EPI-МС/МС – Валідація.
14. RDS.03.VRE.34305 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми щурів. Дослідження відповідності вимогам GLP.
15. RDS.03.VRE.34159 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми кролів методом ВЕРХ з детекцією EPI-МС/МС – Валідація.
16. RDS.03.VPR.34160 – Визначення довгострокової стабільності препарату CD5789 у зразках плазми щурів методом ВЕРХ з детекцією EPI-МС/МС.
17. RDS.03.SRE.4938 – Біоаналітична та токсикокінетична оцінка метаболітів CD5789 у щурів.
18. RDS.03.VRE.34180 - Валідація методу РХ-МС/МС для визначення препарату CD5789 в плазмі крові собак.
19. RDS.03.АТР.34223 – Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми собак методом ВЕРХ з детекцією EPI-МС/МС.

20. RDS.03.VRE.34304 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми собак – Валідація.
21. RDS.03.VRE.34254 – Розробка методу РХ-МС/МС для визначення препарату CD5789 в плазмі крові мініпігів.
22. RDS.03.VRE.111525 - Біоаналітична методика для визначення CD5789 у зразках плазми мініпігів.
23. RDS.03.VRE.34275 - Валідація методу РХ-МС/МС для визначення препарату CD5789 в плазмі крові мініпігів.

Ці методи були використані для аналізу CD5789 у дослідженнях пероральної та шкірної токсичності, проведених заявником для надання токсикокінетичної інформації у дослідженнях відповідності вимогам GLP. Метаболіти CD5789 також визначали у 26-тижневому дослідженні пероральної токсичності на щурах (RDS.03.SRE.12863, див. Розділ 4. Токсикологія 2) токсичність багаторазового застосування). Деякі дані щодо цих методів зведені в Таблиці 3 – Таблиці 8.

Таблиця 3. Опис методик, використаних для визначення препарату CD5789 у зразках плазми крові мишей

Види	Матриця	Попередня обробка зразків	Обсяг зразків (мкл)	Аналітична методика	Діапазон калібрування (нг/мг)	Межа кількісного визначення (нг/мл)	Номер звіту
Миші	Плазма	Осадження білка	100 мкл	ВЕРХ – МС/МС	0,1 – 10	0,1	RDS.03.VRE.34257

Таблиця 4. Опис методик, використаних для визначення препарату CD5789 у зразках плазми крові щурів

Види	Матриця	Попередня обробка зразків	Обсяг зразків (мкл)	Аналітична методика	Діапазон калібрування (нг/мг)	Межа кількісного визначення (нг/мл)	Номер звіту
Щури	Плазма	Твердофазна екстракція	100	ВЕРХ – МС/МС	0,25 - 100	0,25	RDS.03.VRE.34162
Щури	Плазма	Твердофазна екстракція	100	ВЕРХ – МС/МС	0,25 - 100	0,25	RDS.03.VRE.34185
Щури	Плазма	Осадження білка	100	ВЕРХ – МС/МС	0,25 - 100	0,25	RDS.03.VRE.34206
Щури	Плазма	Осадження білка	100	ВЕРХ – МС/МС	0,25 - 100	0,25	RDS.03.VRE.34305

Таблиця 5. Опис методик, що використовуються для визначення метаболітів препарату CD5789 у зразках плазми крові щурів

Види	Матриця	Попередня обробка зразків	Обсяг зразків (мкл)	Аналітична методика	Діапазон калібрування (нг/мг)	Межа кількісного визначення (нг/мл)	Номер звіту
Щур	Плазма	Рідинна екстракція	100	ВЕРХ – МС/МС	0,03 - 3 для всіх сполук	0,03	RDS.03.VRE.4938*

Методика не валідована.

Таблиця 6. Опис методик, що використовуються для визначення препарату CD5789 у зразках плазми крові кролів

Види	Матриця	Попередня обробка зразків	Обсяг зразків (мкл)	Аналітична методика	Діапазон калібрування (нг/мг)	Межа кількісного визначення (нг/мл)	Номер звіту
Кролі	Плазма	Твердофазна екстракція	100	ВЕРХ – МС/МС	0,25 – 100	0.25	RDS.03.VRE.34159

Таблиця 7. Опис методик, що використовуються для визначення препарату CD5789 у зразках плазми крові собак

Види	Матриця	Попередня обробка зразків	Обсяг зразків (мкл)	Аналітична методика	Діапазон калібрування (нг/мг)	Межа кількісного визначення (нг/мл)	Номер звіту
------	---------	---------------------------	---------------------	---------------------	-------------------------------	-------------------------------------	-------------

		обробка зразків	зразків (мкл)	методика	калібрування (нг/мг)	кількісного визначення (нг/мл)	
Собака	Плазма	Рідинна екстракція	100	ВЕРХ – МС/МС	0,5 – 100	0,5	RDS.03.VRE.34180
Собака	Плазма	Осадження білка	100	ВЕРХ – МС/МС	0,5 – 100	0,5	RDS.03.VRE.34223
Собака	Плазма	Осадження білка	100	ВЕРХ – МС/МС	0,5 – 100	0,5	RDS.03.VRE.34304

Таблиця 8. Опис методик, що використовуються для визначення препарату CD5789 у зразках плазми крові мініпігів

Види	Матриця	Попередня обробка зразків	Обсяг зразків (мкл)	Аналітична методика	Діапазон калібрування (нг/мг)	Межа кількісного визначення (нг/мл)	Номер звіту
Мініпіг	Плазма	Осадження білка	500	ВЕРХ – МС/МС	0,05 – 5	0,05	RDS.03.VRE.34254
Мініпіг	Плазма	Рідинна екстракція	500	ВЕРХ – МС/МС	0,05 – 5	0,05	RDS.03.VRE.111525
Мініпіг	Плазма	Рідинна екстракція	500	ВЕРХ – МС/МС	0,05 – 5	0,05	RDS.03.VRE.34275

2) Всмоктування

Дослідження проникнення в шкіру in vitro

24. RDS.03.SRE.104532 – Оцінка in vitro проникнення в шкіру препарату CD5789 у формі HE1 крему та ex vivo у формі крему (Крем В, Крем Симульгель) в шкірі мишей.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити проникнення препарату CD5789 у двох різних формах (окрім крему, розробленого для лікування акне) у відсіченій шкірі миші. Представлені тільки результати для крему, предмету цієї заявки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Проникнення препарату CD5789 у трьох лікарських формах в шкіру in vitro: HE1 крем, який містить 0,001% або 0,01% препарату CD5789 та крем, який містить 0,01% препарату CD5789 оцінювали на неоклюдованій парній шкірі миші у повній товщині, розташовану на дифузійних клітинах (CD-1® IGS, самець, віком 20 тижнів). Кінцеву дозу 10 мг/см² кожної лікарської форми наносили на зовнішню поверхню шкіри площею 2 см². Кожні умови перевіряли у дев'яти повторення на дев'яти різних мишах. Тест-систему термостатували при температурі 37°C, а рецепторну рідину (3 мл фосфатно-сольового буферного розчину) безперервно перемішували зі швидкістю 350 об/хв. В статичних умовах тривалість обробки становила 24 години. Наприкінці обробки вимірювали концентрації препарату CD5789 у загальній кількості зразків шкіри, рецепторної рідини та лікарській формі, використовуючи метод РХ-МС/МС. Межі кількісного визначення для загальної матриці шкіри та рецепторної рідини становили 0,125 нг/мл та 0,25 нг/мл, відповідно.

ВИСНОВОК:

Загальне проникнення препарату CD5789 при нанесенні 100 мкг/г у формі крему ex vivo на шкіру мишей становило 20,6% від застосованої дози т відновлювалося виключно в шкірі.

25. RDS.03.SRE.4785 – Фармакокінетика у щурів лінії Спрег-Доулі після одноразового перорального, внутрішньовенного застосування або застосування на шкірі.

МЕТА:

Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетичний профіль препарату CD5789 у самців та самиць щурів лінії Спрег-Доулі після

одноразового внутрішньовенного (в/в), перорального застосування або застосування на шкірі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 вводили самцям і самицям щурів лінії Спрег-Доулі при одноразовому внутрішньовенному або пероральному застосуванні в дозі 1 мг/кг або при одноразовому застосуванні на шкірі в дозі 4,9 мг/кг. При внутрішньовенному введенні використовували ПЕГ 400/етанол (EtOH)/NaCl 0,9% (70/10/20) (м/м/м) об'ємом 1 мл/кг. При пероральному введенні використовували 0,5% карбоксиметилцелюлози + Твін 80 (0,01 %) у очищеній воді (м/м/м) об'ємом 5 мл/кг. При нанесенні на шкіру використовували пропіленгліколь (ПГ)/EtOH (20/80) (м/м) об'ємом 5 мг/см². Зразки крові відбирали у 3 щурів/стать/доза/час. Відповідні зразки плазми аналізували за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-спектрометричним детектуванням (МКВ: 0,125 нг/мл). Фармакокінетичні параметри визначали некомп'ютерним методом із середніх концентрацій у плазмі крові за статтю та групами.

ВИСНОВОК:

Після внутрішньовенного введення препарат CD5789 помірно виводився з плазми та мав високий ступінь розподілу. Препарат CD5789 при одноразовому застосуванні не повинен накопичуватися у значних кількостях.

26. RDS.03.SRE.31094 - Всмоктування, розподіл, метаболізм та виведення препарату CD5789 у щурів лінії Вістар після одноразового введення внутрішньовенної та пероральної дози.

МЕТА:

Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетичні параметри загальної радіоактивності після одноразового внутрішньовенного або перорального введення [14C] CD5789. Інші результати, що стосуються параметрів розподілу, метаболізму та виведення, наведені у відповідних розділах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Щурам лінії Вістар одноразово внутрішньовенно або перорально вводили [14C]-CD5789 в дозі 1,5 та 2 мг/кг, відповідно. До дослідження були включені чотири групи щурів: група 1 (4 щури/стать, внутрішньовенна доза) та група 2 (4 щури/стать, пероральна доза) для балансу маси (група виведення). Група 3 (39 щурів/стать, внутрішньовенна доза) та група 4 (36 щурів/стать, пероральна доза) для визначення фармакокінетичних (ФК) параметрів та збору тканин.

У фармакокінетичних групах відбирали кров у трьох щурів кожної статі за один момент часу через 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, 72 та 96 годин після внутрішньовенного введення та через 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, 72 та 96 годин після перорального прийому. Визначали загальну радіоактивність у крові та плазмі. Крім того, концентрацію вихідної сполуки, CD5789, визначали методом ВЕРХ з детекцією тандемної мас-спектрометрії (МКВ = 0,250 нг/мл).

ВИСНОВОК:

Після одноразового внутрішньовенного введення [14C]-CD5789 у щурів спостерігалось швидке зниження радіоактивності в плазмі з кінцевим періодом напіввиведення 14,4 години. При пероральному введенні максимальний рівень радіоактивності у плазмі крові досягався через 1–2 години після введення дози. Загальна радіоактивність, виміряна в цільній крові після одноразового перорального або внутрішньовенного введення, була нижчою, ніж у плазмі. Середнє співвідношення кров/плазма коливалось від 0,61 до 0,78, незалежно від способу введення, що вказує на відсутність специфічної спорідненості

досліджуваної речовини з еритроцитами. CD5789 не має специфічної спорідненості до еритроцитів щурів лінії Вістар.

Абсолютна пероральна біодоступність радіоактивності становила 29% у самців і 35% у самиць. Яким би не був шлях введення, плазмова експозиція препарату CD5789 та загальна радіоактивність були нижчими у самців, ніж у самиць.

27. RDS.03.SRE.12599 – Порівняльне фармакокінетичне дослідження одноразової дози препарату CD 5789, введеної перорально (через зонд) або внутрішньовенно (болусна ін'єкція) з подальшим дослідженням токсичності та визначення діапазону пероральних (через зонд) доз протягом 14 днів у собак породи Бігль.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити фармакокінетичний профіль препарату CD5789, введеного перорально або в/в. Частина дослідження щодо токсичності діапазону доз, наведена у розділі 4 Токсикологія в цьому документі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Фармакокінетичний профіль препарату CD5789 оцінювали за допомогою такого дизайну (Таблиця 11).

Таблиця 11. Групи тварин

Група/Терапія	Рівень дози (мг/кг)	Обсяг дози (мл/кг)	Концентрація (мг/мл)	Кількість тварин	
				Самці	Самиці
ФК – одноразове в/в ведення	1	1	1	1	1
ФК – одноразове в/в ведення	1	5	0.2	1	1

Зразки крові збирали через 5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин, 1, 2, 4, 6, 8 та 24 годин після внутрішньовенного введення. введення та через 15 хвилин, 30 хвилин, 1, 2, 3, 4, 6, 8 та 24 годин після перорального введення. Зразки крові аналізували на наявність незміненого препарату CD5789 та його потенційні метаболіти, CD6530 та CD6700, використовуючи невалідований метод ВЕРХ з детекцією ТІР-МС/МС з МКВ 0,5 нг/мл.

ВИСНОВОК:

Незалежно від способу введення відповідного гендерного ефекту не спостерігається. Максимальна концентрація у плазмі крові для препарат CD5789 була досягнута через 5 хвилин після внутрішньовенного введення та через 2 - 4 годин після перорального введення. Метаболіт CD06530 в плазмі оброблених тварин кількісно не визначали. Значення C_{max} препарату CD5789 було помітно вищим, ніж у його метаболіту CD06700 (відкриття та гідроксилювання циклу піролідину: N-бутанол). Пероральна біодоступність препарату CD5789 була низькою для обох статей (26 та 37% у самців та самиць відповідно). CD5789 помірно виводився з плазми і в значній мірі розподілявся (див. Таблицю 12).

Таблиця 12. ФК результати для препарату CD5789 після одноразової внутрішньовенної або пероральної дози у собак

Спосіб введення	Доза (мг/кг)	Стать	C _{max} (нг/мл)	T _{max} (годин)	AUC ₀₋₂₄ (нг.год/мл)	T _{1/2} (год)	Кліренс (л/год/кг)	V _d (л/кг)	Біодоступність (%)
в/в	1	Чол.	1939	0,083	6741	4,44	0,146	0,934	НЗ
в/в	1	Жін.	1932	0,083	5924	4,31	0,167	1,04	НЗ
п/о	1	Чол.	289	2	1750	3,97	0,146	0,835	26
п/о	1	Жін.	280	4	2182	3,67	0,167	0,882	37

НЗ: не застосовується, в/в: внутрішньовенно, п/о: перорально

28. RDS.03.SRE.31095 - Абсорбція, метаболізм та виведення [14C]-CD5789 у самців собак породи Бігль після одноразової пероральної або внутрішньовенної дози.

МЕТА:

Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетику загальної радіоактивності, визначити баланс виведення з сечею та калом та визначити основні метаболіти у собак породи Бігль після одноразового внутрішньовенного або перорального введення [14C]-CD5789. Інші результати, що стосуються параметрів розподілу, метаболізму та виведення, наведені у відповідних розділах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

В одній групі, що складається з чотирьох самців породи Бігль, спочатку внутрішньовенно вводили [14C]-CD5789 в одноразовій дозі 1 мг/кг, а після періоду вимивання перорально вводили препарат [14C]-CD5789 в дозі 1 мг/кг.

З точки зору фармакокінетики через 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, 72 та 96 годин після внутрішньовенного введення та через 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, 72 та 96 годин після перорального введення відбирали зразки крові. Загальну радіоактивність визначали у крові та плазмі. Крім того, концентрацію препарату CD5789 визначали методом ВЕРХ з тандемною мас-спектрометрією (МВК = 1 нг/мл)

ВИСНОВОК:

Після внутрішньовенного введення в крові та плазмі кількісно визначали рівень радіоактивності та концентрацію CD5789 протягом 96 годин (останній час відбору проб). Загальні показники радіоактивності в цільній крові після одноразового перорального або внутрішньовенного введення були нижчими, ніж у плазмі крові. Співвідношення кров/плазма коливалося від 0,41 до 0,56 незалежно від способу введення, що свідчить про відсутність специфічної спорідненості вихідної сполуки та метаболічного пулу до еритроцитів. Препарат CD5789 не має специфічної спорідненості з еритроцитами собак породи Бігль.

Після перорального введення рівні радіоактивності визначали у крові та плазмі протягом 96 годин (останній час відбору проб), а CD5789 - у плазмі протягом 48 годин. Максимальні концентрації загальної радіоактивності та CD5789 в крові та плазмі досягалися через 1-2 години після введення дози. Кінцевий період напіввиведення вихідної сполуки становив 4,35 години. Абсолютна біодоступність загальної радіоактивності у плазмі крові після перорального застосування становила 50%.

29. RDS.03.SRE.4851 – Фармакокінетика препарату CD5789 у мініпігів ПОРОДИ ГЕТТІНГЕН® після одноразового внутрішньовенного або місцевого застосування.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити фармакокінетичний профіль препарату CD5789 у самців мініпігів Породи Геттінген® після одноразового внутрішньовенного та місцевого застосування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 вводили в/в в дозі 1 мг/кг та наносили на шкіру в двох лікарських формах (гель та крем А) в концентрації 0,01% (100 мкг/г) в дозі 2 мл/кг (що відповідає 0,171 мг/кг та 0,2 мг/кг, відповідно). Кожному з 4-х самців мініпігів породи Геттінген® вводили одноразову внутрішньовенну дозу, розділену періодом вимивання протягом 7 днів, потім одноразово наносили гель 0,01% та крем А 0,01%, розділені періодом вимивання у 14 днів. На ділянках нанесення препарату, що складають приблизно 10% площі поверхні тіла, з обох боків було зрізане волосся, уникаючи хребта. Шкірні лікарські форми наносили місцево на ділянки обробки за допомогою відповідного пристрою для нанесення. Протягом періоду дії протягом приблизно 6 годин місця нанесення покривали

великими марлевими пов'язками, які очищали теплою водою. Зразки крові відбирали в усіх тваринах у такі моменти часу:

- Внутрішньовенне введення: через 0,16, 0,33, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 та 48 годин після введення
- Місцеве застосування на шкірі: до нанесення (0 годин), через 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 та 48 годин після нанесення

Плазмові концентрації препарату CD5789 визначали методом ВЕРХ з детекцією ЕІР-МС/МС та межею кількісного визначення 0,1 нг/мл. Фармакокінетичний аналіз проводили на основі індивідуальних концентрацій у плазмі крові, використовуючи некомплементний підхід

ВИСНОВОК:

Після одноразового внутрішньовенного введення препарат CD5789 повільно виводився ($t_{1/2} = 6,5$ год) і мав важливий об'єм розподілу (1,26 л/кг) та низький системний кліренс (0,76 л/год/кг).

