

Додаток 29
до Порядку проведення експертизи
реєстраційних матеріалів на лікарські
засоби, що подаються на державну
реєстрацію (перереєстрацію), а також
експертизи матеріалів про внесення
змін до реєстраційних матеріалів протягом
дії реєстраційного
посвідчення)
(пункт 4 розділу IV)

ЗВІТ
про доклінічні дослідження

| | | | |
|--|---|-----------------------------|-----------------------|
| 1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення) | ОНІТЕК®, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г На наступних сторінках Р-3051 є кодом розробки остаточного складу лікарського засобу Циклополі, лак для нігтів. Р-3051 та Циклополі є синонімами доступного у продажу остаточного складу. | | |
| 1) Тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація | Лікарський засіб за повним досьє (автономне досьє), відома діюча речовина | | |
| 2) Проведені дослідження | <input checked="" type="checkbox"/> так | <input type="checkbox"/> ні | Якщо ні, обґрунтувати |
| 2. Фармакологія | | | |
| Резюме | Онїхомікоз – це грибок нігтів, на який припадає приблизно 50 % усіх уражень нігтів. Циклопірокс є протигрибковим засобом широкого спектру дії, що діє проти основних збудників онїхомікозу людини, таких як дерматофіти (<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> та <i>Epidermophyton floccosum</i>), дріжджі (<i>Candida albicans</i> або <i>Candida parapsilosis</i>) та недерматофітні цвілі (<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Aspergillus</i> spp. та <i>Scytalidium</i> spp.). Терапевтичний ефект лікарського засобу Циклопірокс, 8 % лак для нігтів для місцевого застосування пов'язаний з його протигрибковими властивостями, а також з його протизапальними та антибактеріальними властивостями. Насправді циклопірокс також виявляє активність до грампозитивних та грамнегативних бактерій, у т.ч. <i>Pseudomonas</i> spp. та <i>Proteus</i> spp. та <i>Mycoplasma</i> spp. та, наприклад, виділених одноклітинних мікроорганізмів <i>Trichomonas</i> spp. | | |

Перемар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор А.В.



На відміну від більшості наразі доступних протигрибкових препаратів (наприклад, азолів та аліламінів), циклопірокс не впливає на біосинтез стеролів. Протигрибкову активність циклопіроксу приписують групі гідроксипіридину. Циклопірокс пригнічує трансмембранний перенос основних субстратів, таких як лейцин, викликаючи внутрішньоклітинне виснаження та призводячи до розриву мембрани. Нещодавно механізм дії був ретельно досліджений та пов'язаний з високою спорідненістю циклопіроксу до катіонів тривалентних металів, таких як Fe^3 або Al^{3+} . Захоплення цих важливих ферментативних кофакторів має пригнічувальну дію на такі ферменти, як цитохроми, які беруть участь у процесах переносу електронів у мітохондріях під час енергоутворення. Крім того, активність каталази та пероксидази, відповідальних за внутрішньоклітинну деструкцію токсичних пероксидів, сильно пригнічується в присутності циклопіроксу. Завдяки складності механізму дії та згідно з нещодавніми спостереженнями *in vitro*, розвиток резистентності до циклопіроксу є дуже малоймовірним.

Кілька досліджень *in vitro*, проведених з використанням P-3051 (циклопірокс, 8 % лак для нігтів), показали, що:

- Лікарський засіб активний до більшості важливих збудників оніхомікозів людини.
- Допоміжна речовина гідроксипропілхітозан є відповідним структурним засобом без протигрибкових властивостей, який забезпечує ефективні місцеві концентрації діючої речовини (тобто циклопіроксу) у місці дії.
- Циклопірокс у складі розчину здатний проникати через ороговілі тканини в ефективних концентраціях.
- P-3051 ефективний у профілактиці та лікуванні оніхомікозів у експериментальній моделі оніхомікозу.

1) Первинна фармакодинаміка

Спектр дії *in vitro*

Циклопірокс є протигрибковим засобом широкого спектру дії.

У таблиці 1 узагальнено літературні дані про мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) циклопіроксу щодо широкого переліку видів грибів, визнаних людськими патогенами (Дітмар та Логаус, 1973 р. та Дітмар та співавт., 1981 р.).

Згідно з оригіналом

Тор Н.В.



Таблиця 1. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) циклопіроксу щодо людських патогенних грибів

| Мікроорганізм | Кількість штамів / ізолятів | Діапазон МІК (мг/л) | Мікроорганізм | Кількість штамів / ізолятів | Діапазон МІК (мг/л) |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Дерматофіти | | | Диморфні гриби | | |
| Trichophyton mentagrophytes | 36 | 0.9 - 3.9 | Blastomyces dermatidis | 4 | 0.9 - 1.9 |
| Trichophyton rubrum | 45 | 0.5 - 3.9 | Histoplasma capsulatum | 6 | 0.9 - 3.9 |
| Trichophyton verrucosum | 18 | 1.9 - 3.9 | Еуміцети | | |
| Trichophyton tonsurans | 6 | 0.9 - 1.9 | Madurella grisea | 6 | 1.9 - 3.9 |
| Trichophyton quinckeanum | 4 | 1.9 | Madurella mycetomi | 4 | 1.9 |
| Інші види trichophyton | 14 | 1.9 | Petriellidium boydii | 2 | 7.8 |
| Microsporum canis | 24 | 0.5 - 3.9 | Actinomycetales | | |
| Microsporum gypseum | 10 | 1.9 - 3.9 | Nocardia asteroides | 1 | 3.9 |
| Інші мікроспоридії | 7 | 0.9 - 3.9 | Nocardia brasiliensis | 2 | 3.9 |
| Epidermophyton floccosum | 8 | 0.9 - 1.9 | Різні гриби | | |
| Дріжджові гриби | | | Aspergillus flavus | 4 | 7.8 - 15.6 |
| Candida albicans | 50 | 0.9 - 3.9 | Aspergillus fumigatus | 5 | 1.9 - 7.8 |
| Candida tropicalis | 16 | 0.9 - 3.9 | Aspergillus niger | 2 | 1.9 |
| Candida krusei | 15 | 0.9 - 3.9 | Види Penicillium | 4 | 1.9 |
| Candida parapsilosis | 14 | 1.9 - 3.9 | Види Phialophora | 6 | 1.9 - 7.8 |
| Candida pseudotropicalis | 13 | 1.9 - 3.9 | Allescheria boundii | 2 | 7.8 - 15.6 |
| Інші види Candida | 8 | 0.9 - 3.9 | Fusarium solani | 2 | 31.3 |

Теренас
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For A.B.



Порівняння мінімальної інгібуючої концентрації циклопіроксу зі штамми *Trichophyton rubrum*, виділені у Сполучених Штатах Америки (США) та в Європейському Союзі

Звіт «Полікем» № 08-43. Тест-система: *T. rubrum*. Метод. Метод розведення в бульйоні *in vitro*. Дослідницька лабораторія: Центр медичної мікології, Клівленд, Огайо (США), 2008.

Щоб дослідити різницю чутливості штамів *Trichophyton rubrum* до циклопіроксу у різних географічних регіонах, 100 клінічних штамів з США та 100 з ЄС випробовували на чутливість згідно зі стандартним методом CLSI M38A. МІК були визначені як найнижча концентрація циклопіроксу, здатна пригнічувати 80 % росту грибів порівняно з контролем росту.

Отримані результати (Таблиця 2) продемонстрували, що циклопірокс має потужну протигрибкову активність щодо усіх штамів *T. rubrum*, випробуваних з МІК₉₀ 0,12 мкг/мл.

Таблиця 2. МІК₉₀ циклопіроксу до клінічних ізолятів США та ЄС *Trichophyton rubrum*

| | Штами з США | Штами з ЄС |
|----------------------------|-------------|------------|
| Діапазон МІК | 0,06-0,25 | 0,03-0,5 |
| МІК ₅₀ (мкг/мл) | 0,12 | 0,12 |
| МІК ₉₀ (мкг/мл) | 0,12 | 0,12 |

Діапазон МІК циклопіроксу до штамів з США узгоджувався в межах одного розведення з діапазоном МІК штамів з ЄС, демонструючи, що на структуру чутливості до циклопіроксу не впливає географічний регіон походження (звіт «Полікем» № 08-43).

Протигрибкова активність циклопіроксу до *Scytalidium* spp. згідно з виміряною мінімальною інгібуючою та фунгіцидною концентрацією

Scytalidium spp. є недерматофітним грибом нігтів, який викликає оніхомікоз. Лікування інфекцій, спричинених *Scytalidium*, як правило, неефективне, оскільки грибок погано реагує на протигрибкові засоби, які традиційно застосовуються для лікування оніхомікозу.

