

Некоторые вопросы оценки токсичности генно-инженерных лекарственных препаратов

Н.П. Неугодова¹, Г.В. Долгова¹, А.В. Гавриков²

¹ – Научный центр экспертизы средств медицинского применения Министерства здравоохранения и социального обеспечения Российской Федерации, Москва

² – ЗАО «Мосагроген», Москва

Контактная информация: Терёшкина Ольга Ивановна oiter@rambler.ru

Лекарственные препараты, полученные с помощью технологии рекомбинантных ДНК, должны контролироваться по показателю «Аномальная токсичность», но не в испытаниях на животных (*in vivo*), а с помощью методик, использующих клеточные культуры или одноклеточные микроорганизмы и основанных на фундаментальных исследованиях биологии и цитологии.

Ключевые слова: генно-инженерные лекарственные препараты, аномальная токсичность.

В настоящее время можно говорить о революции или, по крайней мере, о переломной эпохе в создании биологических лекарственных средств. Около 10% от объема фармацевтического рынка приходится на препараты, полученные с помощью технологии рекомбинантных ДНК. Объем мирового рынка лекарственных средств на основе белков, созданных генно-инженерным путём, ежегодно увеличивается на 15%.

За период с 1995 по 2003 гг. 61 биотехнологический лекарственный препарат терапевтического назначения получил лицензию, одобренную Европейским Агентством по медицинскому контролю (European Medicine Evaluation Agency). Из них 15 препаратов были созданы для борьбы с заболеваниями, ранее не имевшими эффективных средств лечения; 22 лекарства – обладали незначительным преимуществом перед существующими; 24 препарата – оказались дженериками, многие из которых не обладали новыми свойствами, но и не отличались дешевизной. Доля генно-инженерных средств постоянно увеличивается и, по оценке ряда специалистов, к 2015 году может достичь

50%. Сегодня уже более 150 препаратов в мире широко применяются для лечения больных: инсулины и глюлизин, человеческий гормон роста, интерфероны, колониестимулирующий фактор, антигемофильный фактор VIII, антитромботические средства. В процессе разработки находятся более 400 препаратов.

Разнообразие условий получения рекомбинантных белков, используемых экспрессионных систем и их первоначального источника, технологий культивирования и входного сырья различной природы способствуют возникновению потенциального риска, возможной токсичности рекомбинантного препарата. Рассматривая понятие токсичности шире, следует говорить об оценке безопасности препарата для людей.

Биологическое лекарственное средство, по определению Европейского агентства по лекарственным средствам (EMA – European Medicines Agency), – это иммунобиологическое лекарственное средство, произведенное путем биотехнологических процессов с применением:

- технологии рекомбинантной ДНК;
- контролируемой экспрессии генов,

кодирующих выработку биологически активных белков;

- метода гибрида и моноклональных антител, а также генотерапевтические и соматотерапевтические лекарственные средства.

Для получения клеток с измененной наследственностью применяют спонтанный и направленный мутагенез. Это главная причина генетической гетерогенности клеток одного и того же генотипа, поэтому в клеточных биотехнологиях необходим постоянный мониторинг спектра соматической варибельности и лабораторный контроль за появлением мутантов с отрицательными и положительными признаками.

Разнообразие условий получения рекомбинантных белков, используемых экспрессионных систем и их первоначального источника, технологий культивирования и входного сырья различной природы способствуют возникновению потенциального риска возможной токсичности рекомбинантного препарата. Рассматривая понятие токсичности шире, следует говорить об оценке безопасности препарата для людей. Причины неблагоприятного эффекта, возникающего при применении рекомбинантного препарата, можно разделить на две группы: – связанные с недостаточной безопасностью самого рекомбинантного белка, или аномальной токсичностью, вызванной примесями различной природы, которые связаны с получением продукта по технологии рекомбинантных ДНК.

Более 10% серьезных побочных эффектов новых лекарств невозможно выявить, несмотря на тщательно проводимые исследования на безвредность. Так, на сайте Росздравнадзора постоянно размещаются письма-обращения к специалистам по поводу развития реакций серьезной гиперчувствительности,

включая анафилактические реакции и ангионевротический отек, наблюдаемые при применении биотехнологических препаратов. Степень риска того, что опасные свойства новых, модифицированных с помощью генной инженерии лекарств, останутся незамеченными, высока. Принципы оценки безопасности БТ препаратов требуют изучения следующих параметров:

- а) непосредственное влияние на здоровье (токсичность);
- б) стимуляция аллергических реакций (аллергенность);
- в) наличие специфических компонентов, известных своими токсическими свойствами;
- г) стабильность встроенного гена.

На стадии доклинического изучения острой и хронической токсичности должны быть разработаны специфичные и чувствительные методы оценки безопасности для постмаркетингового контроля генно-модифицированных препаратов. Методы контроля могут применяться *in vivo* с использованием, в случае необходимости, трансгенных животных, и *in vitro* – клеточные культуры. Обязательным условием для обеспечения безопасности пациентов при применении биотехнологических препаратов является испытание на безопасность серийной продукции.