Після одноразового нанесення на шкіру концентрації препарату CD5789 у плазмі були нижче нижньої межі кількісного визначення у всіх тварин незалежно від лікарської форми препарату.

30. RDS.03.SRE.4872 – Фармакокінетика препарату CD5789 у мініпігів породи ГЕТТІНГЕН® після багаторазового місцевого застосування трьох різних лікарських форм.

МЕТА:

Метою цього дослідження було порівняння фармакокінетичних профілів препарату CD5789, представленого у 3 різних лікарських формах, у самців мініпігів породи Геттінген® після одноразового та багаторазового (12 днів) щоденного нанесення на шкіру.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Чотирьом самцям мініпігів /група один раз на день місцево застосовували препарат CD5789 в концентрації 100 мкг/г (0,01%) у 3 -х різних лікарських засобах: гель, крем А або крем в дозі 2 мл/кг/день на поверхні тіла площею приблизно 10% (що відповідає приблизно 40 мг/см² препарату). Препарат наносили місцево на обидва боки за допомогою відповідного пристрою для утворення тонкої та однорідної плівки. Протягом періоду впливу місця нанесення захищали великими марлевими пов'язками, укріпленими сіткою для тіла/бинтом та коміром. Період впливу тривав приблизно 6 годин після нанесення, за винятком неробочих днів, коли період впливу тривав приблизно 3 години після нанесення. Після закінчення періоду впливу ділянки нанесення промивали теплою водою. Зразки крові відбирали у всіх тварин у такі моменти часу:

- Після одноразового застосування (День 1): 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 та 24 годин після нанесення
- Після багаторазового застосування (День 12): до нанесення (0 год), 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48 та 72 години після нанесення.

Плазмові концентрації препарату CD5789 у мініпігів визначали методом ВЕРХ з визначенням ЕІР-МС/МС та межею кількісного визначення 0,05 нг/мл. Фармакокінетичний аналіз проводили на основі індивідуальних концентрацій у плазмі крові, використовуючи некомплементний підхід.

ВИСНОВОК:

Після одноразового місцевого введення препарату CD5789 у самців мініпігів в дозі 100 мкг/г у формі гелю, крему А або крему плазмові концентрації препарату CD5789 кількісно не визначали (МКВ = 0,05 нг/мл). Після багаторазового місцевого застосування (12 днів) плазмові концентрації були дуже різними, незалежно від лікарської форми.

Після багаторазового місцевого застосування абсорбція змінювалася відповідно до застосовуваної лікарської форми. Найшвидше поглинання спостерігалось під

	<p>час застосування препарату CD5789 в дозі 100 мкг/г у формі крему, а потім препарату CD5789 в дозі 100 мкг/г у крему А та препарату CD5789 в дозі 100 мкг/г у формі гелю.</p> <p>Препарат CD5789 характеризується швидкою абсорбцією після місцевого застосування з піковими концентраціями у плазмі крові, що спостерігаються через 2 години після застосування, та коротким кінцевим періодом напіввиведення, що становить приблизно 4 години для крему.</p> <p>Після багаторазового місцевого застосування, системний вплив, виражений як AUC_{0-24 год}, визначали як найвищий для крему CD5789 в концентрації 100 мкг/г, за яким слідували препарат CD5789 в дозі 100 мкг/г у формі гелю та препарат CD5789 в дозі 100 мкг/г у формі крему А, який має найнижчий показник впливу у дослідженні.</p> <p>Після багаторазового місцевого застосування препарату CD5789 в дозі 100 мкг/г у формі крему рівноважний стан, здається, досягався на 12-й день, і виведення відбувалося відносно швидко. Після багаторазового місцевого застосування препарату CD5789 в дозі 100 мкг/г у формі гелю та крему А, неможливо оцінити рівноважний стан та виведення через фармакокінетичні профілі.</p>
3) Розподіл	<p>Дослідження розподілу в тканинах</p> <p>31. RDS.03.SRE.31094 - Абсорбція, розподіл, метаболізм та виведення препарату CD5789 у щурів лінії Вістар після введення одноразової пероральної та внутрішньовенної дози.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетичні параметри загальної радіоактивності після одноразового внутрішньовенного або перорального введення препарату [14C] CD5789. Інші результати, що стосуються параметрів всмоктування, метаболізму та виведення, наведені у відповідних розділах.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> <i>Детальну інформацію наведено у розділі 3. Фармакокінетика 2) Всмоктування.</i> У ФК групах, використаних у цьому дослідженні, було відібрано кілька тканин (серце, легені, селезінка, яечка, матка або яєчники, шлунок, печінка, нирки, шкіра, кістковий мозок та суглоби) в чотирьох часових точках: 0,083, 2, 4 і 24 після внутрішньовенного введення та 0,5, 2, 4 та 24 години після перорального введення.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Радіоактивність у вибраних тканинах переважно вимірювали в печінці, незалежно від способу введення та часу відбору проб. Низькі рівні радіоактивності, що залишаються в тканинах через 24 години після введення дози, не свідчать про відсутність ризику накопичення.</p> <p>32. RDS.03.SRE.102423 – Розподіл загальної радіоактивності в тканинах у щурів після введення одноразової пероральної та внутрішньовенної дози препарату [14C]-CD5789 (Кількісна авторадіографія всього тіла).</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було оцінити розподіл загальної радіоактивності в тканинах після перорального та внутрішньовенного введення [14C]-CD5789 самцям та самицям щурів-альбіносів та пігментованих щурів.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Щурам лінії Вістар (альбінос) та лінії Лістер Худид (пігментовані) (1/стать/група) вводили [14C] -CD5789 внутрішньовенно в дозі 1,5 мг/кг або перорально 2 мг/кг. Щурів-альбіносів вбивали в заздалегідь визначений момент</p>

часу через 72 години, а пігментованих щурів через 168 годин. Розподіл в тканинах визначали методом кількісної авторадіографія всього тіла (QWBA).

ВИСНОВОК:

Препарат [14C]-CD5789 широко розподілявся в організмі щурів після перорального та внутрішньовенного введення. Найвищі рівні радіоактивності вимірювали в печінці, нирках, препуциальній залозі, корі надниркових залоз і слинних залозах, з найвищими концентраціями в печінці. Розподіл у мозку та тканинах, що містять меланін, був відносно низьким. Через 24 та 48 годин після введення дози у більшості тканин самців та самиць щурів-альбіносів та пігментованих щурів відповідно незалежно від способу введення радіоактивності не виявлено.

Зв'язування з білками та розподіл в еритроцитах

33. RDS.03.SRE.31089 – Зв'язування препарату [14C]-CD5789 з білками плазми *in vitro* у 6 видів.

МЕТА:

Метою цього дослідження було визначити зв'язування препарату [14C]-CD5789 з білками плазми крові *in vitro* у самців миші лінії CD1, самців щура лінії Вістар Хан, самиць новозеландського білого кролика, самців собаки породи Бігль, самців мініпігів породи Геттінген та чоловіків.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Зв'язування препарату [14C]-CD5789 з білками плазми крові визначали за допомогою рівноважного діалізу. Також визначали зв'язування препарату [14C]-CD5789 з альбуміном сироватки крові людини (HSA) та альфа-1 кислим глікопротеїном людини (HAG). Концентрацію препарату [14C]-CD5789 у буферному та плазмовому компартменті вимірювали за допомогою рідинної сцинтиляційної детекції (LSC). Попередні експерименти були проведені для визначення неспецифічної адсорбції [14C]-CD5789 та часу врівноваження.

ВИСНОВОК:

Зв'язування препарату [14C]-CD5789 з білками плазми різних видів є високим (> 99,7%), не насичується в діапазоні від 50 нг/мл до 1000 нг/мл і не є видоспецифічним.

Дослідження трансплацентарної передачі у вагітних щурів

34. RDS.03.SRE.100911 – Дослідження трансплацентарної передачі у вагітних щурів лінії Вістар після одноразового перорального введення препарату [14C]-CD5789.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити трансплацентарну передачу препарату [14C]-CD5789 у вагітних щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

П'ятнадцяти вагітним самицям щурів лінії Вістар одноразово вводили пероральну дозу препарату [14C]-CD5789, що дорівнювала 0,3 мг/кг, на 12-й день вагітності. Через 1, 2, 4, 8 та 24 години після введення дози вбивали групи по 3 щури. Збирали зразки крові матері, відібрані материнські тканини та плоди та визначали рівні загальної радіоактивності.

ВИСНОВОК:

Після перорального введення препарату вагітним самицям щурів лінії Вістар на 12-день вагітності у дозі 0,3 мг/кг було доведено, що препарат [14C]-CD5789 проникає через гематоенцефалічний бар'єр. Перенесення загальної радіоактивності у плодів відбувалося в незначній мірі з кількісною концентрацією у плодів через 8 годин після введення дози, що свідчить про

	швидке виведення радіоактивності. Середні співвідношення концентрацій плода до плазми матері та плаценти не перевищували 0,5, незалежно від часу.				
4) Метаболізм	<p>Метаболізм in vivo</p> <p>35. RDS.03.SRE.31094 - Абсорбція, розподіл, метаболізм та виведення препарату CD5789 у щурів лінії Вістар після введення одноразової пероральної та внутрішньовенної дози.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетичні параметри загальної радіоактивності після одноразового внутрішньовенного або перорального введення препарату [14C] CD5789. Інші результати, пов'язані з параметрами всмоктування, метаболізму та виведення представлені у відповідних розділах.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> <i>Детально описано в розділі 3. Фармакокінетика 2) Всмоктування.</i> Профіль метаболітів досліджували в пулі зразків плазми, зібраних в ФК групах в різні моменти часу.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> В плазмі, препарат CD5789 був основним циркулюючим радіоактивним компонентом незалежно від часу відбору проб та виявляли чотири метаболіти. Препарат CD5789 був основним радіоактивним компонентом в фекаліях, де було виявлено дев'ять метаболітів.</p> <p>36. RDS.03.SRE.102754 – Фармакокінетика препарату [14C]-CD5789 після перорального або внутрішньовенного введення у щурів з канюльованим жовчним протоком.</p> <p><u>МЕТА:</u> Дизайн цього дослідження передбачав вивчення кінцевого виведення та жовчна кінетика загальної радіоактивності препарату [14C]-CD5789 у самців та самиць щурів лінії Вістар, а також визначення метаболітів препарату [14C] -CD5789, присутніх у жовчі.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Екскрецію та жовчну кінетику загальної радіоактивності визначалися у самців та самиць щурів лінії Вістар з канюльованими жовчними протоками після одноразового перорального (2 мг/кг) або внутрішньовенного (1,5 мг/кг) введення препарату [14C] -CD5789. Екскременти (сеча, жовч та кал), зразки води після промивання клітки, зразки шлунково-кишкового тракту та туші збирали у заздалегідь визначені терміни до 48 годин після прийому дози та визначали загальну радіоактивність. Характер та ідентифікацію метаболітів [14C] -CD5789, присутніх у жовчі, досліджували за допомогою радіо-РХ-МС (межа достовірного визначення 30 р/хв)</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Препарат CD5789 (вихідна сполука) був другорядним компонентом у жовчі, незалежно від шляху введення, а найбільш поширеним компонентом, який спостерігався у жовчі, був глюкуронідний кон'югат препарату CD5789. Біотрансформація препарату CD5789 у жовчі щурів обох статей була подібною і проходила шляхом гідроксилювання, відновлення/гідрування/дециклізації, окислення, сульфатної або глюкуронідної кон'югації.</p> <p>Резюме трансформації та % введеної дози, що розраховується для кожної статі та шляху введення дози, представлено у Таблиці 16.</p> <p>Таблиця 16. Резюме трансформації та % введеної дози, що розраховується для кожної статі та шляху введення дози</p> <table border="1" data-bbox="491 2018 1509 2051"> <tr> <td data-bbox="491 2018 624 2051">Сполука</td> <td data-bbox="624 2018 762 2051">Еталонна</td> <td data-bbox="762 2018 1070 2051">Біотрансформація</td> <td data-bbox="1070 2018 1509 2051">% дози</td> </tr> </table>	Сполука	Еталонна	Біотрансформація	% дози
Сполука	Еталонна	Біотрансформація	% дози		

	сполука		Пероральна		Внутрішньовенна	
			Самці	Самиці	Самці	Самиці
M004	CD5789-01	Гідроксилування, глюкуронідна кон'югація	1,5	1,3	2.1	12
M001	CD5789-03	Глюкуронідна кон'югація	НВ	0,8	НВ	НВ
M002	CD5789-04	Глюкуронідна кон'югація	11,8	20,6	11.4	36.5
M003	CD5789-06	Глюкуронідна кон'югація	1,3	3,4	3.2	11.9
M005	CD5789-08	Гідроксилування, глюкуронідна кон'югація	1,3	1,8	5.3	4.3
M008	CD5789-14	Гідроксилування, відновлення, сульфатна кон'югація	0,9	0,7	16.2	3.3
CD06530	CD5789-16	Гідроксилування	1,2	1,1	3.2	2.8
M006	CD5789-28	Гідроксилування, глюкуронідна кон'югація	2,6	0,8	9.9	2.5
CD5789	CD5789	Трансформація відсутня	0,5	0,4	3.4	1.9
CD06700	CD5789-18	Гідроксилування, відновлення	НВ	НВ	НВ	0.3
CD09717	CD5789-19	Гідроксилування, окислення	2,7	1,0	9.4	2.6
M007	CD5789-29	Гідроксилування, окислення, глюкуронідна кон'югація	2,2	2,4	4.6	1.7
CD09986	CD5789-23	Гідроксилування, окислення	0,2	0,2	0.4	НВ
Всього призначених			26.2	34.5	69,1	69
Всього непризначених (а)			4.2	2.4	11,6	3,8

(а) = жоден окремих непризначених компонент не перевищував 2,7% введеної дози; НВ = не виявлено методом радіо-РХ/МС

37. RDS.03.SRE.31095 - Всмоктування, метаболізм та виведення препарату [14C]-CD5789 у самців собак породи Бігль після введення одноразової пероральної або внутрішньовенної дози.

МЕТА:

Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетику загальної радіоактивності, визначити баланс виведення в сечі та в фекаліях, а також ідентифікувати основні метаболіти у собак породи Бігль після одноразового внутрішньовенного або перорального введення препарату [14C]-CD5789. Інші результати, пов'язані з параметрами всмоктування та виведення, представлені у відповідних розділах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Детально описано в розділі 3. Фармакокінетика 2) Всмоктування.
Профіль метаболітів досліджували в пулі зразків плазми за період.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 був основним циркулюючим радіоактивним компонент в плазмі, незалежно від часу відбору проб після внутрішньовенного та перорального введення дози. Після внутрішньовенного введення в плазмі виявлено лише два додаткових піки радіоактивності, але їх не вдалося ідентифікувати через дуже низькі концентрації в плазмі. В фекаліях препарат CD5789 був основним радіоактивним компонентом. В фекаліях виявлено вісім метаболітів, з яких п'ять однозначно ідентифіковані (CD06530, CD09718, CD06700, CD09717, CD06230). Попередньо були ідентифіковані ще два, глюкуронідні препарати CD5789 та CD5789 з подвійним зв'язком. Неможливо виявити один незначний метаболіт (близько 1% загальної радіоактивності).

38. RDS.03.SRE.4938 - Біоаналітична та токсикокінетична оцінка метаболітів препарату CD5789 у щурів.

МЕТА:

Метою дослідження було оцінити токсикокінетичні параметри трьох метаболітів препарату CD5789, CD06530, CD06700 та CD09986 у самців та самиць щурів після багаторазового застосування препарату CD5789.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Дослідження метаболітів препарату CD5789 проводили з використанням решти зразків плазми самців та самиць щурів лінії Вістар, які отримували дозу 0,5 мг/кг/добу та 0,2 мг/кг/добу відповідно, що відповідає дозам NOAEL у самців та самиць відповідно. Зразки були зібрані протягом останнього тижня лікування (168-й день) дослідження пероральної токсичності тривалістю 26 тижнів (RDS.03.SRE.12863, див. Розділ 4. Токсикологія 2) токсичність багаторазових доз). Зразки плазми об'єднували за часовими точками (0,5, 1, 2, 4, 8 та 24 години після дозування) та за статтю. Концентрації кожного метаболіту в плазмі визначали методом РХ-МС/МС з межею кількісного визначення 0,05 нг/мл для кожної сполуки. Токсикокінетичний аналіз проводили на основі концентрацій у плазмі, використовуючи некомплементний підхід.

ВИСНОВОК:

Після багаторазового перорального введення препарату CD5789 у дозах NOAEL, самці та самиці щурів зазнавали впливу його трьох метаболітів, CD06530, CD06700 та CD09986. CD09986 вважався переважним метаболітом.

39. RDS.03.SRE.12516 - Ембріофетальна токсичність препарату CD5789, дослідження визначення діапазону доз, введених перорально (через зонд) у вагітних щурів.

МЕТА:

В цьому дослідженні у вагітних щурів оцінювали системний вплив препарату CD5789 та двох супутніх метаболітів після багаторазового перорального застосування, починаючи з дня імплантації (6-й день вагітності) до закриття твердого неба (17-й день вагітності). Варто відзначити, що на момент завершення цього дослідження (тобто 2007 р.) було виявлено лише два потенційних метаболіти.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 вводили вагітним щурам лінії Спрег-Доулі у дозах 0,03, 0,1, 0,3 або 1,0 мг/кг/добу для сателітних тварин. Серії зразки крові через 24 години відбирали у трьох щурів/доза на 6-й день вагітності (перший день застосування) та на 17-й день вагітності (останній день застосування). Визначення незміненого препарату CD5789 та його двох метаболітів (CD06530 та CD06700) в зразках плазми проводили методом ВЕРХ-МС/МС (МКВ: 0,125 нг/мл).