Мета цього дослідження – визначити протигрибкову активність циклопіроксу до *Scytalidium* spp. згідно з виміряною мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) та мінімальною фунгіцидною концентрацією (МФК).

Шість штамів *Neoscytalidium dimidiatum* (попередня назва *S. dimidiatum*) та *C. hyalinum*, взятих з колекції культур Центру медичної мікології, були випробувані в цьому протоколі.

Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) досліджуваних засобів визначали згідно зі стандартним методом CLSI M38-A2. Кінцеві точки циклопіроксу зчитували через 24 та 48 годин після інкубації при пригніченні 80 %. Визначення МФК здійснювали через 48 годин. Фунгіцидну активність визначали як зниження КУО/мл на > 99,9 % від початкової кількості інокулята, а фунгістатичну активність визначали як зниження на < 99,9 %.

Терешак
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For A.B.



Отримані результати (Таблиця 3) продемонстрували потужну інгібуючу активність циклопіроксу до *Scytalidium* та фунгіцидну активність при більш високих концентраціях.

Таблиця 3. Дані про МІК та МФК циклопіроксу щодо ізолятів *Scytalidium*

| | | Циклопірокс | | |
|----------|----------------------|-------------|---------|---------|
| | | 24 год | 48 год | МФК |
| | | 80 % | 80 % | |
| 22201 | <i>N. dimidiatum</i> | 0,5 | 0,5 | 8 |
| 23579 | <i>N. dimidiatum</i> | 1 | 1 | 4 |
| 23607 | <i>N. dimidiatum</i> | 1 | 1 | 32 |
| 25536 | <i>S. hyalinum</i> | 1 | 1 | 2 |
| 26424 | <i>N. dimidiatum</i> | 0,5 | 1 | 1 |
| 26770 | <i>S. hyalinum</i> | 0,5 | 0,5 | 8 |
| Діапазон | | 0.5 - 1 | 0.5 - 1 | 0.5 - 1 |

Оцінка *in vitro* частоти природного виникнення та еволюції стійкості *Trichophyton rubrum* до циклопіроксу, ітраконазолу, тербінафіну та аморолфіну

Ghelardi 2014, тест-система: *T. rubrum*. Метод: Метод розведення в бульйоні *in vitro* та інгібування агаром. Дослідницька лабораторія: Пізанський університет, Італія

Щоб оцінити потенціал *T. rubrum* (АТСС 28188 в якості еталонного штаму та СІ-1 та СІ-2 в якості клінічних ізолятів) для відбору спонтанних резистентних штамів до циклопіроксу (СРХ), ітраконазолу (ІТС), тербінафіну (ТРВ) та аморолфіну (АМФ), при бл. 10^9 КУО (колонієутворюючих одиниць) кожного штаму висівали на чашки з сабуро-декстрозним агаром (СДА), кожна з яких містила відповідну мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК). Кількість колоній розраховували після інкубації за температури 30 °С протягом 3 тижнів, а частоту природної стійкості до кожного протигрибкового засобу розраховували шляхом ділення кількості КУО, вирощених на чашках, що містять кожен засіб, на загальну кількість КУО, розсіяних на цих чашках.

Для оцінки еволюції стійкості до *T. rubrum* (АТСС 28188 в якості еталонного штаму та СІ-1 в якості клінічного ізоляту), грибні суспензії 1×10^5 КУО/мл *T. rubrum* серійно розмножували протягом 10 переносів (7 днів інкубації за температури 30 °С для кожного переносу) у СДА, що містить субінгібуючу концентрацію кожного з досліджуваних протигрибкових засобів (наприклад, 0,5 МІК за методом розведення в агарі). Після п'ятого та десятого переносу колонії висівали на чашки з СДА, що містять 2-кратні МІК. МІК штамів, здатних рости при обох експериментальних умовах, визначали за стандартним методом мікророзведення бульйону CLSI M-38-A2 та порівнювали з МІК дикого типу. Найвища частота спонтанних резистентних мутантів спостерігалася з ітраконазолом, який відібрав мутантів у трьох штаммах з частотою стійкості в діапазоні від $2,97 \times 10^{-7}$ до $7,51 \times 10^{-7}$. Частота природних похідних, стійких до аморолфіну, для трьох штамів коливалася від $1,14 \times 10^{-9}$ до $5,79 \times 10^{-9}$. Стійкі до тербінафіну мутанти були отримані зі штамом АТСС 28188 (частота стійкості $1,38 \times 10^{-9}$) та штамом СІ-2 (частота стійкості $2,89 \times 10^{-9}$). Жоден мутант, стійкий до СРХ, не був отриманий від жодного з трьох штамів *T. rubrum* (Таблиця 4).



Згідно з оригіналом

For A.B.

Таблиця 4. Спонтанні лікарсько-стійкі мутанти *T. rubrum*, отримані після прямого відбору на чашках, що містять інгібуючі концентрації лікарського засобу

| Штам | | Тербінафін | Ітраконазол | Аморолфін | Циклопірокс |
|-------|--------------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| АТСС | Загальна кількість КУО | 7.2×10^8 | 7.2×10^8 | 7.2×10^8 | 7.2×10^8 |
| 28188 | Кількість резистентних колоній | 1 | 490 | 3 | 0 |
| | Частота стійкості ^а | 1.38×10^{-9} | 6.8×10^{-7} | 4.1×10^{-9} | $<1.38 \times 10^{-9}$ |
| СІ-1 | Загальна кількість КУО | 8.7×10^8 | 8.7×10^8 | 8.7×10^8 | 8.7×10^8 |
| | Кількість резистентних колоній | 0 | 654 | 1 | 0 |
| | Частота стійкості ^а | $<1.14 \times 10^{-9}$ | 7.51×10^{-7} | 1.14×10^{-9} | $<1.14 \times 10^{-9}$ |
| СІ-2 | Загальна кількість КУО | 6.9×10^8 | 6.9×10^8 | 6.9×10^8 | 6.9×10^8 |
| | Кількість резистентних колоній | 2 | 205 | 4 | 0 |
| | Частота стійкості ^а | 2.89×10^{-9} | 2.97×10^{-7} | 5.79×10^{-9} | $<1.44 \times 10^{-9}$ |

Стосовно еволюції стійкості, після п'ятого переносу мутанти з підвищеною стійкістю до ітраконазолу виділяли з АТСС 28188 (частота стійкості $9,6 \times 10^{-5}$) та СІ-1 (частота стійкості $9,0 \times 10^{-6}$) (Таблиця 2). З АТСС 28188 також були відібрані мутанти з підвищеною стійкістю до тербінафіну (частота стійкості $1,3 \times 10^{-7}$). Після десятого переносу, виділено АТСС 28188 та похідні СІ-1, стійкі до концентрацій тербінафіну, ітраконазолу та аморолфіну. У присутності субінгібуючих концентрацій стійкість до аморолфіну, тербінафіну та ітраконазолу швидко виникла у *T. rubrum*, з майже в 100 разів вищою частотою порівняно зі спонтанною лікарською стійкістю. Жоден стійкий до циклопіроксу мутант не спостерігався після впливу субінгібуючих концентрацій циклопіроксу після 5 та 10 переносів (Таблиця 5).

Таблиця 5. Еволюція лікарської стійкості *in vitro* в *T. rubrum* після впливу субінгібуючих концентрацій засобу протягом 5 або 10 переносів перед відбором

| Штам | Частота стійкості ^а | Тербінафін | Ітраконазол | Аморолфін | Циклопірокс |
|------------|--------------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| АТСС 28188 | П'ятий перенос | $1,3 \times 10^{-7}$ | $9,6 \times 10^{-5}$ | $< 1,5 \times 10^{-8}$ | $< 6,0 \times 10^{-9}$ |
| | Десятий перенос | $9,1 \times 10^{-6}$ | $2,4 \times 10^{-4}$ | $2,2 \times 10^{-8}$ | $< 1,3 \times 10^{-8}$ |
| СІ-1 | П'ятий перенос | $< 5,2 \times 10^{-8}$ | $9,0 \times 10^{-6}$ | $< 3,4 \times 10^{-8}$ | $< 1,7 \times 10^{-8}$ |
| | Десятий перенос | $4,4 \times 10^{-7}$ | $2,6 \times 10^{-5}$ | $9,1 \times 10^{-8}$ | $< 1,2 \times 10^{-8}$ |

^а - «Розраховується шляхом ділення кількості КУО, вирощених на чашках, що містять кожен засіб, на загальну кількість КУО, розсіяних на цих чашках.»

