

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Badanie biodostępności sorafenibu w nowych matrycach polimerowo-fosfolipidowych po podaniu doustnym**”

2. Czas trwania projektu 01/05/2023 – 31/12/2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) sorafenib, biodostępność po podaniu doustnym, amorficzne dyspersje stałe, polimery, fosfolipidy

Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **B. Badania translacyjne lub stosowane**

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 naukowym doświadczenia jest: (1) zbadanie biodostępności po podaniu doustnym sorafenibu (*substancji leczniczej o działaniu przeciwnowotworowym*) w formie amorficznej (*bezpostaciowej, tzn. w sensie fizycznym nieposiadającej uporządkowanej struktury cząsteczek*) uzyskanej w matrycy (*tzn. formulacji, nośniku*) (i) mieszanej polimerowo-fosfolipidowej, (ii) polimerowej, (iii) fosfolipidowej oraz (2) porównanie z biodostępnością (iv) oryginalnego produktu leczniczego (dostępnego dla pacjenta w aptece) zawierającego sorafenib w postaci soli (tozylanu), w modelu króliczym.

Sorafenib w formie tozylanu jest praktycznie nierozpuszczalny w wodzie, co powoduje, że pacjenci muszą przyjmować bardzo duże dawki leku. Ponadto obserwuje się zróżnicowaną skuteczność leczenia.

Wnioskodawca, w projekcie badawczym zaproponował otrzymanie sorafenibu w formie amorficznej (*bezpостaciowej, tzn. w sensie fizycznym nieposiadającej uporządkowanej struktury cząsteczek*) w celu zwiększenia rozpuszczalności. Zaplanowano otrzymanie amorficznej formy sorafenibu w nowej matrycy (*tzn. nośniku*) polimerowo-fosfolipidowej, której rolą jest stabilizowanie amorficznej substancji leczniczej. Zanim Wnioskodawca rozpocznie doświadczenie *in vivo* z udziałem zwierząt, zostanie przeprowadzony szereg doświadczeń w modelu *in vitro* (badania laboratoryjne *in silico* (*tzn. w szkle*) oraz w modelu komórkowym), co pozwoli z puli 50 formułacji, wybrać 1 formułację zbudowaną z 1 rodzaju polimeru i 1 fosfolipidu, dla której przewidziano przeprowadzenie doświadczenia z udziałem zwierząt. Badania *in vitro* dostarczą informacji o tym, jak zmieniają się właściwości fizyko-chemiczne sorafenibu w formie amorficznej, natomiast nie odpowiedzą na pytanie jak sorafenib w nowej matrycy działa w organizmie żywym, czyli *in vivo*. Zdobyta wiedza o wpływie matryc polimerowo-fosfolipidowych na biodostępność sorafenibu, pozwoli opracować podobne matryce (nośniki) również dla innych substancji leczniczych trudnorozpuszczalnych w wodzie, a tym samym umożliwi rozwój bardziej skutecznych i bezpiecznych leków.

Planowane doświadczenie zostanie przeprowadzone u 24 dorosłych osobników królika europejskiego (*Oryctolagus cuniculus*) rasy nowozelandzkiej białej: n=6 grupa badana I – formułacja mieszana polimerowo-fosfolipidowa; n=6 grupa badana II – formułacja polimerowa, n=6 grupa badana III – formułacja fosfolipidowa; n=6 grupa kontrolna – sorafenib w formie tozylanu (Nexavar®). Po aklimatyzacji zwierzętom z grup badanych oraz kontrolnej, zostanie założony wenflon, następnie zostanie podany sorafenib w odpowiedniej postaci. Od królików zostaną pobrane próbki krwi w 15 punktach czasowych, po czym zwierzęta zostaną poddane eutanazji. Stężenie sorafenibu oraz aktywnego farmakologicznie metabolitu (N-tlenku sorafenibu) oznaczone we krwi pobranej od zwierząt posłużą do wyznaczenia parametrów farmakokinetycznych dla badanych formułacji sorafenibu.

Przewidywanymi szkodami u zwierząt włączonych do doświadczenia jest stres i dyskomfort podczas wykonywanych czynności: wenflonowanie, podawanie związku badanego, pobieranie próbek krwi) oraz śmierć (pobranie narządów do badań histopatologicznych).