ВИСНОВОК:

Після перорального введення препарату CD5789 вагітним щурам системний вплив на 17-й день вагітності був дуже низьким для CD06530, що становить менше 1% системного впливу препарату CD5789, а для CD06700 був ще нижчим.

40. RDS.03.SRE.12517 - Ембріофетальна токсичність препарату CD5789, дослідження визначення діапазону доз, введених перорально (через зонд) у вагітних кролів.

МЕТА:

В цьому дослідженні у вагітних кролів оцінювали системний вплив препарату CD5789 та двох супутніх метаболітів після багаторазового перорального застосування, починаючи з дня імплантації (6-й день вагітності) до закриття твердого неба (19-й день вагітності). Варто відзначити, що на момент завершення цього дослідження (тобто 2007 р.) було виявлено лише два потенційних метаболіти.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 вводили вагітним кролям через пероральний зонд у дозах 0,01, 0,05, 0,25 або 1,0 мг/кг/добу для сателітних тварин. Серії зразки крові через 24 години відбирали у шести кролів/доза на 6-й день вагітності (перший день застосування) та на 19-й день вагітності (останній день застосування). Визначення незміненого препарату CD5789 та потенційних метаболітів (CD06530 та CD06700) в зразках плазми проводили методом ВЕРХ-МС/МС (МКВ: 0,125 нг/мл).

ВИСНОВОК:

Після перорального введення препарату CD5789 вагітним кролям системний вплив на 19-й день вагітності був дуже низьким для препарату CD5789, низьким для CD06530, а для CD06700 майже не визначався.

Дослідження метаболізму in vitro

41. RDS.03.SRE.31104 – Профіль метаболітів/ідентифікація препарату [14C]-CD5789 в гепатоцитах людини та в мікосомах печінки мишей, мініпігів та людей.

RDS.03.SRE.31104 було проведено для встановлення експериментальних умов для дослідження RDS.03.SRE.31107 з використанням гепатоцитів та для виконання деяких попередніх структурних ідентифікацій метаболітів та аналітичних налаштувань. Це дослідження вказано лише для інформації, але не подається у цій заявці, оскільки в наступних дослідженнях було проведено повний аналіз метаболізму.

42. RDS.03.SRE.31107 - In vitro метаболізм препарату [14C]-CD5789 гепатоцитами хом'ячків, мишей, шурів, кролів, собак, мініпігів, мавп та людини в суспензії.

МЕТА:

Метою цього дослідження було визначити метаболічну стабільність та профіль метаболітів препарату [14C]-CD5789 з використанням суспензій кріоконсервованих гепатоцитів золотавого сирійського хом'яка, миші лінії CD1, щура лінії Вістар, новозеландського білого кролика, собаки породи Бігль, мініпігів Породи Геттінген®, яванської макаки та людини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат [14C]-CD5789 інкубували у 2 концентраціях, тобто 10 і 50 мкМ з суспензіями кріоконсервованих гепатоцитів золотавого сирійського хом'яка, миші лінії CD1, щура лінії Вістар, новозеландського білого кролика, собаки породи Бігль, мініпігів породи Геттінген®, яванської макаки та людини. Інкубації в концентрації 10 мкМ використовували для визначення профілю метаболітів, а інкубації в концентрації 50 мкМ використовували для ідентифікації. Інкубації препарату [14C]-CD5789 проводили через 1, 30, 60, 90 або 120 хвилин у двох повтореннях для всіх видів (10 мкМ) та одну інкубацію (50 мкМ). Інкубовані зразки аналізували за допомогою РХ-РАД на предмет

метаболической стабильности та визначення профілю радіоактивності, а також методом РХ-РАД-МС для ідентифікації метаболітів.

ВИСНОВОК:

Усі метаболіти фази 1, виявлені в гепатоцитах людини, також були виявлені принаймні в одному з видів тварин, що використовувалися для токсикологічних досліджень (наприклад, миша лінії CD1, щур лінії Вістар, новозеландський білий кролик, собака породи Бігль, мініпіг породи Геттінген®). Специфічних для людини метаболітів не виявлено.

43. RDS.03.SRE.4825 - Міжвидове порівняння *in vitro* метаболізму препарату [14C]-CD5789 в свіжих гепатоцитах щурів, собак, мініпігів та людей в первинній культурі.

МЕТА:

Метою цього дослідження було провести якісне та кількісне порівняння *in vitro* метаболізму препарату [14C]-CD5789 з використанням свіжих гепатоцитів у первинній культурі, отриманих від самця щура лінії Вістар, самця породи Бігль, самця мініпігів породи Геттінген® та людини (чоловіки).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

In vitro метаболізм препарату [14C]-CD5789 свіжими гепатоцитами в первинній культурі вивчали у 2 концентраціях: 1 мкМ та 10 мкМ. Тривалість інкубації з препаратом [14C]-CD5789 становила 24 години, з оцінкою метаболізму через 4 години та 24 години. Профілі метаболітів аналізували методом ВЕРХ з радіоактивною детекцією он-лайн. Структурну ідентифікацію основних метаболітів препарату [14C]-CD5789 проводили за допомогою мас-спектрометричної іонної пастки. Метаболічну активність свіжих гепатоцитів у первинній культурі підтверджували шляхом вимірювання метаболізму [4,14C]-тестостерону, який використовується в якості позитивного контролю.

ВИСНОВОК:

Виходячи з профілів метаболітів, визначених методом ВЕРХ, усі основні метаболіти препарату [14C]-CD5789, що спостерігаються у свіжих гепатоцитах людини, були виявлені в гепатоцитах принаймні одного виду тварин.

44. RDS.03.SRE.4826 - Міжвидове порівняння *in vitro* метаболізму препарату [14C]-CD5789 в мікосомах печінки мишей, щурів, кролів, собак, мініпігів, мавп та людини.

МЕТА:

Метою дослідження було порівняти *in vitro* метаболізм препарату [14C]-CD5789 з використанням мікосомальних фракцій печінки, отриманих від мишей лінії CD-1, щурів лінії Вістар, новозеландських білих кроликів, собак породи Бігль, мініпігів породи Геттінген®, яванських макак та людини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Підготовлені мікосомальні фракції печінки інкубували протягом 5 та 30 хвилин з препаратом [14C]-CD5789 в концентрації 1 мкМ та 10 мкМ. Для аналізу використовували зразки, отримані через 5 та 30 хвилин інкубації. Профілі метаболітів визначали методом ВЕРХ з он-лайн радіоактивною детекцією.

ВИСНОВОК:

Усі основні метаболіти препарату [14C]-CD5789, утворені мікосомами печінки людини, також продукувалися мікосомами печінки принаймні однієї з досліджуваних тварин.

45. RDS.03.SRE.38175 - *In vitro* метаболічна стабільність препарату CD5789 в печінці та в шкірі

МЕТА:

In vitro метаболічна стабільність препарату CD5789 в печінці та в шкірі.

	<p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Препарат CD5789 інкубували окремо з мікросомами печінки людини з кофакторами глюкуронізації та без них, а також з кератиноцитами людини. У різні періоди експерименту відбирали зразки інкубаційного середовища та аналізували методом РХ/МС/МС для визначення кількості вихідної сполуки, що залишилася. Час напіввиведення препарату CD5789 визначали для кожного типу препарату з кривих залежності концентрацій від часу.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Препарат CD5789 є нестабільним у присутності метаболічних ферментів фази I печінкових мікросом різних видів, на відміну від адапалену та тазаротенової кислоти, які є стабільними. Наявність додаткових коакторів глюкуронізації дещо збільшує зникнення препарату CD5789 лише у кроликів.</p> <p>Препарат CD5789 не метаболізується в кератиноцитах людини, як адапален та тазаротенова кислота.</p>
5) Виведення	<p>Дослідження виведення на щурах</p> <p>46. RDS.03.SRE.31094 - Абсорбція, розподіл, метаболізм та виведення препарату CD5789 у щурів лінії Вістар після введення одноразової пероральної та внутрішньовенної дози.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетичні параметри загальної радіоактивності після одноразового внутрішньовенного або перорального введення препарату [14C] CD5789. Інші результати, пов'язані з параметрами всмоктування, розподілу та метаболізму представлені у відповідних розділах.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> <i>Детально описано в розділі 3. Фармакокінетика 2) Всмоктування.</i> Щурам лінії Вістар вводили разові дози препарату [14C] -CD5789, що дорівнювали 1,5 мг/кг (в/в) або 2 мг/кг (перорально). У групах дослідження виведення (4 щури/стать/доза) сечу та кал збирали з інтервалом 0-8, 8-24, 24-48, 48-72 та 72-96 годин. Тварин піддавали евтаназії через 96 годин після введення дози, і збирали зразки туші. Визначали загальну радіоактивність у сечі, калі та туші. Профіль метаболітів досліджували в об'єднаних зразках сечі та калу за групою та статтю.</p> <p><u>ВИСНОВОК:</u> Екскреція препарату [14C] -CD5789 була швидкою і майже повною протягом 48 годин. Фекалії були основним шляхом виведення після внутрішньовенного або перорального введення. Виведення з сечею виявилось дуже незначним процесом виведення лікарського засобу, незалежно від способу введення та статі.</p> <p>Дослідження виведення на собаках</p> <p>47. RDS.03.SRE.31095 - Абсорбція, метаболізм та виведення препарату [14C]-CD5789 у самців собак породи Бігль після введення одноразової пероральної та внутрішньовенної дози.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою цього дослідження було охарактеризувати фармакокінетику загальної радіоактивності, визначити баланс виведення з сечею та калом, а також визначити основні метаболіти у собак породи Бігль після одноразового внутрішньовенного або перорального введення препарату [14C]-CD5789. Інші результати, пов'язані з параметрами всмоктування та метаболізму представлені у відповідних розділах.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> <i>Детально описано в розділі 3. Фармакокінетика 2) Всмоктування.</i></p>

Одну групу з чотирьох самців собак породи Бігль було включено до дослідження для визначення балансу маси та фармакокінетики. Спочатку їм вводили одноразову внутрішньовенну (в/в) дозу 1 мг/кг препарату [14C]-CD5789, потім одноразову пероральну дозу 1 мг/кг [14C]-CD5789 після періоду вимивання протягом чотирьох тижнів. Для аналізу балансу маси та екскреції препарату сечу та кал збирали з інтервалом 0–8, 8–24, 24–48, 48–72 та 72–96 год після введення дози. Визначали загальну радіоактивність у сечі та калі. Профіль метаболітів досліджували в об'єднаних зразках калу за кожний період.

ВИСНОВОК:

Виведення препарату CD5789 було швидким і майже закінчилося протягом 48 годин. Кал був основним шляхом виведення після внутрішньовенного або перорального введення. Екскреція з сечею становить максимум 1% введеної дози (внутрішньовенно або перорально).

Виділення препарату у грудне молоко щурів лінії Вістар

48. RDS.03.SRE.102454 - Виділення загальної радіоактивності в грудне молоко після одноразового перорального застосування препарату [14C]-CD5789 у щурів лінії Вістар.

МЕТА:

Дизайн цього дослідження передбачав вивчення виділення загальної радіоактивності в грудне молоко після одноразового перорального застосування препарату [14C]-CD5789 у самиць щурів лінії Вістар, а також визначити рівні незміненого препарату CD5789 та загальної радіоактивності в зразках грудного молока та плазми.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Групам з 3 лактуючих самиць щурів лінії Вістар на 20-й день після пологів одноразово вводили пероральну дозу препарату [14C]-CD5789, що дорівнює 0,1 мг/кг, та піддавали евтаназії у заздалегідь визначені моменти часу, через 24 години після введення дози, для збору молока та зразків плазми матері та щурят. Рівні загальної радіоактивності визначали методом рідинного сцинтиляційного підрахунку (LSC). Концентрацію незміненого препарату CD5789 визначали у зразках молока та плазмі з МКВ 0,25 нг/мл.

ВИСНОВОК:

Після одноразового перорального введення препарату [14C]-CD5789 в дозі 0,1 мг/кг його можна кількісно оцінити в молоці із середнім значенням співвідношення молоко: загальна радіоактивність у плазмі крові, що зростає з 0,53 до 2,42 у період 1 – 8 годин після прийому дози. Через 24 години після прийому дози середня загальна концентрація радіоактивності в молоці була нижчою за межу надійного вимірювання (30 розпадів/хв на фоні). Під час застосування такої дози перенесення загальної радіоактивності в молоко або препарату CD5789 новонародженим щурам протягом 24 годин не відбувалося, оскільки середні концентрації загальної радіоактивності були нижчими за межу надійного вимірювання в кожний момент часу в плазмі щенят. В цілому, препарат CD5789 піддавався такому ж розподілу та виділявся у молоко, як загальна радіоактивність.

Виділення з жовчу

49. RDS.03.SRE.107174 - Визначення in vitro кліренсу препарату CD5789 з жовчу за допомогою багаточислової культури гепатоцитів людини та щурів (B-Clear®).

МЕТА:

Метою цього дослідження було дослідити in vitro кліренс препарату CD5789 у багаточисловій культурі гепатоцитів людини та щурів, що експресують ендogenous

	<p>транспортери захоплення та мають утворені жовчні кармани з функціональними ефлюксними транспортерами.</p> <p>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ: Біліарний кліренс та індекс виведення препарату CD5789 з жовчу досліджували у багат шаровій культурі гепатоцитів людини та щурів.</p> <p>Для аналізу багат шарової культури гепатоцитів людини відбирали 3 донори. Для першого донору препарат CD5789 вимірювали при одній концентрації (1 мкМ) та триразовій інкубації (5, 10 та 15 хвилин). Для другого та третього донору препарат CD5789 наносили у двох концентраціях (1 та 10 мкМ) та інкубували один раз (10 хвилин).</p> <p>Для аналізів багат шарової культури гепатоцитів щурів, виконували три різні аналізи: один при одній концентрації (1 мкМ) та триразовій інкубації (5, 10 та 15 хвилин), інший також при одній концентрації (0,1 мкМ) і триразовій інкубації (1, 5 та 15 хв) та один при одній концентрації (1 мкМ) та триразовій інкубації (5, 10 та 15 хв), однак у цьому експерименті препарат CD5789 інкубували разом з 1% БСА в буфері.</p> <p>ВИСНОВОК: Це дослідження доводить, що препарат CD5789 накопичується в гепатоцитах людини та щура, вирощених як багат шарова культура, про що свідчать високі внутрішньоклітинні концентрації порівняно з середніми концентраціями. Препарат CD5789 піддається жовчному кліренсу як у багат шарових культурах гепатоцитів людини та щурів, проте коливання, які спостерігаються між донорами (у людини), а також низькі значення BEI у гепатоцитах щурів, ускладнюють оцінку кількості. Виходячи з цих даних, припускають, що препарат CD5789 може бути предметом жовчного кліренсу in vivo.</p> <p>50. RDS.03.SRE.102754 – Фармакокінетика препарату [14C]-CD5789 після перорального або внутрішньовенного введення у щурів з канюльованим жовчним протоком.</p> <p>МЕТА: Дизайн цього дослідження передбачав вивчення виведення та жовчної кінетики загальної радіоактивності препарату [14C]-CD5789 у самців та самиць щурів лінії Вістар, а також визначення метаболітів препарату [14C]-CD5789, присутніх у жовчі.</p> <p>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ: <i>Детально описано в розділі 3. Фармакокінетика 4) Метаболізм.</i></p> <p>ВИСНОВОК: Після внутрішньовенного введення препарату [14C]-CD5789 основним шляхом виведення як у самців, так і у самиць щурів була жовч (82% та 74% відновлювалось протягом 48 годин, відповідно). Виведення з калом та сечею було незначним.</p> <p>Після перорального введення у самців щурів поглиналося щонайменше 31% препарату [14C]-CD5789, та у самиць щурів – 38%. Основним шляхом виведення були фекалії (65% та 59% протягом 48 годин у самців та самиць, відповідно). Виведення з жовчу становило в середньому 31% у самців та 38% у самиць, а виведення з сечею було незначним.</p>
6) фармакокінетичні взаємодії (доклінічні)	Міжлікарську взаємодію (DDI) препарату CD5789 у дослідженнях на тваринах не вивчали.
7) інші фармакокінетичні дослідження	Не застосовується

4. Токсикологія:

Трифаротен оцінювали у комплексному наборі доклінічних досліджень токсичності, в яких діючу речовину вводили перорально щурам, кроликам та собакам, щоб зробити системний вплив максимальним. Крем з трифаротеном наносили на шкіру (що є клінічно значущим шляхом введення) у мишей та мініпігів. З розділу фармакокінетики видно, що специфічних для людини метаболітів не виявлено. Усі метаболіти фази I, виявлені в гепатоцитах людини, також були виявлені в гепатоцитах принаймні одного з токсикологічних видів, що використовуються у дослідженнях хронічної токсичності (тобто щурів, собак чи мініпігів).

Для характеристики токсичності використовували п'ять видів (миші, щури, собаки, кролики та мініпіги), що можна розглядати як перевагу в тому, що спостережувані ефекти можна порівнювати для ряду видів. Однак недоліком, наприклад, неможливості використати мініпігів в дослідженнях використання на шкірі та перорального використання, є відсутність можливості порівняння в середині виду. В цілому, відсутність системного впливу у дослідженнях застосування на шкірі мініпігів, незважаючи на (як у 13-тижневому дослідженні) виражену шкірну токсичність з еритемою та утворенням лусок, яка вимагала періоду вимивання, вважається недоліком. Ці дані не відображають клінічної ситуації, коли після впливу на шкіру без серйозних шкірних проявів, експозиції не спостерігаються.

