

ЗВІТ про доклінічні дослідження

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення)	ЕВРІСДІ®(EVRYSDI®)
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	Лікарський засіб за повним досьє (автономне досьє). Інший лікарський засіб. Нова діюча речовина (ДР). Зміни, що потребують нової реєстрації
2) Проведені дослідження:	☒ так ☐ ні якщо ні, обґрунтувати
2. Фармакологія:	
1) первинна фармакодинаміка	Здатність рисдипламу модифікувати альтернативний сплайсинг попередника матричної РНК (пре-мРНК) гена, що кодує білок виживання мотонейронів 2 (SMN2), для включення екзона 7 і завдяки цьому збільшити виживаність білка мотонейронів (SMN) в необхідних рівнях вивчалась в моделях <i>in vitro</i>, <i>ex vivo</i> та в мишачих моделях <i>in vivo</i>. Ефекти лікування рисдипламом стосовно порятунку при фенотипах, подібних до СМА (спінальної м'язової атрофії), були продемонстровані в двох різних мишачих моделях. Активність <i>in vitro</i> та <i>ex vivo</i> <u>Вплив на включення екзона 7 SMN2</u> Вплив рисдипламу на сплайсинг транскрипту SMN2 з метою посилення включення екзона 7 був підтверджений в фібробластах, отриманих у пацієнтів із СМА 1 типу, <i>in vitro</i> та в клітинах крові, отриманих у здорових добровольців, <i>ex vivo</i>. У фібробластах, отриманих у пацієнтів, рисдиплам продемонстрував потужну ефективність з метою збільшення включення екзона 7 транскрипту (первинний транскрипт SMN) із 50% ефективною концентрацією (EC₅₀) 29±7 нМ (середнє ± стандартна похибка середнього значення) та зниження рівня процесованого транскрипту SMN2 (відсутній екзон 7; SMNΔ7) із IC₅₀ на рівні 12±1 нМ (середнє ± стандартна похибка середнього значення). Цей ефект є інтенсивним (>90%) при 121 нМ рисдипламу [звіт № 1066987]. В клітинах крові <i>ex vivo</i> рисдиплам спричиняв дозозалежне збільшення первинних транскриптів SMN2 із EC₅₀ на рівні 75±19 нМ (100% при 2 мкМ) і зниження транскриптів SMNΔ7 при IC₅₀ на рівні 60±8 нМ (мінімум 2% при 3 мкМ) [звіт № 1066984]. Подібні результати для рисдипламу були отримані в повторному експерименті (EC₅₀ при 24 нМ для включення екзона 7 в транскрипт SMN2, звіт № 1078515). <u>Вплив на рівень білка SMN</u> Вплив рисдипламу на рівень білка SMN вивчався в культивованих фібробластах, отриманих у пацієнтів із СМА 1

типу, та в культурі мотонейронів, отриманій з індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (iPSC) пацієнтів із СМА 1 типу. Рисдиплам збільшував рівень білка SMN при EC₅₀ на рівні 12±3 нМ в фібробластах і при EC₅₀ на рівні 182±114 нМ в клітинній культурі мотонейронів. Максимальне збільшення рівня SMN приблизно вдвічі було порівняльним в усіх випробовуваних типах клітин [звіт № 1066984].

Активність основного метаболіту M1

Метаболіт M1 був ідентифікований як основний метаболіт рисдипламу у людини. Його активність стосовно модулювання сплайсингу SMN2 вивчалась в культивованих фібробластах, отриманих у пацієнтів із СМА 1 типу, і в зразках цільної крові здорових добровольців [звіт № 1078515]. При тестуванні на фібробластах M1 характеризувався меншою активністю при EC₅₀ для індукції синтезу первинного транскрипту SMN2 і при IC₅₀ для індукції зниження рівня транскрипту SMN2 з відсутнім екзоном 7, що приблизно в 34 та 28 разів перевищують такі для рисдипламу відповідно. В зразках цільної крові здорових добровольців не спостерігалась активність для M1 при концентрації до 3 мкМ.

Активність in vivo

З метою вивчення активності рисдипламу in vivo застосовувались дві різні мишачі моделі СМА (SMNΔ7 і C/C), які є носіями трансгену SMN2 людини.

Мишам SMNΔ7 в ранньому постнатальному періоді (модель, подібна до СМА 1 типу тяжкого ступеня) виконувались інтраперитонеальні ін'єкції протягом 7 днів один раз на день (3–9 дні після народження) диметилсульфоксиду (DMSO; наповнювач) або рисдипламу (0,1, 0,3, 1 або 3 мг/кг/день). Гетерозиготні миші одного виводку, носії однієї копії мишачого алеля SMN1 без демонстрації СМА-пов'язаного фенотипу, були позитивним контролем. Через 1 годину після останнього введення були відібрані мозок і чотириголові м'язи і були визначені рівні білка SMN [звіт № 1063288]. Лікування рисдипламом призводило дозозалежного збільшення рівня білка SMN в мозку та чотириголових м'язах у мишей SMNΔ7, яке досягло плато при введенні рисдипламу у дозі 1 мг/кг/день із максимальним збільшенням рівня SMN у 3–3,5 рази у порівнянні з контрольними мишами, яким вводився наповнювач. Різниця в рівні білка SMN була статистично достовірною у мишей, яким вводили рисдиплам по 0,3, 1 і 3 мг/кг/день (p<0,01; множинні порівняння ANOVA у порівнянні з контролем). Однак рисдиплам не збільшував білок SMN до рівня, визначеного в контролі НЕТ.

Мишам C/C віком близько 7 тижнів давали один раз на день протягом 10 днів перорально через шлунковий зонд наповнювач

або ридиплам (1, 3, 10 мг/кг/день). Через 1 годину після останнього введення були відібрані мозок і чотириголові м'язи і були визначені рівні білка [звіт № 1065078]. Було виявлене дозозалежне збільшення рівня ридипламу в аналізованих тканинах усіх мишей, які отримували ридиплам. Лише найвища доза (10 мг/кг/день) призводила до статистично значимого збільшення рівня білка SMN в мозку та чотириголових м'язах. Максимальне збільшення рівня білка SMN (приблизно у 1,5–2 рази у порівнянні з контролем) було виявлене при застосуванні найбільшої дози. В чотириголових м'язах рівень білка SMN, індукований за допомогою ридипламу у дозі 10 мг/кг, досягнув такого у гетерозиготних мишей як позитивного контролю.

Для оцінки ефекту ридипламу у мишей SMN Δ 7, групи мишей SMN Δ 7 отримували наповнювач або ридиплам, починаючи з 3 дня після народження до закінчення дослідження (220 день після народження) [звіт № 1093133].

Гетерозиготні миші одного виводку, носії однієї копії мишачого алеля SMN1 без демонстрації СМА-пов'язаного фенотипу, були позитивним контролем. Дозування мишам здійснювалось в період з 3 до 23 дня після народження з частотою один раз на день шляхом інтраперитонеальної ін'єкції, а з 24 дня через шлунковий зонд. Миші SMN Δ 7, яким вводили ридиплам, оцінювались на предмет виживання, маси тіла, некрозу дистальних тканин, впливу на нейром'язеві зв'язки і м'язову діяльність (установочний рефлекс).

Лікування ридипламом суттєво подовжувало виживання тварин при застосуванні усіх доз у порівнянні з тваринами, яким вводили наповнювач в довгостроковому дослідженні [звіт № 1093133]. Статистично значиме подовження медіани часу виживання вже спостерігалось в групі низького дозування (26 днів проти 10,5 дня в групі тварин, яким застосовували наповнювач). Вплив ридипламу на подовження медіани часу виживання збільшувався із застосованою дозою, при цьому найвища доза продемонструвала суттєве збільшення виживаності у порівнянні з мишами, яким застосовували наповнювач, із медіаною часу виживання більше 6 місяців. Лікування ридипламом призводило до покращення приросту маси тіла на 67%, 82% і 91% на 140 день після народження в групах середнього, середнього/високого і високого дозування у порівнянні з гетерозиготним контролем [звіт № 1066984].

Тварини в групі низького дозування продемонстрували лише незначне одужання у порівнянні з мишами SMN Δ 7, яким застосовували наповнювач. Не спостерігалось статистично достовірних відмінностей між групою найвищою дозування і гетерозиготними мишами одного виводку як контролю стосовно максимальної маси тіла, дня досягнення максимальної маси тіла

і площі під кривою «маса тіла-час» в період з 3 до 220 дня після народження [звіт № 1093133]. Покращення приросту маси тіла залежав від дози.

У мишей SMNΔ7, яким застосовували наповнювач, спостерігалась суттєва втрата везикулярного переносника глутамату 1 (vGluT1) пропріоцептивної аферентації мотонейронів поперекових сегментів 3–5 (L3–5), втрата мотонейронів поперекового сегмента 4 (L4), денервація нейром'язових синапсів в найдовшому м'язі спини і атрофія довгого розгинача пальців. Лікування ридипламом спасло мишей SMNΔ7 від спостережуваних фенотипів. Покращення залежало від дози і максимальна ефективність була досягнута при застосуванні середньої дози (3–220 днів після народження). Кількість ущільнень vGluT1 на рівні L3–5 і кількість аксонів вентрального корінця спинномозкового нерва на рівні L4 в групах середнього, середнього-високого і високого дозування лише незначно, хоча статистично достовірно, відрізнялась від такої в контролі гетерозиготних мишей одного виводку. В найдовшому м'язі спини спостерігалась виражена денервація на 14 день після народження у контрольних мишей SMNΔ7, у той час як у мишей, яким застосовували ридиплам, спостерігався повний рівень іннервації, порівняльний з контролем гетерозиготних мишей одного виводку (оцінка виконувалась на 220 день після народження). Маса довгого розгинача пальців повернулась в норму в групах середнього-високого та високого дозування у порівнянні з контролем гетерозиготних мишей одного виводку. У тварин в групі середнього дозування спостерігалась суттєво менша маса довгого розгинача пальців, що співпадає з меншою масою тіла, спостережуваною в цій групі.

Залежне від дози покращення моторної функції (установочний рефлекс до 16 дня після народження) спостерігалось після застосування ридипламу мишам SMNΔ7. У той час як гетерозиготні миші одного виводку змогли перегортатися на 9 день після народження, ні миші SMNΔ7, яким застосовували наповнювач, ні миші, які отримували ридиплам, не змогли це зробити у цьому віці. Однак, на 16 день після народження, тобто менше ніж через 2 тижні після дозування, в усіх групах дозування, включаючи групу застосування наповнювача, спостерігалось залежне від дози покращення здатності перегортатися. Групи середнього-високого та високого дозування ридипламу не відрізнялися від контролю гетерозиготних мишей одного виводку, у той час як у тварин в групі застосування лише наповнювача або низької та середньої доз ридипламу покращення було менш вираженим.

	Лікування ридипламом перешкоджало некрозу хвоста, що визначалося шляхом оцінки довжини хвоста. Хоча середня довжина хвоста була більшою у всіх групах, які отримували ридиплам, ніж у мишей SMNΔ7, яким застосовували наповнювач, суттєве покращення спостерігалось лише при застосуванні середніх, середніх-високих та високих доз. Протягом усього дослідження середня довжина хвоста в групах середньої-високої і високої доз ридипламу була порівнянна з такою в контролі гетерозиготних мишей одного виводку. Подібним чином, ридиплам зменшував некроз тканин навколо очей, що визначалося за допомогою напівкількісної шкали оцінки. Хоча в групах застосування середніх-високих та високих доз спостерігалось помітне зменшення некрозу, в цих групах лікування був виявлений залишковий некроз. Тяжкість спостережуваного некрозу не змінювалась з часом в цих групах дозування.
2) вторинна фармакодинаміка	Вторинна фармакодинаміка вивчалась з урахуванням наступних аспектів, які вважались важливими для ридипламу: - «Специфічний» вторинний вплив ридипламу на певну кількість альтернативних мішеней сплайсингу, окрім SMN2; - «Класичний» вторинний вплив на рецептори, ферменти або канали. <u>Вторинні цілі сплайсингу</u> Для оцінки потенційної ненаправленої дії на вторинні ділянки сплайсингу та будь-які їх транскрипти був проведений комплексний транскриптомний аналіз з охопленням сайтів границі сплайсингу на культивованих фібробластах пацієнтів із СМА 1 типу [Звіт №. 1066987]. Фокусом цього дослідження також була ідентифікація потенційних вторинних ефектів ридипламу через зміну сплайсингу інших генів. З цією метою фібробласти пацієнтів із СМА 1 типу оброблялись ридипламом, був виконаний аналіз РНК-секвенування і були застосовані специфічні алгоритми для загальної оцінки явищ сплайсингу в фібробластах, оброблених ридипламом. Для кожного проаналізованого явища сплайсингу обчислювалось нормалізоване число зчитувань мРНК, що підтримувало будь-який варіант, і співвідношення (та кратність зміни логарифму [$\Delta\log FC$]) порівнювались з відповідними значеннями в контрольних зразках (оброблених DMSO). Значення 0 відповідає ідентичним співвідношенням між двома варіантами в контрольних та оброблених зразках. Загальні результати: ридиплам коригує дисфункціональний сплайсинг гена SMN2 людини <i>in vitro</i> із кількісним включенням екзона 7 і створенням повнорозмірної мРНК. Окремо від SMN2 лише кілька генів, включаючи FOXM1, STRN3 і SLC25A17 були ідентифіковані як альтернативно сплайсовані.