Перема
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тол Н.В.



Для мутантів спостерігалось значне підвищення значень МІК протигрибкових засобів, які використовувалися для відбору, порівняно з батьківськими штамми. Мутанти, стійкі до тербінафіну, продемонстрували збільшення значень МІК тербінафіну у 500/1000 разів, мутанти, стійкі до ітраконазолу, продемонстрували збільшення значень МІК ітраконазолу у 4/8 разів, а мутанти, стійкі до аморолфіну, – збільшення значень МІК аморолфіну у 16-64 рази. Цікаво, що мутанти, стійкі до ітраконазолу, також продемонстрували збільшені значення МІК аморолфіну (у 8/32 рази) та тербінафіну (у 4/8 разів), а мутанти, стійкі до аморолфіну, підвищили стійкість до тербінафіну (у 4-16 разів). Не спостерігалось змін МІК ітраконазолу та аморолфіну для мутантів, стійких до тербінафіну. Не спостерігалось суттєвої різниці у МІК S- та I-стійких мутантів. Жоден із мутантів із підвищеною стійкістю до ітраконазолу, аморолфіну чи тербінафіну не продемонстрував змінених МІК циклопіроксу порівняно з батьківськими штамми (Таблиця 6).

Таблиця 6. Збільшення значень МІК тербінафіну, ітраконазолу, аморолфіну та циклопіроксу для лікарсько-стійких мутантів *T. rubrum* порівняно з батьківським штамом

| Мутанти ^а | Тербінафін | Ітраконазол | Аморолфін | Циклопірокс |
|---------------------------|------------|-------------|-----------|-------------|
| TRB _r -S (n=1) | 50 | н/з | н/з | н/з |
| ITC _r -S (n=5) | 4-8 | 4-8 | 4-8 | н/з |
| AMF _r -S (n=3) | 4-8 | н/з | 16-32 | н/з |
| TRB _r -I (n=3) | 500-1000 | н/з | н/з | н/з |
| ITC _r -I (n=5) | 8 | 4-8 | 32 | н/з |
| AMF _r -I (n=3) | 8-16 | н/з | 64 | н/з |
| ITC ₁ -S (n=5) | 4-8 | 4-8 | 4-8 | н/з |
| AMF ₁ -S (n=1) | 4 | н/з | 16 | н/з |
| TRB ₁ -I (n=5) | 500 | н/з | н/з | н/з |
| ITC ₁ -I (n=5) | 8 | 4-8 | 32 | н/з |
| AMF ₁ -I (n=5) | 8-16 | н/з | 32-64 | н/з |

^аМутанти, отримані після прямого відбору на чашках, що містять інгібуючі концентрації лікарського засобу на основі відбору (TRB: тербінафін, ITC: ітраконазол, AMF: аморолфін) та батьківського штаму, з якого вони походять (г: ATCC 28188, 1: CI-1, 2: CI-2). n: кількість штамів, н/з: незначний (різниця у МІК \pm 1 у двократному розведенні)

На завершення, загальні результати, отримані в цьому дослідженні, вказують на те, що, хоча і з низькою частотою, можна виділити спонтанні мутанти *T. rubrum*, стійкі до аморолфіну, тербінафіну та ітраконазолу, і що субінгібуючі концентрації лікарського засобу сприяють появі резистентних штамів. Спостереження, що мутанти, стійкі до ітраконазолу, демонструють підвищені значення МІК тербінафіну та аморолфіну, свідчить про те, що транспортери сімейства ABC відіграють певну роль у перехресній резистентності до цих протигрибкових засобів у *T. rubrum*. Крім того, результати, отримані в цьому дослідженні, свідчать про те, що серед досліджуваних засобів циклопірокс був єдиною сполукою, здатною підтримувати таку ж ефективність щодо популяції *T. rubrum* дикого типу після тривалого впливу субінгібуючих концентрацій (Ghelardi 2014).

Терешмар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тол М.В.



Спороцидна активність циклопіроксу

Було продемонстровано здатність аморолфіну, циклопіроксу, біфоназолу, тербінафіну та флуконазолу вбивати мікроконідії *Trichophyton rubrum*, хламідоспори *Epidermophyton floccosum* та бластоспори *Candida albicans*. Штами були клінічними ізолятами та культивувалися у 2 % агарі Сабуро з глюкозою (Оксоїд, Везель, Німеччина), потім інкубувалися за температури 25 °С протягом 3 днів (*Candida albicans*) або протягом 21 дня (дерматофіти). Зрілі культури збирали зі стерильним 0,9 % фізіологічним розчином. Суспензія мікроконідій з *T. rubrum* готували з використанням 0,01 % розчину Твін 80 у стерильній воді для досягнення більшого контакту досліджуваних сполук зі спорами. Потім суспензію досліджували під мікроскопом на відсутність фрагментів міцелію. Суспензія хламідоспор *E. floccosum* була отримана з ізоляту, що продукує хламідоспори у великій кількості, що майже повністю утворює міцелій, що складається з ланцюгів хламідоспор. Ці міцелії подрібнювали у вапно за стерильних умов, а потім гомогенізували. Суспензія бластоспор *C. albicans* готували у 0,9 % фосфатно-сольовому буферному розчині. Суспензію досліджували під мікроскопом на відсутність псевдоміцелію. Усі суспензії спочиваючих грибових клітин доводили до концентрації 2×10^5 КУО/мл. Засоби розчиняли та розводили згідно з інструкціями виробників. Використовували такі концентрації: 1, 10, 50, 100 та 500 мкг/мл. 200 мкл кожного розчину лікарського засобу у зазначених вище концентраціях додавали до 800 мкл суспензії спор за стерильних умов. У заздалегідь визначені моменти часу (1 год, 2 год, 4 год, день 1, день 2 та день 4) відбирали зразки об'ємом 10 мкл та досліджували на наявність спор, що проростають. З цією метою зразки обробляли серійним розведенням, висівали на агар Сабуро з глюкозою та інкубували за відповідних умов згідно з відповідними стандартними протоколами інкубації. Після інкубації колонієутворюючі одиниці підраховували для кожного штаму та розраховували швидкість знищення. Ефективність усіх п'яти протигрибових засобів залежала від концентрації засобу та часу інкубації: для прояву спороцидної дії необхідна концентрація, яка у 10-1000 разів перевищує мінімальну інгібуючу концентрацію щодо клітин гіфи, що ростуть. Аморолфін та циклопірокс продемонстрували однакову спороцидну ефективність та кінетичні властивості для усіх трьох видів спор. Обидва засоби були більш ефективними, ніж флуконазол та біфоназол, щодо мікроконідій та хламідоспор, а також трохи ефективнішими щодо хламідоспор та бластоспор, ніж тербінафін, після 4 днів інкубації та у концентраціях 10 мкг/мл. Спороцидна активність до досліджуваних штамів була продемонстрована для усіх п'яти різних протигрибових засобів, які використовуються для лікування оніхомікозу (Сейдл 2015).

Протигрибкова активність Р-3051 *in vitro* (циклопірокс, 8 % лак для нігтів лікувальний) Дослідження протигрибової активності Р-3051 *in vitro* на чашці з агаром

Звіт «Полікем» № 4975, тест-система: *Trichophyton mentagrophytes*. Метод: Метод дифузії в агарі *in vitro*. Дослідницька лабораторія: ПАС СА. Лігорнетто, Швейцарія, 2002.

Протигрибову активність Р-3051 (циклопірокс 8 %) лікувального лаку для нігтів до *Trichophyton mentagrophytes* було досліджено методом дифузії в агарі (звіт «Полікем» № 4975). *Trichophyton mentagrophytes* був отриманий з німецької колекції

Тереклар

ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

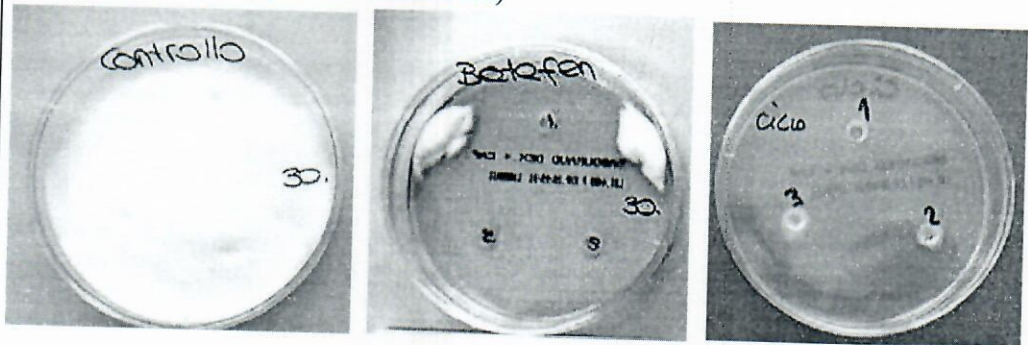
Точ А.В.