Шкіра

Шкіра була чутливою мішенню токсичності протягом усіх досліджень повторних доз, що і очікувалося з огляду на фармакологію ретиноїдів. На місці застосування у дерматологічних дослідженнях на мишах та мініпігах спостерігали запалення з гіперплазією, гіперкератозом та паракератозом. У мініпігів відзначали сильне подразнення шкіри (еритема) на додаток до акантозу (зі спонгіозом), запальні інфільтрати, паракератоз та мінімальне або незначне утворення кірок. В цілому місцеві реакції були більш вираженими протягом першого місяця лікування та частково зникали з часом. Такий перебіг реакцій подібний до того, що спостерігається в клінічній практиці, де місцеві реакції зазвичай зменшуються з часом.

В 13-тижневому дослідженні перорального застосування на щурах спостерігали гіперкератоз та струпи. У собак відзначали прояви на шкірі черевної порожнини, які включали акантоз, шкіряні мононуклеари та лімфоцитарний екзоцитоз. Акантоз спостерігався у самців, які отримували 0,18 мг/кг/добу, а у самиць, які отримували препарат в дозі 0,02 та 0,18 мг/кг/день. Шкірні прояви також спостерігали на голові, і вони включали акантоз, гіперкератоз, лімфоцитарний екзоцитоз та мононуклеарну інфільтрацію шкіри. Під час застосування дози 0,02 мг/кг/добу акантоз не спостерігався. Гіперкератоз та мононуклеарну клітинну інфільтрацію шкіри спостерігали лише під час застосування дози 0,18 мг/кг/добу. У вухах спостерігався акантоз, гіперкератоз, лімфоцитарний екзоцитоз, спонгіоз, мононуклеарна інфільтрація шкіри та виразка. Усі шкірні прояви у собаки мали тимчасовий характер.

Дослідження шкірної токсичності проводили на тваринах з неушкодженою шкірою. Заявник погодився, що системне та місцеве всмоктування на подряпаній/пошкодженій шкірі (порівняно з неушкодженою шкірою) буде відрізнятися, а також заявив, що для оцінки безпеки трифаротену слід враховувати вплив тяжкості захворювання. Показники впливу у дослідженні MUsT 18237 ґрунтувалися на системному впливі на пацієнта з акне помірного та важкого ступеня тяжкості, який застосовував крем з трифаротеном 50 мг/г в умовах максимального використання.

Частина шлунку, що не має залоз

У 13-тижневому дерматологічному дослідженні на мишах, а також в усіх пероральних дослідженнях на щурах тривалістю від 4 до 26 тижнів зареєстровано гіперкератоз слизової оболонки шлунку, який не має залоз. Люди не мають переднього відділу шлунку, але мають гістологічно подібні органи, включаючи ротову порожнину, глотку, стравохід та залозистий шлунок, але доза в тканинах цих людських органів не еквівалентна дозі у передньому відділі шлунку піддослідних тварин. Таким чином, загалом значимість цих результатів для людини є нез'ясованою.

Селезінка

У кількох дослідженнях селезінка є органом-мішенню токсичності. Таким чином, у дослідженнях із збільшенням ваги та екстремедулярним кровотворенням відзначали ефект у селезінці. Результати мали переважно легкий ступінь тяжкості, за винятком 13-тижневого дослідження на мишах, де були

відзначені мінімально важкі ефекти. Однак загалом результати показали відновлення та пояснюються фармакологічними ефектами агоніста RAR сполуки.

Кісткова тканина

У щурів основним проявом, пов'язаним з лікуванням, у колінній чашечці груп застосування препарату була дезорганізація/закриття стегнової та/або великогомілкової кісток. Цей прояв оцінювали як мінімальний або незначний і в основному характеризували змінами фарбуванням з нерівномірним розташуванням/товщиною шарів клітин, що діляться. Цей прояв характеризувався збільшенням тяжкості/рівня захворюваності у жінок під час застосування препарату в дозі 0,5 г/кг/добу (від помірної до важкої), включаючи повне/часткове закриття стегнових та/або великогомілкових пластинок росту. Явище не мало тимчасового характеру у самок, які отримували високі дози, (виражені вбо важкі), але у самців ознаки одужання відзначалися в більш коротких дослідженнях на щурах також відзначалися різні зміни в кістковій тканині, включаючи дезорганізацію ростової пластини та посилення окостеніння епіфізарного хряща.

Яечка

У 39-тижневому дослідженні у яечках собак, у яких застосовували препарат, зміни полягали у незначному збільшенні кількості вироджених статевих клітин (двосторонньо), що спостерігалось лише в групі застосування низьких доз (0,02 мг/кг/добу). В додатках ячок внаслідок зміни в яечках з'явився клітинний дебрис. Після 8-тижневого періоду без лікування ці результати не були повністю зворотними, оскільки 1 з 2 самців, які одужали, мав мікроскопічні дані в яечках та додатках ячок. Тому в цьому дослідженні не собаках не було встановлено NOAEL для самців. Питання неможливості встановити NOAEL для обох статей було предметом обговорення. У цьому випадку ми не можемо встановити NOAEL для самців, оскільки дегенерацію статевих клітин у самців виявляли також під час застосування найнижчої досліджуваної дози (відповідає системному впливу в 1170 разів вищому за вплив, що спостерігається в клінічних дослідженнях). Однак було зроблено висновок, що найбільш прийнятним підходом є визнати, що для ефекту можна встановити лише LOAEL, і підкреслити цей факт у Короткій характеристиці лікарського засобу (SmPC).

Генотоксичність

Було проведено серію тестів в дослідженнях генотоксичності. Оскільки при фотосенсибілізації деякі хімічні речовини можуть стати потужними мутагенами та кластогенами, мутагенний та кластигенний потенціал трифаротену також оцінювали за наявності та відсутності УФ-опромінення.

У аналізах зворотної мутації було відзначено зниження ревертантів. Це явище часто розцінюють як ознаку токсичності, і в дослідженні RDS.03.SRE.12526 цей ефект спостерігався лише вище межі осадження і без S9 на підтвердження цього пояснення. У дослідженні RDS.03.SRE.12525 зменшення ревертантів було відзначено лише за наявності впливу УФ-променів. Таке зменшення може (також) бути обумовлене ефектом затінення осаду, що зменшує очікуване збільшення ревертантів, яке викликане УФ-променями. Колективно погоджено, що дослідження не підтверджують мутагенну дію трифаротену за відсутності або присутності УФ-опромінення.

Було проведено один мікроядерний аналіз *in vitro* (лімфоцити) та один *in vivo* (кістковий мозок). Наведені дані підтверджують слабкий, але позитивний сигнал кластогенності *in vitro*. Дослідження *in vivo*, яке можна вважати більш важливим, свідчить про збільшення частоти поліхроматичних еритроцитів у самців, які вводили дозу 7,5 мг/кг, порівняно з контрольною групою. Однак, незважаючи на важливість, сигнал вважається слабким (в абсолютному вираженні) і не вважається достатнім для визначення трифаротену кластогеном.

Тест хромосомних аберацій у культурі клітин яєчників китайського хом'яка (СНО) за відсутності та присутності структурних хромосомних аберацій ультрафіолетового світла, подібних до тих, що спостерігалися в одночасному контролі розчинника. Після експозиції в присутності УФ-світла спостерігалось невелике збільшення ендоредуплікації. Значення цього результату є невідомим.

Канцерогенність

Для оцінки канцерогенного потенціалу трифаротену, проводили два дослідження канцерогенності тривалістю 104 тижні на щурах лінії Вістар (пероральне) та на мишах лінії CD-1 (дерматологічне).

У дерматологічному дослідженні на мишах тварини не переносили препарат в дозі 0,05 мг/кг/добу та 0,1 мг/кг/день, і ці групи були вилучені з дослідження та замінені групою застосування препарату в дозі 0,01 мг/кг/добу з 14-го тижня. Не спостерігалось збільшення частоти новоутворень у тварин, що

отримали дозу препарату. Однак залежно від дози відзначалися утворення луски, виразка та гіперплазія/гіперкератоз, що також корелювало зі збільшенням лімфатичних вузлів та гіперплазією лімфоїдної тканини в пахвових та нижньощелепних лімфатичних вузлах, а також у селезінці. Під час дослідження перорального застосування лікування призвело до легкого, але залежного від дози зменшення маси тіла та споживання їжі. Неопластичних змін, які вважаються пов'язаними з лікуванням, не виявлено. Однак макроскопічні та гістопатологічні зміни спостерігалися у шлунку, шкірі та печінці. Крім того, зона росту стегнової кістки мала неправильну товщину у більш ніж половини самців та самиць щурів, які отримували високі дози. Таким чином, загалом відсутні дані, які б свідчили про те, що трифаротен має канцерогенний потенціал. Неопластичні дані, виявлені через 2 роки застосування препарату, подібні до результатів, виявлених у дослідженнях токсичності повторних доз, та відповідно до того, що очікується від агоніста RAR.

За словами заявника, через вплив на шкіру лікування могло взагалі стимулювати лімфоїдний компартмент, оскільки нижньощелепні та пахові лімфатичні вузли, а також селезінка також виявляли гіперплазію лімфоїдної тканини, пов'язану з лікуванням. Тому зазначені ефекти вважаються скоріше пов'язаними з процедурою, а не ознакою токсичності. Заявник також вважає, що підвищена насиченість кісткового мозку груднини клітинами також була непрямим результатом, пов'язаним з процедурою.

Незважаючи на можливість погодитись з тим, що вплив на шкіру призвів до стимуляції лімфоїдного компартменту, той факт, що ефекти пов'язані з процедурою, є не узгодженим. Якби ефекти були пов'язані з процедурою, то в контрольній групі спостерігали аналогічні результати з подібним ступенем вираженості. Швидше за все, це непрямий вплив токсичної дії речовини на шкіру, і виникають вони внаслідок дії трифаротену. У будь-якому випадку клінічна значимість цих результатів є обмеженою, оскільки основне подразнення шкіри можна контролювати, а отже, лікування можна припинити до прогресування до клінічно значущих ефектів з боку лімфоїдної тканини.

Токсична дія на репродуктивну функцію та внутрішньоутробний розвиток

Було проведено повний набір необхідних досліджень репродуктивної токсичності, включаючи попереднє дослідження токсичності на нестатевозрілих тваринах. Для досліджень використовували щурів та кроликів. У дослідженні фертильності було відзначено незначне зменшення маси тіла під час застосування найвищої дози у самців, але це не вплинуло на середню кількість сперматозоїдів, середній відсоток рухливих сперматозоїдів або параметри рухливості сперматозоїдів. Післяімплантаційна втрата була значно вищою у групі застосування низьких доз. Однак у однієї самки не було життєздатних ембріонів, які впливали б на середнє значення, і оскільки при більш високій експозиції жодних ефектів не спостерігалось, результат не вважається пов'язаним з лікуванням. Таким чином, у сукупності трифаротен не чинив впливу на показники спаровування або фертильність у самців чи самиць, яким вводили препарат.

У дослідженні токсичності на розвиток ембріону та плода вплив трифаротену у вагітних щурів лінії SD був пов'язаний із дозозалежною токсичністю для організму матері в дозі від 0,3 мг/кг/добу, що проявлялося як зменшення маси тіла та кількості спожитої їжі. У самиць в групі застосування препарату в дозі 1 мг/кг/добу спостерігалася післяімплантаційна втрата (як на ранніх, так і на пізніх стадіях резорбції). Однак при більш детальному розгляді для всіх груп дозування порівняно з контрольною групою спостерігалось різниця у відсотку післяімплантаційної втрати. За словами заявника, це явище є випадковим та оснований воно на низькій кількості резорбцій в контрольній групі порівняно з контрольними даними.

Трифаротен має чіткий тератогенний ефект. Під час застосування найвищої дози у всіх плодів виявляли синдром множинних вад розвитку, очікуваний для агоніста RAR, і більшість плодів, які отримували дозу 0,3 мг/кг/день, також макроскопічні прояви вад розвитку. Під час застосування дози 0,03 мг/кг/доба у одного плода спостерігалася пупкова грижа, а у одного – незрощення піднебіння, результати яких також спостерігалися у групах застосування доз 0,3 та 1 мг/кг/добу. У групі застосування дози 0,1 мг/кг/день не було виявлено незрощення піднебіння, тому заявник вважає результат, зареєстрований у групі застосування дози 0,03 мг/кг/добу, випадковим та ізольованим. Проте, незважаючи на відсутність незрощення піднебіння під час застосування дози 0,1 мг/кг/добу, спостерігалось неповне окостеніння піднебіння, що свідчить про вплив на формування кісток. Незрощене піднебіння є одним з найпоширеніших вроджених вад у людини, і РА відіграє важливу роль під час розвитку піднебіння. Встановлено також, що надлишок РА збільшує частоту випадків

незрощення піднебіння у гризунів, а також у людей, тому дивно виявити такі дані у плодів, що зазнали впливу низьких доз трифаротену, і не виявити у контрольній групі. Проте, враховуючи один випадок у групі застосування в дозі 0,03 мг/кг/добу та відсутність результатів в групі застосування дози 0,1 мг/кг/день, цей ефектом не вважається пов'язаним з лікуванням.

У двох групах застосування вищих доз відзначено серйозні макроскопічні порушення скелета. Це явище є очікуваним на основі явних зовнішніх вад розвитку. Під час застосування дози 0,1 мг/кг/день спостерігали деформацію гомілки та малогомілкової кістки на додаток до уповільненого окостеніння (а в деяких місцях і посилення окостеніння) різних кісток. Результати застосування дози 0,03 мг/кг/доба здебільшого були пов'язані з впливом на окостеніння. Однак спостерігалось збільшення частоти випадків одностороннього або двостороннього недостатнього розвитку 14-го ребра та неповного окостеніння 6-го сегмента груднини. Ці висновки вважаються варіаціями неясного токсикологічного значення.

Новозеландські білі кролики не переносили трифаротен у дозі 50 мг/кг/добу (найвища доза). Майже всі тварини загинули або передчасно піддавалися евтаназії. Лікування у цій групі було припинено на 14-15-й SD, але більшість тварин не одужали. Лише одна самиця у цій групі мала життєздатні плоди (2♀), усі з них мали серйозні вади.

Що стосується застосування високих доз, лікування в дозі 5 мг/кг/день було пов'язане з вадами розвитку, головним чином, з акаудією та зігнутим хвостом. Один плід також мав важкі вади з амелією та гемімельією задніх кінцівок та гастрошизисом. У групі застосування низьких дози один плід мав серйозні вади (аналогічні результати, як у плода під час застосування дози 5 мг/кг/добу). Крім того, частота випадків викривлення хвоста перевищувала як значення контролю лікування, так і ретроспективні контрольні дані, що свідчить про чіткий причинно-наслідковий зв'язок лікування. Вісцеральні вади розвитку сечовидільної системи у плода спостерігалися у плодів самиць, яким вводили препарат в дозі 5 або 50 мг/кг/добу, а один плід в групі застосування дози 0,5 мг/кг/доба мав неправильно сформовану нирку. Вади розвитку скелету переважно спостерігалися в хвостовому відділі хребта. Це достовірно корелює з результатами, пов'язаними з хвостом, у всіх групах застосування препарату.

Таким чином, разом дослідження токсичності на розвиток ембріону та плода доводять, що трифаротен, як і інші агоністи ретиноїдних рецепторів, є тератогеном під час застосування у досить високих дозах. Цікаво відзначити дуже широкий спектр викликаних вад розвитку та широкий спектр доз, під час застосування яких вони можуть виникати. Можна також зробити висновок, що селективність щодо RAR- γ над RAR- α та RAR- β не має явного впливу речовини на розвиток вад. Інформація у розділі 4.6 щодо вагітності має бути аналогічним іншим дерматологічним ретиноїдам.

У дослідженні токсичності на пренатальний та постнатальний розвиток не було випадків смерті, пов'язаної з лікуванням. У групах застосування доз 0,03 та 0,1 мг/кг/добу (11% та 13,4% порівняно з 6,2% для контрольних груп) рівень пренатальної втрати (F1) збільшувався. За словами Заявника, ці дані були в межах ретроспективних контрольних даних. Однак загальна тенденція у дослідженнях токсичності на розвиток ембріону та плода та у дослідженнях токсичності на пренатальний та постнатальний розвиток свідчить про те, що післяімплантаційна втрата спостерігається при лікуванні трифаротеном у дозах, які не зв'язані з токсичністю для організму матері. Незважаючи на це, через відсутність чітких даних, що підтверджують таку тенденцію, це питання вважалось вирішеним.

Заявник подав 4-тижневе дослідження визначення діапазону доз на нестатевозрілих тваринах, але певного дослідження не проводили. Однак, оскільки не було подано певного дослідження токсичності на нестатевозрілих тваринах, далі це дослідження не розглядається. Окрім того, згідно з наданим планом педіатричних досліджень (ППД), Педіатричний комітет Європейського агентства лікарських засобів (PDCO) погодився на відмову від відповідальності, яка поширюється на педіатричну популяцію віком від народження до менш ніж 9 років. Крім того, погоджений ППД не включає жодних доклінічних досліджень.

Дослідження місцевої стерпності

Були проведені дослідження подразнення шкіри та очей. Дослідження місцевої стерпності на шкірі не оцінювалися. Їх проводили без застосування з клінічного препарату, а можливість викликати подразнення шкіри для цієї речовини стала очевидною у дослідженнях повторних доз на мишах та мініпігах.

Дослідження стерпності на очах мають важливе значення, оскільки застосування продукту включатиме периорбітальну зону обличчя. Трифаротен 100 мкг/г у формі гелю викликав подразнення під час застосування препарату у кроликів на очах. Трифаротен в дозі до 400 мкг/г у формі HE1 крему викликав мінімальне подразнення під час застосування на очах кроликів. Хоча відношення використаного гелю/крему до клінічного препарату не з'ясоване, можна зробити висновок, що трифаротен викликає подразнення очей, саме тому до розділу 4.3 SmPC слід включити відповідні попередження.

Сенсибілізація

Сенсибілізацію шкіри оцінювали у двох дослідженнях трифаротену. Крем з трифаротеном вивчали за допомогою тесту Бюлера, а гель використовували в аналізі місцевих лімфатичних вузлів. У тесті Бюлера сенсибілізації не виявлено.