	Для ідентифікації вторинних фармакологічних ефектів модифікатора сплайсингу SMN2 (рисдиплам і RO6885247) вибрані тканини селезінки, шкіри, сітківки і судинної оболонки/пігментного епітелію сітківки яванських макак аналізувались за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції із зворотною транскрипцією, специфічної для чотирьох вторинних мішеней сплайсингу (APLP2, FOXM1, MADD, STRN3) [звіт № 1067982]. Пов'язані із сполукою зміни альтернативного сплайсингу були більш вираженими для рисдипламу, ніж для RO6885247 в умовах цього дослідження. Окрім того, аналіз сплайсингу із аналізом обраного маркера свідчить лише про незначний вплив на ці маркери в сітківці та судинній оболонці/пігментному епітелію сітківки яванських макак у порівнянні з ефектами, що спостерігались в селезінці та шкірі. Дослідження з подібним дизайном та результатами було виконане у щурів [звіт № 1068196]. <u>Взаємодії між рецептором, ферментом і каналом</u> Рисдиплам і метаболіт M1 вивчались на предмет ненаправленої дії (включаючи мішені, які вважались важливими для вивчення аддиктивного потенціалу) <i>in vitro</i> в концентрації для однократного тесту 10 мМ в аналізі радіолігандного зв'язування та ферментативному аналізі, вивчаючи 101 різну ділянку зв'язування або ферментативні мішені (радіолігандне зв'язування: 69 ділянок у людини і 13 у щурів; 19 ділянок ферментів у людини) [звіт № 1087510]. В цих дослідженнях і рисдиплам і M1 інгібували COX1 та COX2 ($IC_{50} \sim 2$ мкМ) та ацетилхолінестеразу ($IC_{50} \sim 0,6$ мкМ). Рисдиплам також інгібував гістамінові рецептори H3 та мускаринові рецептори M1 із значеннями K_i 1 та 5 мкМ відповідно. Не було встановлено, чи ці сполуки були агоністами або антагоністами в цих ділянках. Рисдиплам інгібував δ-опіоїдний рецептор на 62% при первинному скринінгу, при цьому при повторному аналізі було виявлено лише 35% інгібування при 10 мкМ. Це може бути пов'язаним з обмеженнями розчинності сполуки в найвищій випробовуваній концентрації. Концентрація IC_{50} не розраховувалась, однак вважалась > 3 мкМ на підставі найнижчої досягнутої концентрації в аналізі стабільності/розчинності.
3) фармакологія безпеки	Повний набір досліджень фармакології безпеки <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i> не продемонстрував будь-яких доказів щодо будь-яких ефектів рисдипламу на функції серцево-судинної системи, ЦНС або респіраторної системи. В оцінених за допомогою телеметричного обладнання мавп (3 самців + 3 самок), які отримали однократну дозу рисдипламу, найвища випробовувана доза (7,5 мг/кг) не спричинила зміни

	тиску в лівому шлуночку або параметрів системного артеріального тиску, ЧСС, інтервалів ЕКГ та температури тіла. Доза без видимого ефекту (NOEL) в цьому дослідженні вважалась щонайменше на рівні 7,5 мг/кг, із загальною концентрацією в плазмі крові (C_{max}) 894 ± 236 нг/мл (середня $\pm$ стандартне відхилення; $n=6$) [звіт № 1062902]. Рисдиплам не спричиняв суттєвого зниження вихідного струму K^+ в концентраціях до найвищої випробовуваної концентрації 5 мкМ на основі його розчинності в випробовуваному буфері. Ці результати свідчать, що рисдиплам не повинен блокувати реполяризовуючий струм через канали hERG K^+ in vivo в вільних кардіальних концентраціях до 5 мкМ, які еквівалентні вільній концентрації в плазмі ~ 2000 нг/мл (що відповідає 18000 нг/мл загальної концентрації в плазмі крові у людини) [Звіти № 1064272, 1075143]. Вплив рисдипламу на функцію центральної нервової системи (ЦНС) вивчався у самців щурів лінії Вістар за допомогою модифікованого тесту Ірвіна. Однократний пероральний прийом рисдипламу в найвищій випробовуваній дозі (10 мг/кг) не впливав на загальну поведінку, моторну активність чи координацію, сенсорні/моторні рефлексії чи температуру тіла. Тому NOEL вважається рівною або більшою 10 мг/кг [Звіт № 1064342]. Респіраторна функція після однократного перорального прийому рисдипламу вивчалась за допомогою загальної плетизмографії у самців щурів лінії Вістар в умовах вільної поведінки [Звіт № 1064343]. Застосування рисдипламу в найвищій випробовуваній дозі (9 мг/кг) не впливало на респіраторну функцію. В контексті цього дослідження NOEL для респіраторної функції вважається рівною або більшою 9 мг/кг.
4) фармакодинамічні взаємодії	Дослідження фармакодинамічної взаємодії між лікарськими засобами не проводились.
3. Фармакокінетика:	
1) аналітичні методики та звіти щодо їх валідації	Концентрація рисдипламу (RO7034067) та його метаболіту M1 в зразках плазми та тканин різних видів тварин протягом доклінічних досліджень (миші, кролики, щури, яванські макаки) та в зразках досліджень in vitro (включаючи матрикс людини) визначалась кількісно за допомогою рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією (LC-MS/MS). Методи LC-MS/MS ґрунтувались на екстрагуванні преципітації білка, хроматографічному розділенні оборотної фази і мас-спектрометричному детектуванні в режимі контролю селективних реакцій позитивних іонів. В залежності від вимог дослідження методи були пошуковими, кваліфікованими або валідованими відповідно до поточних регуляторних керівництв

	[EMA 2011, FDA 2001]. Звіти про валідацію наведені у Модулі 4.2.2.1.
2) всмоктування	Всмоктування – загальний фармакокінетичний профіль <u>Проникність in vitro</u> Рисдиплам і M1 є молекулами з високою проникністю. Проникність рисдипламу і M1 в лініях LLC-PK1 становить 350 нм/с і 310 нм/с відповідно, в клітинах MDCKII – 318 нм/с і 522 нм/с відповідно. Рисдиплам не є субстратом білка 1 множинної лікарської резистентності у людини (MDR1) і максимум слабким субстратом білка резистентності раку молочної залози людини (BCRP). M1 є слабким або хорошим субстратом MDR1 людини і слабким субстратом BCRP людини [Звіти № 1066927, 1087637, 1090180, 1081903]. Фармакокінетика рисдипламу оцінювалась після внутрішньовенного, перорального або інтраперитонеального введення у тих самих видів/ліній у подібному віці, як і в токсикологічних чи фармакологічних дослідженнях (в усіх дослідженнях на дорослих тваринах використовувались самці, для виводку статі не встановлювали): - щури лінії Вістар віком 4, 12 та 21 день після народження і дорослі [Звіти № 1064408, 1064409]; - віком 10 днів після народження миші дикого типу або гетерозиготні миші FVB з колонії delta7 [Звіт №1063287]; - дорослі голландські кролики [Звіт №1078251] (новозеландські кролики використовувались в дослідженнях репродуктивної токсичності); - дорослі яванські макаки [Звіт №1064410]. Після внутрішньовенного введення період напіввиведення був коротким, кліренс був низьким і об'єм розподілу рисдипламу був помірним у щурів та мавп. Після перорального прийому біодоступність була від помірної до високої в обох видів. Період напіввиведення був довшим і t_{max} відстроченим у молодого виводку (щури віком 4 і 12 днів після народження) у порівнянні із щурами старшого віку.
3) розподіл	<u>In vitro зв'язування з білками плазми крові і розподіл в еритроцитах</u> Зв'язування рисдипламу і його основного метаболіту M1 з білками плазми крові є помірним (вільна фракція 7–11%) без суттєвих відмінностей між видами у дорослих [Звіт №1066030 (рисдиплам), Звіт №1084838 (M1)]. Для вільної фракції рисдипламу була показана сильна залежність від віку у щурів із значно більшою фракцією та високою міжіндивідуальною варіабельністю у нестатевозрілих щурів (до 90% в плазмі щурів віком 4 дні після народження – із високою варіабельністю – у порівнянні з 16% у дорослих) [Звіти № 1068283, 1074560]. Залежність від віку була менш помітною у

мишей (вільна фракція 27% у мишей віком 11 днів після народження проти 12% у дорослих) [Звіт №1068283] і мавп (вільна фракція 25% у мавп віком 10 днів після народження проти 14% у тих самих мавп віком 6 місяців, n=3) [Звіт №1090306].

На відміну від нестатевозрілих тварин, рисдилам продемонстрував подібне зв'язування з білками плазми у людини від народження до дорослого віку. Дослідження *in vitro* у дітей проводились із застосуванням плазми крові людини із пуповинної крові, новонароджених та дітей (особи не із СМА та пацієнти із СМА 1, 2 і 3 типу) [Звіт №1077760].

В плазмі людини рисдилам зв'язується з альбуміном сироватки крові без будь-якого зв'язування з альфа-1 кислим глікопротеїном [Звіт №1066030].

Дослідження *in vitro* показали, що не відбувалось вираженого розподілу рисдилам у еритроцити у людини, шурів і мавп, з *in vitro* розподілом у плазмі крові на рівні 1,3, 0,9 і 1, відповідно [Звіт №1066030].

Зв'язування меланіну *in vitro*

Зв'язування меланіну рисдиламом *in vitro* оцінювалось у випробовуваній концентрації від 1 до 10 мкМ із використанням меланіну сепії звичайної (*Sepia officinalis*). Зв'язування з меланіном було дуже сильним із середнім значенням незв'язаної фракції менше 0,1% при 1 мкМ і близько 0,2% при 10 мкМ [Звіт №1066867].

Дослідження розподілу в тканинах *in vitro* (печінкове захоплення)

Печінкове захоплення рисдилам *in vitro* не було чутливим до інгібітору поліпептиду-переносника органічних аніонів (ОАТР) рифаміцину SV (100 мкМ) [Звіт №1098464]. Тому рисдилам не вважається субстратом ОАТР людини. Вірогідно, що на печінкове захоплення переважно впливає пасивна дифузія, що співпадає з високою пасивною проникністю (>300 нм/сек).

Дослідження розподілу в тканинах *in vivo* (немічений матеріал)

Розподіл в тканинах і елімінація після однократного або повторного перорального прийому або інтраперитонеального щоденного введення неміченого рисдилам оцінювалися як первинна або вторинна кінцеві точки в різних фармакокінетичних (ФК), фармакодинамічних і токсикологічних дослідженнях на мишачих моделях СМА, альбіносах і пігментованих щурах і мавпах.

Розподіл в ЦНС

Рисдилам добре проникає в ЦНС, із тенденцією до дещо меншої концентрації в мозку у порівнянні з концентрацією в

плазмі у мишей та мавп, що співпадає з властивостями субстрату MDR1 і BCRP у мишей [Звіти № 1081903, 1087637].

Рівень лікарського засобу знизився паралельно в плазмі, мозку та спинномозковій рідині в усіх видів і не виявлявся в довгострокових дослідженнях після періоду відмивання, що підтверджує відсутність кумуляції в тканинах [Звіти № 1063584, 1065114].

Розподіл в м'язах

Рисдиплам добре проникає в тканини м'язів із концентрацією в тканинах подібною до такої в плазмі крові у мишей, щурів і мавп. Рівень препарату швидко і паралельно знижувався в плазмі та м'язах щурів після завершення лікування [Звіти № 1063288, 1065261, 1067462].

Розподіл в інших органах, що уражаються при СМА

В дослідженні розподілу в тканинах у мишей [Звіт №1065261], концентрація рисдипламу в м'язах, мозку, серці і гортані була порівняльною із загальною концентрацією в плазмі із різницею менше ніж в 2 рази між двома тваринами через 7 днів щоденного застосування. Концентрація рисдипламу в кістковому мозку та селезінці продемонструвала високу міжіндивідуальну варіабельність, а співвідношення концентрації рисдипламу в тканині селезінки/плазмі було >2 . Співвідношення в тканині/плазмі було вищим в нирках (10), печінці та дванадцятипалій кишці (33 для обох органів). У двох інших тварин, яких умертвили через 6 тижнів після отримання останньої дози, концентрація рисдипламу в м'язах, мозку, серці, дванадцятипалій кишці, селезінці, яєчках та гортані була менше 1 нг/г (нижче 1 нг/мл для плазми крові та спинномозкової рідини) і близько 4 нг/г в печінці та нирках.

Розподіл в очах

У щурів-альбіносів співвідношення концентрацій рисдипламу в тканинах різних субструктур ока та в плазмі крові було рівним або меншим одиниці. У пігментованих щурів та мавп розподіл рисдипламу в меланінвмісних частинах ока (судинна оболонка ока і пігментний епітелій сітківки, райдужка, склера) був суттєво більшим ніж в непігментованих структурах ока (сітківка, кришталік, склоподібне тіло) або в інших частинах тіла (м'язи, мозок, спинномозкова рідина), що співпадає із спостережуваним зв'язуванням меланіну *in vitro*. Після періоду без лікування концентрації рисдипламу все ще були суттєво високими в очах, особливо в меланінвмісних частинах у пігментованих щурів та мавп, хоча чітко знижались після завершення лікування, що таким чином свідчить про помітну елімінацію [Звіти № 1063584, 1064057, 1065261, 1067462].

Дослідження розподілу в тканинах *in vivo* (QWBA)

	Розподіл в тканинах після однократного перорального введення (5 мг/кг) і однократного внутрішньовенного введення (2 мг/кг) ^{14}C-рисдипламу самцям-альбіносам і частково пігментованим щурам вивчався за допомогою кількісної авторадіографії всього тіла [Звіт №1065260]. Тканинами, в яких була виявлена найвища концентрація протягом усього періоду дослідження (168 годин), були навколоушна залоза, залоза крайньої плоті, позаорбітальна слюзна залоза, інтраорбітальна слюзна залоза, наднирники (кіркова та мозкова речовина), слинні залози, мейбомієва залоза, бульбоуретральна залоза і щитоподібна залоза. Тканини, які мали невелику експозицію радіоактивності, включали мозок (співвідношення мозок:плазма крові = 1), спинний мозок, білий жир, шерсть і кришталік ока. У пігментованих щурів вищий рівень радіоактивності вимірювався в пігментованій шкірі порівняно з непігментованою шкірою. Високий рівень радіоактивності асоціювався з увеальним трактом/сітківкою у частково пігментованих щурів, однак рівень був низьким у щурів-альбіносів. <u>Проникнення через плаценту (QWBA)</u> Проникнення через плаценту аналізувалось шляхом вивчення рівня радіоактивності у вагітних самок щурів після однократного перорального введення ^{14}C-рисдипламу. Радіоактивність проникала через плацентарний бар'єр, при цьому радіоактивний рівень був присутнім в кількісно вимірюваних рівнях у плода (і в окремих тканинах плода) через 30 хвилин та до 24 годин після введення. Рівень радіоактивності був меншим межі кількісного визначення у плода через 72 години [Звіт №1084364].
4) метаболізм	Метаболізм рисдипламу in vitro <u>Метаболізм в гепатоцитах людини і мікосомах печінки</u> Рисдиплам був відносно метаболічно стабільним при інкубуванні з мікосомами та гепатоцитами печінки людини, при цьому відповідно $\geq 89\%$ і $\geq 98\%$ вихідного лікарського засобу залишалося у незміненому вигляді після інкубації. Основною ділянкою біотрансформації був компонент піперазину. N-гідроксиметаболіт M1 був виявлений в мікосомах печінки і зразках гепатоцитів усіх видів. Усі інші метаболіти утворились в мікосомах печінки і гепатоцитах щонайменше 3 видів. Додаткові суттєві метаболіти не спостерігались після інкубування з мікосомами та гепатоцитами інших видів [Звіт №1062728]. <u>Метаболізм за допомогою рекомбінантно експресованих ферментів людини</u> Інкубування неміченого і ^{14}C-рисдипламу із рекомбінантними ферментами CYP і FMO людини показало, що рисдиплам може метаболізуватись за допомогою як FMO1, так і FMO3, а також

CYP 1A1, 2J2, 3A4 і 3A7. Множинні продукти окисного метаболізму утворювались у результаті дії кожного ферменту, при цьому ферменти FMO сприяють шляху N-окислення для утворення M1. M1 утворюється у результаті дії таких ферментів як FMO1 так і FMO3, а також CYP 1A1, 2J2 і 3A [Звіти № 1062728, 1066973, 1092235].

Дослідження хімічного інгібування в мікосомах печінки, нирок і кишечника людини

При мікосомальних інкубаціях метаболізм рисдипламу (10 мкМ) був найінтенсивнішим в печінці (24%), далі в нирках (9%) та кишечнику (2%). Таким чином метаболізм може відбуватись в печінці, нирках і кишечнику і при цьому очікується, що печінка є основним органом метаболічного кліренсу.

Дослідження хімічного інгібування продемонстрували, що ферменти FMO і CYP3A були основними ферментами, які здійснюють метаболізм рисдипламу [Звіти № 1066973, 1092235].