Биоаналоги редко сопоставимы с оригиналом по своей эффективности и безопасности, так как невозможно создать два абсолютно идентичных банка клеток, служащих для получения активной молекулы, и в точности повторить длительный наукоемкий процесс производства. Так, например, обычный процесс синтеза и последующей изоляции действующего вещества эритропоэтина занимает 9 мес. [1]. Любое отклонение от процесса производства, в особен-

ности нарушение условий культивирования клеток и упрощение процесса очистки, влечет за собой отклонения в структуре конечного продукта и соотношении изоформ, является причиной наличия дополнительных бактериальных эндотоксинов и, как следствие, причиной повышенной иммуногенности – одной из основных проблем, связанных с разработкой биоаналогов.

В законодательство Европейского союза в 2003 г. введены понятия биологического лекарственного средства, воспроизведенного лекарственного средства (биоаналог), при этом особо оговорено, что понятие биоаналог не соответствует понятию дженерик. В 2006 г. ЕМЕА были утверждены новые требования к регистрации биоаналогов, включающие доклинические и клинические сравнительные исследования, а также введен дополнительный мониторинг для нежелательных явлений в течение первого года применения их в клинике.

В Российской Федерации отсутствует понятие «биологического лекарственного средства», «воспроизведенного биологического лекарственного средства». Биоаналоги регистрируются по тем же правилам, что и дженерики. Дополнительные исследования по их эф-

фективности, безопасности в настоящее время не требуется. Таким образом, отечественный фармрынок не имеет нормативно-правовой базы для более тщательного отбора и контроля за этими препаратами, что может привести к побочным реакциям у больных. Для повышения гарантий безопасности биотехнологических препаратов для серийно выпускаемых биоаналогов должен быть обязательным тест на «Аномальную токсичность» или «Безопасность», разработанный на доклиническом этапе исследований с выполнением *in vivo* или *in vitro*.

Выводы

В настоящее время отечественный фармацевтический рынок не имеет нормативно-правовой базы для более тщательного отбора и контроля генно-инженерных лекарственных средств, что может привести к проявлению побочных реакций у больных. Для повышения гарантий безопасности серийно выпускаемой продукции в нормативную документацию должен быть включен тест на «Аномальную токсичность» или «Безопасность», разработанный на доклиническом этапе исследований с выполнением *in vivo* или *in vitro*.

Some problems of toxicity evaluation for the biotechnological products

N.P. Neugodova, G.V. Dolgova, A.V. Gavrikov

The drugs obtained with recombinant DNA technology should be controlled to «abnormal toxicity» test, but not in laboratory animals test (*in vivo*), and with methods based on fundamental biology and cytology researches. That is in cell-cultures tests or in microorganisms (bacteria) tests.

Key words: recombinant DNA technology drugs, abnormal toxicity.

Проблемы разработки и оценки безопасности нанофитопрепаратов

С.В. Луценко¹, М.В. Дмитриева², Н.Б. Фельдман²

¹ – НИИ Фармации Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

² – Кафедра биотехнологии Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Контактная информация: Терёшкина Ольга Ивановна oiter@rambler.ru

Получен нанофитопрепарат флаволигнана силибинина на основе фосфатидилхолина и холестерина и изучена его гепатопротекторная, противоопухолевая и антиангиогенная активность. Нанофитопрепарат обладает значительно более высокой активностью по сравнению со свободным флаволигнаном, что связано с увеличением растворимости и биодоступности препарата и его избирательным накоплением в печени и опухолевой ткани. Нанофитопрепарат силибинина может применяться при терапии патологий печени и различных опухолей.

Ключевые слова: флаволигнаны, силибинин, нанофитопрепарат, терапия.

В исследовании молекулярных механизмов биологической активности растительных флаволигнанов в последние годы достигнут значительный прорыв, позволяющий с оптимизмом рассматривать новые стратегии борьбы с онкологическими и другими заболеваниями. Изучение путей и возможностей терапии патологий печени и подавления опухолевого процесса с помощью флаволигнанов, представляет актуальную научно-практическую задачу, решение которой может внести существенный вклад в современную молекулярную медицину и клиническую онкологию [1]. Помимо гепатопротекторных и противоопухолевых свойств растительных флаволигнанов, важной составляющей частью их биологической активности является недавно открытая способность к подавлению ангиогенеза [2-6].

Важным инструментом повышения терапевтической эффективности является применение флаволигнанов в составе липосомных или полимерных наночастиц, полученных с использованием методов современной биотехнологии и

нанобиотехнологии [7]. В связи с этим, разработка, изучение биологической активности и биобезопасности наносомных форм флаволигнанов является одной из актуальных задач современной медицины, имеющих важное теоретическое и прикладное значение.

Нами был получен нанофитопрепарат флаволигнана силибинина на основе фосфатидилхолина и холестерина, и изучена его гепатопротекторная активность *in vivo* в отношении токсического гепатита, вызванного четыреххлористым углеродом у крыс при внутривенном и внутрижелудочном введении препарата. Показано, что нанофитопрепарат обладает выраженным репаративным действием в отношении клеток печени, снижая активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и содержание общего билирубина в сыворотке крови опытных животных в 2-3 раза эффективнее, чем препарат свободного силибинина. продемонстрировано, что у экспериментальных животных с модельным острым токсическим гепатитом гепатопротек-