У дослідженні фотоподразнення та фотосенсибілізації трифаротену на морських свинках дані дослідження показують, що фотосенсибілізуючий потенціал трифаротену був очевидним: реакції у 80% тварин, яким вводили препарат, порівняно з 40% у контрольній групі плацебо. За словами заявника, подразнення, яке спостерігається в період індукції, може бути причиною зазначеного ефекту. Незважаючи на те, що гостре фотоподразнення, яке спостерігається в цих дослідженнях, вважається актуальним для людей, прогнозованість цих досліджень щодо фотоалергії у людини є невідомою. Таким чином, з метою регулювання, проводити такі доклінічні фотоалергічні проби, як правило, не рекомендується. Однак очікується, що питання оцінки фотобезпеки буде далі вирішуватися клінічно.

1) токсичність у разі одноразового введення

51. RDS.03.SRE.8562 – Додаткове короткочасне дослідження (введення через шкіру) на щурах лінії Спрег-Доулі.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити токсичність препарату CD5789 у розчині при одноразовому місцевому (на шкірі) застосуванні.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Групам щурів лінії Спрег-Доулі (12 тварин/стать/група) вводили препарат CD5789 у розчині (суміш пропіленгліколю - етанолу [20 - 80% м/м]) в концентрації 30, 100 або 300 мкг/г об'ємом 2 мл/кг/добу (що відповідає дозі 0,06, 0,2 та 0,6 мг/кг/добу). Контрольним тваринам вводили розчинник тільки в тих же експериментальних умовах. Місця нанесення не накривали. Стан тварин контролювали протягом мінімум 14 днів щодо рівня смертності/захворюваності та проявів клінічних ознак. Маса тіла та обсяг споживання їжі реєструвалися щотижня. Зразки крові збирали для токсикокінетичного аналізу в день застосування препарату. Крім того, також збрали зразки крові або у 4 тварин/стать/група перед проведенням проміжної евтаназії на наступний день після застосування лікування, або у 8 тварин/стать/група, що залишилися, в кінці періоду спостереження, перед остаточною евтаназією для дослідження клінічної патології. Для кожного періоду евтаназії для всіх тварин проводили макроскопічне дослідження, зважували вибрані органи та фіксували ряд тканин для мікроскопічного дослідження.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 при одноразовому нанесенні на шкіру у дозах 30, 100 або 300 мкг/г, не викликав жодних ознак системної токсичності, проте спостерігалися ознаки легкого та тимчасового подразнення шкіри з залежністю доза-відповідь. Виходячи з характеру, легкої тяжкості та низької частоти таких шкірних проявів, доза 30 мкг/г (0,06 мг/кг) вважалася дозою NOAEL, яка відповідає AUC_{0-24 год} для 7,2 та 34,9 нг.год/ мл у самців та самиць щурів, відповідно.

52. RDS.03.SRE.8563 - Додаткове короткочасне дослідження CD5789 (внутрішньовенне введення) на щурах лінії Спрег-Доулі.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити токсичність препарату CD5789 під час одноразового внутрішньовенного болюсного (повільного) введення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Групі щурів лінії Спрег-Доулі (12 тварин/стать/група) вводили препарат CD5789 у дозі 1, 2,5 або 5,5 мг/кг об'ємом 1,6 мл/кг. Тваринам контрольної групи вводили лише розчинник (суміш поліетиленгліколю 400, етанолу та NaCl 0,9% [70 - 10 - 20%] м/м/м). Стан тварин контролювали протягом мінімум 14 днів щодо рівня смертності/захворюваності та проявів клінічних ознак. Маса тіла та обсяг споживання їжі реєструвалися щотижня. Зразки крові збирали для токсикокінетичного аналізу в день застосування препарату. Крім того, також збрали зразки крові або у 4 тварин/стать/група перед проведенням проміжної евтаназії на наступний день після застосування лікування, або у 8 тварин/стать/група, що залишилися, в кінці періоду спостереження, перед остаточною евтаназією для дослідження клінічної патології. Для кожного періоду евтаназії для всіх тварин проводили макроскопічне дослідження, зважували вибрані органи та фіксували ряд тканин для мікроскопічного дослідження.

ВИСНОВОК:

Під час застосування препарату CD5789 у вигляді одноразової внутрішньовенної дози, що дорівнює 1 мг/кг, ознаки токсичності не виявлені. Більш високі дози 2,5 і 5,5 мг/кг викликали ознаки токсичності, що полягали у зменшенні маси тіла та обсягу споживанні їжі, а також гістологічних змінах у кістках та нирках. Доза 1 мг/кг вважалася дозою NOAEL. У цьому дослідженні як для самців, так і для самиць, що відповідає AUC_{0-остання} 1447 та 4656 нг.год/мл у самців та самиць, відповідно.

2) токсичність у разі повторних введень

Токсичність повторюваних доз при нанесенні на шкіру

Дослідження препарату CD5789 у формі крему на мишах

53. RDS.03.SRE.12742 - CD5789 Попереднє 4-тижневе дослідження шкіряної токсичності на мишах.

МЕТА:

Цілями дослідження були оцінити місцеву стерпність та можливу системну токсичність щоденного застосування препарату CD5789 у формі крему на шкірі мишей лінії CD1 протягом щонайменше чотирьох тижнів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 у формі крему в концентрації 10 мкг/г, 50 мкг/г або 100 мкг/г наносили щоденно на шкіру миші лінії CD1 протягом щонайменше чотирьох тижнів посліп відповідно до дизайну дослідження, представленою в Таблиці 3.

Таблиця 3. Дизайн 4-тижневого дослідження шкіряної токсичності (RDS.03.SRE.12742)

Група/Лікування	Доза (мг/кг/день)	Обсяг дозування (мл/кг/день)	Концентрація дози (%м/м)	Кількість	
				Самці	Самиці
1. Контроль (вода)	0	2	0	12(6)	12(6)
2. Плацебо	0	2	0	12(6)	12(6)
3. CD5789 крем 10 мкг/г	0,02	2	0,001	12(18)	12(18)
4. CD5789 крем 50 мкг/г	0,1	2	0,005	12(18)	12(18)
5. CD5789 крем 100 мкг/г	0,2	2	0,01	12(18)	12(18)

Сателітні тварини, які використовуються для підтвердження оцінки впливу, зазначені в дужках. Після забору зразків крові цих тварин утилізували без розтину. Тварини групи 1 (контроль) отримували воду для ін'єкцій.

Досліджуваний препарат рівномірно наносили на вистрижену, незахищену область на спині (від лопатки до попереку), що становить щонайменше 10 % загальної площі поверхні тіла. Раз на тиждень місце нанесення промивають теплою водою і висушують абсорбуючим папером, приблизно через 6 годин після щоденного нанесення.

Перевірку рівня захворюваності/смертності проводили щонайменше двічі на день. Клінічні обстеження, включаючи місцеву стерпність, проводили щодня. Офтальмологічні обстеження проводили перед тестом і на 26-й день. Масу тіла окремих тварин реєстрували двічі перед проведенням тесту, а потім щотижня протягом періоду лікування. Споживання їжі вимірювали щотижня для кожної тварини. Клінічні лабораторні дослідження проводили на 28/29-й день. У сателітних тварин відбирали зразки для доказу експозиції в різні моменти часу (через 1, 4, 8 годин після застосування препарату) після введення дози на 0-й день та на 28-й день. Одну тварину, яка загинула під час дослідження, піддавали аутопсії; ця смерть не була пов'язана з лікуванням. В кінці періоду лікування всіх тварин, що вижили, піддавали евтаназії та аутопсії. Відібрані органи зважували. Зразки органів/тканин фіксували та зберігали під час аутопсії всіх тварин. Відібрані органи/тканини тварин групи 1 та 5, яких піддавали евтаназії в кінці періоду лікування, однієї тварини, знайденої мертвою, а також шкіру всіх тварин з усіх груп, в першу чергу досліджували гістопатологічно. Потім також проводили гістопатологічні дослідження кісток (стегнової кістки) та суглобів та кісток (грудини) з кістковим мозком самиць тварин, селезінки та шлунку самців та самиць, які отримали низькі та проміжні дози та плацебо, оскільки ці органи/тканини були відзначені в результатах для високої дози (група 5).

ВИСНОВОК:

Щоденне застосування досліджуваного крему CD5789 на шкірі в дозі 10, 50 та 100 мкг/г (що відповідає 0,02, 0,1 або 0,2 мг/кг/добу) протягом щонайменше 28 днів у мишей лінії CD1 викликало незначні місцеві реакції у обох статей при всіх дозах, пов'язані з дозозалежним підвищенням кількості лейкоцитів та гіперпластичними та запальними змінами, які гістопатологічно спостерігаються в шкірі після лікування. У самців ці ефекти були тяжчими, ніж у самиць. Оскільки ступінь вираженості місцевих реакцій зменшувався з часом, а ступінь вираженості був низьким, ці висновки вважалися несприятливими. Інші результати гістопатології, відмічені у шлунку та селезінці, були низького ступеня тяжкості при двох найнижчих рівнях дози 0,02 або 0,1 мг/кг/добу. Лише стромальна проліферація в кістковому мозку (помірна в грудині та мінімальна або незначна у стегновій кістці) під час застосування найвищої дози 0,2 мг/кг/добу вважається несприятливою зміною.

54. RDS.03.SRE.12754 – 13-тижневе дослідження шкіряної токсичності препарату CD5789 у формі крему В на мишах лінії CD1.

МЕТА:

Цілями дослідження були оцінити місцеву токсичність та можливу системну токсичність препарату CD5789 у формі крему, який щоденно наносили на шкіру мишей лінії CD1 протягом 13 тижнів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Крем CD5789 в концентрації 10, 50 та 100 мкг/г щоденно наносили на шкіру мишей лінії CD1 протягом 13 тижнів поспіль відповідно до дизайну дослідження, представленого в Таблиці 4.

Таблиця 4. Дизайн 13-тижневого дослідження шкіряної токсичності у мишей лінії CD1 (RDS.03.SRE. 12754)

Група/Лікування	Доза (мг/кг/день)	Обсяг дозування (мл/кг/день)	Концентрація дози (%м/м)	Кількість тварин	
				Самці	Самиці
1. Контрольна група	0	2	0	12 (6 + 6)	12 (6 + 6)

(вода)					
2. Плацебо крем CD5789	0	2	0	12 (6 + 6)	12 (6 + 6)
3. Крем CD5789 10 мкг/г	0,02	2	0,001	12(18+21)	12(18 + 21)
4. Крем CD5789 50 мкг/г	0,1	2	0,005	12(18+21)	12(18 + 21)
5. Крем CD5789 100 мкг/г	0,2	2	0,01	12(18+21)	12(18 + 21)

Сателітні тварин для токсикокінетичних досліджень позначені в дужках (День 0 та День 90, відповідно).

Тварини групи 1 (контроль) отримували воду для ін'єкцій. Крем CD5789, плацебо або воду наносили на вистрижену область на спині (від лопатки до попереку), що становить щонайменше 10 % загальної площі поверхні тіла. Місця нанесення не накривали. Перевірку рівня захворюваності/смертності проводили щонайменше двічі на день. Клінічні обстеження проводили щотижня. Офтальмологічні обстеження проводили перед тестом і протягом 13 тижнів. Масу тіла кожної тварини та обсяг споживання їжі реєстрували щотижня. Клінічні лабораторні дослідження проводили через 13 тижнів лікування. У сателітних тварин відбирали зразки для токсикокінетичної оцінки в різні моменти часу на 0-й та 90-й день. Усіх тварин, які загинули під час дослідження, піддавали аутопсії. В кінці періоду лікування всіх тварин, що вижили, піддавали аутопсії. Відібрані органи зважували. Зразки органів/тканин всіх тварин фіксували та зберігали під час аутопсії. Відібрані органи/тканини усіх тварин, яких вбивали в кінці періоду лікування або піддавали аутопсії, досліджували гістопатологічно.

ВИСНОВОК:

Після нанесення на шкіру препарату CD5789 у формі крему миші лінії CD1 піддавалися впливу препарату CD5789 в усіх дозах із системним впливом, який був подібним для самців та самиць і який зростає із збільшенням дози. Ефекти, пов'язані з лікуванням, виникали на шкірі (запальні зміни в місцях нанесення, з гіперплазією, гіперкератозом та паракератозом, корельовані з місцевими реакціями, що спостерігалися протягом дослідження), незалозистому шлунку (мінімальна або незначна гіперплазія/гіперкератоз слизової оболонки на складці між шлунком та передшлунком) і кістковий тканині (мінімальна дезорганізація епіфізарної пластинки в стегновій кістці та грудині), визначені як основні органи-мішені. Ці ефекти виникали при співвідношенні доза-відповідь. Інші легкі зміни, швидше за все, пов'язані із запальним процесом в шкірі, відбулися в клінічному біохімічному та загальному аналізах крові, а також у лімфатичних вузлах, кістковому мозку та селезінці.

Дослідження препарату CD5789 у формі крему на мініпігах

55. RDS.03.SRE.8677 – 4-тижневе дослідження токсичності місцевого (на шкірі) застосування препарату CD5789 у формі крему В на мініпігах породи Геттінген.

МЕТА:

Цілями дослідження були оцінити місцеву стерпність системну токсичність препарату CD5789 у формі крему при щоденному нанесенні на шкіру мініпігів породи Геттінген® протягом 4 тижнів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Самцям та самицям мініпігів породи Геттінген® (віком 3 - 4 місяці, по чотири в групі та однієї статі) місцево наносили препарат CD5789 у формі крему в концентрації 10 мкг/г в дозі 1 або 2 мл/кг або 50 мкг/г об'ємом 2 мл/кг. Плацебо застосовували в обсязі 2 мл/кг. Препарат тваринам вводили щодня, 7 днів на

тиждень, протягом приблизно 2 тижнів поспіль. Лікарську форму розподіляли на 2 місцях нанесення для досягнення загального відсотка обробленої поверхні тіла приблизно 10%. Оброблені ділянки закривали пов'язкою (неоклюзіною) протягом приблизно 6-годинного періоду лікування (або 24 години у неробочі дні). Через тяжкість шкірних реакцій на обробленій ділянці у всіх тварин, включених у дослідження, лікування було передчасно припинено через 2 тижні. Через передчасне припинення лікування в кінці 4-тижневого дослідження обстеження серцево-судинної системи, офтальмологічне обстеження, забір крові для токсикокінетичної оцінки (багаторазове дозування), біоаналіз, забір крові та сечі для виконання клінічних патологічних досліджень, розтину, гістотехнічне та гістопатологічне дослідження не проводили.

ВИСНОВОК:

Нанесення на шкіру препарату CD5789 у формі крему в концентрації 10 мкг/г або 50 мкг/г та в обсязі 1 або 2 мл/кг протягом приблизно 2 тижнів поспіль не переносилося. На оброблених ділянках крем CD5789 в обох концентраціях та в усіх об'ємах введення викликав тяжкі шкірні ефекти, пов'язані з дозою, в основному еритему та/або набряк, лущення та утворення кірок/струпів, що призвело до припинення лікування для всіх тварин. Місцеве подразнення також відзначалося у всіх тварин, які отримували крем-плацебо. Обсяг дози 1 або 2 мл/кг вважався занадто високим для подальших дерматологічних досліджень крему на мініпігах.

56. RDS.03.SRE.8684 - 4-тижневе дослідження токсичності місцевого (на шкірі) застосування препарату CD5789 у формі крему В на мініпігах породи Геттінген

МЕТА:

Цілями дослідження були оцінити місцеву стерпність та можливу системну токсичність препарату CD5789 у формі крему в концентрації 10 мкг/г при щоденному застосуванні на шкірі самців та самиць породи Геттінген® протягом 4 тижнів поспіль.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Дослідження проводили в чотирьох групах тварин, по 4 самця та 4 самиці в кожній, відповідно до дизайну, представленому в Таблиці 6.

Таблиця 6. Дизайн 4-тижневого дослідження токсичності місцевого застосування на мініпігах породи Геттінген® (RDS.03.SRE.8684)

Група	Концентрація препарату CD5789 в лікарському засобу (мкг/г)	Обсяг дози (мл/кг/день)	Рівні дози препарату CD5789 (мг/кг/день)	Кількість застосованого препарату CD5789 (мкг/см ² приблизно)***	Місця нанесення
Контроль плацебо	0	0,125*	0	0	Лівий бік
	0	0,375**	0	0	Правий бік
Низька доза	10	0,25	0,0025	0,05	Обидва боки
Середня доза	10	0,5	0,005	0,1	Обидва боки
Висока доза	10	0,75	0,0075	0,15	Обидва боки

Для розрахунку дози щільність вважали рівною 1.

*Відповідно до обсягу, нанесеного на кожен бік тварин в групі застосування низької дози

**Відповідно до обсягу, нанесеного на кожен бік тварин в групі застосування високої дози

***Оцінка на основі 10% обробленої поверхні тіла, що становить приблизно 400 см² для середньої маси тіла 8 кг.

Препарати наносили на дві ділянки шкіри (по одній на кожному боці, уникаючи області хребта) для досягнення площі нанесення приблизно 10% від площі поверхні тіла. Оброблені ділянки накривали пов'язкою протягом 6 годин (або 24 години у неробочі дні). Після закінчення періоду впливу оцінювали шкірні реакції на місцях нанесення та місця нанесення промивали. До досліджуваних

параметрів відносилися щоденні перевірки рівня захворюваності/смертності, клінічні спостереження, оцінку обсягу споживання їжі та щотижневий запис маси тіла кожної тварини. Обстеження серцево-судинної системи, офтальмологічні обстеження та клінічні патологічні дослідження проводилися до введення дози та протягом 4-го тижня. У всіх тварин відбирали зразки для токсикокінетичної оцінки в перший день та через 28 днів лікування. МКВ біоаналітичного методу (РХ-МС/МС) становив 0,05 нг/мл. Наприкінці періоду дозування проводили розтин, вимірювали вагу органів та мікроскопічне дослідження окремих тканин.