Вивчення залежності від віку власного кліренсу in vitro

Популяція зразків мікосом печінки людини від 39 окремих донорів, включаючи дітей, використовувалась для безпосереднього вивчення потенціальної вікової різниці у власному кліренсі. Збільшення інтенсивності метаболізму рисдипламу спостерігалось між віковими групами 0–6 місяців, 6 місяців–2 роки і 2–6 років [Звіт №1089229].

Ковалентне зв'язування

Ковалентне зв'язування рисдипламу вивчалось за допомогою ¹⁴C-міченого рисдипламу в мікосомах печінки людини [Звіт №1066482]. Показник ковалентного зв'язування рисдипламу знаходився в низькому діапазоні (вихідне скориговане значення 59 пмоль/мг зменшилось до 20 пмоль/мг в присутності глутатіону).

Метаболізм M1 in vitro

Метаболіт M1 може метаболізуватися далі під впливом багатьох ферментів CYP і FMO, включаючи CYP 1A1, 2C8, 2C19, 2J2, 3A4 і FMO 1 та 3. З них CYP2J2, CYP3A4, FMO1 і FMO3 є найбільш активними [Звіт №1092235].

Метаболізм in vivo

Метаболізм in vivo у щурів та мавп

Пошукова ідентифікація метаболіту в плазмі крові щурів (дорослі та нестатевозрілі) та мавп після перорального введення неміченого рисдипламу свідчить про те, що вихідний препарат був основною циркулюючою речовиною, представляючи більше 84% в обох видів. M1, M6 і M7 були виявлені в плазмі крові мавп і M2, M3, M4 та M5 були виявлені у вигляді циркулюючих компонентів в слідовому рівні в обох видів [Звіт №1062728].

Подальше характеризування метаболіту проводилось після введення ¹⁴C-рисдипламу інтактним щурам та щурам з

	канюльованою жовчною протокою (BDC) [Звіт №1068338]. Найбільш поширеною асоційованою з препаратом речовиною в плазмі крові, фекаліях та сечі був незмінений лікарський засіб. Найбільш поширеним циркулюючим метаболітом був M1, представляючи 4% асоційованої з препаратом речовини в плазмі через 1 годину після перорального введення. В екскрементах незмінений вихідний лікарський засіб складав 50% перорально прийнятої дози, у той час як M5 був найбільш поширеним метаболітом, ідентифікованим в фекаліях та сечі. У щурів BDC після внутрішньовенного введення 19% дози виводилось із жовчю, а незмінений лікарський засіб склав 0,8% дози. В сечі були виявлені метаболіти, які утворились в результаті біотрансформації фрагментів піперазину та імідазопіридазину та кон'югації сульфатів. Жоден окремий метаболіт в сечі не становив більше 2% від дози. Результати у BDC після перорального введення були дуже подібними [Звіт №1068338].
5) виведення	Виведення після однократного перорального або внутрішньовенного введення ^{14}C-рисдипламу щурам вивчалось в двох окремих дослідженнях [Звіти № 1065260, 1068338]. Більшість сумарної введеної радіоактивності виводилась з фекаліями, при цьому з сечею виводилась набагато менша кількість. Після внутрішньовенного введення щурам BDC 19% дози виводилось з жовчю. Після введення неміченого рисдипламу щурам (внутрішньовенно або перорально) або яванським макакам (перорально) максимум 2,4% (щури) або менше 1% дози (мавпи), відповідно, виводилось в незміненому вигляді з сечею [Звіти №1065261, 1068338]. Екскреція в молоко оцінювалась вивченням рівня радіоактивності в молоці та плазмі крові лактуючих самок щурів-альбіносів (дозування приблизно через 10 днів після пологів) після однократного перорального прийому ^{14}C-рисдипламу. Середнє співвідношення концентрації в молоці по відношенню до плазми становило від 1,2 до 3,5 із невеликою міжіндивідуальною варіабельністю. Період напіввиведення радіоактивності в молоці та плазмі крові становив 14 годин та 8 годин, відповідно [Звіт №1084368].
6) фармакокінетичні взаємодії (доклінічні)	<u>Потенціал щодо впливу інших лікарських засобів на фармакокінетику рисдипламу</u> Висока проникність рисдипламу свідчить про низький ризик впливу інших препаратів на рисдиплам внаслідок лікарської взаємодії, обумовленої транспортерами. <u>Потенціал щодо впливу рисдипламу та M1 на фармакокінетику інших лікарських засобів</u> <i>Інгібіція (оборотна і TDI) та індукція CYP</i>

	Рисдиплам та його основний метаболіт М1 не інгібували (оборотна інгібіція або інгібіція, залежна від часу [TDI]) будь-який з випробовуваних ферментів CYP (CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19 і 2D6), за винятком CYP3A4. Рисдиплам та його основний метаболіт М1 не індукували будь-який з випробовуваних ферментів CYP (1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19 і 3A4) [Звіти № 1064537, 1069486, 1077033, 1090549, 1090966]. <i>Інгібіція транспортерів лікарських засобів</i> Рисдиплам і М1 не інгібували будь-які білки-транспортери лікарських засобів, що вивчались in vitro [Звіти № 1066927, 1067280, 1074124, 1081903, 1087637] за винятком наступного: - Рисдиплам є інгібітором OCT2, MATE1 та MATE2-K in vitro; - М1 є інгібітором BCRP та MATE1 in vitro. На підставі системної та місцевої концентрацій рисдипламу та М1 єдиними очікуваними клінічно значимими ризиками взаємодії з іншими лікарськими засобами через вплив на транспортери пов'язані з інгібіцією рисдипламом MATE1 та MATE2-K. Таким чином, на підставі даних, отриманих in vitro, не можна виключити потенціалу щодо взаємодії рисдипламу або М1 при одночасному застосуванні з іншими лікарськими засобами, які є субстратами або інгібіторами CYP3A4 або субстратами ниркових транспортерів MATE1 та MATE2-K.
7) інші фармакокінетичні дослідження	Фармакокінетичний профіль рисдипламу вивчався після багатократного перорального введення протягом 10 днів (0,25 мг/кг/день) у самок яванських макак. Протягом періоду дозування не спостерігалось залежного від часу кліренсу. Експозиція збільшувалась лише незначно при коефіцієнті накопичення до 2,5 [Звіт №1059567]. <u>Фармакокінетика/токсикокінетика/метаболізм у нестатевозрілих щурів</u> Фармакокінетичний профіль рисдипламу вивчався у щурів до і після відлучення від грудного годування, починаючи з 4 дня після народження і порівнювався з таким у дорослих в фармакокінетичних та токсикологічних дослідженнях однократної дози. Загальна експозиція рисдипламу збільшилась релевантно (з 4 по 14 день після народження), вірогідно через накопичення у результаті більш повільного виведення ($t_{1/2}$ 15 і 20 годин в 4 і 12 дні після народження), і після цього зменшувалась на 31 день після народження до загальної AUC, подібної до такої, що спостерігалась на 4 день після народження. Загальна експозиція на 31 день після народження співпадала з експозицією у інших дорослих щурів. У потомства на 4 та 12 день після народження рисдиплам також продемонстрував відстрочений t_{max} (7 годин) у порівнянні з щурами на 31 день

	після народження та дорослими щурами (3 години) [Звіти № 1063098, 1064408, 1065114, 1066709, 1088815]. Вільна фракція в плазмі крові щурів сильно залежала від віку і характеризувалась високою міжіндивідуальною варіабельністю. Пошукова ідентифікація метаболіту в плазмі крові щурів продемонструвала, що метаболічний профіль суттєво не відрізнявся у нестатевозрілих щурів (вивчався один окремо взятий момент часу) у порівнянні з дорослими щурами. Відсоток вихідної молекули в зразках плазми крові був дещо меншим у нестатевозрілих щурів на 10 день після народження (88%) у порівнянні з дорослими щурами (>98%) [Звіт №1062728]. В 4-тижневому дослідженні ювенільної токсичності співвідношення M1 до вихідного лікарського засобу становило 32% на 4 день після народження, 19% – на 12 день після народження і 24% – на 31 день після народження [Звіт №1088815]. Експозиція людини після перорального прийому ризидипламу була прогнозована за допомогою фармакокінетичної моделі, оснований на фізіології (PBPK) із використанням програмного забезпечення Gastro Plus версії 8.6 [Звіт №1066664]. На підставі отриманих <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i> доклінічних даних було прогнозовано, що ризидиплам буде добре всмоктуватись у людини (>90%), демонструвати досить повільний метаболізм ($t_{1/2}$ в плазмі крові в діапазоні 10–70 годин) із значним розподілом в тканинах (V_{ss} в діапазоні від 2,56 до 5,32 л·кг⁻¹). Очікувалось, що фармакокінетичний профіль буде лінійним у людини, оскільки нелінійні процеси не були ідентифіковані. З метою прогнозування ефективної дози у людини для ризидипламу була застосована фармакокінетично-фармакодинамічна модель, розроблена раніше для молекули аналогічного хімічного класу з таким самим механізмом дії (RO6885247). Дана модель була валідована на основі даних, отриманих у здорових добровольців та пацієнтів із СМА. В цій моделі вважалось, що лише незв'язаний (вільний) лікарський засіб в плазмі крові є фармакологічно активним. Цей фармакологічно активний лікарський засіб збільшував рівні повнорозмірної мРНК SMN2 в тканинах, що призвело до збільшення рівня білка SMN у відповідних тканинах. Параметр моделі EC₅₀ описує концентрацію, яка забезпечує половину максимального збільшення рівня повнорозмірної мРНК SMN2 <i>in vivo</i>. <i>In vitro</i> експериментально визначена EC₅₀ для ризидипламу була в діапазоні від 2,53 до 11,5 нг/мл [Звіт №1066984], відповідно до спостережень в цільній крові людини та фібробластах людини.
4. Токсикологія:	
1) токсичність у разі одноразового введення	Спеціальні дослідження вивчення токсичності у разі одноразового введення не проводились. Відповідно до ICH

	M3(R2) ознаки токсичності після одноразового введення оцінювались під час досліджень токсичності у разі повторних введень, зокрема в дослідженнях короткострокової тривалості лікування та високих доз.
2) токсичність у разі повторних введень	Була виконана комплексна програма токсикологічних досліджень у разі повторних введень з метою оцінки профілю безпеки ризиків. В усіх дослідженнях ризиків вводився через шлунковий зонд, тобто подібно до планованого клінічного шляху введення. Подібно до форми випуску для людини, ризиків давався у вигляді орального розчину, стабілізованого аскорбіною кислотою, в усіх дослідженнях на тваринах. Були виконані наступні дослідження. <u>Небазові дослідження</u> ✓ <i>Звіт №1061416: RO7021707 і RO7034067: 14-денне базове токсикологічне дослідження перорального (через зонд) введення у щурів з наступним 14-денним періодом без лікування.</i> Вид/лінія: щури/Вістар Ганновер Crl:WI (Han). Дози: 0; 0,75; 2,5; 7,5 мг/кг/день один раз на день. Тривалість дозування: 2 тижні з наступним відновленням протягом 2 тижнів. Результати, що варті уваги: У дозі 7,5 мг/кг/день: у самців знижений приріст маси тіла на 19% і зменшення споживання їжі; мінімально підвищений апоптоз у криптах дванадцятипалої кишки, тонкої кишки, клубової кишки у самок. Аналіз експресії генів виявив сплайсінг транскриптів генів MADD, STRN3, APLP2 в селезінці, дванадцятипалій кишці та яєчках. Не спостерігалось клінічних ознак, знахідок при оцінюванні офтальмоскопії, клінічної патології, маси органів, макропатології, а також знахідок після періоду відновлення. Транскрипти генів SMN1 і FOXM1 залишились незмінними. Рівень відсутності спостережуваних небажаних ефектів (NOAEL) для RO7021707 був ідентифікований як 30 мг/кг/день; для RO7034067 (ризиків) був ідентифікований на рівні 7,5 мг/кг/день. <i>Звіт №1061651: RO7021707 та RO7034067: дослідження токсичності максимальної переносимої дози з наступним 2-тижневим пероральним введенням (зонд) у мавп.</i> Вид/лінія: макаки яванські. ✓ Резюме та висновки: RO7021707 і RO7034067 (ризиків) застосовувались щоденно одній парі яванських макак для кожної випробовуваної речовини з метою вивчення максимальної переносимої дози. RO7021707 застосовувався в дозі 1,5, 5, 12 і 24 мг/кг/день протягом п'яти днів поспіль для кожного рівня дози, а RO7034067 подібним чином вивчався в дозі 1, 3, 10 і 20

мг/кг/день. RO7034067 перевищив максимальну толерантність при 20 мг/кг/день і для обох тварин було застосовано евтаназію передчасно після введення двох доз через надмірні клінічні ознаки та втрату ваги. Ефекти випробовуваної речовини також включали клінічні патологічні зміни і гістопатологічні зміни шкіри/підшкірної клітковини, повік, язика, шлунково-кишкового тракту, гортані і яєчок. RO7021707 переносився в усіх випробовуваних дозах.

Рисдиплам випробовувався в наступній фазі застосування в фіксованій дозі, в якій дози 0, 0,75, 1,5, 3 і 6 мг/кг/день застосовувались протягом 2 тижнів і переносились добре. При застосуванні дози 6 мг/кг/день спостерігались пов'язані з випробовуваною речовиною гістопатологічні зміни мінімальної тяжкості з боку шкіри/підшкірної клітковини, повік і порожньої кишки. Мікроскопічні ефекти не спостерігались при застосуванні дози 3 мг/кг/день, яка асоціювалась з показниками системної експозиції (AUC_{0-24h}) і C_{max} на 14 день у самців/самок відповідно 3130/6720 (нг•год)/мл і 378/604 нг/мл. Тому вважалось, що дози до 6 мг/кг/день вірогідно будуть мати добру переносимість в наступних дослідженнях у разі повторних введень.

Звіт №1073193: RO7034067: дослідження токсичності та токсикокінетики при 7-денному підборі діапазону доз у 001178-W (дикого типу) RasH2 мишей.

Вид/лінія: миші/RasH2

Дози: 0; 10; 20 (група 5); 30; 100 мг/кг/день.

Тривалість дозування: 7 днів, один раз на день, із наступним 14 денним відновленням.

Самці та самки RasH2 (дикого типу) мишей початково були розділені на чотири групи. Через знахідки в групах дозування 30 і 100 мг/кг/день 10 тварин із токсичністю/стать/групу були переведені в групу 5. Дозування в групі 5 було розпочате через 8 днів після початку в групах 1–4.

Результати, що варті уваги:

≥ 30 мг/кг/день: з дня 4 (у дозі 100 мг/кг/день) і дня 5 (у дозі 30 мг/кг/день) і в подальшому наступні клінічні спостереження: згорблений зовнішній вигляд, гіпоактивність, пілоерекція, атаксія, косоокість, холодне на дотик тіло, зелені виділення із статевих органів, несформований кал і/або груба шерсть, що корелювали зі зменшенням споживання їжі та втратою маси тіла. Тварини в групах доз 100 і 30 мг/кг/день були умертвлені в дні 4 і 5, відповідно.

Клінічними патологічними ефектами були помітне зниження абсолютного числа ретикулоцитів без помітного зменшення маси еритроцитів, що свідчило про зменшення еритропоезу. Усі інші гематологічні та клінічні біохімічні зміни вважались

результатом стресу, зневоднення, і/або зменшення споживання їжі або маси тіла.