мікроорганізмів та клітинних культур (DSMZ). Штам пересівали на сабуро-декстрозному агарі (СДА), інкубували за температури 35 ± 1 °С, а вихідну суспензію $1-5 \times 10^8$ КУО/мл готували у стерильному фізіологічному розчині. Готували чашки Петрі з СДА, розподіляючи 100 мкл суспензії штаму на агар. Досліджувані засоби Р-3051, стандартний препарат (Батрафен®, циклопірокс, 8 % лак для нігтів лікувальний), міконазол 2 % та контрольний розчин гідроксипропілхітозану додавали на поверхню інокульованих чашок шляхом адсорбування 10, 20 або 30 окулятів продуктів на поверхні чашки або всередині лунок діаметром 5 мм, отриманих в агарі. Потім чашки інкубували за температури 32 ± 1 °С протягом 14 днів. Потім візуально оцінювали зони пригнічення росту *Trichophyton mentagrophytes*.

Нанесення Р-3051 на поверхню чашки з агаром спричинило майже повне пригнічення росту *Trichophyton mentagrophytes*. Незначний ріст спостерігався лише відповідно до найбільш дистальних ділянок від місць осадження по периметру чашки. Нанесення циклопіроксу 8 % (Р-3051) всередині лунок агару повністю пригнічувало ріст *Trichophyton mentagrophytes*. Нанесення Батрафену® на поверхню чашки з агаром спричинило майже повне пригнічення росту *Trichophyton mentagrophytes*. Незначний ріст спостерігався лише відповідно до найбільш дистальних ділянок від місць осадження. Нанесення Батрафену® всередину лунок на чашці з агаром не повністю пригнічувало ріст *Trichophyton mentagrophytes*, а деякі колонії були виявлені по периметру чашки (рис. 1).

Рисунок 1. Вплив Р-3051 (справа) та Батрафену® (посередині) на ріст *Trichophyton mentagrophytes* (контрольна чашка зліва)



Нанесення гідроксипропілхітозану 1 % не пригнічує ріст *Trichophyton mentagrophytes* на чашках з агаром.

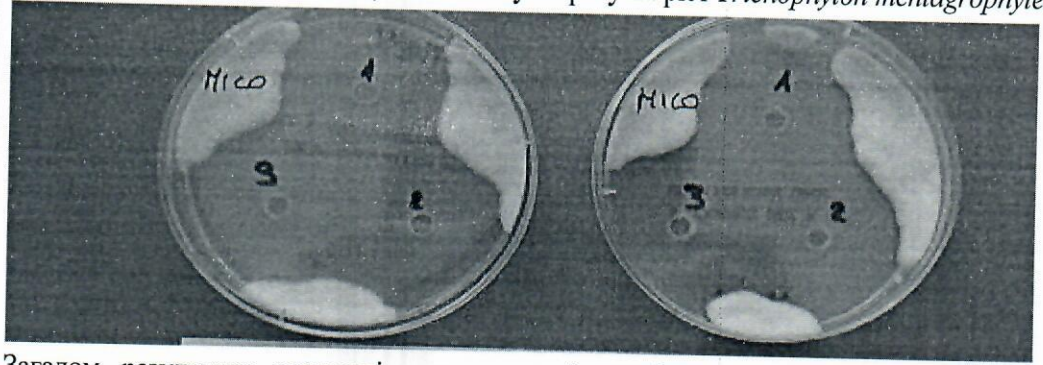
Нанесення міконазолу на поверхню чашки з агаром або всередину лунок з агаром не повністю пригнічувало ріст *Trichophyton mentagrophytes*. В обох випадках відповідний зріст спостерігався у дистальних областях по периметру чашок (рис. 2).

Тереза
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тот А.В.



Рисунок 2. Вплив 2 % розчину міконазолу нітрату на ріст *Trichophyton mentagrophytes*



Загалом, результати, отримані в цьому дослідженні, показали, що всі досліджувані сполуки спричиняли значне пригнічення росту *Trichophyton mentagrophytes*. Зокрема, P-3051 виявився ефективнішим за міконазол (2 %) та трохи ефективнішим за Батрафен® (циклопірокс 8 % у полівінілової смоли).

Дослідження протигрибкової активності P-3051 *in vitro* на дерматофітах та дріжджах шляхом випробування чутливості методом розведення в бульйоні

Звіт «Полікем» № 4973. Тест-система: *Candida parapsilosis*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichophyton rubrum*. Дослідницька лабораторія: ПАС СА. Лігорнетто, Швейцарія, 2003.

Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) P-3051 були визначені для *T. rubrum* DSM 4167, *C. parapsilosis* DSM 11224 та *Scopulariopsis brevicaulis* DSM 9122, отриманих з німецької колекції мікроорганізмів та клітинних культур (DSMZ) (звіт «Полікем» № 4973). Експеримент проводили відповідно до еталонних методів випробування протигрибкової чутливості методом розведення в бульйоні. Протигрибкові робочі розчини готували з відповідними двократними серійними розведеннями P-3051 або активного стандарту (Пенлак®, Дермік, США) у діапазоні циклопіроксу від 0,0015 % до 0,8 % (що аналогічно концентрацій від 15,6 мкг/мл до 8 мг/мл). В якості неактивного контролю випробовували розчин гідроксипропілхітозану (ГПХ) у двократних серійних розведеннях у межах від 0,006 % до 0,1 %. Робочі суспензії містили $0,5-2,5 \times 10^3$ КУО/мл *C. parapsilosis* та $0,4-5,0 \times 10^4$ КУО/мл *T. rubrum*. Кількісний аналіз інокулята здійснювали посівом 100 мкл аліквоти серійних розведень на СДА, інкубацією за температури 35 ± 1 °C та підрахунком кількості колоній. Випробування чутливості проводили двічі з кожним штамом, а пробірки інкубували за температури 35 ± 1 °C протягом 7 днів. МІК визначали як найнижчу концентрацію протигрибкового засобу, яка суттєво пригнічувала ріст мікроорганізму, що було виявлено візуально.

МІК P-3051 визначали для *T. rubrum* DSM 4167 та *C. parapsilosis* DSM 11224. Обидва гриби не розвивалися навіть при найнижчій випробуваній концентрації циклопіроксу (0,0015 % циклопіроксу, що аналогічно концентрації 15,6 мкг/мл). МІК P-3051 для *S. brevicaulis* становила 0,2 % з діапазоном МІК 0,1-0,2 %. Відмінний ріст грибів спостерігався в усіх необроблених контролях та в усіх зразках, що містять ГПХ.

Шляхом порівняння МІК для різних збудників із вихідною концентрацією (8 %) циклопіроксу в лікарському засобі можна визначити індекс ефективності P-3051, що перевищує 5000 як для дерматофітів, так і для дріжджів. Жодної різниці між випробуванням та еталоном не спостерігалось.

Сергієв
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор А.В.



Дослідження профілактичної та лікувальної дії Р-3051 у моделі онїхомїкозу *in vitro*
Звіт «Полікем» № 5034. Тест-система: *Tricophyton mentagrophytes*, *Tricophyton rubrum*,
Microsporum canis. Метод: *In vitro*, копита великої рогатої худоби Дослідницька
лабораторія: Міланський державний університет, Італія, 2004.

Штами, виділені з клінічних зразків (*T. rubrum*; *T. mentagrophytes*, 2 штами; та *M canis*),
були використані для оцінки профілактичної та лікувальної дії Р-3051 (звіт «Полікем»
№ 5034). Профілактична дія: шматочки нїгтів великої рогатої худоби товщиною 50-90
мкм товщини обробляли шляхом занурення у Р-3051, еталонний розчин (Батрафен®,
Авентіс, Італія) або розчин ГПХ та залишили висихати. Також випробовували
необроблені нїгті. Випробування проводили у двох повторностях.