ВИСНОВОК:

Шкіра була єдиним органом-мішенню. Крем CD5789 в концентрації 10 мкг/г не переносився під час застосування у дозах 0,5 і 0,75 мл/кг/день (що відповідає застосуванню 0,1 та 0,15 мкг/см²/доба активного інгредієнта, відповідно).

57. RDS.03.SRE.12851 – 4-тижневе дослідження стерпності крему CD5789 (крем b) на мініпігах породи Геттінген.

МЕТА:

Цілями цього дослідження були оцінити місцеву стерпність препарату CD5789 у формі крему на мініпігах породи Геттінген® протягом чотирьох тижнів поспіль в різних об'ємах дози.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Дослідження проводили відповідно до дизайну, представленому в Таблиці 7.

Таблиця 7. Дизайн 4-тижневого дослідження місцевої стерпності на мініпігах породи Геттінген® (RDS.03.SRE. 12851)

Група	Місце нанесення	Лікування	Концентрація CD5789 в препараті %(мкг/г)	Обсяг дози (мл) на один бік*	Розрахована застосовна доза CD5789 (мкг/см ²)**
1	Лівий бік	Плацебо	0	0,5	
	Правий бік	Крем CD5789	0,005% (50)	0,5	0,1
2	Лівий бік	Плацебо	0	1,25	
	Правий бік	Крем CD5789	0,005% (50)	1,25	0,25
3	Лівий бік	Плацебо	0	2,5	
	Правий бік	Крем CD5789	0,005% (50)	2,5	
4	Лівий бік	Плацебо	0	0,5	
	Правий бік	Крем CD5789	0,01% (100)	0,5	0,2

*: Для маси тіла 10 кг

** : Теоретичне значення припускає площу 250 см² на один бік.

Тваринам (по 3 самиці в групі) наносили препарат приблизно на 6 годин на день протягом чотирьох тижнів поспіль. Досліджувану речовину або крем-плацебо наносили на вистрижені ділянки (лівий бік для плацебо та правий бік для досліджуваного препарату), обидва боки становили загалом 10% всієї площі тіла, покривали неоклюзійною пов'язкою. Потім оброблені ділянки промивали теплою водою. Виконували оцінку наступного: рівень захворюваності/смертності, клінічні спостереження (включаючи ректальну температуру в деяких випадках), місцева стерпність, маса тіла та обсяг споживання їжі. В кінці періоду лікування всіх тварин піддавали аутопсії та досліджували макроскопічні ураження. Гістопатологічну оцінку проводили на обробленій та необробленій шкірі всіх тварин.

ВИСНОВОК:

Щоденне нанесення препарату CD5789 у формі крему протягом чотирьох тижнів на шкіру мініпігів породи Геттінген® у концентраціях 0,01% та 0,005% у об'ємах дози, розрахованих на основі 0,05–0,25 мл/кг/добу відповідно, викликало дозозалежну реакцію подразнення (еритема) на місцях нанесення, з максимальною тяжкістю та частотою через 3 тижні лікування. Концентрація 0,005% в об'ємі застосування, розрахованому на основі 0,05 або 0,125

мл/кг/добу, викликала менш виражені місцеві реакції. При мікроскопічному дослідженні спостерігалися незначні гістологічні зміни, пов'язані з подразненням, без чіткого співвідношення дози та відповіді. Місцеві реакції мали тенденцію до зменшення в кінці періоду лікування.

58. RDS.03.SRE.12852 – 13-тижневе дослідження місцевої (застосування на шкірі) токсичності препарату CD5789 у формі крему на мініпігах породи Геттінген®.

МЕТА:

Цілями дослідження були оцінити місцеву стерпність та системну стерпність препарату CD5789 у формі крему, який щоденно наносився на шкіру самців та самиць мініпігів породи Геттінген протягом 13 тижнів та визначити концентрації препарату CD5789 в зразках плазми у визначених експериментальних умовах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 у формі крему в дозі 10 мкг/г (2,5 мкг/кг/день CD5789), 50 мкг/г (12,5 мкг/кг/день CD5789) та 100 мкг/г (25 мкг/кг/день CD5789) вводили щодня шляхом нанесення на шкіру самців та самиць мініпігів породи Геттінген протягом 13 тижнів поспіль, згідно наступного дизайну.

Група/ Лікування	Лікування	Концентрація препарату CD5789 (в %, м/м)	Застосовний обсяг (мл/кг/день)	Рівень дози ^(а) (мкг CD5789/см ² / день)	Рівень доза (мкг/кг/день)	Кіл-ть тварин	
						Самці	Самиці
1. Контроль	Плацебо	0	0,25	0	0	4	4
2. Низька доза	Досліджуваний препарат	0,001	0,25	0,05	2,5	4	4
3. Середня доза	Досліджуваний препарат	0,005	0,25	0,25	12,5	4	4
4. Висока доза	Досліджуваний препарат	0,01	0,25	0,5	25	4	4 + 1 (^б) _t

(а) Розраховано для мініпігів вагою 10 кг та оброблену площу 500 см² (приблизно 10 % загальної поверхні тіла).

(б) Самицю № 630 з різке загостренням місцевої реакції замінили запасною самицею №. 633 на 21-й день дослідження

Тваринам групи 1 (контроль) застосовували плацебо (крем плацебо CD5789). Тваринам протягом 13 тижнів поспіль місцево застосовували досліджуваний препарат протягом приблизно 6 годин на день. Препарати наносили на вистрижені ділянки (спину та боки тулуба), що складають 10% всієї площі тіла, і покривали шкіру неоклюзійною пов'язкою на 6 годин. Потім оброблену ділянку промивали теплою водою. Оцінювали такі параметри: рівень захворюваності/смертності, клінічні спостереження, місцева стерпність, офтальмологічне дослідження, маса тіла, обсяг споживання їжі, обстеження серцево-судинної системи, загальний аналіз крові, згортання крові, клінічний біохімічний аналіз сироватки крові, аналіз сечі, рівні препарату CD5789 у плазмі в кінці періоду лікування (за допомогою валідованого методу РХ-МС/МС з межею кількісного визначення 0,05 нг/мл). В кінці періоду лікування всіх тварин піддавали аутопсії та перевіряли на наявність макроскопічних уражень. Відібрані органи зважували. Гістопатологічну оцінку проводили на окремих тканинах та органах.

ВИСНОВОК:

Мініпігі добре переносили місцеве застосування препарату CD5789 в концентрації 10 мкг/г та 50 мкг/г в дозі 0,25 мл/кг/добу протягом 13 тижнів поспіль. Місцеве застосування препарату CD5789 в концентрації 100 мкг/г у формі крему викликало виражені шкірні реакції, що призвело до припинення

лікування для однієї тварини. Вважали, що застосування крему CD5789 в концентрації 100 мкг/г перевищує максимальну місцеву допустиму дозу.

59. RDS.03.SRE.12875 - 9-місячне дослідження токсичності місцевого (на шкірі) застосування препарату CD5789 у формі крему на мініпігах породи Геттінген® після чого 4 тижні лікування не застосовували

МЕТА:

Цілями дослідження були оцінити місцеву стерпність та можливу системну токсичність препарату CD5789 у формі крему в концентрації 0,001% (2,5 мкг/кг/день CD5789), 0,005% (12,5 мкг/кг/день CD5789) та 0,01% (25 мкг/кг/день CD5789) при щоденному введенні по 0,25 мл/кг/день шляхом нанесення на шкіру самців та самиць мініпігів породи Геттінген принаймні протягом 39 тижнів поспіль для визначення концентрації препарату CD5789 у зразках плазми.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Дослідження проводили відповідно до такого дизайну:

Група/ Лікування	Концентрація препарату (в %, м/м)	Застосований об'єм (мл/кг/день)	Рівень дозы* (мкг CD5789 /см ² /день)	Рівень дози ** (мкг/кг/день)	Кількість тварин для аутопсії			
					По закінченню дослідження Тижень 40 ⁽¹⁾		Одужання Тижень 44 ⁽²⁾	
					Самці	Самиці	Самці	Самиці
1. Плацебо	0	0,25	0	0	4	4	2	2
2. Низька доза	0,001	0,25	0,05	2,5	4	4	/	/
3. Середня доза	0,005	0,25	0,25	12,5	4	4	/	/
4. Висока доза	0,01	0,25	0,50	25	4	4	2	2

1): планується вбити в кінці періоду лікування

2): вбито в кінці періоду відсутності лікування.

/: не застосовується.

*: Розраховано для мініпігів вагою 10 кг і обробленої площі 500 см² (приблизно 10% від загальної площі поверхні тіла)

**Щільність препаратів приймають за 1 (кількість застосовуваного препарату: 0,25 г/кг/день)

Тварини 1 групи (контроль) отримували плацебо (крем плацебо CD5789)

Тварин лікували протягом 39 тижнів поспіль, після чого 4 тижні лікування не застосовували. Тварин місцево піддавали дії досліджуваної речовини або плацебо протягом приблизно 6 годин на день, 7 днів на тиждень. Препарати наносили на вистрижені ділянки (спину і боки тулуба, уникаючи зони хребта), що становить 10% всієї поверхні тіла, і покривали їх неоклюзією пов'язкою на 6 годин. Потім оброблену ділянку промивали теплою водою. Оцінювали такі параметри: рівень захворюваності/смертності, клінічні спостереження, місцева стерпність, офтальмологічне дослідження, маса тіла, обсяг споживання їжі, обстеження серцево-судинної системи, ЗАК, згортання крові, клінічний біохімічний аналіз сироватки крові, аналіз сечі, концентрація препарату CD5789 у плазмі на початку та в кінці періоду лікування (з використанням валідованого методу РХ-МС/МС з межею кількісного визначення 0,05 нг/мл). Усі тварини, що знайдені мертвими або помирили, піддавалися аутопсії. В кінці періоду лікування або періоду без лікування всі тварини, що вижили, піддавали аутопсії та обстеженню на наявність мікроскопічних уражень. Відібрані органи зважували. Гістопатологічну оцінку проводили для окремих тканин та органів.

ВИСНОВОК:

Після місцевого застосування крему CD5789 у дозі 0,001%, 0,005% та 0,01% в обсязі 0,25 мл/кг/день у мініпігів протягом 39 тижнів поспіль концентрації CD5789 у плазмі були дуже низькими та піддавалися кількісній оцінці лише у двох найвищих дозах, з індивідуальними концентрації від 0,0501 до 0,307 нг/мл

незалежно від застосованої дози. Лікування добре переносилося та не викликало системних побічних ефектів. На місці лікування виникали лише місцеві реакції, які в основному склалися з еритеми з відповідними мінімальними або незначними гістологічними даними. Місцеві реакції були більш вираженими протягом першого місяця застосування та повністю зникали після 4 тижнів лікування. Вони залишалися в межах очікуваного діапазону місцевих реакцій після місцевого застосування агоніста рецептора ретиноевої кислоти.

Дослідження токсичності повторних пероральних доз

Токсичність повторних пероральних доз у щурів

60. RDS.03.SRE.8549 – 2-тижневе дослідження пероральної токсичності препаратів CD5789 та CD5960 на щурах лінії Спрег-Доулі.

МЕТА:

Цілями дослідження було визначити потенційні токсичні ефекти препарату CD5789 та CD5960 у щурів лінії Спрег-Доулі після щоденного перорального застосування через зонд протягом 2 тижнів. Далі представлені лише результати, пов'язані із застосуванням препарату CD5789.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 вводили щоденно через зонд 5 щурам лінії Спрег-Доулі/стать/група при дозах 0 (розчинник), 0,1, 1, 5 або 10 мг/кг/добу протягом 2 тижнів. Щодня стан тварин спостерігали щодо рівня смертності та наявності клінічних ознак. Маса тіла та обсяги споживання їжі реєстрували щотижня. Забір крові проводили у вибрані моменти часу (1, 2, 4, 8 та 24 години після введення препарату) на 14-й день для підтвердження оцінки впливу препарату CD5789. Наприкінці періоду лікування тварин піддавали аутопсії та відбирали зразки відібраних органів та тканин для зважування та для мікроскопічного дослідження.

ВИСНОВОК:

Пероральне введення (через зонд) препарату CD5789 у щурів лінії Спрег-Доулі в дозі 5 та 10 мг/кг/добу не переносилося і спричиняло основні клінічні ознаки та/або передчасну смерть більшості тварин до кінця 2-тижневого періоду лікування. Для препарату CD5789 відзначали статеву різницю, яка зумовлена більш високим впливом у самиць.

Доза NOEL була встановлена на рівні 0,1 мг/кг/день для самиць та 1 мг/кг/день для самців, відповідно. Ці дози відповідали значенню Стах у плазмі крові, що становило 10,4 та 4,2 нг/мл для самиць та самців, відповідно.

61. RDS.03.SRE.8594 – 4-тижневе дослідження токсичності перорального (через зонд) застосування препарату CD5789 у щурів лінії Вістар.

МЕТА:

Метою цього дослідження було оцінити системну токсичність та токсикокінетичні параметри препарату CD5789 у самців та самиць щурів лінії Вістар при повторному пероральному застосуванні протягом 4 тижнів поспіль.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Десятьом щурам лінії Вістар/стать/групу через зонд вводили препарат CD5789 в дозі 0 (розчинник) 0,05, 0,1, 0,5 або 1 мг/кг/добу об'ємом 2 мл/кг протягом 4 тижнів поспіль. Контрольним тваринам вводили лише розчинник (0,5% КМЦ - 0,1% Твін 80 в очищеній воді). Тварин регулярно контролювали на наявність клінічних ознак, щодо маси тіла та обсягу споживання їжі. Всім тваринам протягом періоду до введення препарату та всім тваринам в групі застосування плацебо та в групі застосування високих доз в кінці лікування проводили офтальмологічні обстеження. Наприкінці 4-тижневого періоду лікування виконували ЗАК, аналіз на згортання крові та біохімічний аналіз сироватки та

проводили аналіз сечі. В кінці дослідження всіх тварин піддавали евтаназії та аутопсії. Відібрані органи зважували та піддавали гістопатологічній оцінці.

Для оцінки концентрації препарату в плазмі та токсикокінетичної оцінки на 1-й та 22-й день використовували додаткових сателітних тварин (6/стать у групах лікування та 2/стать у контрольних групах). Відповідні зразки плазми аналізували методом ВЕРХ з детекцією ЕІР-МС/МС (НМКВ: 0,25 нг/мл).

ВИСНОВОК:

Шкіра, селезінка, кістки та шлунок були ідентифіковані як органи-мішені. Ефекти, пов'язані з лікуванням, спостерігалися під час застосування більш низьких доз у самиць, що узгоджується з гендерною різницею у системній експозиції лікарського засобу. Дозу NOAEL було встановлено на рівні 0,5 мг/кг/день для самців та 0,1 мг/кг/день для самиць. Системний вплив вихідної сполуки при цих рівнях дози (AUC₀₋₂₄ год на 22-й день) становив 105,09 нг.год/мл у самців та 100,19 нг.год/мл у самиць.

62. RDS.03.SRE.12650 - 13-тижневе дослідження пероральної (через зонд) токсичності препарату CD5789 у щурів лінії Вістар з подальшим періодом відновлення протягом 4 тижнів

МЕТА:

Цілями дослідження були визначити токсичність та системну експозицію препарату CD5789 після щоденного перорального (через зонд) введення самцям та самицям щурів лінії Вістар протягом 13 тижнів поспіль та оцінити зворотність ефектів високої дози протягом періоду відновлення через 4 тижні після закінчення лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Дослідження проводили відповідно до такого дизайну:

Група лікування	Рівень дози (мг/кг/день)		Обсяг дози (мл/кг/день)	Концентрація дози (мл/кг/день)		Кількість тварин			
						Остаточна евтаназія ^а		Відновлення ^б	
	Самці	Самиці	Самці	Самиці	Самці	Самиці	Самці	Самиці	
1. Контрольна	0	0	2	0	0	10(3)	10(3)	6	6
2. Низької дози	0,1	0,05	2	0,05	0,025	10(6)	10(6)	-	-
3. Проміжної дози	0,5	0,1	2	0,25	0,05	10(6)	10(6)	-	-
4. Високої дози	0,75	0,2	2	0,375	0,1	10(6)	10(6)	6	6

^аВбивали в кінці періоду лікування (91/92-й день).

^бВбивали в кінці періоду, коли лікування не проводилося (119-й день).

Сателітні тварини для оцінки токсикокінетики вказані в дужках. Цих тварин піддавали евтаназії та утилізовані без розтину після останнього забору крові.

-: не застосовується

Тваринам групи 1 (контроль) вводили розчинник (0,5 % карбоксиметилцелюлози та 0,1 % Твін 80 у воді для ін'єкцій). Рівень смертності, клінічні ознаки, масу тіла та обсяг споживання їжі реєстрували для всіх тварин протягом періодів до введення препарату, під час введення препарату та у період відновлення. Офтальмологічні обстеження проводили для всіх тварин протягом періоду до введення препарату та для всіх тварин в групі плацебо та в групах застосування високих доз наприкінці періоду лікування. Клінічні лабораторні дослідження проводили через 13 тижнів лікування та в кінці періоду відсутності лікування. У сателітних тварин відбирали зразки для токсикокінетичної оцінки в різні моменти часу на 0-й день та на 87-й день. Всіх тварин піддавали евтаназії в кінці дослідження або після періоду відсутності лікування тривалістю 4 тижні. Відібрані органи зважували. Зразки органів/тканин фіксували та зберігали під час аутопсії всіх тварин. Відібрані органи/тканини тварин з групи 1 та групи 4,

що піддавалися евтаназії в кінці дослідження та періоду відсутності лікування, вивчали у гістопатологічному дослідженні.

ВИСНОВОК:

Дозу NOAEL було встановлено на рівні 0,50 мг/кг/день у самців та 0,10 мг/кг/день у самиць на підставі дезорганізації пластини росту у колінному суглобі, що відзначається під час застосування високої дози у самців (0,75 мг/кг/день) та у самиць (0,20 мг/кг/добу). Незначні прояви на шкірі, у передньому шлунку та селезінці не вважалися несприятливими. Доза 0,55 або 0,10 мг/кг/добу препарату CD5789 у самців чи самиць, відповідно, відповідала системному впливу (AUC_{0-24 год}) 130 нг.год/мл у самців та 96,0 нг.год/мл у самиць у рівноважному стані (87-й день).