У тварин, які отримували рисдиплам в дозі ≤ 20 мг/кг/день, не спостерігалось зв'язаних з рисдипламом клінічних спостережень або змін маси тіла або споживання їжі. В жодній групі не спостерігалось пов'язаних з рисдипламом макроскопічних змін або змін маси органів.

В умовах цього дослідження максимальна переносима доза становила 20 мг/кг/день. Ця доза відповідала рівню експозиції (самці/самки на 7 день) $C_{\max}$ 1760/1480 мкг/мл і AUC_{0-24h} 20000/22500 мкг•год/мл.

Базові дослідження

Звіт №1063584: RO7034067: 39-тижневе дослідження токсичності перорального введення (через зонд) в мавп із періодом без лікування протягом 22 тижнів.

Вид/лінія: Мавпи/яванські; початковий вік: 24–26 місяців.

Тривалість дозування: 39 тижнів.

Тривалість періоду після дозування: 22 тижні.

Добова доза (мг/кг): 0 (контроль); 1,5; 3; 7,5/5 (тварини в групі високої дози отримували 7,5 мг/кг/день в період з 1 по 12 день. Після періоду без лікування в дні 13–25 дозування відновили в дозі 5 мг/кг/день, починаючи з 26 дня).

Висновок: введення рисдипламу яванським мавпам протягом 39 тижнів асоціювалось в основному з клінічними ознаками з боку шкіри тварин, яким вводили дозу 7,5/5 мг/кг/день, що корелювало з мікроскопічними змінами без несприятливого ефекту у вигляді епідермальної гіперплазії. Окрім того, пов'язані з дозою у частоті та тяжкості функціональні (за результатами елетроретинограми [ЕРГ]) і морфологічні (злаякісна дегенерація сітківки) зміни в очах спостерігались у тварин, яким вводили дозу 3 або 7,5/5 мг/кг/день. Викликаний потенціал зорового нерва у відповідь на спалах підтримувався, що свідчить про неушкоджену проекцію аксонів гангліонарних клітин сітківки в таламус і кору головного мозку у тварин, які отримували високу дозу, незважаючи на дисфункцію сітківки, що спостерігалась за результатами ЕРГ і sdOCT. Тимус (без несприятливого ефекту) самок, яким вводили дозу 7,5/5 мг/кг/день, також був ідентифікований як мішень пов'язаних з випробовуваною речовиною гістопатологічних змін (атрофія тимусу, що супроводжувалась зменшенням розміру тимусу і відносної маси).

В кінці 22-тижневого періоду відновлення дегенерація сітківки в області від середини до периферичної області сітківки була присутньою в очах самців та самок, які раніше отримували дозу 7,5/5 мг/кг/день, що свідчить про те, що під час періоду відновлення не було нормалізації пов'язаних з випробовуваною

речовиною змін в очах. Однак вакуолізація внутрішнього ядерного шару вже не спостерігалась і амплітуди ЕРГ збільшились до кінця фази відновлення. Не спостерігалось пов'язаних з випробовуваною речовиною змін шкіри (включаючи шкіру повік) і тимусу тварин, яким раніше вводили дозу 7,5/5 мг/кг/день, що свідчить про повну оборотність пов'язаних з випробовуваною речовиною змін в цих тканинах.

NOAEL вважався на рівні 1,5 мг/кг/день, що відповідає системній експозиції риздипламу 414/396 нг/мл (C_{max}) і 1870/2060 нг•год/мл (AUC_{0-24}) під час тижня 39 фази дозування у самців/самок.

Звіт №1064057: RO7034067: 4-тижневе дослідження токсичності перорального (через зонд) введення у щурів із 4-тижневим періодом без лікування.

Вид/лінія: щури/Вістар Ганновер Crl:WI (Han); початковий вік: 7 тижнів.

Тривалість дозування: 4 тижні.

Тривалість періоду після дозування: 4 тижні.

Дози: 0 (наповнювач), 1, 3 або 9 мг/кг/день один раз на день.

Чотири додаткові групи отримували аналогічне дозування, і для них проводилась оцінка токсикокінетики.

10 самців були додатково включені в основну групу дозування 3 мг/кг/день для визначення рівня риздипламу в плазмі крові, очах, мозку і шкірі.

Висновок: щоденне пероральне введення (через зонд) риздипламу щурам Crl: WI (Han) у дозі 1, 3 і 9 мг/кг/день протягом щонайменше 4 тижнів загалом добре переносилось. При застосуванні дози 9 мг/кг/день спостерігалось зниження приросту маси тіла у обох статей, гістологічні зміни (без несприятливого ефекту) в тимусі, яечках та шлунково-кишковому тракті, і виражене збільшення кількості мікроядерних еритроцитів в кістковому мозку. В умовах даного дослідження NOAEL вважався на рівні 3 мг/кг/день, при якому C_{max} і $AUC_{(0-24h)}$ на 28 день становили 584/684 нг/мл і 5450/5890 (нг•год)/мл для самців/самок, відповідно.

Звіт №1066289: RO7034067: дослідження токсичності 2-тижневого перорального (через зонд) застосування у мавп із 2-тижневим періодом без лікування.

Вид/лінія: Мавпи/яванські; початковий вік: 26–32 місяця.

Тривалість дозування: 2 тижні.

Тривалість періоду після дозування: 2 тижні.

Дози: 0 (наповнювач), 2, 4 або 6 мг/кг/день один раз на день.

Висновок: введення риздипламу яванським макакам у дозі 2, 4 або 6 мг/кг/день протягом 2 тижнів в основному асоціювалось із клінічними знахідками з боку шкіри в дозі 6 мг/кг/день, які корелювали із несприятливими мікроскопічними знахідками,

такими як паракератоз, запалення, ерозії/виразки та гіперплазія епідермісу. Окрім того, мішенями пов'язаних із випробовуваною речовиною гістопатологічних змін також були гортань у дозі 4 або 6 мг/кг/день (несприятливі у дозі 6 мг/кг/день), тимус у дозі 6 мг/кг/день (без несприятливого впливу) і яєчка у дозі 6 мг/кг/день (несприятливий вплив); наявність пов'язаних із випробовуваною речовиною знахідок в яєчках у самців при застосуванні дози 4 мг/кг/день і їх оборотність неможливо оцінити через статеву незрілість. Анатомічні знахідки з боку шкіри, гортані і тимусу показали повну оборотність. В умовах даного дослідження показник NOAEL вважався на рівні 2 мг/кг/день, що відповідає системній експозиції RO7034067 345 нг/мл ($C_{\max}$) і 2550 нг•год/мл (AUC_{0-24}) на 14 день поєднано для обох статей.

Звіт №1067365: дослідження токсичності 26-тижневого перорального застосування (через зонд) RO7034067 у щурів-альбіносів із наступним 8-тижневим періодом відновлення.

Вид/лінія: щури/Вістар Ганновер Crl:WI (Han); початковий вік: 7 тижнів

Дози: 1, 3, 7,5 мг/кг/день один раз на день.

Тривалість дозування: 26 тижнів.

Тривалість періоду після дозування: 8 тижнів.

Висновок: найвища доза 7,5 мг/кг/день призводила до передчасної смерті, несприятливих клінічних ознак і меншого середнього приросту маси тіла через мікроскопічні зміни в кишковому тракті та кістковому мозку. Пов'язані із застосуванням рисидипламу несприятливі мікроскопічні зміни були виявлені в яєчках при дозі ≥ 3 мг/кг/день, і в додатку яєчка одного самця при дозі 7,5 мг/кг/день. Пов'язані із застосуванням випробовуваної речовини ефекти (без несприятливого впливу) спостерігались в епітелії шлунково-кишкового тракту (в обох статей у дозі 7,5 мг/кг/день, лише самці у дозі 3 мг/кг/день), твердому піднебінні (в обох статей у дозі 7,5 мг/кг/день), підшлунковій залозі (самки у дозі ≥ 3 мг/кг/день і самці у дозі ≥ 1 мг/кг/день) і молочних залозах (лише самці у дозі 7,5 мг/кг/день); в тимусі (в обох статей у дозі 7,5 мг/кг/день), в статевих шляхах у самок в дозі ≥ 3 мг/кг/день; а також в наднирниках (в обох статей у дозі ≥ 1 мг/кг/день). Після 8-тижневого періоду відновлення зміни повністю зникли, за винятком наявності пігментації кори наднирників ліпофусцином/цериодом і змін в яєчках у дозі ≥ 1 мг/кг/день і в дозі 7,5 мг/кг/день, відповідно, для яких спостерігалось часткове відновлення. На основі знахідок в яєчках показник NOAEL був на рівні 1 мг/кг/день у самців, із асоційованою експозицією (день 182) $C_{\max}$: 203 нг/мл і AUC_{0-24} : 2200 год•нг/мл. У самок був встановлений показник NOAEL на рівні 3 мг/кг/день (день 182: $C_{\max}$: 768 нг/мл, AUC_{0-24} : 8830

год•нг/мл) на основі клінічних ефектів і смертності при застосуванні дози 7,5 мг/кг/день. Спостерігали деякі випадки ранньої смерті у дозі 7,5 мг/кг/день із гематологічними змінами та змінами з боку шлунково-кишкового тракту, що свідчать про те, що висока доза перевищує максимальну переносиму дозу (MTD).

Звіт №1067962: дослідження ретинопатії при 26-тижневому пероральному застосуванні (через зонд) RO7034067 і RO6885247 у пігментованих щурів.

Вид/лінія: щури/коричневі норвезькі; початковий вік: 8,5 тижнів.

Дози: 0 (референтна речовина);

- RO7034067 (рисдиплам) – 7,5/5 мг/кг/день (дозування 7,5 мг/кг/день було припинене на 47/46 день дослідження через тяжкі клінічні ознаки, а після періоду без лікування дозування було відновлене на 53/52 день дослідження в дозі 5 мг/кг/день);
- RO6885247 – 18 мг/кг/день.

Тривалість дозування: 26 тижнів.

Висновок: щоденне пероральне застосування рисдипламу щурам протягом періоду до 26 тижнів в дозах 7,5/5 мг/кг/день або RO6885247 в дозі 18 мг/кг/день протягом періоду до 26 тижнів не призвело до будь-яких ознак ретинопатії на основі результатів офтальмологічного огляду, ЕРГ, sd-OCT або гістопатологічного обстеження, при цьому рівноважний стан в судинній оболонці і сітківці був досягнутий до 13 тижня або раніше. Виявилось, що спостереження каламутного склоподібного тіла в області сітківки в очах тварин, які отримували випробовувану речовину, співпадали із знахідками в скловидному тілі при оптичній когерентній томографії.

Суттєва системна токсичність спостерігалась при застосуванні обох випробовуваних речовин. Застосування рисдипламу призводило до ранньої смерті через зменшення насиченості клітинами кісткового мозку у поєднанні із знахідками з боку кишечника; у тварин із запланованим умертвлінням спостерігалось зниження маси тіла і споживання їжі, зменшення маси еритроцитів, а також пігментація кори наднирників ліпофусцином/цериодом на 26 тижні. Введення RO6885247 призводило до ранніх смертей через фосфоліпідоз легень; у тварин із запланованим умертвлінням спостерігалось зниження маси тіла і споживання їжі, зменшення маси еритроцитів, а також кератопатія на 13, 19 і 26 тижнях.

Звіт №1077199: RO7034067: дослідження токсичності та токсикокінетики у разі повторних введень при 4-тижневому пероральному застосуванні (через зонд) та пошуку діапазону доз RO7034067 у 001178-W RasH2 мишей (дикого типу).

Вид/лінія: миші/ RasH2 (001178-W [дикого типу], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic); початковий вік: 8 тижнів.

Дози (мг/кг/день): 0 (контроль); 3; 9; 20/16 (дозування було призупинене в дні 17–19 через надмірні ефекти дози 20 мг/кг/день, а потім відновлене на 20 день в дозі 16 мг/кг/день і продовжувалось протягом 14 днів).

Тривалість дозування: 28 днів.

Висновок: пов'язані із застосуванням випробовуваної речовини клінічні зміни спостерігались при дозі 20 мг/кг/день, наряду із зниженням маси тіла та споживання їжі. Клінічні спостереження у цих тварин включали згорблену позу, гіпоактивну поведінку, косоокість, пілоерекцію та/або нерегулярне дихання. Пов'язані із застосуванням випробовуваної речовини мікроскопічні зміни спостерігались в шлунково-кишковому тракті та в кістковому мозку (дегенерація епітелію слизової оболонки кишечника і зменшення насиченості клітинами кісткового мозку в грудині та стегні). Клінічні патологічні зміни при застосуванні дози 20 мг/кг/день ймовірно корелюють з мікроскопічними змінами в кишечнику та кістковому мозку. Подібні зміни не спостерігались у тварин, які вижили та отримували дозу 16 мг/кг/день, яка вважалась NOAEL. Це свідчить не лише про стрімке зростання співвідношення доза-токсичність, а також і про повне відновлення тварин, яким раніше вводили дозу 20 мг/кг/день. Цей рівень дозування асоціювався з системною експозицією (день 29 фази дозування) і відповідав показникам C_{max} і AUC 1350/1230 нг/мл і 21200/15100 нг•год/мл RO7034067, відповідно, у самців/самок і 277/314 нг/мл і 2550/3210 нг•год/мл RO7112063 (M1), відповідно, у самців/самок.

Звіт №1076595: RO7034067: попереднє дослідження токсичності максимальної переносимої пероральної дози (через зонд) RO7034067 у кроликів.

Вид/лінія: новозеландські білі кролики.

Дози: 0 (референтна речовина); 3; 8; 16 мг/кг/день.

Тривалість дозування: 8 днів.

Результати, що варті уваги: Не спостерігалось жодних пов'язаних із застосуванням риздипламу ефектів на клінічний стан або проявів макропатології. Однак спостерігалось виражене зменшення споживання їжі при дозі 16 мг/кг/день і залежна від дози втрата ваги при застосуванні усіх рівнів дози (зниження на 2,6%, 4,6% і 6,5% при застосуванні доз 3, 8 і 16 мг/кг/день протягом дослідження, відповідно), які не вважались несприятливими через їх низьку величину.

