

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Opracowanie małowcząsteczkowej pochodnej 1,2,4-triazyny (MM-129) – badania farmakokinetyczne w zwierzęcym modelu doświadczalnym**

2. Czas trwania projektu **kwiecień 2019-październik 2020**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) MM-129, roscovitine, 1,2,4-triazine, pharmacokinetic parameters

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A. Badania podstawowe**

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.

Mimo znacznego postępu, jaki dokonał się w ostatnich latach w leczeniu nowotworów, opracowanie skutecznej terapii wciąż stanowi poważne wyzwanie dla współczesnej onkologii. Na raka umiera ponad 8 milionów osób rocznie. Brak wystarczającej wiedzy dotyczącej samego procesu nowotworzenia, mechanizmów lekooporności czy wreszcie ucieczki komórek nowotworowych spod kontroli układu immunologicznego jest przyczyną nierównej i trudnej walki z nowotworami. W ostatnich latach opracowaliśmy nową pochodną 1,2,4-triazyny związek MM-129 o silnych właściwościach cytotoksycznych. Skutecznie hamuje on biosyntezę DNA oraz żywotność komórek czterech badanych typów nowotworów: raka jelita grubego (DLD-1) raka piersi (MCF-7) żołądka (AGS) oraz białaczki (K-562). MM-129 posiada wysoką aktywność farmakologiczną gdyż już na poziomie mikromolowym silnie

hamuje proliferację komórek rakowych. Chociaż struktura chemiczna nowych MM-129 odbiega od struktury stosowanych obecnie leków, możemy zauważyć ich podobieństwo do struktury wiodącej roskowityny). Roskowityna - (2R)-2-{{[6-(benzylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl]amino}-1-butanol nazywana także CY-202 lub seliciclib, jest niskocząsteczkową pochodną purynową posiadającą charakterystyczną strukturę pierścieniową. Należy do inhibitorów kinaz zależnych od cyklin (CDK) białek, które odgrywają kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego promując jego postęp czyli przejście między poszczególnymi fazami. W komórkach nowotworowych obserwuje się zwiększoną ekspresję CDKs, co może być przyczyną deregulacji cyklu komórkowego (1, 2, 3, 4).

Celem powyższego projektu jest ocena profilu farmakokinetycznego nowego potencjalnego leku przeciwnowotworowego MM-129. Wyznaczone zostaną takie parametry jak stężenie maksymalne (Cmax), stężenie minimalne (Cmin), czas maksymalny (Tmax), okres półtrwania (T1/2), pole powierzchni pod krzywą (AUC), klirens nerkowy. Zgodnie z rozporządzeniem MNiSW z dnia 4 listopada 2015 r., powyższe procedury zostaną przeprowadzone w ramach badań podstawowych (PB1 – onkologia niezależnie od badanego układu).

Literatura:

1. Goodyear S, Sharma MC. Roscovitine regulates invasive breast cancer cell (MDA-MB231) proliferation and survival through cell cycle regulatory protein cdk5. *Exp Mol Pathol.* 2007 Feb;82(1):25-32.
2. Hahntow IN, Schneller F, Oelsner M, Weick K, Ringshausen I, Fend F, Peschel C, Decker T. Cyclin-dependent kinase inhibitor Roscovitine induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells. *Leukemia.* 2004 Apr;18(4):747-55.
3. Xiang X, Yu PC, Long D, Liao XL, Zhang S, You XM, Zhong JH, Li LQ. Prognostic value of PD -L1 expression in patients with primary solid tumors. *Oncotarget.* 2017;9:5058-5072.
4. Dorand RD, Nthale J, Myers JT, Barkauskas DS, Avril S, Chirieleison SM, Pareek TK, Abbott DW, Stearns DS, Letterio JJ, Huang AY, Petrosiute A. Cdk5 disruption attenuates tumor PD-L1 expression and promotes antitumor immunity. *Science.* 2016;353(6297):399-403.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Najodpowiedniejszym modelem zwierzęcym do badań farmakokinetycznych są szczury. Zgodnie z literaturą naukową tego typu badania są powszechnie wykonywane na gryzoniach. Na chwilę obecną nie ma więc potrzeby wykorzystania większych ssaków, a ze względu na charakter ocenianych parametrów niemożliwe jest również wykorzystanie bezkręgowców, stąd gryzonie wydają się być trafnym wyborem. Złożona odpowiedź fizjologiczna jak zmiana aktywności zwierzęcia, apatia, przebarwienia skórne, zapaść a nawet śmierć zależy od wielu czynników, włącznie z kontrolą uwalnianych przez różne narządy