По три нїгті на чашку з СДА поміщали вертикально на однаковій відстані по всій
товщині агару так, щоб вони виступали з агару на 4-5 мм. По одному цілому
фрагменту нїгтя на чашку виймали через один, два та три тижні відповідно. Кожен
вийнятий фрагмент нїгтя поміщали окремо в стерильну чашку з СДА, потім
інкубували та досліджували через три тижні, щоб перевірити за наявності або
відсутності росту грибів, чи призвело профілактичне лікування до остаточного
пригнічення грибів. Аналогічний експеримент проводили з необробленими нїгтями
(контроль).

Дослідження показало, що після переміщення контрольних нїгтів та оброблених ГПХ
нїгтів у новий посуд, що містить стерильне живильне середовище, в усіх штаммах
спостерігалось чітке утворення міцелію в усіх фрагментах нїгтя (Таблиця 7). Після
переміщення нїгтів, оброблених Р-3051, лише один штам *T. mentagrophytes*
продемонстрував утворення міцелію в нїгтях, вийнятих через 14 та 21 день. В усіх
інших оброблених (Р-3051 або еталонним циклопіроксом) нїгтях штами залишалися
пригніченими протягом усього періоду дослідження (три тижні).

Теренас
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тот А.В.



Таблиця 7. Профілактична дія: нанесення досліджуваного засобу до забруднення нігтів. Наявність або відсутність росту грибів оцінюють через 3 тижні після переміщення (+: є ріст; -: немає росту)

| Досліджуваний засіб | Штам | Ріст після переміщення на добу | | |
|---------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|----|----|
| | | 7 | 14 | 21 |
| P-3051 | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | - | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| Еталонний циклопірокс, лак для нігтів | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | - | - | - |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| Розчин ГПХ | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |
| Необроблений контрольний розчин | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |

Лікувальна дія: необроблені шматочки нігтів великої рогатої худоби товщиною 100-150 мкм поміщали на інокульовані чашки з СДА. Потім чашки інкубували за температури 26 ± 1 °С. Через 1 тиждень всю поверхню чашок та поміщені у них нігті рівномірно покривали міцелієм. Через 7, 14 та 21 день фрагмент нігтя, повністю вкритий міцелієм, виймали та обробляли такими досліджуваними засобами за допомогою пензлика: P-3051, Батрафен®, розчин ГПХ або не обробляли (контроль). Після висихання ніготь поміщали у агаровий шар нової стерильної чашки з СДА. Потім чашку інкубували та досліджували один раз на тиждень протягом 21 дня для оцінки росту грибів.

Лікувальна дія циклопіроксу: У Таблиці 8 наведені дані про ріст грибів у фрагментах нігтів, забруднених міцелієм *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* або *M. canis* та оброблених досліджуваними засобами. Усі штами знищували за допомогою P-3051 та еталонного циклопіроксу, лак для нігтів, з відсутністю росту в усі моменти часу. Ріст усіх штамів завершився у чашках з СДА з нігтями, обробленими розчином ГПХ, та і в необроблених контролях.

Перенесено
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тол А.В.



Таблиця 8. Лікувальна дія: нанесення досліджуваних засобів після забруднення нігтів (+: є ріст; -: немає росту)

| Досліджуваний засіб | Штам | Ріст після переміщення на добу | | |
|---------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|----|----|
| | | 7 | 14 | 21 |
| P-3051 | <i>T. mentagrophytes (1)</i> | - | - | - |
| | <i>T. mentagrophytes (2)</i> | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| Еталонний циклопірокс, лак для нігтів | <i>T. mentagrophytes (1)</i> | - | - | - |
| | <i>T. mentagrophytes (2)</i> | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| Розчин ГПХ | <i>T. mentagrophytes (1)</i> | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes (2)</i> | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |
| Необроблений контрольний розчин | <i>T. mentagrophytes (1)</i> | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes (2)</i> | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |

2) Вторинна фармакодинаміка

Антибактеріальна активність циклопіроксу

Циклопірокс також продемонстрував постійну активність до великої кількості грампозитивних та грамнегативних бактерій (Таблиця 9). Ця антибактеріальна активність циклопіроксу, особливо до грамнегативних штамів, є основною перевагою перед деякими азоловими протигрибковими засобами, оскільки бактеріальні інфекції зазвичай спричиняють вторинні інфекції.



Таблиця 9. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) циклопіроксу щодо грамполозитивних та грамнегативних бактерій, мікоплазми та трихомонад (Дітмар та Логаус, 1973; Дітмар та співавт., 1981)

| Мікроорганізм | Номер штамів | Діапазон МІК (мкг/мл) | Мікроорганізми | Номер штамів | Діапазон МІК (мкг/мл) |
|-----------------------------------|--------------|-----------------------|------------------------|--------------|-----------------------|
| Staphylococcus aureus | 8 | 7.8 - 5.6 | Aerobacter aerogenes | 1 | 125 |
| Streptococcus pyogenes | 4 | 3.9 - 15.6 | Klebsiella pneumoniae | 1 | 7.08 |
| Streptococcus spp. ⁽¹⁾ | 5 | 0,25 - 7,8 | Proteus mirabilis | 5 | 31.3 - 125 |
| Listeria monocytogenes | 1 | 15.06 | Pseudomonas aeruginosa | 7 | 31.3 ->125 |
| Bacillus spp. ⁽²⁾ | 5 | 3.9 - 7.8 | | | |
| Shigella flexneri | 1 | 7.08 | Mycoplasma spp. | 6 | 7.8 - 50 |
| Escherichia coli | 7 | 7.8 - 31.3 | Trichomonas vaginalis | 6 | 50 - 100 |
| Aerobacter cloacae | 1 | 31,3 | | | |

Протизапальна активність циклопіроксу

Циклопірокс пригнічує вироблення метаболіту 5-ліпоксигенази (5-гідроксиейкозатетраєнова кислота та лейкотрієну В4) та вивільнення клітинами простагландину Е2 (PGE2). *in vitro* зі значним протизапальним ефектом (Гупта та Плотт 2004).

3) Фармакологія безпеки

Жодних помітних ефектів циклопіроксу на рівні центральної нервової системи та дихальної системи у тварин не спостерігалось. Навпаки, вплив на серцево-судинну систему спостерігався у гризунів та негризунів при пероральному введенні.

У двох 13-тижневих дослідженнях пероральної токсичності кардіотоксичність спостерігалася як у щурів, так і у собак при введенні циклопіроксоламіну в дозах 30 та 100 мг/кг/день, причому побічні реакції були більш серйозними у собак, ніж у щурів. Рівень відсутності спостережуваних небажаних ефектів для обох видів було встановлено при 10 мг/кг/день циклопіроксоламіну (NDA 21-022, лопрокс, 8 % лак для нїгтів).

У подальших 2-тижневих дослідженнях пероральної токсикокінетики на щурах та собаках у дозі 10 мг/кг/день максимальні рівні засобу в сироватці крові коливалися між 2790 та 3570 нг/мл, тоді як у 4-тижневому дослідженні на кроликах у дозі 1000 мг/кг/день сироваткові рівні циклопіроксу були нижче межі виявлення (NDA 21-022, лопрокс, 8 % лак для нїгтів).

Однак у ході клінічного дослідження за участю 454 пацієнтів з онїхомікозом, які застосовували різні лаки для нїгтів протягом 52-тижневого періоду, було підраховано, що кожен пацієнт наносив 0,015 г лаку для нїгтів на нїготь на добу. Враховуючи пацієнта в умовах максимального впливу (наприклад, 20 нїгтів) та щільність циклопіроксу, лак для нїгтів, 80 мг/г, від «Полікем» (0,87 г/мл), нанесений об'єм

Терензар
ЗГІАНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.