Висновок: в умовах даного дослідження максимальна переносима доза риздипламу є близькою до 16 мг/кг і вважається перевищенням у вагітних самок кроликів при тривалішому

	дозуванні. Ця доза забезпечує середню загальну $C_{\max}$ 7270 нг/мл і середню загальну AUC_{0-24h} 71300 год•нг/мл для рисдипламу і 172 нг/мл і 1530 год•нг/мл, відповідно, для М1 після повторного дозування.
3) генотоксичність: in vitro	Проба Еймса, виконана в умовах належної виробничої практики (GLP) із застосуванням очищеної серії рисдипламу, що представляє комерційний спосіб синтезу, продемонструвала відсутність мутагенності для бактерій [Звіт №1063901]. За даними експерименту, який проводився із застосуванням відповідного розчинника (аскорбінова кислота/тіосульфатний буфер) і випробовуваної речовини належної чистоти, можна зробити висновок, що ні власне рисдиплам, ні жоден з його метаболітів, утворених за допомогою системи метаболічної активації, не є мутагенними в пробі Еймса. Рисдиплам збільшував частоту виявлення мікроядер в клітинах мишачої лімфоми L5178Y в найменшій спостережуваній ефективній концентрації близько 10 мкг/мл [Звіт №1063026]. Максимальний ефект спостерігався після витримки протягом 24 годин з періодом відновлення 24 години в концентрації 20 мкг/мл і асоціювався з вираженою цитотоксичністю. Для характеризування ефектів, що спостерігались in vitro, з більшою ретельністю, на клітинних лініях були виконані подальші механістичні дослідження [Звіт №1066849]. Дослідження виконувались на лімфобластній клітинній лінії ТК6 людини і в мишачій клітинній лінії лімфоми L5178Y. Отримані результати, зокрема в ТК6 клітинах людини, виключають прямий ДНК-реактивний, кластогенний механізм дії в концентраціях, сумісних з виживаністю клітини, і вказують на опосередкований не націлений на ДНК механізм (можливо анеугенний) індукції рисдипламом мікроядер в культивованих клітинах ссавців.
in vivo (включаючи додаткову оцінку з токсикокінетики)	В двох комбінованих дослідженнях безпосередніх ефектів препарату методами ДНК-комет та молекулярної нанотехнології (MNT) у щурів при застосуванні низьких доз до 1,5 мг/кг [Звіт №1059949] і доз до 25 мг/кг [Звіт №1063368], тканини печінки та порожньої кишки аналізувались на присутність розриву ниток ДНК методом ДНК-комет додатково до MNT із застосуванням кісткового мозку. Неможливо виявити розрив ниток ДНК при дозуванні, яке чітко асоціювалось із збільшенням числа мікроядерних еритроцитів. Застосування найвищої дози 25 мг/кг тричі протягом 48 годин призводило до збільшення числа еритроцитів, які містять мікроядра, що асоціювалось з ознаками токсичності для кісткового мозку (зменшення співвідношення поліхромні еритроцити/нормохромні еритроцити), однак при застосуванні доз 6 і 12,5 мг/кг/день збільшення частоти мікроядер не асоціювалось з ознаками токсичності. В дозі

	3 мг/кг/день не спостерігався вплив на частоту мікроядерних поліхромних еритроцитів. Окрім того, дослідження мікроядер були об'єднані з 4-тижневим дослідженням токсичності у щурів [Звіт №1064057] і 13-тижневим дослідженням токсичності у нестатевозрілих щурів [Звіт №1065114]. В цих дослідженнях ризик збільшував частоту мікроядерних поліхромних еритроцитів сублінійно, залежно від дози, при цьому доза 3 мг/кг/день була критичною дозою, при якій слабкий ефект починав спостерігатись в 4-тижневому дослідженні у самок і в 13-тижневому дослідженні ювенільної токсичності, в яких збільшення частоти мікроядерних поліхромних еритроцитів спостерігалось при дозі 7,5 мг/кг/день. В комплексному статистичному підході [Звіт №1069153] на основі даних щодо мікроядер в окремих тварин з досліджень молекулярної нанотехнології були побудовані графіки по відношенню до AUC_{0-24} і проаналізовані за допомогою програмного забезпечення PROAST із орієнтовною дозою (BMD) та ступенем критичного ефекту (CES) 50%. Загальна найнижча (найбільш консервативна) орієнтовна доза для індукції ризиком мікроядер в поліхромних еритроцитах щурів становила 4570 нг•год/мл (AUC_{0-24h}) і 438 нг/мл (C_{max}). Ці значення були отримані в 4-тижневому дослідженні у дорослих щурів і в дослідженні безпосередніх ефектів препарату у дорослих самців щурів, відповідно. Найбільш консервативним 90% нижнім довірчим інтервалом орієнтовної дози (так званий BMDL) вважається 2915 нг•год/мл (AUC_{0-24h}) і 236 нг/мл (C_{max}). Обидва значення були розраховані з даних, отриманих в дослідженні безпосередніх ефектів препарату у дорослих самців щурів.
4) канцерогенність:	
довгострокові дослідження	Для оцінки канцерогенного потенціалу було виконане 26-тижневе дослідження канцерогенного потенціалу ризиком [Звіт №1081793]. Самкам і самцям мишей RasH2 вводили контрольний розчинник; контрольну воду; або 1, 3 або 9 мг/кг/дозу ризиком через оральний зонд один раз на день протягом 26 тижнів. У тварин, яким вводили до 9 мг/кг/день, не спостерігались пов'язаних із випробовуваною речовиною клінічних спостережень, порушень приросту маси тіла або споживання їжі, відмінностей у виживаності, гематологічних показниках, частоті злоякісних новоутворень, частоті макроскопічних змін або частоті чи тяжкості мікроскопічних змін. Таким чином, NOEL становить 9 мг/кг/день. Ця доза відповідає середнім значенням C_{max} і AUC 1230 нг/мл і 15600 нг•год/мл, відповідно, у самців та 1150 нг/мл і 11800 нг•год/мл, відповідно, у самок в день 179 фази дозування.

короткострокові дослідження або дослідження середньої тривалості	-
додаткові дослідження	-
5) репродуктивна токсичність та токсичний вплив на розвиток потомства:	
вплив на фертильність і ранній ембріональний розвиток	Оцінка фертильності включена в дослідження токсичності у нестатевозрілих щурів.
ембріотоксичність	Рисдиплам вивчався на предмет впливу на ембріофетальний розвиток у щурів та кроликів. Дослідження з пошуку діапазону доз в обох видів проводились для вибору рівня дози для подальших основних досліджень. В дослідженні з пошуку діапазону доз та впливу на ембріофетальний розвиток [Звіт №1080127] рисдиплам вводився вагітним самкам щурів Вістар Ганновер (Crl:WI[Han]) один раз на день шляхом орального зонда в період з 6 до 17 дня гестації в дозі 1, 3 і 7,5 мг/кг/день. При застосуванні дози 7,5 мг/кг/день спостерігалась незначна токсична дія на материнський організм, що характеризувалась зниженням приросту маси тіла (-13%) і зниженням споживання їжі (-18%). При застосуванні цієї дози також зменшувалась маса плода (-18%). При застосуванні менших доз несприятливі ефекти не спостерігались. В основному дослідженні впливу на ембріофетальний розвиток [Звіт №1084123], рисдиплам вводився вагітним самкам щурів Вістар Ганновер (Crl:WI[Han]) один раз на день шляхом орального зонду в період з 6 до 17 дня гестації в дозах 1, 3 і 7,5 мг/кг/день і призводив до незначної токсичної дії на материнський організм (без несприятливого впливу), що характеризувалась зниженням приросту маси тіла (-14%) і зниженням споживання їжі (-12% порівняно з контролем) в дозі 7,5 мг/кг/день. Затримка розвитку плода, що підтверджено меншою вагою плода (-15% порівняно з контролем) і незначна різниця в окостенінні скелета, спостерігалась при застосуванні дози 7,5 мг/кг/день. Не було виявлено ознак ембріофетальної смерті або порушення будови або структури плода (тератогенність). NOAEL для ембріофетальної токсичності для рисдипламу був 3 мг/кг/день, що відповідає $C_{\max}$ 319 нг/мл і AUC_{0-24h} 4630 нг•год/мл на 15 день гестації. В дослідженні з пошуку діапазону доз та впливу на ембріофетальний розвиток [Звіт №1080126] введення рисдипламу вагітним самкам новозеландських білих кроликів один раз на день через оральний зонд в період 6–19 днів гестації в дозі 12 мг/кг/день призводило до токсичної дії на материнський організм, що характеризується зниженням споживання їжі (-37%) і зменшенням маси тіла (середня вага -7% на 20 день гестації) або зниженням приросту маси тіла. При застосуванні

	цієї дози також спостерігалось збільшення ембріофетальної летальності. Чіткої токсичної дії на материнський організм не спостерігалось при застосуванні нижчих доз 3 і 6 мг/кг/день. Збільшення частоти плодів з вадами спостерігались в усіх групах застосування ризидипламу. В основному дослідженні впливу на ембріофетальний розвиток [Звіт №1084122] ризидиплам вводився вагітним самкам новозеландських білих кроликів в період з 6 по 19 день гестації в дозах 1, 4 і 12 мг/кг/день. Тяжка токсична дія на материнський організм спостерігалась при застосуванні дози 12 мг/кг/день, яка характеризувалась передчасним перериванням у 3 самок після тривалого періоду незначного або відсутнього споживання їжі (2 після абортів), зниженням споживання їжі (-28%) і втратою ваги (в середньому -120 г протягом періоду дозування у порівнянні з приростом ваги на 210 г в контрольних тварин). Також спостерігалось виражене збільшення частоти пізньої резорбції при застосуванні цієї дози. Впливу на масу плода не було. У 4 плодів (4%) з 4 приплодів (22%) була виявлена гідроцефалія при застосуванні дози 12 мг/кг/день. Зв'язок між частотою гідроцефалії і ризидипламом не можна не приймати до уваги, хоча при застосуванні цієї дози спостерігалась виражена токсична дія на материнський організм. Також при застосуванні дози 12 мг/кг/день спостерігалось збільшення частоти плодів з відсутніми додатковими дольками легень та маленьким жовчним міхуром. На підставі цих результатів NOAEL для токсичної дії на материнський організм та ембріофетальний розвиток становив 4 мг/кг/день (для ризидипламу: C_{max} 1500 нг/мл, AUC_{0-24h} 7990 нг•год/мл на 15 день гестації).
пренатальна і постнатальна токсичність	Вплив ризидипламу на пре- і постнатальний розвиток (PPND), включаючи розвиток ооцитів у самок, вивчався у щурів. В дослідженні з пошуку діапазону доз та впливу на пре- і постнатальний розвиток [Звіт №1085603] ризидиплам вводився один раз на день шляхом орального зонду самкам щурів Вістар Ганновер (CrI:WI[Han]) з 6 дня гестації по 6 день після пологів у дозі 1, 3 і 7,5 мг/кг/день. Для дози 7,5 мг/кг/день з 3 із 6 самок було здійснено евтаназію на 23/24 день гестації через важкі пологи (дистоція) і одній самці евтаназію було здійснено на 1 день після пологів після повної втрати приплоду. Спостерігалось пов'язане з дозою збільшення тривалості періоду гестації при застосуванні препарату в дозі ≥ 3 мг/кг/день. Індекс живонародження при застосуванні дози ≥ 3 мг/кг/день був менше ніж в контрольній групі, хоча кількість шрамів в місці імплантації була подібною в усіх групах. Розмір живого потомства при народженні при застосуванні дози ≤ 3 мг/кг/день і тривалість гестації та індекс живонародження при застосуванні дози 1 мг/кг/день були

	порівняльними з такими в контрольній групі. Усі живі дитинчата були зовні нормальними при народженні. Не було клінічно значимих пов'язаних з ризиком спостережень у дитинчат при застосуванні будь-якої дози. Виживаність дитинчат і середній приріст маси тіла в двох приплодах, що вижили, при застосуванні дози 7,5 мг/кг/день були помітно нижчими, ніж в контролі. При плановому розтині у самиць було відзначено темне забарвлення надниркових залоз при застосуванні дози ≥ 3 мг/кг/день. Не було клінічно значимих пов'язаних з ризиком спостережень у самок, що вижили до запланованої евтаназії; ризик не впливав на масу тіла та споживання їжі самок під час гестації і лактації. NOAEL за результатами цього дослідження, розрахований як 3 мг/кг/день, можливо асоціюється з подовженням тривалості періоду гестації. В основному дослідженні впливу на пре- і постнатальний розвиток [Звіт №1088289], ризик вводився вагітним самкам щурів Вістар Ганновер Crl:WI (Han) з 6 дня після коїтусу по 20 день лактації у дозах 0,75, 1,5 і 3 мг/кг/день. При застосуванні усіх доз не спостерігалось токсичної дії на материнський організм. Середня тривалість періоду гестації була дещо подовженою при застосуванні в дозі 3 мг/кг/день, однак усі самки знаходились в діапазоні показників паралельного контролю. Це співпадає з попереднім пошуковим дослідженням дози при застосуванні тієї ж дози. Не спостерігалось несприятливого впливу на виживаність, ріст і функціональну (поведінкову або репродуктивну) характеристику потомства. Не було впливу на репродуктивну функцію потомства F1 самців і самок. Не було відмічено несприятливого впливу на кількість первинних фолікулів яєчників та гістопатологію яєчників у самок F1. NOAEL для впливу на материнський організм генерації F0 або потомство вважався на рівні 3 мг/кг/день (AUC_{0-24} 4230 нг•год/мл), найвищої випробовуваної дози в цьому дослідженні.
дослідження, при яких препарат уводиться потомству (нестатевозрілим тваринам) та/або оцінюється віддалена дія	Цілями 4-тижневого дослідження з пошуку діапазону доз [Звіт №1063098] було надати попередню оцінку ефектам ризиків і визначити його потенційну токсичність при щоденному пероральному застосуванні через зонд протягом 4 тижнів у щурів лінії Вістар з постнатального дня 4 або протягом 2 тижнів з дня 22. Доза: 0; 2,5; 5; 10 мг/кг/день. Через смертність при застосуванні доз 5 і 10 мг/кг/дозу в дослідження була додана додаткова група дитинчат із дозуванням по 3,75 мг/кг/дозу з метою оцінки потенційної токсичності та впливу ризиків на дитинчат протягом дозування в період до відлучення. Оскільки смерті також виникали при дозуванні 3,75 мг/кг/день, дозування 1, 3 і 9 мг/кг/день додатковим тваринам також здійснювалось з 22 по 36

постнатальний день з метою оцінити вплив на виживаність тварин в період після відлучення.

Результати, що варті уваги:

- $\geq 3,75$ мг/кг/день:

Смертність: 8,3%, 50% і 100% основного дослідження дитинчат при застосуванні доз 3,75, 5 і 10 мг/кг/день, відповідно.

Клінічні ознаки: зниження апетиту, тремор, холод на дотик, худорлявість, слабкість, зневоднення, порожній шлунок, здуття живота і/або блідість шкіри. Птоз, виступаючий хребетний стовп, аномальна хода або розтягнення живота лише при дозуванні 3,5 мг/кг/день.

Втрата маси тіла / менший приріст маси тіла починаючи з 6 постнатального дня. Менше споживання їжі (після відлучення) в дозі 3,75 мг/кг/день.

Зміни в гематологічних параметрах при дозуванні 3,75 і 5 мг/кг/день свідчать про повну мієлосупресію усіх клітинних ростків.

- 10 мг/кг/день:

Мікроскопічні зміни (окремі дитинчата): некроз криптальних клітин кишечника і крововилив у стравохід, шлунок і мозок.

NOAEL: 2,5 мг/кг/день для введення на 4–31 постнатальний день; 9 мг/кг/день (після відлучення, 22–36 постнатальний день).

Експозиція ризидипламу стосовно AUC_{0-24h} при застосуванні доз 2,5 і 3,75 мг/кг/день була 0,7- або 0,5-кратною на 4 постнатальний день у порівнянні з 31 постнатальним днем, відповідно. На підставі обмежених отриманих даних експозиція стосовно AUC_{0-24h} загалом зростала вдвічі в період з 22 по 36 постнатальний день у самок при застосуванні доз 1 і 3 мг/кг/день після повторного дозування.

Оскільки в дослідженні з пошуку діапазону доз у щурів спостерігалась значна відмінність в переносимості між фазами до і після відлучення, базові дослідження токсичності у нестатевозрілих щурів проводились в двох частинах, до відлучення і після відлучення. Дослідження до відлучення початково проводилось лише із застосуванням двох доз (1 і 2,5 мг/кг/день) та не виявило NOAEL. Тому було виконане друге дослідження застосування трьох доз (0,75; 1,5 і 2,5 мг/кг/день) на 4–31 постнатальний день.