wewnętrzne substancji (tzw. kontrola humoralna lub para-, auto- i endokrynną), jak i kontrolą nerwową, w tym odruchową i ośrodkową. Niemożliwie jest zbadanie tych efektów zarówno w hodowlach komórek, jak i z wykorzystaniem izolowanych narządów wewnętrznych. Badań nie można więc przeprowadzić przy użyciu metod mniej inwazyjnych lub z wykorzystaniem innego niż gryzonie materiału.

Wielkość grup eksperymentalnych powinna być wystarczająca, aby umożliwić interpretację uzyskanych wyników.

Ocena profilu farmakokinetycznego po podaniu dożylnym MM-129 (procedura 1)	
Grupa badawcza	Ilość zwierząt
MM-129 w dawce 20 µg/kg i.v.	6
	Ogółem: 6
Ocena profilu farmakokinetycznego po podaniu per os MM-129 (procedura 2)	
Grupa badawcza	Ilość zwierząt
MM-129 w dawce 40 µg/kg p.o.	6
	Ogółem: 6

Zaproponowana przez nas liczba zwierząt jest odpowiednia do wykazania lub wykluczenia obecności działań niepożądanych. Na podstawie dotychczasowego doświadczenia i wstępnej prognozy statystycznej w przypadku 6 zwierząt (Procedura 1) oraz 6 zwierząt w grupie (Procedura 2) możliwe będzie wykazanie różnic na poziomie istotnym klinicznie i statystycznie. Wielkość próby została oszacowana na podstawie czynników warunkujących wiarygodność wyników (kryterium istotności statystycznej, moc testu statystycznego, wielkość efektu), zwracając uwagę na aspekty etyczne oraz techniczno-organizacyjne. Dobrana w taki sposób wielkość grup badanych pozwoli na uzyskanie istotnych statystycznie wyników, ograniczając do minimum liczbę zwierząt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem

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

badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; Science Direct; Web of Science (JCR).

Wykorzystano następujące słowa klucze: roscovitine, 1,2,4-triazine, pharmacokinetic parameters

A. Celem badań farmakokinetycznych z udziałem zwierząt jest określenie ilościowych zmian określających losy podanego związku w organizmie. Zgodnie z zasadą zastąpienia, ograniczenia oraz udoskonalenia (3R) konieczne jest zminimalizowanie liczby wykorzystywanych w badaniach zwierząt oraz niekorzystnych efektów badanych związków. Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych z dziedziny medycyny i nauk pokrewnych. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono że brak jest danych dotyczących oceny profilu farmakokinetycznego MM-129.

B. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że planowane przez nas badania stanowią nowe podejście i do chwili obecnej nie przeprowadzono, badań farmakokinetycznych MM-129 Zgodnie z zasadą redukcji, aby chronić zwierzęta laboratoryjne podjęliśmy środki mające na celu ograniczenie liczby zwierząt w planowanych eksperymentach. Liczba ta została ograniczona do minimum, bez narażenia na porażkę głównego celu projektu. Zastosowano liczne środki mające na celu ograniczenie liczebności zwierząt, takie jak liczne szkolenia oraz wieloletnie doświadczenie osób wykonujących doświadczenia.

C. Brak jest jakichkolwiek danych dotyczących MM-129. A zatem przeprowadzenie tego typu badań może mieć niezwykle istotne implikacje kliniczne.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na określenie skuteczności i bezpieczeństwa stosowania MM-129.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku nowych leków przeciwnowotworowych stosowanych w terapii raka jelita grubego.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na stosowaniu MM-129 może przyczynić się do skuteczniejszej terapii raka jelita grubego.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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