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

24 osobniki dorosłe królika europejskiego (*Oryctolagus cuniculus*) rasa nowozelandzka biała (4 grupy po 6 osobników)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Dokonano przeglądu baz danych PubMed, MEDLINE, BioMed Central, Google Scholar, Scopus, EMBASE, ScienceDirect, Current Contents wykorzystując kilka różnych strategii wyszukiwania (użyte słowa kluczowe: sorafenib, oral bioavailability, phospholipid, polymer, amorphous solid dispersion). Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono, że brak jest danych dotyczących właściwości farmaceutycznych sorafenibu w matrycach polimerowo-fosfolipidowych; brak również danych dotyczących biodostępności sorafenibu w formulacjach, które wnioskodawca planuje otrzymać w ramach projektu badawczego.

1. Zastąpienie

Nie ma modelu komórkowego lub laboratoryjnego *in vitro*, który w sposób idealny odzwierciedlałby złożoność procesów zachodzących w organizmie żywym, w tym wpływających na losy leku (substancji leczniczej), również podanego doustnie. Doświadczenie *in vivo* z udziałem zwierząt zostanie poprzedzone szeregiem doświadczeń laboratoryjnych, które uwzględniają wykorzystanie specjalnych membran (błon) bimimetycznych tzn. o budowie przypominającej błonę komórkową, oraz linii komórkowych stosowanych powszechnie do badania przenikalności substancji leczniczych przez błony biologiczne. Pozwoli to wytypować z puli 50 formulacji, jedną formulację, dla której przewidziano przeprowadzenie doświadczenia z udziałem zwierząt.

2. Ograniczenie

- Doświadczenie zostało odpowiednio zaprojektowane i przeanalizowane, aby zapewnić solidne i powtarzalne wyniki. Do doświadczenia włączono 4 grupy po 6 osobników, w celu uzyskania wiarygodnych, istotnych statystycznie wyników jak również umożliwiające właściwe wnioskowanie o biodostępności sorafenibu z matrycy polimerowo-fosfolipidowych.

3. Udoskonalenie

- W czasie aklimatyzacji i podczas bytowania, w celu zmniejszenia stresu oraz przyzwyczajenia zwierząt do wykonywanych procedur, zwierzęta będą oswajane z kontaktem z osobami przeprowadzającymi doświadczenie poprzez wyjmowanie z klatki na ręce.
- W czasie aklimatyzacji i podczas bytowania, królikom zapewnione zostaną warunki bytowe umożliwiające ekspresję zachowań gatunkowych, zapobiegające nudzie, stereotypiom. W jednej klatce będą przebywały dwa osobniki. Gdyby okazało się, że nie współżyją harmonijnie – zostaną rozdzielone do dwóch klatek, które jednak będą umieszczone w bezpośrednim sąsiedztwie tak, że zwierzęta będą się widziały. Wewnątrz klatki będzie umieszczona półka o wymiarach 30 cm x 64 cm i wysokości od podłogi 25 cm z częścią w postaci domku/schronienia. Zwierzęta będą miały dostęp do urozmaiceń w postaci drewnianych klocków osikowych oraz kul z siana (po 1 sztuce na osobnika). Tunele pozwolą ukryć się, gdy zwierzę będzie tego potrzebowało, a klocki osikowe będą służyły do ścierania zębów, co odpowiada ich zachowaniom gatunkowym i sprzyja łagodzeniu stresu.
- W celu zmniejszenia odczuwania bólu, przed założeniem wenflonu, zastosowane zostanie znieczulenie miejscowe polegające na miejscowym lidokainy (Lidocain Egis 10%, roztwór, aerozol na skórę). Ponadto założenie wenflonu znacznie ograniczy liczbę ukłuć skóry zwierzęcia, co wiąże się z minimalizowaniem stresu podczas pobierania krwi w wielu punktach czasowych.
- Podczas eutanazji będą wykorzystywane techniki zgodne z najbardziej aktualnymi zaleceniami dla modelu króliczego.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

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

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.