В першому 4-тижневому дослідженні у нестатевозрілих щурів до відлучення [Звіт №1066709] застосування найвищої дози 2,5 мг/кг/день призвело до зменшення споживання їжі і меншого приросту маси тіла, що корелювало із зниженим ростом довгих кісток і відстроченим відділенням крайньої плоти у самців. У самців спостерігалась оборотна дегенерація сперматогенного епітелію при застосуванні дози ≥ 1 мг/кг/день. На підставі

	мікроскопічних змін яєчок при застосуванні дози 1 і 2,5 мг/кг/день не спостерігалось дози NOAEL у самців. NOAEL у самок становив 2,5 мг/кг/день. В другому 4-тижневому дослідженні токсичності [Звіт №1088815], щоденне пероральне введення ризидипламу нестатевозрілим щурам з 4 по 31 пренатальний день призвело до зниження приросту маси тіла, зменшення довжини кісток і затримки статевого дозрівання самців при застосуванні дози $\geq 1,5$ мг/кг/день та зниження споживання їжі лише у самців при застосуванні дози 2,5 мг/кг/день. У самців спостерігалось пов'язане з ризидипламом оборотне мінімальне зменшення числа лімфоцитів при застосуванні дози 2,5 мг/кг/день, зменшення маси яєчок і придатків яєчка при застосуванні дози $\geq 1,5$ мг/кг/день, що персистували протягом 8-тижневого періоду без введення лікарського засобу, а також оборотні несприятливі дегенеративні мікроскопічні зміни в яєчках при застосуванні дози 2,5 мг/кг/день. На основі зниження маси тіла більше ніж на 10% і присутність мікроскопічних змін в яєчках при застосуванні дози 2,5 мг/кг/день було зроблено загальний висновок, що доза 1,5 мг/кг/день є NOAEL. Це відповідає середньому AUC_{0-24h} на рівні 1570 нг•год/мл для самців і 1880 нг•год/мл для самок для ризидипламу на 31 постанатальний день. В 13-тижневому дослідженні токсичності [Звіт №1065114] ризидиплам при щоденному пероральному введенні через зонд нестатевозрілим щурам у дозі 1, 3, або 7,5 мг/кг/день з 22 по 112 постнатальний день спричиняв мікроскопічні зміни в кишечнику самців і самок та репродуктивних органах самців у дозі 7,5 мг/кг/день. Ці зміни були повністю оборотними за винятком змін в яєчках, де мікроскопічні зміни були лише частково оборотними. Окрім того, відмічався вплив на чисельність сперматозоїдів, їх рухливість та морфологію в кінці періоду спарювання у дозі 7,5 мг/кг/день. Також спостерігались ознаки пов'язаної з ризидипламом генотоксичної активності у самців та самок при застосуванні в дозі 7,5 мг/кг/день. Показник NOAEL вважався на рівні 3 мг/кг/день (AUC 7160 і 7830 год•нг/мл, і C_{max} 759 і 725 нг/мл; самці та самки, відповідно).
б) місцева переносимість	Ризидиплам є лікарським засобом для перорального прийому. Оцінка місцевої шлунково-кишкової переносимості була частиною дослідження повторних введень.
7) додаткові дослідження токсичності:	
антигенність (утворення антитіл)	-
імунотоксичність	Кінцеві точки з охарактеризування типу імунних клітин та їх функції у відповідь на лікування ризидипламом були інтегровані

	в дослідження токсичності у разі повторних введень у нестатевозрілих щурів.
дослідження механізмів дії	Рисдиплам є низькомолекулярним модифікатором сплайсингу SMN2 для перорального застосування, розробленим для лікування СМА. Рисдиплам модулює сплайсинг SMN2 з метою змістити баланс із виключення екзона 7 на включення екзона 7 в транскрипт мРНК, збільшуючи таким чином експресію повнорозмірного білка SMN з гена SMN2 в дозозалежний спосіб. Вважається, що отримане в результаті цього збільшення функціонального білка SMN компенсує дефіцит цього білка у пацієнтів із СМА. Великі зусилля були докладені під час розробки рисдипламу з метою збільшити специфічність рисдипламу, зокрема стосовно взаємодії з альтернативним сплайсингом SMN2 у порівнянні зі сплайсингом інших альтернативних мРНК. Дослідження безпеки у тварин та дослідження механізму дії, проведені під час розробки рисдипламу, дозволили ідентифікувати вторинні мішені рисдипламу стосовно сплайсингу і оцінити їх значення та вплив на безпеку у людини. Як частина міжвидової оцінки безпеки чотири модифікатори сплайсингу SMN2, включаючи рисдиплам, вивчались <i>in vitro</i> на предмет співвідношення концентрація-ефект на маркери РНК (варіанти транскриптів FOXM1B/C) щодо фармакології вторинного сплайсингу в індукованих плюрипотентних стовбурових клітинах (iPSC) у людини та яванських макак [Звіт №1067264]. Усі чотири сполуки також вивчались на предмет їх впливу на прогресію клітинного циклу. Після застосування випробовуваних речовин протягом 24 годин від 0,64 нМ до ~10 мкМ усі компоненти, окрім RO7112063 (метаболіт рисдипламу), продемонстрували залежну від концентрації пригнічуючу регуляцію варіантів транскрипту FOXM1B/C в клітинах людини та мавп. RO6885241 і рисдиплам були найбільш сильнодіючими сполуками, що впливають на рівень експресії FOXM1B/C. В індукованих плюрипотентних стовбурових клітинах пацієнтів людини RO6885241 і рисдиплам індукували термінацію клітинного циклу в S-фазі залежним від концентрації шляхом.
лікарська залежність	-
токсичність метаболітів	RO7112063 є основним циркулюючим метаболітом (M1) рисдипламу у людини, що складає більше 10% (діапазон: 10–40%) вихідного лікарського засобу в рівноважному стані. Експозиція M1 у людини визначена в усіх токсикологічних дослідженнях (токсичність у разі повторних введень, ювенільна токсичність, генотоксичність, канцерогенність, репродуктивна токсичність) у відповідних NOAEL.
токсичність домішок	Основні дослідження токсичності рисдипламу були проведені із застосуванням серій, вироблених шляхом синтезу згідно

	реєстраційного досьє. Специфікації для домішок (окремі та загалом) відповідають ICH Q3A(R2). Жодні з домішок у відповідних реєстраційних серіях не перевищують рівень кваліфікації, зазначений в ICH Q3A. Таким чином, жодні окремі домішки не перевищували рівень токсикологічної кваліфікації ($\geq 0,15\%$) і тому не є необхідним проводити специфічні додаткові дослідження токсичності щодо домішок. Була виконана токсикологічна оцінка допоміжних речовин у складі формі лікарської форми для перорального застосування (Ro703-4067/F12) у дітей [Звіт №1077240]. Ro703-4067/F12 представляє низьку дозу 0,25 мг/мл риздипламу, яка планується до застосування у новонароджених, немовлят та дітей молодшого віку. Загалом, на підставі наявних даних, заплановане застосування оральних лікарських форм Ro703-4067/F12 і Ro703-4067/F13 вважається прийнятним з токсикологічного погляду, навіть за найгірших сценаріїв для запланованого застосування в усіх вікових групах (тобто найвища доза 0,21 мг/кг із застосуванням низького дозування 0,25 мг/мл до обмежуючого дозу об'єму 5 мл). Особливий ризик для немовлят через вміст бензоату натрію (ризик жовтяниці і пов'язані наслідки) вважається дуже низьким і прийнятним на підставі дуже низької дози бензоату натрію за пропонуваних умов використання. Слід враховувати загальну кількість проносних допоміжних речовин в оральній лікарській формі Ro703-4067/F12 (два поліюлі, ізомальт 801, D-маніт і ПЕГ) разом з іншими проносними речовинами з інших потенційних джерел. Тим не менше, потенційний проносний ефект можна клінічно відстежувати і, як правило, він не вважається заборобою для застосування Ro703-4067/F12. Ro703-4067/F12 несе ризик непереносимості деяких цукрів (зокрема, непереносимості фруктози людиною, спадкова непереносимість фруктози) і, отже, має містити попередження, оскільки є імовірність його використання трохи вище передбачуваного порогу 5 мг маніту/кг/день у пацієнтів з непереносимістю фруктози людиною.
інше	<u>Фототоксичність</u> Потенціал риздипламу спричиняти фототоксичність вивчався в тесті зв'язування нейтрального червоного клітинами 3Т3 в концентрації до 9000 нг/мл [Звіт № 1063018]. Випробовувана речовина не відповідає критеріям позитивного результату тесту в випробовуваній концентрації із найвищою концентрацією, обмеженою розчинністю. Тому потенціал риздипламу спричиняти фототоксичність вважається низьким. Спектр УФ абсорбції основного метаболіту М1 у людини вважається

	ідентичним спектру ридипламу. Таким чином, M1 не вивчався на предмет фототоксичності через те, що не очікується зміна ризику фототоксичності у результаті експозиції M1 у людини у порівнянні власне з ридипламом. Не очікується впливу можливої УФ абсорбції на токсичність ридипламу для сітківки через те, що сітківка не піддається впливу хвилям з довжиною менше ~400 нм. Не очікується фототоксичного потенціалу ридипламу при видимому діапазоні вище 400 нм. <u>Токсичність для очей in vitro (клітинні культури RPE)</u> Ридиплам і RO6885247 вивчалися на лінії пігментних епітеліальних клітин людини (ARPE19) на предмет функціонального порушення [Звіти № 1066985, 1066986]. Обробка клітин протягом 24 годин і довше призводила до збільшення лізосомальних мас в нецитотоксичних концентраціях (із максимальними ефектами при 3,13 і 6,25 мг/мл), що свідчить про порушення функції лізосом, у той час як рівень фагоцитозу та оксидативного стресу в клітинах ARPE19 залишився незмінним в цей момент часу. Також спостерігалось накопичення аутофагосом, залучених в усунення пошкоджених органел, яке було показано для обох сполук через 48 годин введення. Залишається невідомим, яким чином ці короткострокові зміни in vitro пов'язані з відстроченою токсичністю для сітківки, яка спостерігалась механістично in vivo. <u>Оцінка локальних лімфатичних вузлів</u> У мишей була виконана оцінка локальних лімфатичних вузлів з метою проаналізувати подразнення шкіри (еритему) і сенсibilізацію після нашкірної (на вуха) або оральної індукційної експозиції [Звіт №1087553]. Не було описано сенсibilізації або подразнення при застосуванні ридипламу після трансдермального впливу найвищої дози, що представляє клінічну форму випуску для людини при 1-5-кратних дозуваннях, або за допомогою шлункового зонда для дози, що представляє очікувану терапевтичну експозицію у людини протягом 3 днів поспіль та/чи з наступним пероральним або дермальним застосуванням.
5. Висновки щодо доклінічного вивчення	Були поглиблено вивчені доклінічна фармакологія, фармакокінетика і профіль безпеки ридипламу. Фармакологічна активність ридипламу стосовно модифікації сплайсингу екзона 7 SMN2 збільшення рівня білка SMN була продемонстрована в різноманітних системах in vitro та ex vivo. Цей ефект в подальшому був підтверджений в мишачих моделях СМА. Збільшення рівня білка SMN супроводжувалось значною ефективністю при мишачій моделі СМА-подібного SMNΔ7 захворювання 1 типу.

Рисдиплам має виражену специфічність щодо сплайсингу екзона 7 SMN2, однак також діє на ряд вторинних мішеней сплайсингу, які всі мають одну і ту ж ділянку сплайсингу 5'. Найбільш значимими вторинними цілями сплайсингу для рисдипламу при відповідній експозиції були STRN3, FOXM1, MADD, APLP2 і SLC25A17 мРНК, з яких FOXM1 і MADD були ідентифіковані як вірогідні причини спостережуваної токсичності через їх роль в клітинному циклі та апоптозі.

Відповідні взаємодії рецепторів були виявлені для рисдипламу і його основного метаболіту M1 лише для COX1 і COX2 та для ацетилхолінестерази. Ці взаємодії не асоціювались із будь-якими знахідками з боку можливих органів-мішеней в токсикологічних дослідженнях *in vivo*. Однак не можна виключити зв'язок інгібування COX1/COX2 із затримкою пологів, що спостерігалась в дослідженнях пренатального і постнатального розвитку у щурів при експозиції, що вдвічі перевищує клінічну експозицію.

Рисдиплам вільно розподіляється з крові в ЦНС та різноманітні периферичні тканини у тварин, включаючи м'язи. У відповідності до фармакокінетичних властивостей рисдипламу спостерігалось паралельне залежне від дози збільшення рівня білка SMN в ЦНС і м'язовій тканині в двох мишачих моделях СМА після застосування рисдипламу.

На відміну від нестатевозрілих тварин, рисдиплам продемонстрував подібне зв'язування білка в зразках плазми крові людей різного віку від народження до дорослого віку (особи без СМА та пацієнти із СМА 1, 2, і 3 типу). Отже, не очікуються суттєві відмінності у переносимості через пов'язану з віком зміну зв'язування з білком плазми крові у дітей із СМА.

Не відмічалось клінічно значимої лікарської взаємодії у вигляді впливу інших препаратів на рисдиплам. На підставі досліджень *in vitro* не можна виключити потенційний вплив рисдипламу на одночасно застосовувані лікарські засоби, які є субстратами ниркових транспортерів MATE1 і MATE2-K.

Загалом токсикологічні знахідки можна згрупувати на дві окремі категорії в залежності від тривалості лікування рисдипламом, необхідної для індукції цих ефектів:

- дегенерація сітківки, яка виникає після тривалого застосування і механізм якої повністю не зрозумілий;
- небажані ефекти, пов'язані з вторинними мішенями сплайсингу, що виникають при гострому/підгострому дозуванні і включають ефекти з боку органів із швидким клітинним метаболізмом і тератогенні ефекти (індукція мікроядер в клітинних лініях мишей *in vitro* і в еритроцитах кісток у щурів; зміни в епітелії і власній пластинці шлунково-кишкового тракту та епітелії екзокринної частини підшлункової залози у мишей).

щурів і/чи мавп; паракератоз/гіперплазія/дегенерація шкіри і епітелію гортані із супутнім запаленням у мавп; дегенерація гоноцитів в яєчках мавп та щурів; гематологічні зміни (еритроцити та лейкоцити) із патогістологічними змінами в кістковому мозку і/чи тимусі у мишей, щурів та мавп). Вплив ризидипламу на гоноцити самців узгоджується із змінами, що спостерігались у мавп при застосуванні інших модифікаторів сплайсингу SMN2, і тому може бути описаний як можливий клас-специфічний ефект.

Ризидиплам не має мутагенної дії в бактеріальних тестах і не було ознак первинного пошкодження ДНК *in vivo* після застосування ризидипламу. Дані, отримані в механістичних дослідженнях, надають чітке підтвердження опосередкованого механізму індукції мікроядер *in vitro* та *in vivo* із впливом на клітинний цикл та апоптоз.

Не були отримані підтвердження онкогенного впливу ризидипламу.

Дослідження із застосуванням міченого радіоактивним ізотопом ризидипламу у вагітних і лактуючих самок щурів свідчать про те, що ризидиплам може проникати через плацентарний бар'єр у вагітних жінок і може екскретуватись в молоко у жінок, які годують груддю.

