

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu : **Ocena właściwości farmakokinetycznych, wyznaczenie maksymalnej tolerowanej dawki oraz badanie doustnej toksyczności krótkookresowej (7-dniowej) substancji OAT-1746, potencjalnego leku w leczeniu nowotworów**

1. Czas trwania projektu : 01.03.2017 – 31.12.2018 (22 miesiące)

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): inhibitor arginazy, leki przeciwnowotworowe, profil farmakokinetyczny, doustna toksyczność krótkookresowa

3. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) B

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Celem niniejszego projektu jest określenie parametrów farmakokinetycznych, wyznaczenie maksymalnej tolerowanej dawki oraz zbadanie doustnej toksyczności krótkookresowej (7-dniowej) nowego inhibitora arginazy jako potencjalnego leku mogącego znaleźć zastosowanie w leczeniu nowotworów. Z dostępnych danych literaturowych, że arginaza hamuje działanie układu immunologicznego, co uniemożliwia zwalczanie komórek nowotworowych i skutkuje rozwojem raka. Ponieważ aktualnie na rynku światowym nie ma zatwierdzonego leku będącego inhibitorem arginazy, tym ważniejsze wydaje się jak najszybsze i najdokładniejsze przeprowadzenie wszystkich niezbędnych badań *in vivo*, wymaganych do dopuszczenia substancji do badań klinicznych.

Wszystkie zebrane informacje w trakcie planowanych doświadczeń posłużą do oceny profilu

toksykologicznego badanego związku.

Pierwszy eksperyment pozwoli określić profil farmakokinetyczny badanego związku. Badana substancja zostanie podana dożołądkowo każdemu zwierzęciu jednokrotnie, w pojedynczej dawce. Zostanie zastosowanych pięć dawek substancji. Następnie w ustalonych punktach czasowych zostanie pobrana pełna krew z żyły ogonowej do oznaczeń farmakokinetycznych.

Drugi eksperyment ma na celu wyznaczenie maksymalnej tolerowanej dawki badanej substancji. W tym celu związek zostanie podany każdemu zwierzęciu dożołądkowo jednokrotnie, w pojedynczej dawce. Zostanie zastosowanych pięć dawek, takich samych jak w przypadku badania profilu farmakokinetycznego. Po podaniu leku, zmiany neurologiczne, behawioralne, koordynacja i odruchy czuciowo-ruchowe będą oceniane w nieinwazyjnym badaniu nazywanym testem Irvine'a. Badanie jest nieinwazyjne i polega na obserwacji zwierząt w klatce domowej i odnotowaniu ewentualnych zmian w zachowaniu i wyglądzie jednak bez kontaktu ze zwierzęciem w kilku określonych odstępach czasu po podaniu leków.

W trzecim doświadczeniu przeprowadzone będzie badanie doustnej toksyczności krótkookresowej (7-dniowej). W tym celu związek będzie podawany dożołądkowo, każdemu ze zwierząt, raz dziennie przez 7 dni. Do badania zostaną wybrane trzy dawki leku oraz grupa kontrolna otrzymująca nośnik. Od zwierząt zostanie pobrana krew oraz narządy. Wyniki tego doświadczenia posłużą do oceny profilu toksykologicznego badanego związku.

Na podstawie uzyskanych w powyższych doświadczeniach wyników, wybrany zostanie zakres dawek leku, który będzie testowany w dalszych badaniach przedklinicznych, prowadzonych zarówno w standardzie non-GLP, jak i w standardzie GLP.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach wykorzystanych zostanie 140 szczurów szczepu Wistar (70 samców i 70 samic).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie badań nowych inhibitorów arginazy, jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Posłużono się przy tym bazami danych PUBMED, clinicaltrials.gov, Espacenet, Patentscope, Reaxys. Przy wyszukiwaniu zastosowano następujące zestawy słów kluczowych: „arginase inhibitor AND cancer”, „arginase inhibitor AND toxicology”, „arginase inhibitor AND preclinical studies”, „arginase inhibitor AND clinical studies” i in. Na podstawie analizy dostępnej literatury można wywnioskować, że arginaza odpowiedzialna jest za

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

organicznie dostępności aminokwasu – L-argininy, co wpływa m.in. na obniżenie żywotności aktywowanych limfocytów T i zahamowanie odpowiedzi układu immunologicznego wobec komórek nowotworowych (L-Arginine Modulates T Cell Metabolism and Enhances Survival and Anti-tumor Activity, Geiger R et.al., Cell. 2016 Oct 20;167(3):829-842.e13, doi: 10.1016/j.cell.2016.09.031.). Inhibicja enzymu może przynieść wymierne korzyści w postaci zmniejszenia wzrostu nowotworów, poprzez zwiększenie puli aktywowanych i zdolnych do obrony organizmu limfocytów. Firma OncoArendi Therapeutics w badaniach własnych wykazała aktywność przeciwnowotworową inhibitora arginazy OAT-1746 w trzech mysich modelach nowotworów. Ponieważ aktualnie na rynku światowym nie ma zatwierdzonego leku będącego inhibitorem arginazy, tym ważniejsze wydaje się jak najszybsze i najdokładniejsze przeprowadzenie wszystkich niezbędnych badań *in vivo*, wymaganych do dopuszczenia substancji do badań klinicznych. Przegląd literatury wykazał, że nie opracowano do tej pory inhibitorów arginazy o strukturze chemicznej OAT-1746 oraz identycznych parametrach fizyko-chemicznych czy też właściwościach biologicznych i terapeutycznych. Wyniki proponowanego projektu wykażą, czy nowo opracowany inhibitor arginazy OAT-1746, o potwierdzonej aktywności przeciwnowotworowej w mysim modelu raka, jest biodostępny po podaniu dożołądkowym u szczurów. Badania wykażą następnie bezpieczeństwo farmakologiczne potencjalnego leku i będą podstawą do wybrania zakresu dawek do badań toksykologicznych w standardzie GLP, koniecznych do złożenia wniosku do EMA lub FDA o pozwolenie na badania kliniczne u ludzi.

Zasada zastąpienia

Szczury stanowią uznany model do badań przedklinicznych *in vivo* bezpieczeństwa potencjalnych leków, zgodny z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków (EMA) oraz Agencji ds. Żywności i Leków (FDA). Ze względu na charakter projektu i jego regulacje prawne, złożoność badanych procesów fizjologicznych, a w szczególności konieczność odniesienia uzyskanych wyników do pacjentów w postępowaniu klinicznym niemożliwym jest wykluczenie oraz zastąpienie zwierząt kręgowych innym materiałem do osiągnięcia celu doświadczenia.

Zasada ograniczenia

Planowane badania uwzględniają wykorzystanie liczby zwierząt w pełni zgodnej z regulacjami ICH (International Conference for Harmonisation) wytyczne S6/R1 (Guideline for Good Laboratory Practice) dla testów nieklinicznych.

Zasada udoskonalenia

Do badania *in vivo* wybrany został związek, który w testach *in vitro* działa w niskich stężeniach oraz wykazał działanie przeciwnowotworowe *in vivo* w modelach mysich. Wszystkie procedury opisane we wniosku zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt użytych w doświadczeniu. Objawy przyżyciowe, notowane codziennie w czasie eksperymentu (masa ciała zwierząt, kondycja, zachowanie) będą wykorzystane do monitorowania zdrowia zwierząt podczas eksperymentów i do ewentualnych modyfikacji protokołu doświadczenia.