| | |
|--|---|
| | <p>становитиме 0,34 мл, що відповідає 27 мг циклопіроксу (0,39 мг/кг/день).</p> <p>Відомо, що після нанесення на шкіру циклопірокс проникає через епідерміс у дерму, але навіть при оклюзії менше 1,5 % всмоктується в системний кровотік. Оскільки $t_{1/2}$ становить 1,7 години, системного накопичення не відбувається (Гудман та Гілман, 2011).</p> <p>У зв'язку з цим, припускаючи системну абсорбцію 1,5 % циклопіроксу за умов максимального впливу, рівні в крові складатимуть концентрації в діапазоні 100 нг/мл, що значно нижче рівнів некардіотоксичних засобів у плазмі, які спостерігаються у тварин (2790 та 3570 нг/мл).</p> <p>Крім того, дані післяреєстраційного періоду лікарського засобу циклопірокс, лак для нігтів, 80 мг/г, від «Полікем», не показали жодних значущих сигналів безпеки для класів системи органів (КОС):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Порушення з боку серця • Порушення з боку нервової системи • Порушення з боку дихальної системи, органів грудної клітки та середостіння <p>У зв'язку з цим, майже всі побічні реакції (ПР), зібрані та внесені до бази даних «Полікем» з 2008 року, міжнародна дата реєстрації (МДР) продукту, що стосується впливу близько 9 мільйонів пацієнтів, які застосовували продукт до 9 місяців, стосуються подразнень лише легкого та помірного ступеня, які виникли в місці нанесення (циклопіроксу, 8 % лак для нігтів (циклопірокс) для місцевого застосування). Періодичний звіт з безпеки. З 13 березня 2017 року по 12 березня 2020 року.</p> |
| <p>4) Фармакодинамічні взаємодії</p> | <p>Заявник не проводив офіційного дослідження ФД взаємодії.</p> <p>Циклопірокс та його сіль циклопіроксоламін представлені на ринку в усьому світі вже понад 40 років та добре зарекомендували себе, жодних повідомлень про будь-яку взаємодію між препаратами циклопіроксу та іншими лікарськими засобами не надходило. Таким чином, зроблено висновок, що жодної взаємодії не спостерігається, а подальші дослідження вважаються непотрібними</p> |
| <p>3. Фармакокінетика</p> | |
| <p>Резюме</p> | <p>Фармакокінетичний профіль циклопіроксу характеризується низькою швидкістю системної абсорбції та схильністю проникати в глибокі шари шкіри та слизових оболонок.</p> <p>Після внутрішньовенного введення циклопіроксоламіну спостерігався швидке зниження рівнів незміненої сполуки у плазмі крові кроликів та собак. Значна частка сполуки виводиться нирками, переважно у формі кон'югату глюкуронової кислоти.</p> <p>У шурів, яким вводили пероральний циклопіроксоламін, сполука швидко абсорбується при пероральному введенні, а потім розподіляється по всіх тканинах з найвищими концентраціями в печінці, нирках та м'язових оболонках стінок шлунка. Швидка кишкова абсорбція також була зареєстрована у собаки. Зв'язування циклопіроксу з білками плазми крові людини становило 96 %.</p> |

Терешак
Згідно з оригіналом

Гор Н.В.



Після вагінального нанесення кроликам приблизно 2 % інтравагінально введеного циклопіроксоламіну абсорбувалося в організмі: рівні вихідної сполуки в плазмі крові досягли свого піку протягом 60 хвилин, а після цього швидко знизився. Період напіввиведення був майже таким самим, як після внутрішньовенного введення. Дослідження з ¹⁴C-міченим циклопіроксоламіном вказували на явну абсорбцію 42-97 % застосованої дози у собак. Видоспецифічна кінетична поведінка циклопіроксоламіну у цьому дослідженні незрозуміла. Клінічні дослідження показали обмежену системну абсорбцію циклопіроксоламіну після вагінального нанесення, як у кроликів. Низька системна абсорбція також спостерігається після нанесення циклопіроксоламіну на шкіру.

Порівняно з азоловим протигрибковим засобом циклопірокс сконцентрований у роговому шарі епідермісу. Основним шляхом метаболізму абсорбованого циклопіроксу є кон'югація з глюкуроною кислотою.

Радіоавтографічні дослідження показали, що циклопірокс певною мірою проникає через плаценту у щурів, яким вводили засіб перорально на пізніх термінах вагітності. Рівні засобу в тканинах плоду, як правило, нижчі, ніж у крові матері. Немає інформації про потрапляння циклопіроксу в молоко.

Хоча системна абсорбція місцево нанесеного циклопіроксу низька, кінетичні дані у комбінації з токсикологічними даними рекомендують обережне застосування сполуки під час вагітності та лактації.

Дослідження *in vitro* проникнення в нігті тварин із шматочками копит великої рогатої худоби, як моделі проникнення нігтів людини, проведені для оцінки проникнення циклопіроксу крізь кератинові мембрани після місцевого застосування P-3051, показали швидке проникнення циклопіроксу з носія P-3051 через мембрани нігтів. Проникнення було вдвічі вищим, ніж проникнення еталонного циклопіроксу, 8 % лак для нігтів лікувальний, в моноефірній смолі (Пенлак), завдяки тому, що носій P-3051 на основі гідроксипропілхітозану (ОНІТЕК) є більш придатним, ніж моноефірні смоли для нанесення лікарських засобів на поверхню нігтя. У наступному дослідженні конкретне дослідження гідроксипропілхітозану привело до висновку, що ця сполука не підсилює проникнення, тому не пошкоджує структуру нігтя.

Оцінка проникнення циклопіроксу в нігті людини *in vitro* привела до висновку, що 40-50 % застосованої дози циклопіроксу вже проникло в нігті людини протягом перших 6 годин після нанесення P-3051, незалежно від того, чи були нігті заражені та підпилені.

Було проведено дослідження *in vitro* для порівняння проникнення в нігті двох протигрибкових засобів (циклопіроксу (CPX) 8 % у P-3051 та аморолфіну (MRF) 5 %) у тому самому носії гідроксипропілхітозану з доступним у продажу лікарським засобом аморолфін, 5 % лак для нігтів (Лоцерил, Галдерма, Франція) після місцевого застосування згаданих продуктів через кератинові мембрани великої рогатої худоби. CPX легше проникав у мембрани великої рогатої худоби, ніж MRF.

Результати абсорбції гідроксипропілхітозану через шкіру, оцінені за допомогою ¹⁴C-радіоміченої сполуки (4СJ-ацети-гідроксипропілхітозан), показали, що швидкість абсорбції в концентрації, призначеній для клінічного застосування (1%), є незначною за експериментальних умов.

Перешар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For H.V.



| | |
|--|---|
| <p>1) Аналітичні методи та звіти щодо їх валідації</p> | <p>Розробка та валідація методу ВЕРХ для визначення циклопіроксу в нігтях Звіт «Полікем» № 4790: Тест-система: Шматочки копит великої рогатої худоби. Здорові копита від забитої худоби. Метод: Дані про проникнення циклопіроксу через мембрани копит великої рогатої худоби після нанесення 75 мкл досліджуваного або контрольного засобу. Дослідницька лабораторія: Пізанський університет, Італія, 2002. Аналітичне визначення циклопіроксу у зразках зістрижених нігтів після нанесення циклопіроксу, 8 % лак для нігтів лікувальний, було здійснено методом ВЕРХ-УФ (звіт «Полікем» № 4790). Продемонстровано лінійність методу в діапазоні концентрацій 0,25-40 мкг/мг нігтя. Коефіцієнт варіації та середнє значення точності були нижчими або дорівнювали 4,0 % (n = 6). Межа виявлення становила 0,25 мкг/мг нігтя з коефіцієнтом варіації 3,5 %. За часу утримування циклопіроксу не було виявлено значних інтерферуючих піків. Розчин виявився стабільним протягом щонайменше 24 годин при зберіганні за кімнатної температури. Підготовка зразка включала розчинення зразка нігтя в 1 N розчину гідроксиду натрію (37 °C протягом 16 годин) та виділення циклопіроксу з подальшою твердофазною екстракцією. Хроматографію проводили на октадециловій колонці з оберненою фазою, а елюат контролювали при 304 нм (звіт «Полікем» № 4771).</p> |
| <p>2) Всмоктування</p> | <p>Дослідження проникнення через шкіру тварин <i>in vitro</i> показали, що циклопірокс швидко проникає через шкіру. Лак циклопіроксу (містить 0,5-8 % діючої речовини), нанесений на висічену свинячу шкіру, використовували для дослідження проникаючих властивостей циклопіроксу (Чешин-Рокс та співавт. 1991). Шкіру інокулювали з <i>Trichophyton mentagrophytes</i> та спостерігалось повне пригнічення росту грибів у самому верхньому <i>роговому шарі епідермісу</i> лише через 30 хвилин після нанесення засобу. При підвищеному впливу або концентрації засобу спостерігалось більше проникнення зі 100 % пригніченням після 18 годин впливу в усіх досліджених шарах шкіри (2-10 смужок) (Чешин-Рокс та співавт. 1991). Ці результати були підтверджені іншим дослідженням із нанесенням на свинячу шкіру циклопіроксу, лак для нігтів лікувальний. Противгрибковий засіб швидко проникає в глибокий <i>роговий шар епідермісу</i>, де він продемонстрував повну противгрибкову активність (Маркус 1999). Інший експеримент із використанням шматочка коров'ячого рогу продемонстрував, що циклопірокс здатний проникати навіть у сильно ороговілі тканини. Порівняно з азоловими противгрибковими засобами, циклопіроксиламін сконцентрований більше в <i>роговому шарі епідермісу</i> (Джу та співавт. 1985). Нігті здорових добровольців щодня обробляли циклопіроксилом, 8 % лак для нігтів лікувальний (5-15 мг/ніготь), протягом 45 днів. Зразки відбирали через 7, 14 та 30 днів та наприкінці лікування. Концентрація циклопіроксу в нігті збільшувалась протягом перших 30 днів, після чого досягала рівноважного стану між днями застосування 30-45. Після 7 днів щоденного нанесення більша кількість циклопіроксу спостерігалась в першому шарі з відносним відсотком 51,1 %, а в більш глибоких шарах відбулося прогресуюче зменшення. Більш однорідний розподіл циклопіроксу відбувся через 14 днів застосування. 32 та 20 % від загального циклопіроксу спостерігалися у першому та четвертому шарі відповідно. Подібна схема проникнення спостерігалась після 30 днів щоденного застосування. Концентрація циклопіроксу, виявлена в нігтях після 7, 15 та 30 днів застосування, становила $0,89 \pm 0,2$, $1,78 \pm 0,4$ та $3,35 \pm 0,822$ мкг/мг нігтьового матеріалу відповідно (Чешин-Рокс та співавт. 1991). Концентрація циклопіроксу в нігті знизилась нижче межі виявлення вже через 7 днів після закінчення лікування (0,05</p> |