63. RDS.03.SRE.12863 – 26-тижневе дослідження пероральної (через зонд) токсичності препарату CD5789 у щурів лінії Вістар з подальшим періодом відсутності лікування тривалістю 6 тижнів.

МЕТА:

Цілями дослідження було визначити токсичність досліджуваного препарату CD5789 після щоденного перорального (через зонд) застосування у щурів лінії Вістар протягом 26 тижнів поспіль, оцінити можливу зворотність будь-яких ознак токсичності протягом 6 тижнів відсутності лікування та оцінити системний вплив у визначених експериментальних умовах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Дослідження проводили відповідно до такого дизайну:

Група/лікування	Рівень дози (мг/кг/день)		Обсяг дози (мл/кг/день)	Концентрація дози (мл/кг/день)		Кількість тварин			
	Самці	Самиці		Самці	Самиці	Остаточна евтаназія ^a		Відновлення ^b	
						Самці	Самиці	Самці	Самиці
1. Контрольна	0	0	2	0	0	15(3)	15(3)	10	10
2. Низької дози	0,1	0,05	2	0,05	0,025	15(6)	15(6)	/	/
3. Проміжної дози	0,5	0,2	2	0,25	0,01	15(6)	15(6)	/	/
4. Високої дози	1,25	0,5	2	0,625	0,25	15(6)	15(6)	10	10

^aВбивали в кінці періоду лікування.

^bВбивали в кінці періоду, коли лікування не проводилося.

Сателітні тварини для оцінки токсикокінетики вказані в дужках.

/: не застосовується

Тварина групи 1 (контроль) вводили розчинник [0,5% (м/об) карбоксиметилцелюлози та 0,1% (м/об) Твін 80 у воді для ін'єкцій]. Перевірку рівня захворюваності/смертності проводили щонайменше двічі на день. Клінічні обстеження проводили щодня. Повне клінічне обстеження виконували щотижня. Офтальмологічні обстеження проводили до початку та в кінці дослідження. Масу тіла окремих тварин реєстрували щотижня. Споживання їжі вимірювали щотижня для кожної клітки тварин. Клінічні лабораторні дослідження проводили на 91/92-й день та 182/183-й день (14-й та 27-й тиждень, відповідно) та в кінці періоду відсутності лікування (День 224). У сателітних тварин відбирали зразки для токсикокінетичної оцінки в різні моменти часу на 0-й день та на 168-й день. Проводили аутопсію однієї самиці, якій вводили високі дози та яку вбили з етичних причин. Всіх тварин, що вижили, вбивали в кінці дослідження або після 6-тижневого періоду відсутності лікування та піддавали аутопсії. Відібрані органи зважували. Зразки органів/тканин фіксували та зберігали під час аутопсії всіх тварин. Органи/тканини, відібрані у тварин, яких піддавали евтаназії в кінці дослідження або періоду відсутності лікування, та у самиці, вбитої з етичних причин, досліджували під час гістопатологічного аналізу.

ВИСНОВОК:

Щоденний пероральний прийом препарату CD5789 протягом 26 тижнів клінічно добре переносився у дозах до 0,5 мг/кг/день у самців та 0,2 мг/кг/день у самиць,

з відсутністю небажаних явищ, виявлених під час гістопатологічного дослідження. Під час застосування найвищих доз, 1,25 мг/кг/добу (самці) та 0,5 мг/кг/день (самиці), реєстрували менший обсяг споживання їжі та менший приріст маси тіла, а також гістологічні зміни у стегнових та/або гомілкових суглобах, шлунку та шкірі. Стійкість гістологічних результатів у стегновій та/або гомілковій кістках під час застосування дози 0,5 мг/кг/добу у самиць і меншою мірою під час застосування дози 1,25 мг/кг/добу у самців, а також стійкість впливу на масу тіла вважали як несприятлива. Дозу NOAEL було встановлено на рівні 0,5 мг/кг/день у самців та 0,2 мг/кг/день у самиць. Ці дози відповідають значенню AUC₀₋₂₄ год у рівноважному стані (168-й день), яке дорівнює 63,7 нг.ч/мл у самців та 199 нг.год/мл у самиць.

Токсичність повторних пероральних доз у собак

64. RDS.03.SRE.12599 – Порівняльне фармакокінетичне дослідження одноразової дози препарату CD 5789, введеної перорально (через зонд) або внутрішньовенно (болюсна ін'єкція), з подальшим дослідженням токсичності при визначенні діапазону пероральних (через зонд) доз у собак породи Бігль, яке тривало протягом 14 днів.

МЕТА:

Цілями дослідження було оцінити загальну стерпність препарату CD5789 у собак породи Бігль при щоденному пероральному (через зонд) застосуванні протягом 14 днів, що дозволяє обрати рівні дози для подальшого дослідження токсичності. Фармакокінетичні профілі препарату CD5789 після одноразового внутрішньовенного або перорального застосування описані в Розділі 3. Фармакокінетика, 2) Всмоктування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Одному собаці /стать/група вводили 0 (розчинник), 0,1, 0,5, 1, 2,5 мг/кг/день препарату CD5789 в суміші з 0,5% (м/об) КМЦ та 0,1 % Твін 80 у воді для ін'єкцій протягом 14 днів. Перевірку рівня захворюваності/смертності проводили щонайменше двічі на день. Клінічні обстеження проводили щодня. Більш детальні обстеження (в тому числі ректальну температуру та оцінку поведінки у деяких випадках) виконували для всіх тварин до початку лікування, протягом першого тижня лікування та по закінченню лікування. Маса тіла реєстрували щотижня протягом періоду адаптації, потім двічі на тиждень (в тому числі на 0-й день) під час лікування, а обсяг споживання їжі для кожної тварини вимірювали щодня. Клінічні лабораторні дослідження проводили для всіх тварин до початку дослідження та на 13-й день для тварин, що вижили. На 10-й день проводили клінічне лабораторне дослідження однієї самиці, вбитої з етичних міркувань. Забір крові для токсикокінетичної оцінки проводили на 0-й та на 13-й день. Додатковий забір крові для оцінки токсикокінетики проводили у тварин, вбитих з етичних міркувань на 8-й та 10-й день. Усіх тварин, що вижили, піддавали евтаназії на наступний день після останнього дня лікування (14-й день). Відібрані органи зважували. Зразки органів/тканин фіксували та зберігали під час аутопсії всіх тварин. Проводили гістопатологічне дослідження органів/тканин, відібраних у всіх тварин.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789, що вводили перорально собакам породи Бігль протягом 14 днів у дозах 0,5, 1 та 2,5 мг/кг/день, спричиняв тяжкі дозозалежні клінічні ознаки із втратою маси тіла у самиць, які отримували 0,5 та 2,5 мг/кг/добу, та гістопатологічні зміни в дозі від 0,5 мг/кг/добу.

Виходячи з цих спостережень, вважали, що максимальна допустима доза (МДД) є нижчою за 0,5 мг/кг/добу. І навпаки, щоденне введення препарату CD5789 в дозі 0,1 мг/кг/добу призводило до мінімальної гістопатологічної зміни надниркових залоз у самиць.

65. RDS.03.SRE.12601 – 4-тижневе дослідження пероральної (через зонд) токсичності препарату CD 5789 у собак породи Бігль.

МЕТА:

Цілями дослідження було визначити пероральну токсичність препарату CD5789 у собак породи Бігль протягом 4 тижнів поспіль та оцінити системний вплив у визначених експериментальних умовах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Три собаки породи Бігль/стать/група отримували препарат CD5789 в суміші з 0,5% (м/об) КМЦ та 0,1% Твін 80 у воді для ін'єкцій в дозі 0 (розчинник), 0,03, 0,08 або 0,2 мг/кг/добу протягом 4 тижнів. Тваринам групи 1 (контроль) вводили розчинник (0,5% (м/об) КМЦ та 0,1% Твін 80 у воді для ін'єкцій). Перевірку рівня захворюваності/смертності проводили щонайменше двічі на день. Клінічні обстеження проводили щодня. Більш детальні обстеження (включаючи оцінку поведінки та ректальну температуру) проводили перед дослідженням та потім один раз на тиждень. Офтальмологічне обстеження проводили перед початком дослідження та на 22-й день. Масу тіла реєстрували щотижня для кожної тварини. Споживання їжі вимірювали щодня для кожної тварини. Обстеження серцево-судинної системи проводили до початку дослідження та на 1-й і 23-й день. Клінічні лабораторні дослідження проводили до початку дослідження та на 24-й день. Забір крові для токсикокінетичних оцінок проводили на 0-й та 24-й день у різні моменти часу. Під час дослідження (день 16) одного самця, який отримував дозу 0,2 мг/кг/день, піддавали евтаназії з етичних міркувань (йому проводили аутопсію). Усіх тварин, що вижили, вбивали через 4 тижні лікування. Визначені органи зважували. Відібрані зразки органів/тканин всіх тварин, взяті під час розтину, були зафіксовані та збережені. Гістопатологічні дослідження проводили для всіх органів/тканин від усіх тварин у групах 1 (контрольна) та 4 (висока доза), а також шкіри, печінки, надниркових залоз та кісток (стегно і грудина) від усіх тварин груп застосування низької та середньої дози.

ВИСНОВОК:

Щоденне введення препарату CD5789 собаці породи Бігль через зонд у дозі 0,08 або 0,2 мг/кг/добу протягом 4 тижнів викликало дозозалежні клінічні ознаки (зміни стану шкіри, виділення з вуха та очей). Ці клінічні ознаки є частиною відомих пов'язаних з лікуванням ефектів ретиноїдних сполук у собак і корелювали з результатами аналізів крові, результатами клінічної патології та гістопатології, отриманими під час застосування дози 0,2 мг/кг/добу.

Зміни у тварин, які отримували дозу 0,08 мг/кг/добу, мали незначну тяжкість та/або частоту. При застосування дози 0,03 мг/кг/добу лише протягом першого тижня лікування спорадично спостерігалася лише зміна кольору шкіри, при цьому клінічних патологічних або гістопатологічних змін не відзначалося.

Максимальну дозу, при якій не виникає видимих небажаних явищ (NOAEL), було встановлено на рівні 0,03 мг/кг/добу, що наприкінці періоду лікування відповідає значенню $AUC_{0-24 \text{ год}}$ 124 нг.ч/мл у самців та 177 нг.год/мл у самиць.

66. RDS.03.SRE.12672 - 13-тижневе дослідження пероральної (через зонд) токсичності препарату CD5789 у собак породи Бігль з подальшим 4-тижневим періодом відновлення.

МЕТА:

Цілями дослідження було оцінити токсичність та системний вплив препарату CD5789 у собак породи Бігль після багаторазового щоденного перорального (через зонд) застосування протягом 13 тижнів поспіль та оцінити зворотність будь-яких ефектів після 4-тижневого періоду відновлення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 в дозі 0 (розчинник: 0,5% (м/об) КМЦ та 0,1% Твін 80 у воді для ін'єкцій), 0,02, 0,045 та 0,09 мг/кг/добу вводили через зонд 4 собакам породи Бігль/стать/групі протягом 13 тижнів поспіль. Два додаткові собаки/стать включали до контрольної групи та групи застосування високої доз, оцінюючи зворотність будь-яких ефектів після періоду відновлення, що тривав 4 тижні.

Перевірку рівня захворюваності/смертності проводили щонайменше двічі на день. Клінічні обстеження проводили щодня. Більш детальні обстеження (включаючи ректальну температуру та оцінку поведінки у деяких випадках) проводили перед дослідженням, щонайменше один раз на місяць протягом лікування та в кінці кожного лікування. Офтальмологічне обстеження проводили перед початком дослідження, протягом 13-го тижня та останнього тижня періоду відновлення. Масу тіла реєстрували щотижня для кожної тварини. Споживання їжі вимірювали щодня для кожної тварини. Обстеження серцево-судинної системи проводили до початку дослідження та протягом 1-го і 13-го тижня. Клінічні лабораторні дослідження проводили до початку дослідження та протягом 5-го, 13-го тижня, а також в кінці періоду відновлення. Забір крові для токсикокінетичних оцінок проводили у різні моменти часу протягом 1-го, 6-го та 13-го тижня. Всіх тварин піддавали евтаназії в кінці дослідження або після 4-тижневого періоду відсутності лікування та піддавали аутопсії. Визначені органи зважували. Зразки органів/тканин фіксували та зберігали під час аутопсії всіх тварин. Органи/тканини, відібрані від усіх тварин, вивчали у гістопатологічному дослідженні.

ВИСНОВОК:

Щоденне пероральне (через зонд) введення препарату CD5789 собакам породи Бігль у дозах до 0,09 мг/кг/добу протягом 13 тижнів добре переносилося, включаючи лише незначні тимчасові клінічні ознаки (зміни стану шкіри, гіперсаливацію) протягом перших 4 тижнів лікування та мінімальні гістопатологічні зміни стану шкіри під час застосування доз 0,045 та 0,09 мг/кг/добу. Зміни були мінімальними з низьким ступенем тяжкості, частотою та розповсюдженням і не корелювали з аналізами крові чи клінічними патологіями. Зворотні зміни шкіри є частиною відомих пов'язаних з лікуванням ефектів ретиноїдних сполук у собак або можуть виникати спонтанно при такому мінімальному рівні тяжкості. Максимальну дозу, при якій не виникає видимих небажаних явищ (NOAEL), було встановлено на рівні 0,09 мг/кг/добу. Відповідний системний вплив ($AUC_{0-24 \text{ год}}$) через 91 день лікування становив 213 та 250 нг.год/мл у самців та самиць, відповідно.

67. RDS.03.SRE.12864 – 39-тижневе дослідження пероральної (через зонд) токсичності препарату CD5789 на собаках породи Бігль з подальшим періодом відсутності лікування тривалістю 8 тижнів.

МЕТА:

Цілями дослідження були визначити токсичність досліджуваного препарату CD5789 після щоденного перорального (через зонд) застосування у собак породи Бігль протягом 39 тижнів, оцінити можливу регресію будь-яких токсичних ознак протягом 8-тижневого періоду відсутності лікування та оцінити системний вплив у визначених експериментальних умовах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Дослідження проводили відповідно до такого дизайну:

Група/лікування	Рівень дози (мг/кг/день)	Обсяг дози (мл/кг/день)	Концентрація дози (мл/кг/день)	Кількість тварин			
				Остаточна евтаназія ^а		Відновлення ^б	
				Самці	Самиці	Самці	Самиці
1. Контрольна	0	2	0	4	4	2	2
2. Низької дози	0,02	2	0,01	4	4	/	/
3. Проміжної дози	0,06	2	0,03	4	4	/	/

	4. Високої дози	0,18	2	0,09	4	4	2	2
3) генотоксичність: in vitro	<p>68. RDS.03.SRE.12526 - CD5789: Зворотна мутація в п'яти гістидин-залежних штаммах <i>Salmonella typhimurium</i>.</p> <p><u>МЕТА:</u></p>							

^aВбивали в кінці періоду лікування.

^bВбивали в кінці періоду, коли лікування не проводилося.

/: не застосовується

Тваринам групи 1 (контроль) вводили розчинник [0,5% (м/об) карбоксиметилцелюлози (300-600 сантипуаз у 2%) та 0,1 % (м/об) Твін 80 у воді для ін'єкцій]. Перевірку рівня захворюваності/смертності проводили щонайменше двічі на день. Клінічні обстеження проводили щодня. Більш детальні обстеження (включаючи оцінку поведінки та вимірювання ректальної температури в деяких випадках) проводили до початку лікування, щотижня протягом перших чотирьох тижнів лікування, а потім щонайменше раз на місяць до кінця періоду лікування та протягом періоду відсутності лікування. Офтальмологічне обстеження проводили перед початком дослідження та протягом 13/14-го та 39-го тижнів. Масу тіла реєстрували щотижня, а обсяг споживання їжі – щодня. Обстеження серцево-судинної системи, включаючи аналіз ЕКГ, проводили перед дослідженням, у перший день та протягом 13-го та 39-го тижня. Забір крові та забір сечі для клінічних лабораторних досліджень проводили до початку дослідження та протягом 13/14-го, 39-го та 47-го тижнів. Забір крові для токсикокінетичних оцінок проводили в різні моменти часу після введення дози на 0-й та протягом 14-го та 39-го тижнів. Концентрації препарату CD5789 в плазмі визначали валідованим методом ВЕРХ з виявленням ТІР-МС/МС з межею кількісного визначення 0,5 нг /мл. Всіх тварин піддавали евтаназії в кінці дослідження або періодів відсутності лікування (39-й або 47-й тиждень) та піддавали аутопсії. Визначені органи зважували. Органи/тканини, відібрані від усіх тварин, вивчали у гістопатологічному дослідженні.

ВИСНОВОК:

Після щоденного перорального застосування препарату CD5789 у собак породи Бігль протягом 39 тижнів у дозах 0,02, 0,06 та 0,18 мг/кг/добу, препарат CD5789 був виявлений у плазмі всіх тварин. Середній системний вплив в кінці періоду лікування становив від 124 до 434 нг.год/мл у самців, від 166 до 533 нг.год/мл у самиць. Очікувані ефекти, що відповідають фармакологічній активності препарату CD5789, спостерігалися при всіх рівнях дози на шкірі та слизових оболонках. Ці ефекти були повністю зворотними під час застосування дози 0,18 мг/кг/добу. Рівні доз 0,06 та 0,18 мг/кг/добу викликали зниження середнього приросту маси тіла, пов'язане зі зменшенням обсягу споживання їжі, порівняно з контролем. Цей вплив на збільшення маси тіла був зворотним під час застосування дози 0,18 мг/кг/добу у самців, але не у самиць. У деяких самців, яким вводили препарат, у яєчках спостерігалось незначне збільшення кількості дегенерованих статевих клітин порівняно з фоновим контролем. Ця зміна не була повністю зворотною, оскільки в одного самця під час застосування дози 0,18 мг/кг/добу все ще спостерігалось мінімально збільшена кількість дегенерованих статевих клітин в кінці періоду одужання. Завдяки цим висновкам неможливо визначити максимальну дозу, при якій не спостерігалися небажані явища (NOAEL). Під час застосування найнижчої дози 0,02 мг/кг/добу середній системний вплив наприкінці лікування становив 124 нг.ч/мл у самців та 166 нг.год/мл у самиць.