Повний пакет досліджень фармакології безпеки *in vitro* та *in vivo* не продемонстрував наявності будь-яких ефектів ризидипламу на функції серцево-судинної системи, ЦНС або респіраторної системи.

Заявник (власник
реєстраційного посвідчення)



(підпис)

Головач Ігор Євгенійович

(ПІБ)

Звіт про клінічне випробування

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення)	ЕВРІСДІ®
2. Заявник	ТОВ «Рош Україна» 03150, м. Київ, вул. Велика Васильківська 139, 5 поверх, Україна
3. Виробник	Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд Вурмісвег, 4303 Кайсераугст, Швейцарія
4. Проведені дослідження:	☒ так ☐ ні якщо ні, обґрунтувати
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	Лікарський засіб за повним досьє (автономне досьє). Інший лікарський засіб. Нова діюча речовина (ДР). Зміни, що потребують нової реєстрації
5. Повна назва клінічного випробування, кодовий номер клінічного випробування	Рисдиплам: відкрите перехресне дослідження фази I із кількома періодами для вивчення безпечності, впливу їжі, біодоступності та біоеквівалентності перорального застосування двох різних складів у здорових досліджуваних. Код клінічного дослідження: ВР42066.
6. Фаза клінічного випробування	Фаза 1
7. Період проведення клінічного випробування	3 07 січня 2021 р. по 28 січня 2023 р.
8. Країни, де проводилося клінічне випробування	Сполучені Штати Америки
9. Кількість досліджуваних	<u>Частина 1</u> Запланована: 76 учасників. Фактична: загалом 82 учасники були зараховані до п'яти когорт: когорта А, n = 12; когорта В, n = 13; когорта С, n = 15; когорта D, n = 14; когорта Е, n = 28. Загалом 74 учасники завершили участь у дослідженні (по 12 у кожній з когорт А, В, С та D і 26 у когорті Е). <u>Частина 2</u> Запланована: 48 учасників. Фактична: 49 учасників були зараховані до двох груп: група 1, n = 25; група 2, n = 24. Загалом 45 учасників завершили участь у дослідженні (24 у групі 1 та 21 у групі 2).
10. Мета та вторинні цілі клінічного випробування	Цілі. Частина 1 Головна Дослідити відносну біодоступність двох нових складів дисперговуваних таблеток рисдипламу порівняно з наявним зараз складом рисдипламу (порошок для приготування перорального розчину) у здорових досліджуваних після одноразового перорального прийому 5 мг рисдипламу (когорти А та В).

	Оцінити вплив їжі на біодоступність наявного зараз складу для приготування перорального розчину та двох складів дисперговуваних таблеток (когорти А і В, Е). Оцінити вплив омепразолу на біодоступність двох складів дисперговуваних таблеток (когорти С і D). <u>Другорядні</u> Додатково оцінити безпечність та переносимість ризидипламу в здорових досліджуваних. Цілі. Частина 2 і Частина 3 <u>Головна</u> Оцінити, чи відповідає вибраний склад(-и) критеріям біоеквівалентності у стані після прийому їжі. <u>Другорядні</u> Оцінити, чи відповідає вибраний склад(-и) критеріям біоеквівалентності у стані натще. Оцінити вплив їжі на біодоступність наявного зараз складу для приготування перорального розчину та вибраного складу(-ів). Додатково оцінити безпечність та переносимість ризидипламу в здорових досліджуваних.
11. Дизайн випробування клінічного	Це було рандомізоване (часткова рандомізація в Частині 1 для когорт А і В; фіксована послідовність в Частині 1 для когорт С і D; повна рандомізація в Частині 1 для когорти Е і в Частині 2), з одноразовим пероральним прийомом, перехресне дослідження у двох частинах для вивчення відносної біодоступності та біоеквівалентності двох різних складів ризидипламу по 5 мг (дисперговувані таблетки F21 [таблетки F21] і дисперговувані таблетки F22 [таблетки F22]) порівняно з наявним зараз складом ризидипламу (порошок для приготування перорального розчину [пероральний розчин]) у здорових чоловіків і жінок. Частина 1 була пошуковим порівнянням відносної біодоступності при пероральному застосуванні двох таблеток порівняно з пероральним розчином як контролем. Ці дві таблетки вводилися шляхом проковтування і у вигляді таблеток, диспергованих у воді. Вплив їжі на біодоступність двох таблеток оцінювали, порівнюючи стани після прийому їжі і натще (перехресний дизайн із 5 варіантами лікування; когорти А і В). Крім того, оцінювали, чи впливають антациди (омепразол) на біодоступність таблеток, які приймаються у вигляді таблеток, що проковтуються, натще (2-періодна фіксована послідовність; когорти С і D). Вплив їжі на пероральний розчин також оцінювали шляхом порівняння станів після прийому їжі та натще (перехресний дизайн із 2 варіантами лікування; когорта Е). Рішення про перехід до Частини 2 із таблетками F21 було прийнято після перевірки всієї доступної інформації про безпечність та переносимість, зібраної протягом 48 годин після

	останнього введення досліджуваного препарату, і всіх даних фармакокінетики (ФК), зібраних протягом (включно) 144 годин після останнього прийому досліджуваного препарату в Частині 1, у всіх досліджуваних. У Частині 2 (2 групи) проводили оцінку біоеквівалентності і впливу їжі із таблетками F21. Кожна група випадковим чином отримувала (за перехресним дизайном із 4 варіантами лікування) одноразову дозу перорального розчину як у стані після прийому їжі, так і натще, а також одноразову дозу таблетки F21 (у вигляді проковтнутої таблетки або у вигляді таблетки, диспергованої у воді, залежно від групи), як у стані після прийому їжі, так і натще.
12. Основні критерії включення	Здорові досліджувані чоловічої та жіночої статі віком від 18 до 55 років, з індексом маси тіла від 18,0 до 32,0 кг/м² включно, відбиралися відповідно до критеріїв включення та невключення, перелічених у протоколі.
13. Досліджуваний лікарський засіб, спосіб застосування, сила дії	Досліджуваний препарат 1: рисдиплам, дисперговувані таблетки F21 5 мг, які проковтуються у вигляді таблетки або диспергуються у воді як пероральна суспензія. Досліджуваний препарат 2: рисдиплам, дисперговувані таблетки F22 5 мг, які проковтуються у вигляді таблетки або диспергуються у воді як пероральна суспензія. Недосліджуваний лікарський препарат: капсули омепразолу перорально в дозі 40 мг. Тривалість лікування <u>Частина 1</u> <i>Когорта А.</i> Одноразовий прийом перорального розчину (натще); проковтування таблетки F21 (як натще, так і після прийому їжі) і прийом таблетки F21, диспергованої у воді (як натще, так і після прийому їжі), у День 1 кожного періоду. Тривалість вимивання між періодами становила 14 днів. <i>Когорта В.</i> Одноразовий прийом перорального розчину (натще); проковтування таблетки F22 (як натще, так і після прийому їжі) і прийом таблетки F22, диспергованої у воді (як натще, так і після прийому їжі), у День 1 кожного періоду. Тривалість вимивання між періодами становила 14 днів. <i>Когорта С.</i> Одноразовий прийом таблетки F21, що проковтується (натще), і омепразол по 40 мг один раз на добу протягом 7 днів, а також одноразовий прийом таблетки F21, що проковтується (натще), на 7-й день прийому омепразолу. Між двома періодами застосування препаратів було 14-денне вимивання. <i>Когорта D.</i> Одноразовий прийом таблетки F22, що проковтується (натще), і омепразол по 40 мг один раз на добу протягом 7 днів, а також одноразовий прийом таблетки F22, що проковтується (натще), на 7-й день прийому омепразолу. Між

	двома періодами застосування препаратів було 14-денне вимивання. <i>Когорта Е.</i> Одноразовий прийом перорального розчину (як натще, так і після прийому їжі) у 1-й день кожного періоду, із 14-денним періодом вимивання між одноразовими введеннями. <u>Частина 2</u> <i>Група 1.</i> Одноразовий прийом перорального розчину (як після прийому їжі, так і натще) та одноразовий прийом таблетки F21, що проковтується (як після прийому їжі, так і натще). <i>Група 2.</i> Одноразовий прийом перорального розчину (як після прийому їжі, так і натще) та одноразовий прийом диспергованої у воді таблетки F21 (як після прийому їжі, так і натще). Між усіма періодами лікування в обох групах було 14-денне вимивання.									
14. Препарат порівняння, доза, спосіб застосування, сила дії	Еврісді (рисдиплам), порошок для приготування перорального розчину, 0,75 мг/мл. Доза: 5 мг (6,6 мл). Шлях введення: пероральний. Тривалість застосування: див. пункт вище.									
15. Супутня терапія	Учасники були проінструктовані під час скринінгу не приймати жодних рецептурних та безрецептурних лікарських препаратів, включаючи лікарські препарати та вітаміни, у межах 30 днів до реєстрації. Супутній прийом лікарських засобів не дозволявся, за винятком ацетамінофену (≤ 2 г на добу протягом до 3 днів поспіль), замісної гормональної терапії для жінок у постменопаузі та ліків для лікування ПЯ. Учасникам було дозволено отримувати вакцину проти коронавірусної інфекції 2019 року (COVID-19) (унікальну дозу одноразової вакцини або другу дозу вакцини, що складається з 2 доз) щонайменше за 21 день до першого прийому досліджуваного препарату або щонайменше за 10 днів після останнього прийому досліджуваного препарату.									
16. Критерії оцінки ефективності	Кінцеві точки: концентрації рисдипламу в плазмі крові та відповідні розрахункові показники ФК у стані після прийому їжі та натще. Були визначені такі показники ФК: <table><tr><th>Показники</th><th>Визначення</th><th>Частина</th></tr><tr><td>$AUC_{0-\infty}$</td><td>Площа під кривою «концентрація в плазмі — час» (AUC) від нульового часу до екстрапольованої нескінченності</td><td>1 і 2</td></tr><tr><td>$AUC_{0-tlast}$</td><td>AUC від нульового часу до часу останньої концентрації в плазмі, яку можна виміряти кількісно</td><td>1 і 2</td></tr></table>	Показники	Визначення	Частина	$AUC_{0-\infty}$	Площа під кривою «концентрація в плазмі — час» (AUC) від нульового часу до екстрапольованої нескінченності	1 і 2	$AUC_{0-tlast}$	AUC від нульового часу до часу останньої концентрації в плазмі, яку можна виміряти кількісно	1 і 2
Показники	Визначення	Частина								
$AUC_{0-\infty}$	Площа під кривою «концентрація в плазмі — час» (AUC) від нульового часу до екстрапольованої нескінченності	1 і 2								
$AUC_{0-tlast}$	AUC від нульового часу до часу останньої концентрації в плазмі, яку можна виміряти кількісно	1 і 2								

$C_{\max}$	Максимальна спостережувана концентрація в плазмі	1 і 2
$\%AUC_{\text{extrap}}$	Відсоток AUC через екстраполяцію від останньої концентрації, яку можна виміряти кількісно, до нескінченності	1 і 2
t_{last}	Час останньої концентрації, яку можна виміряти кількісно	1 і 2
$t_{\max}$	Час до максимальної спостережуваної концентрації в плазмі	1 і 2
F_{rel} таб., натще / розчин, натще	Відносна біодоступність проковтнутої таблетки натще порівняно з розчином натще	Частина 1, когорти A і B, і Частина 2
F_{rel} дисп., натще / розчин, натще	Відносна біодоступність таблеток, диспергованих у воді, натще в порівнянні з розчином натще	Частина 1, когорти A і B, і Частина 2
F_{rel} таб., натще / розчин, після прийому їжі	Відносна біодоступність проковтнутої таблетки після прийому їжі в порівнянні з розчином після прийому їжі	2
F_{rel} дисп., натще / розчин, після прийому їжі	Відносна біодоступність таблетки, диспергової у воді, після прийому їжі в порівнянні з розчином після прийому їжі	2
F_{rel} таб. після прийому їжі / натще	Відносна біодоступність проковтнутої таблетки після прийому їжі порівняно з проковтнутою таблеткою натще	Частина 1, когорти A і B, і Частина 2
F_{rel} дисп. після прийому їжі / натще	Відносна біодоступність таблетки, диспергової у воді, після прийому їжі в порівнянні з таблеткою, дисперговою у воді, натще	Частина 1, когорти A і B, і Частина 2
F_{rel} розчин, після прийому їжі / натще	Відносна біодоступність розчину після прийому їжі порівняно з розчином натще	Частина 1, когорта E, і Частина 2
F_{rel} омепразол	Відносна біодоступність проковтнутої таблетки натще з омепразолом порівняно лише з проковтнутою таблеткою натще	Частина 1, лише когорти C і D

	<table><tr><td>t_{lag}</td><td>Момент часу безпосередньо перед першою концентрацією, яку можна кількісно виміряти</td><td>1 i 2</td></tr><tr><td>λ_z</td><td>Теоретична константа швидкості елімінації в кінцевій фазі</td><td>1 i 2</td></tr><tr><td>$t_{1/2}$</td><td>Теоретичний період напіввиведення з плазми в кінцевій фазі</td><td>1 i 2</td></tr><tr><td>CL/F</td><td>Теоретичний загальний кліренс плазми після перорального введення</td><td>1 i 2</td></tr></table>	t_{lag}	Момент часу безпосередньо перед першою концентрацією, яку можна кількісно виміряти	1 i 2	λ_z	Теоретична константа швидкості елімінації в кінцевій фазі	1 i 2	$t_{1/2}$	Теоретичний період напіввиведення з плазми в кінцевій фазі	1 i 2	CL/F	Теоретичний загальний кліренс плазми після перорального введення	1 i 2
t_{lag}	Момент часу безпосередньо перед першою концентрацією, яку можна кількісно виміряти	1 i 2											
λ_z	Теоретична константа швидкості елімінації в кінцевій фазі	1 i 2											
$t_{1/2}$	Теоретичний період напіввиведення з плазми в кінцевій фазі	1 i 2											
CL/F	Теоретичний загальний кліренс плазми після перорального введення	1 i 2											
17. Критерії оцінки безпеки	Оцінки безпечності включали ПЯ, основні фізіологічні показники, ЕКГ у 12 відведеннях, клінічні лабораторні показники та фізикальні обстеження.												
18. Статистичні методи	Головними показниками ФК були $AUC_{0-\infty}$, $AUC_{0-t_{last}}$ та C_{max} для ризидипламу. Усі інші показники ФК вважалися другорядними і не були піддані інференційному статистичному аналізу. <u>Частина 1</u> Відносну біодоступність і вплив їжі в когортах А і В, а також вплив антациду в когортах С і D оцінювали з використанням лінійної моделі зі змішаними ефектами для аналізу перетворених у натуральний логарифм (ln) головних показників ФК. Оцінки середніх геометричних, розрахованих методом найменших квадратів (geometric least squares means, GLSM), відношення GLSM та відповідних 90%-них довірчих інтервалів (ДІ) були отримані для різних порівнянь показників ФК. <u>Частина 2</u> Біоеквівалентність та вплив прийому їжі оцінювали з використанням лінійної моделі зі змішаними ефектами для аналізу перетворених у натуральний логарифм (ln) головних показників ФК. Оцінки GLSM, відношення GLSM та відповідні 90% ДІ були отримані для різних порівнянь показників ФК. Дані щодо безпечності були представлені з використанням описової статистики.												
19. Демографічні показники досліджуваної популяції (стать, вік, раса, тощо)	Частина 1 <i>Когорта А</i> Було включено більше чоловіків, ніж жінок (9 порівняно з 3 відповідно). Середній вік (стандартне відхилення [SD]) становив 39,2 (7,47) року. Більшість досліджуваних були європеїдами (83,3 %), і 58,3 % були іспанського походження або латиноамериканцями. Середня маса тіла (SD) становила 74,59 (12,223) кг, а середній IMT (SD) становив 25,49 (2,564) кг/м². <i>Когорта В</i> У дослідження були включені лише чоловіки. Середній вік (SD) становив 40,3 (10,70) року. Більшість учасників дослідження були європеїдами (61,5 %), і 69,2% були не іспанського походження і не латиноамериканцями. Середня маса тіла (SD) становила 80,19 (10,063) кг, а середній IMT (SD) становив 25,81 (2,972) кг/м².												