Текст
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор А.В.



мкг/мг нігтьового матеріалу).

Звіт «Полікем» № 4790: Тест-система: Шматочки копит великої рогатої худоби. Здорові копита від забитої худоби. Метод: Дані про проникнення циклопіроксу через мембрани копит великої рогатої худоби після нанесення 75 мкл досліджуваного або контрольного засобу. Дослідницька лабораторія: Пізанський університет, Італія, 2002. Опубліковано Монті та співавт. 2005.

Шматочки копит великої рогатої худоби використовували у дослідження *in vitro* для оцінки проникнення циклопіроксу через кератинові мембрани як валідованої моделі нігтів людей після місцевого застосування лікувального лаку для нігтів Р-3051 порівняно з лаком для нігтів Пенлак (Монті та співавт. 2005; звіт «Полікем» № 4790). Мембрани копит великої рогатої худоби товщиною прибіл. 120-170 мкм зволожували, поміщали між 2 відділеннями (донорською та приймальною камерами) у моделі вертикальної проникної клітини та отримували 75,0 мкл лікувального лаку для нігтів Р-3051 або еталонного лаку для нігтів Пенлак (марка США для складу лаку для нігтів, що містить 8 % циклопіроксу) [циклопірокс 8 %; (м/м) в основі лаку, що складається з полівінілової смоли та розчинників]. Наприкінці експериментів з проникненням надлишок продукту механічно видаляли з поверхні мембрани, а після екстрагування 1 н NaOH вміст циклопіроксу визначали методом ВЕРХ.

Оцінювали такі параметри проникнення: сталий потік; Q/At , де Q – кількість проникної дифузії через область A за час t ; латентний період, що вказує час, необхідний речовині для насичення мембрани та досягнення фази приймання; коефіцієнт видимої проникності ($Papp$), визначений коефіцієнтом між сталим потоком та початковою концентрацією лікарського засобу; та відсоток речовини, що проникла через 30 годин ($Q\%30h$). Сталий потік або кількість циклопіроксу, що дифундує через фіксовану область залежно від часу, був вищим для лікувального лаку для нігтів Р-3051 а, відповідно, відсоток проникнення циклопіроксу ($Q\%$) значно відрізнявся між двома складами, тобто він становив 2,10 та 1,06 % для лікувального лаку для нігтів Р-3051 та лаку для нігтів Пенлак (Таблиця 10) відповідно. Крім того, найважливіша різниця між двома досліджуваними складами була виявлена у латентному періоді. Лікувальний лак для нігтів Р-3051 демонструє швидше проникнення порівняно з Пенлаком (Таблиця 10). Наприкінці дослідження проникнення кількість циклопіроксу, що зберігається в мембранах копит, була еквівалентною як для лікувального лаку для нігтів Р-3051, так і для лаку для нігтів Пенлак з $9,08 \pm 0,94$ та $9,68 \pm 0,77$ мкг циклопіроксу на мг нігтя відповідно.

Теренас
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор А.В.



Таблиця 10: Дані про проникнення циклопіроксу через копитні мембрани після нанесення 75,0 мкл лікувального лаку для нігтів із досліджуваним засобом Р-3051 або лаку для нігтів Пенлак, який містить 8 % (м/м) циклопіроксу (n = 6)

| Носій | Потік (мкг/см ² год) (± СП) | Латентний період (год) (± СП) | Q%30h (± СП) | Рapp (см/год10 ³) (± СП) |
|---|--|-------------------------------------|-----------------|--|
| Циклопірокс, лак для нігтів лікувальний | 4,70 ± 0,60 | 3,36 ± 0,46 | 2,10 ± 0,29 | 0,06 ± 0,01 |
| Пенлак® лак для нігтів | 3,05 ± 0,63 | 12,48 ± 0,131 | 1,06 ± 0,25 | 0,04 ± 0,01 |

В іншому дослідженні (звіт «Полікем» № 4969) компанія «Полікем» продемонструвала, що ефект хітозану не пов'язаний з будь-якою властивістю посилення проникнення, оскільки лак циклопірокс з хітозаном та без нього, належним чином нанесений на ніготь (копита великої рогатої худоби) або на шкіру (безшерсті миші) з оклюзією, щоб уникнути випаровування, показав аналогічне проникнення через ніготь та шкіру для обох засобів. В якості коментарю до цього результату, різниця між властивостями проникнення Р-3051 та Пенлаку в ніготь не пов'язана з будь-якою властивістю посилення проникнення гідроксипропілхітозану (ГПХ), а з тим фактом, що ця допоміжна речовина не перешкоджає пасивній дифузії діючої речовини (циклопіроксу) в нігтьову пластину та через неї, що, очевидно, відбувається з носієм Пенлаку. Кількість циклопіроксу, визначена методом ВЕРХ, що залишилася в нігті людини (42-57 % застосованої дози) після нанесення лікувального лаку для нігтів Р-3051, не демонструвала статистичних відмінностей між зараженими та незараженими, а також підпиленими або непідпиленими нігтями людини (звіт «Полікем» № 4771: Оцінка *in vitro* концентрації циклопіроксу у видалених або зрізаних нігтях людини після нанесення лікарського засобу на заражені та незаражені нігті, 2002 р. Під видавництвом Тонї енд Майянд 2010). Навіть найнижча виявлена концентрація (1,8 мкг/мг у заражених нігтях) була набагато вищою (у 460 разів), ніж МІК, вказана в літературі для усіх дерматофітів, які спричиняють оніхомікоз.

In vivo – У самців щурів лінії Спрег-Дуолі (n = 18; 300 г маси тіла), яким місцево наносили 20 мг/кг циклопіроксоламіну протягом 2, 4 та 8 годин, рівні циклопіроксоламіну в сироватці крові були нижче 0,8 мкг/мл. У шарах шкіри пікові концентрації були виявлені в *роговому шарі епідермісу* (12,8 мкг/г тканини через 4 години після застосування) та були мінімальними в папілярному шарі. У *роговому шарі епідермісу* концентрації вище 3 мкг/г зберігалися до 8 годин після введення дози. Жодних вимірних рівнів циклопіроксоламіну не виявлено в ч/ш тканини (звіт «Полікем» № 1232/92).

Терешча
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.



При нанесенні 10 мг/кг розчину 1 % $[^{14}\text{C}]$ -циклопіроксоламіну в поліетиленгліколі-400 на шкіру щурів, радіоактивність у крові виявлялася через 1 годину після нанесення та досягала піку через 6 годин. Через 7 днів після нанесення в крові та органах були виявлені лише сліди радіоактивності (Осава та співавт. 1975). Після нанесення $[^{14}\text{C}]$ -циклопіроксоламіну у вигляді 1 % крему на водній основі на здорову шкіру людини (час проникнення 6 годин, оклюзійна пов'язка протягом 5 годин), 1,3 % дози було абсорбовано (Келнер та співавт. 1981; Джу та співавт. 1985). Концентрація циклопіроксу була високою в роговому шарі епідермісу (2300-4500 мкг/мл). Концентрація циклопіроксу зменшувалася зі збільшенням глибини шкіри, але рівні, визначені у дермі, перевищували МК. Ці концентрації вже були отримані на першій стадії випробування через 1,5 год та не змінювалися протягом більш тривалого періоду проникнення. Після нанесення крему $[^{14}\text{C}]$ -циклопіроксоламіну на водній основі на поверхні нїгтів, радіоактивно мічена сполука проникала прямо крізь нїготь. У собак абсорбція 1 % водного розчину циклопіроксу була вищою (5-15 % дози) при нанесенні на шкіру, ніж у людей (Келнер та співавт. 1981).