Хоча у звіті про дослідження було зроблено висновок, що NOAEL неможливо визначити, заявник вважає, що ефекти, що спостерігаються під час застосування дози 0,02 мг/кг/добу у самиць, не були несприятливими через їх мінімальну тяжкість.

Метою дослідження було проаналізувати препарат CD5789 щодо його мутаційного потенціалу в тесті зворотних мутацій у бактерій (Тест Еймса).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 аналізували на предмет його мутаційного потенціалу у 2 окремих експериментах в 5 гістидин-залежних штамів (TA98, TA100, TA1535, TA1537 та TA102) *Salmonella typhimurium*, як за відсутності, так і за наявності метаболічної активації постмітохондріальною фракцією печінки щура, індукованої Aroclor 1254 (S-9). Дослідження первинної токсичності під час визначення діапазону доз (експеримент 1) проводили згідно з методикою введення в чашки, незалежно від присутності S-9 лише у штамі TA100, використовуючи кінцеві концентрації препарату CD5789, що дорівнюють 1,6, 8, 40, 200, 1000 та 5000 мкг/чашка, плюс негативний (розчинник) і позитивний контроль. Після таких обробок чітких доказів токсичності не виявлено. Тим не менш, на всіх чашках, оброблених в концентрації 1000 мкг/чашка та вище, спостерігалось осадження препарату CD5789. Ці дані вважалися прийнятними для оцінки мутацій та наведені як дані експерименту 1 для штаму TA100. Обробку досліджуваних штамів, що залишилися, методом внесення в чашки проводили незалежно від присутності S-9 в Експерименті 1 і використовували ті ж концентрації тесту, які використовували для дослідження визначення доз. Після цих обробок не було чітких доказів токсичності, хоча зменшення кількості ревертентів під час обробки в концентрації 5000 мкг/чашки штаму TA102 незалежно від присутності S-9 могло бути результатом токсичності. Осадження досліджуваної речовини спостерігалось у всіх штамів в концентрації 1000 мкг/чашка та вище незалежно від присутності S-9.

Обробка всіх досліджуваних штамів у експерименті 2 проводилась незалежно від присутності S-9 у концентраціях або до оцінки межі розчинності у системі аналізу, або у випадку штаму TA102-до можливих токсичних рівнів. У кожному випадку для включення залишкових концентрацій використовували звужені інтервали концентрацій (діапазони концентрацій від 31,25 до 1000 мкг/чашка, використовувані для штамів TA98, TA100, TA1535 та TA1537 та від 62,5 до 2000 мкг/чашка для штаму TA102) з метою більш уважно дослідити ті концентрації препарату CD5789, що наближаються до граничних рівнів концентрації і вважаються найбільш ймовірними для надання доказів будь-якої мутагенної активності. Обробку методом внесення в чашки застосовували за відсутності S-9, але всі обробки в присутності S-9 були додатково модифіковані, включаючи стадію попереднього інкубування. Наміром цього було збільшити діапазон мутагенних хімічних речовин, які можна було б виявити за допомогою цієї системи аналізу. Після цих обробок не було жодних доказів токсичності жодного з досліджуваних штамів. Тим не менш, при більш високих концентраціях обробки штаму TA102 тільки за відсутності S-9 спостерігалось кілька можливих токсичних ефектів. Осадження препарату CD5789 спостерігалось у всіх штамів при 500 мкг/чашка та вище за відсутності та у присутності S-9.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 не індукував мутації у 5 гістидин-залежних штамів (TA98, TA100, TA1535, TA1537 та TA102) *Salmonella typhimurium* під час аналізу в умовах цього дослідження. Ці умови включали обробку штамів у концентраціях, що не перевищують концентрацій осадження незалежно від наявності системи метаболічної активації печінки щурів (S-9).

69. RDS.03.SRE.12525 - CD5789 Зворотна мутація в п'яти гістидин-залежних штамів *Salmonella typhimurium* у присутності УФ-опромінення.

МЕТА:

Метою дослідження було проаналізувати препарат CD5789 щодо його фотомутагенного потенціалу в аналізі зворотних мутацій у бактерій в комбінації з дозами УФ опромінення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Потенціал фотомутагенності препарату CD5789 аналізували у 5 гістидин-залежних штаммах (TA98, TA100, TA1535, TA1537 та TA102) *Salmonella typhimurium* після впливу ряду доз УФ-опромінення. Обробку проводили у максимальній концентрації препарату CD5789, що дорівнює 1581 мкг/чашка, для гарантії досягнення принаймні однієї концентрації осадження, без проведення окремого експерименту визначення діапазону концентрацій.

Обробку всіх досліджуваних штамів для фотомутацій проводили з використанням напівлогарифмічних кратних значень концентрації обробки, щоб забезпечити кінцеві концентрації препарату CD5789 на рівні 5, 15, 81, 50, 158, 1, 500 та 1581 мкг/чашка, плюс негативний (плацебо) та позитивний контроль, а також фотопозитивні контрольні обробки штамів TA1537 і TA102. Цей діапазон концентрацій обробки обирали для ретельного дослідження широкого діапазону концентрацій препарату CD5789, гарантуючи, що вплив УФ-опромінення на досліджувані клітини відбувалося принаймні для деяких досліджуваних концентрацій, незалежно від здатності досліджуваної речовини блокувати УФ-опромінення. Оскільки експерименту з визначення діапазону концентрацій або оцінки фототоксичності не проводили, обробки в експерименті з фотомутації проводилися з використанням 2 рівнів УФ-опромінення, відповідних для кожного штаму, разом з неопроміненими обробками. Їх проводили для забезпечення наявності відповідних комбінацій рівнів хімічного впливу та УФ-опромінення, що дало змогу ретельно дослідити фотомутагенність, незалежно від того, чи мали місце в цьому експерименті будь-які фототоксичні ефекти.

Чашки, оброблені кожним штамом, піддавали опроміненню УФА 5 та 10 мДж/см² для штаму TA98, 2 та 4 мДж/см² для штаму TA100, 6 та 12 мДж/см² для штаму TA1535, 8 та 16 мДж/см² для штаму TA1537 та 60 та 120 мДж/см² для штаму TA102.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 не викликав мутації у 5 штаммах *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 і TA102) за умови їх обробки у концентраціях до 1581 мкг/чашка (концентрація осаду) при 2 окремих рівнях впливу УФ -опромінення, що відповідають кожному штамму.

70. RDS.03.SRE.12523 –CD5789 Мутації в локусі тимідинкінази (tk) клітин лімфоми миші L5178Y (MLA) методом флуктуації мікротитру[^]R.

МЕТА:

Метою дослідження було проаналізувати генотоксичність препарату CD5789 для клітин ссавців в тесті на клітинах лімфоми миші.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 аналізували щодо його здатності викликати мутацію в локусі tk (резистентність до 5-трифторотимідину) у клітинах лімфоми миші відповідно до протоколу флуктуації. Для всіх експериментів, проведених у присутності S-9, використовували 3-годинний період інкубації обробки. За відсутності S-9 випробування для визначення діапазону концентрацій проводили з використанням 3 та 24-годинного періоду інкубації, Експеримент 1 виконували з використанням 3-годинної інкубації обробки, а Експеримент 2-із застосуванням 24-годинного періоду інкубації. В експерименті з визначення діапазону цитотоксичних концентрацій досліджували обробку протягом 3 годин та 6 концентрацій незалежно від присутності S-9 в діапазоні від 25 до 800 мкг/мл (обмежено розчинністю у культуральному середовищі). Найвища концентрація 25 мкг/мл, де спостерігався розумний ріст клітин, забезпечувала 9% та 16% відносного загального росту (RTG) за відсутності та присутності S-9 відповідно. В експерименті з визначення діапазону цитотоксичності протягом 24 годин перевіряли 9 концентрацій за відсутності S-9 у діапазоні від 3,125 до 800 мкг/мл

(обмежено розчинністю у культуральному середовищі). Найвища концентрація, що дає > 10% RTG, 12,5 мкг/мл, забезпечувала 62% RTG.

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 не індукував мутації в локусі tk клітин лімфоми миші L5178Y під час тестування в умовах, що використовуються в цьому дослідженні. Ці умови включали обробки до токсичних концентрацій у 2 незалежних експериментах незалежно від присутності системи метаболічної активації печінки щурів (S-9).

71. RDS.03.SRE.12522 - CD5789 Індукція мікроядер в культивованих лімфоцитах периферичної крові людини.

МЕТА:

Метою дослідження було проаналізувати генотоксичність препарату CD5789 в мікроядерному тесті *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 досліджували в мікроядерному тесті *in vitro* з використанням культур людських лімфоцитів двох повтореннях, отриманих з об'єднаної крові 2 донорів-чоловіків у 2 незалежних експериментах. Обробку, що охоплює широкий діапазон концентрацій, розділених вузькими інтервалами, проводили як за відсутності, так і за наявності метаболічної активації (S-9). Препарат CD5789 містить у складі стерильний безводний диметилсульфоксиду (ДМСО) аналітичної чистоти, і найвища концентрація 120,0 мкг/мл, яка використовувалася в основних експериментах, була визначена після попереднього експерименту з визначення діапазону цитотоксичності.

В експерименті 1 обробку клітин починали приблизно через 24 години після стимуляції мітогеном. За відсутності S-9 вона становила 20 годин з наступним 28-годинним періодом відновлення до збирання клітин, що вирости в культурі (20+28). Обробка в присутності S-9 тривала 3 години, після чого відбувався 45-годинний період відновлення перед збиранням клітин, що вирости в культурі (3+45). Використовуваний S-9 готували з постмітохондріальної фракції печінки щурів (S-9), індукованих Aroclor 1254. Концентрації препарату CD5789 для мікроядерного тесту відбирали шляхом оцінки впливу препарату CD5789 на індекс реплікації. Мікроядра аналізували у 3 або 4 концентраціях, див. Умови дослідження далі:

Експеримент 1 (24 години ФГА)

S-9	Обробка + відновлення (год)	Контроль плацебо	Концентрація (мкг/мл) CD5789	Відсоток цитотоксичності ^a
-	20+28	0 ^b	15.00, 20.00, 25.00, 30.00	65%
+	3+45	0 ^b	30.00, 40.00, 60.00	60%

^a при найвищій аналізованій концентрації

^b контроль плацебо був тільки ДМСО

ФГА = фітогемагглютинін

ВИСНОВОК:

Препарат CD5789 не викликав жодного біологічно значущого збільшення кількості мікроядер у культивованих лімфоцитах периферичної крові людини після лікування за відсутності та присутності системи метаболічної активації печінки щурів (S-9).

72. RDS.03.SRE.12524 - CD5789 Індукція хромосомних аберацій в культурі клітин яєчника китайського хом'ячка (CHO) за присутності або відсутності УФ опромінення.

МЕТА:

Метою дослідження було оцінити кластогенний потенціал препарату CD5789 через його вплив на хромосоми клітин яєчника китайського хом'яка (СНО), оброблених за відсутності та у присутності УФ-опромінення

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:

Препарат CD5789 досліджували в цитогенетичному аналізі *in vitro* з використанням культур клітин яєчника китайського хом'яка (СНО) в двох повтореннях за наявності та відсутності УФ-опромінення (включаючи видиме світло). Попередній експеримент з визначення діапазону, що охоплює широкий діапазон концентрацій, був проведений у присутності двох доз УФ-випромінювання для дослідження фототоксичності хімічної речовини та для визначення діапазону концентрацій, який буде використовуватися в основному дослідженні. До складу досліджуваної речовини було включено стерильний безводний ДМСО аналітичної чистоти, і найвища концентрація, використана в експерименті з визначення діапазону концентрацій, становила 2500 мкг/мл. Дози ультрафіолетового опромінення, використані в попередньому експерименті визначення діапазону, становили 350 і 700 мДж/см². Усі опромінення проводили за допомогою лампи Atlas Suntest CPS+. Ця лампа випромінює промені у спектрі, подібному до природного сонячного світла, яке охоплює довжини хвиль УФА та УФВ.

У дослідженні визначення діапазону фототоксичності не було помітних відмінностей у токсичності після обробки препаратом CD5789 у двох дозах УФ-опромінення, що не свідчить про ознаки фототоксичності. Тому в основному експерименті була використана лише одна доза УФА (700 мДж/см²). Концентрація 50 мкг/мл була обрана як максимальна концентрація для основного експерименту, і діапазон концентрацій на основі нього використано за відсутності та присутності УФ-опромінення. Концентрації препарату CD5789 для хромосомного аналізу з опромінених культур відбирали шляхом оцінки впливу препарату CD5789 на подвоєння популяції (PD) щодо одночасного контролю плацебо.

Хромосомні аберації аналізували у 3 різних концентраціях (див. Таблицю нижче).

УФ	Обробка + відновлення (годин)	Контроль плацебо	Концентрація (мкг/мл) CD5789	Відсоток цитотоксичності ^b
-	3+17	0 ^a	9.000, 15.00, 18.00	51%
+	3+17	0 ^a	9.000, 15.00, 18.00	48%

^a контроль плацебо був тільки ДМСО

^b при найвищій аналізованій концентрації

Відповідні культури негативного (розчинник) контролю були включені до системи дослідження за кожною умовою обробки. Частка клітин зі структурними абераціями в цих культурах потрапила до хронологічних діапазонів контролю плацебо.

4-нітрохінолін-1-оксид (NQO) використовували в якості позитивного контролю за відсутності УФ-опромінення, а 8-метоксипсорален застосовували в якості хімічної речовини позитивного контролю за відсутності та присутності УФ-опромінення. Обидві процедури викликали збільшення частки клітин зі структурними абераціями. При додаванні до культур, оброблених за відсутності УФ-опромінення, 8-метоксипсорален індукував частоти клітин зі структурними абераціями, подібними до тих, що спостерігалися у культурах одночасного контролю плацебо (без опромінення). Тому система дослідження вважалася чутливою та валідною.

ВИСНОВОК:

	<p>Препарат CD5789 не викликав структурних хромосомних аберацій у культивованих клітинах CHO за відсутності або присутності УФ-опромінення під час дослідження меж цитотоксичності.</p>
<p>in vivo (включаючи додаткову оцінку з токсикокінетики)</p>	<p>73. RDS.03.SRE.12600 – Індукція мікроядер в кістковому мозку у щурів, яким вводили препарат.</p> <p><u>МЕТА:</u> Метою дослідження було проаналізувати генотоксичність препарату CD5789 в мікроядерному тест in vivo на щурах лінії Спрег-Доулі.</p> <p><u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ:</u> Групам з 6 самців та 6 самиць щурів двічі вводили плацебо (ПЕГ 400/ЕtОН/NaCl 0,9% (70/10/20 м/м/м)) або препарат CD5789 (в дозі 3,75, 7,5 або 15 мг/кг/добу) шляхом безперервної внутрішньовенної інфузії з метою максимального впливу досліджуваного препарату на орган-мішень. Для внутрішньовенної інфузії використовували об'єм дози 2,0 мл/кг зі швидкістю 0,5 мл/хвилину. В дослідження були включені контрольні тварини, яким не вводили препарат. Групам з 6 самців та 6 самиць щурів одноразово вводили позитивний контроль, циклофосфамід (ЦФА 20 мг/кг), у об'ємі дози 5 мл/кг шляхом повільної (болусної) внутрішньовенної ін'єкції на другий день застосування.</p> <p>Клінічні ознаки, які спостерігалися в мікроядерному тесті, включали млявість, атаксію та зниження активності. Мазки кісткового мозку готували із забитих тварин приблизно через 24 години після останнього введення препарату.</p> <p>Окрім тварин, включених до мікроядерного тесту, групам самців та самиць сателітних тварин вводили плацебо або препарат CD5789 у дозі 3,75, 7,5 або 15 мг/кг/добу. Від цих тварин виділяли плазму і використовували для оцінки системного впливу CD5789</p> <p><u>ВИСНОВОК: 0354965451</u> Препарат CD5789 не індукує мікроядра в поліхроматичних еритроцитах кісткового мозку самиць щурів, які отримували препарат в дозі до 15 мг/кг/день (внутрішньовенна інфузія), максимальна можлива доза у цьому дослідженні.</p> <p>У самців щурів не спостерігалось індукції мікроядер під час застосування дози 3,75 та 15 мг/кг/добу (внутрішньовенна інфузія). Однак під час застосування дози 7,5 мг/кг/добу відзначали статистично значуще збільшення, порівняно з контролем плацебо, але не було статистично значущої різниці між значеннями МН ПХЕ у перших 2000 ПХЕ у самців під час застосування дози 7,5 мг/кг/добу та у нелікованих самців у контрольній групі. Позитивне збільшення в проміжній групі у нормі супроводжувалося б позитивною відповіддю або ознаками токсичності кісткового мозку у групі застосування високих доз, чого не було. Також було незвично, що домінуючий ефект спостерігався у самців щурів, коли вищим вплив препарату CD5789 був у самиць щурів, у всі моменти часу та при всіх рівнях доз. Аналіз плазми також підтвердив дозозалежне збільшення впливу препарату CD5789 у самців та самиць щурів. Крім того, індивідуальні МН значення у самців на середньому рівні дози знаходилися в межах діапазону фонових даних контролю плацебо. Через таку відсутність робастності це статистичне збільшення у самців під час застосування дози 7,5 мг/кг не вважалося токсикологічним.</p>
<p>4) канцерогенність:</p>	
<p>довгострокові дослідження</p>	<p>74. RDS.03.SRE.12847 – Дослідження шкіряної канцерогенності препарату CD5789 у формі крему на мишах лінії CD1 тривалістю 104 тижні.</p> <p><u>МЕТА:</u></p>