	<i>Когорта C</i> Було включено більше чоловіків, ніж жінок (12 порівняно з 3 відповідно). Середній вік (SD) становив 39,5 (11,67) року. Більшість учасників були європеїдами (60,0 %), решта були негроїдами, афроамериканцями або монголоїдами (по 20,0 % кожної раси) і 53,3 % були іспанського походження або латиноамериканцями. Середнє значення маси тіла (SD) становило 79,25 (17,046) кг, а середнє значення IMT становило 26,36 (3,180) кг/м². <i>Когорта D</i> Було включено більше чоловіків, ніж жінок (11 порівняно з 3 відповідно). Середній вік (SD) становив 40,8 (9,75) року. Більшість учасників були європеїдами (78,6 %), і 50,0 % були іспанського походження або латиноамериканцями. Середня маса тіла (SD) становила 79,49 (13,408) кг, а середній IMT (SD) становив 26,30 (3,396) кг/м². <i>Когорта E</i> Більшість зарахованих учасників складали чоловіки (89,3 %). Середній вік (SD) становив 40,9 (7,48) року. Більшість учасників були європеїдами (60,7 %), і 78,6 % були не іспанського походження і не латиноамериканцями. Середня маса тіла (SD) становила 84,70 (10,321) кг, а середній IMT (SD) становив 26,89 (2,656) кг/м². Частина 2 <i>Група 1</i> Більшість зарахованих учасників складали чоловіки (84,0 %). Середній вік (SD) становив 38,0 (11,72) року. Більшість учасників були європеїдами (56,0 %), 64,0 % були не іспанського походження і не латиноамериканцями. Середня маса тіла (SD) становила 80,36 (13,866) кг, а середній IMT (SD) становив 26,78 (2,960) кг/м². <i>Група 2</i> Більшість зарахованих учасників складали чоловіки (91,7 %). Середній вік (SD) становив 41,1 (7,51) року. Більшість учасників були європеїдами (58,3 %) і переважно були не іспанського походження і не латиноамериканцями (87,5 %). Середня маса тіла (SD) становила 82,50 (9,151) кг, а середній IMT (SD) становив 26,95 (2,471) кг/м².
20. Результати ефективності	Результати оцінки фармакокінетики Частина 1 - Відносна біодоступність (когорта A). Експозиція ризидипламу була подібною для таблетки F21 5 мг, проковтнутої та диспергованої у воді, після прийому їжі та натще порівняно з пероральним розчином натще. - Вплив їжі (когорта A). Не спостерігалось суттєвого впливу їжі для таблетки F21 5 мг, проковтнутої або диспергованої.

- Відносна біодоступність (когорта В). Експозиція ризидипламу була подібною для таблетки F22 5 мг, проковтнутої та диспергованої у воді, після прийому їжі та натще, порівняно з пероральним розчином натще.
- Вплив їжі (когорта В). Суттєвого ефекту прийому їжі для проковтнутої або диспергованої таблетки F22 5 мг не спостерігалось.
- Вплив антацидного препарату (когорта С). На біодоступність проковтнутої таблетки F21 5 мг натще одночасне застосування омепразолу не впливало.
- Вплив антацидного препарату (когорта D). Після одночасного застосування з омепразолом $C_{\max}$ ризидипламу була меншою в разі проковтнутої таблетки F22 5 мг натще. Показники AUC були схожими.
- Вплив їжі (когорта Е). Показник $C_{\max}$ після прийому перорального розчину був меншим при застосуванні препарату після прийому їжі порівняно зі станом натще, тоді як показники AUC були подібними.
- На основі спостережуваного впливу їжі на $C_{\max}$ для перорального розчину в Частині 1 протокол для Частини 2 дослідження був змінений із метою проведення оцінки біоеквівалентності як після прийому їжі, так і в стані натще, і для забезпечення можливості проведення офіційного порівняння впливу їжі в більшій кількості учасників.
- Прийом омепразолу призводив до більшого впливу на швидкість всмоктування ризидипламу в разі проковтнутої таблетки F22, ніж у разі таблетки F21. На підставі цього для оцінки біоеквівалентності, проведеної в Частині 2 цього дослідження, був обраний препарат у формі таблетки складу F21.

Частина 2

- Біоеквівалентність (група 1). Проковтнута таблетка F21 5 мг була біоеквівалентною пероральному розчину ризидипламу в станах після прийому їжі й натще; при цьому 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ повністю містилися в межах діапазону біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %.
- Біоеквівалентність (група 2). Таблетка F21 5 мг, диспергована у воді, була біоеквівалентною пероральному розчину ризидипламу натще; при цьому 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ повністю містилися в межах діапазону для біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %.
- Біоеквівалентність (група 2). Для таблетки F21 5 мг, диспергованої у воді, у стані після прийому їжі порівняно з пероральним розчином ризидипламу в стані після прийому їжі, верхні межі 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ були більше порогу 125,00 %. Було виявлено одного учасника з ненормально низьким профілем залежності концентрації від часу

	в групі перорального розчину ридипламу в стані після прийому їжі. Після виключення цього ненормально низького профілю залежності концентрації від часу в 1 учасника варіабельність між учасниками групи перорального розчину (після прийому їжі) знизилася; при цьому геометричні коефіцієнти варіації CV% $AUC_{0-\infty}$ і C_{max} становили 21,1 і 16,6 % відповідно порівняно з 45,2 і 40,0 % відповідно, коли цей учасник не був виключений. Після виключення одного профілю в 1 учасника було виявлено, що диспергована таблетка F21 5 мг є біоеквівалентною пероральному розчину в стані після прийому їжі, причому 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та C_{max} перебували повністю в межах біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %. • Вплив їжі (група 1). Прийом їжі не впливав у випадку проковтнутої таблетки F21 5 мг і перорального розчину ридипламу; порівняння відповідало критеріям біоеквівалентності з 90% ДІ, що перебувають повністю в межах біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %. • Вплив їжі (група 2). Прийом їжі не впливав у випадку таблетки F21 5 мг, диспергової у воді; порівняння відповідало критеріям біоеквівалентності з 90% ДІ, що перебувають повністю в межах біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %. • Вплив їжі (група 2). C_{max} була меншою в разі перорального розчину ридипламу в стані після прийому їжі порівняно з пероральним розчином натще; при цьому нижній кінець 90% ДІ був трохи менше порогу — 80 %. Після виключення ненормально низького профілю залежності концентрації від часу в 1 учасника впливу їжі у випадку перорального розчину не було, на що вказують 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та C_{max}, що перебувають у межах граничних значень біоеквівалентності. • Вплив їжі (об'єднаний аналіз груп 1 і 2). При збільшенні обсягу вибірки шляхом об'єднання груп 1 і 2 90% ДІ для відношення GLSM для AUC і C_{max} у випадку перорального розчину ридипламу в стані після прийому їжі й натще вказують на відсутність впливу їжі за всіма показниками та порівняннями, незалежно від того, чи включається в аналіз учасник з ненормальним профілем, чи не включається.
21. Результати безпеки	• Введення одноразової пероральної дози ридипламу 5 мг у різних формах (пероральний розчин, таблетка F21 і таблетка F22 [як проковтнута, так і диспергована у воді]) добре переносилося здоровими дорослими учасниками в цьому дослідженні. • Не було зареєстровано летальних випадків, серйозних ПЯ і несерйозних ПЯ, що становлять особливий інтерес. • Шість учасників (3 в Частині 1 і 3 в Частині 2) припинили участь у дослідженні через ПЯ, і всі ці ПЯ були оцінені як не пов'язані з досліджуваним лікарським засобом, за винятком 1 ПЯ (TEAE, treatment-emergent adverse event) — помірного макуло-

	папульозного висипу після прийому проковтнутої таблетки F21 натще (когорта В, Частина 1). • У 13 учасників у Частині 1 було зареєстровано 17 ТЕАЕ, а у 12 учасників у Частині 2 було зареєстровано 18 ТЕАЕ (загалом 25 учасників із 35 ТЕАЕ). Шість ТЕАЕ були оцінені як пов'язані із застосуванням препаратів (3 в Частині 1: макуло-папульозний висип [проковтнута таблетка F21, натще], головний біль [пероральний розчин, натще], головний біль [пероральний розчин, після прийому їжі]; 3 в Частині 2: підвищення артеріального тиску (АТ) [пероральний розчин, після прийому їжі] і артеріальна гіпертензія в того ж учасника [таблетка F21, диспергована у воді, після прийому їжі], а також головний біль [таблетка F21, диспергована у воді, натще]). • За винятком 6 ТЕАЕ середнього ступеня тяжкості (3 в Частині 1 [макуло-папульозний висип, фарингіт і риніт]; 3 в Частині 2 [головний біль, блювання, карієс зубів]), усі ТЕАЕ, зареєстровані в цьому дослідженні, були легкого ступеня тяжкості. Усі ТЕАЕ до кінця дослідження зникли, за винятком 1 ТЕАЕ підозра на COVID-19, результат якого був невідомим. • Не спостерігалось тенденцій у основних фізіологічних показниках і даних електрокардіографії, не було також клінічно значущих результатів фізикального обстеження, крім 5 ТЕАЕ (2 в Частині 1 [макуло-папульозний висип та нумулярна екзема] та 3 в Частині 2 [герпес ротової порожнини, підвищення артеріального тиску і артеріальна гіпертензія]).
22. Висновок (заключення)	У Частині 1 цього дослідження за участю невеликої кількості учасників вивчалася відносна біодоступність двох нових складів таблеток рисдипламу 5 мг. Таблетки можна було ковтати у вигляді інтактних таблеток або диспергувати у воді, а потім приймати у вигляді отриманої суспензії. Експозиція рисдипламу при застосуванні перорального розчину натще і таблетки F21 5 мг або таблетки 5 мг F22, яка була проковтнута або диспергована у воді, після прийому їжі і натще була однаковою. Не було виявлено суттєвого впливу їжі для обох складів таблеток. На біодоступність проковтнутої таблетки F21 5 мг натще одночасне застосування омепразолу не впливало. Після одночасного застосування з омепразолом $C_{\max}$ рисдипламу була меншою в разі проковтнутої таблетки F22 5 мг натще. Оскільки омепразол, який викликає зміну рН у шлунку, впливав на швидкість всмоктування рисдипламу у випадку таблетки F22 більше, то склад таблетки F21 був обраний для оцінки біоеквівалентності, яка була проведена в Частині 2 цього дослідження. При оцінці впливу їжі у випадку перорального розчину рисдипламу в Частині 1 $C_{\max}$ була меншою після введення перорального розчину рисдипламу в стані після прийому їжі

порівняно зі станом натще. Оскільки на основі цих даних не вдалося виключити вплив прийому їжі, у протокол були внесені зміни для Частини 2 дослідження з метою проведення оцінки біоеквівалентності як після прийому їжі, так і в стані натще, а також щоб можна було провести оцінку впливу їжі у випадку перорального розчину ризидипламу в більшій кількості учасників.

У Частині 2 оцінювали біоеквівалентність вибраного складу таблетки F21 порівняно з пероральним розчином у стані після прийому їжі та натще.

Проковтнута таблетка F21 5 мг була біоеквівалентною пероральному розчину ризидипламу в станах після прийому їжі і натще; при цьому 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ повністю містилися в межах діапазону біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %. Крім того, диспергована таблетка F21 5 мг була біоеквівалентною пероральному розчину ризидипламу натще; при цьому 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ повністю містилися в межах діапазону біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %. Для таблетки F21 5 мг, диспергової у воді, у стані після прийому їжі порівняно з пероральним розчином ризидипламу в стані після прийому їжі, верхні 90% граничні значення ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ були вище порогу 125,00 %. Було виявлено одного учасника з ненормально низьким профілем залежності концентрації від часу в групі перорального розчину ризидипламу в стані після прийому їжі. Профіль концентрації ризидипламу в цього учасника був розцінений як такий, що не вписується в загальну картину, оскільки при виключенні учасника з оцінки середнього значення показники середньої концентрації були меншими, ніж середнє -3SD середньої концентрації. Після виключення цього ненормально низького профілю залежності концентрації від часу в 1 учасника варіабельність між учасниками групи перорального розчину ризидипламу (після прийому їжі) знизилася; при цьому геометричні коефіцієнти варіації CV% $AUC_{0-\infty}$ і $C_{\max}$ становили 21,1 і 16,6 % відповідно порівняно з 45,2 і 40,0 % відповідно, коли цей учасник не був виключений. Після виключення одного профілю в 1 учасника було виявлено, що диспергована таблетка F21 5 мг є біоеквівалентною пероральному розчину ризидипламу в стані після прийому їжі, причому 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ перебували повністю в межах біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %.

Прийом їжі не мав суттєвого впливу на експозицію ризидипламу при прийомі у вигляді перорального розчину або у вигляді таблетки F21, проковтнутої цілою або диспергової у воді. Усі порівняння відповідали критеріям біоеквівалентності; при цьому 90% ДІ повністю містилися в межах граничних значень біоеквівалентності — від 80,00 до 125,00 %, за винятком групи з одним профілем, що не вписувався в загальну картину, як описано

вище. Коли дані всіх учасників у групах 1 і 2 аналізували разом, 90% ДІ для відношення GLSM для AUC та $C_{\max}$ у випадку перорального розчину в стані після прийому їжі порівняно зі станом натще відповідали критеріям біоеквівалентності, що вказує на відсутність впливу їжі за всіма показниками та порівняннями, незалежно від того, чи був виключеним ненормальний профіль одного учасника чи ні. Загалом, можна зробити висновок, що прийом їжі не має суттєвого впливу на експозицію риздипламу, коли риздиплам приймають у вигляді розчину, таблетки або коли таблетка диспергується у воді.

Одноразові пероральні дози 5 мг риздипламу у вигляді перорального розчину або у вигляді таблетки F21 чи F22, яка ковтається або диспергується у воді, були безпечними та добре переносилися здоровими учасниками в цьому дослідженні.

Не спостерігалось тенденцій, пов'язаних із застосуванням препаратів, і не було клінічно значущих результатів у клінічних лабораторних показниках, даних основних фізіологічних показників, даних ЕКГ у 12 відведеннях або результатах фізикального обстеження.

Заявник (власник
реєстраційного посвідчення)



(підпис)

Головач Ігор Євгенійович

(повне ім'я)