Дослідження протигрибкової активності до мембран копит великої рогатої худоби в якості біологічної моделі проникнення через нїгті людини

Мета цього дослідження – продемонструвати проникнення Р-3051 через мембрани копит великої рогатої худоби, щоб переконатися, що він здатний досягати терапевтично значущих концентрацій у місці грибової інфекції (Тоньї та Майянд 2010).

Trichophyton rubrum, *Candida parapsilosis*, *Scopulariopsis brevicaulis* та *T. mentagrophytes* були отримані з німецької колекції мікроорганізмів та клітинних культур (DSMZ). Середовище СДА, інокульоване $0,5-1,0 \times 10^3$ КУО/мл, розливали у квадратні чашки Петрі (12 x 12 см). Досліджуваний засіб додавали до нейтрального диска діаметром 10 мм (5, 7 або 10 мкл Р-3051 на диск) та до 10 x 20 мм, 50 мкм товщиною шматочків копит великої рогатої худоби (5, 7, 10 або 20 мкл Р-3051 на шматочок копит великої рогатої худоби). Диски та шматочки копит великої рогатої худоби поміщали на поверхню інокульованого середовища з агаром та інкубували за температури 32 ± 1 °С протягом щонайменше 5 днів для сприяння росту грибів. В якості активного еталону, Пенлак® та 1 % розчин ГПХ використовували в якості активного та неактивного еталонного контролю відповідно. Потім чашки перевіряли на наявність та розмір інгібуючих кілець. Інгібуючі кільця були присутні лише навколо дисків та мембран копит великої рогатої худоби, просочених Р-3051 та еталоном. ГПХ не впливав на ріст грибів. Інгібуючі кільця навколо нейтральних дисків були подібними між Р-3051 та еталоном (рис. 3). Навпаки, інгібуючі кільця навколо мембран копит великої рогатої худоби, просочених Р-3051, були значно більшими, ніж при еталоні. Також була зареєстрована залежність розміру інгібуючих кілець від дози. Цікаво, що при застосуванні Р-3051 кільця навколо дисків та мембран були схожими, що вказує на те, що Р-3051 добре долає бар'єр, представлений мембраною копита великої рогатої худоби.

Ці результати моделі *in vitro* вказали, що новий лак для нїгтів циклопірокс, Р-3051, добре проникає крізь нїгті, краще, ніж еталонний засіб.

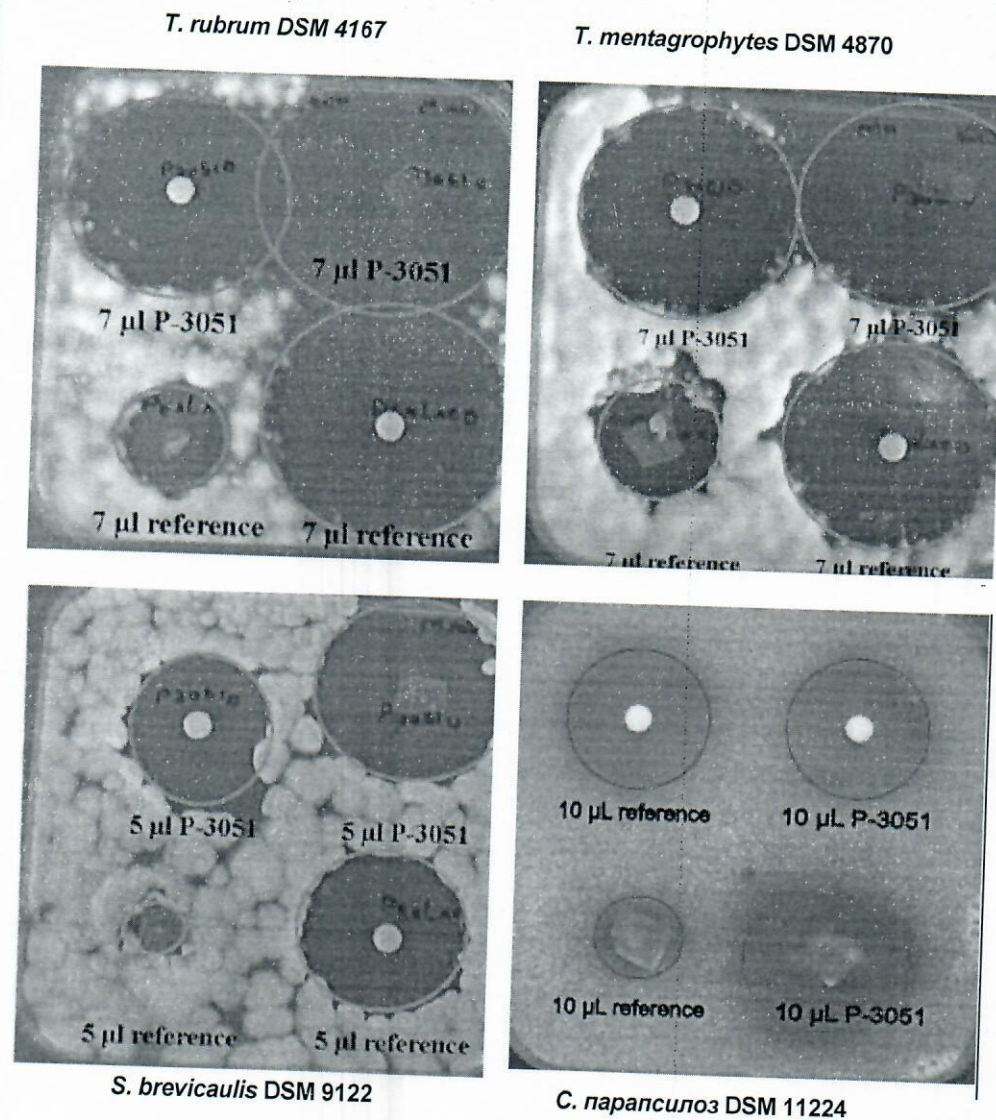
Лерешар

ЗГІАНО З ОРИГІНАЛОМ

For N.B.



Рисунок 3. Інгібуючі кільця навколо грибкових культур шляхом нанесення P-3051 або еталонного циклопіроксу, 8 % лак для нігтів, на нейтральні диски або на шматочки копит великої рогатої худоби



Дослідження *in vitro* протигрибкової активності циклопіроксу, 8 % лак для нігтів, у мембранах копит великої рогатої худоби

Звіт «Полікем» № 5027. Тест-система: *Candida parapsilosis*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* та *Scopulariopsis brevicaulis*. Метод: Метод розведення в бульйоні *in vitro*. Дослідницька лабораторія: ШАС СА. Лігорнетто, Швейцарія, 2004.

Відповідно до аналізів дифузії в агарі, квадратні чашки з СДА (сабуро-декстрозний агар) засівали кожним із досліджуваних мікроорганізмів (*Trichophyton rubrum*, *Candida parapsilosis* та *Scopulariopsis brevicaulis*) (Звіт «Полікем» № 5027). На кожну чашку розміщували нейтральний диск з 10 мкл циклопіроксу та три шматочки нігтя товщиною 75 мкм з 10 мкл 8 % циклопіроксу, 20 мкл 8 % циклопіроксу та 10 мкл плацебо відповідно. Чашки інкубували за температури 32 ± 1 °C протягом принаймні 5 днів, а потім оцінювали наявність та розмір інгібуючих кілець. Результати дослідження показали, що нігті, оброблені 10 та 20 мкл циклопіроксу, 8 % лак для нігтів, виробляли дозозалежні інгібуючі кільця досліджуваних дерматофітів, а саме

Терешар
ЗГІДАНО з ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.



Trichophyton rubrum, *Candida parapsilosis* та *Scopulariopsis brevicaulis*. Плацебо (носії ГПХ) не виявило жодного інгібування (рис. 4, 5 та 6).

Рисунок 4 (ліворуч) та 5 (праворуч). Вплив циклопіроксу, 8 % лак для нігтів, проникнення через шматочки нігтів великої рогатої худоби на ріст *Trichophyton rubrum* (ліворуч) або *Scopulariopsis brevicaulis* (праворуч)

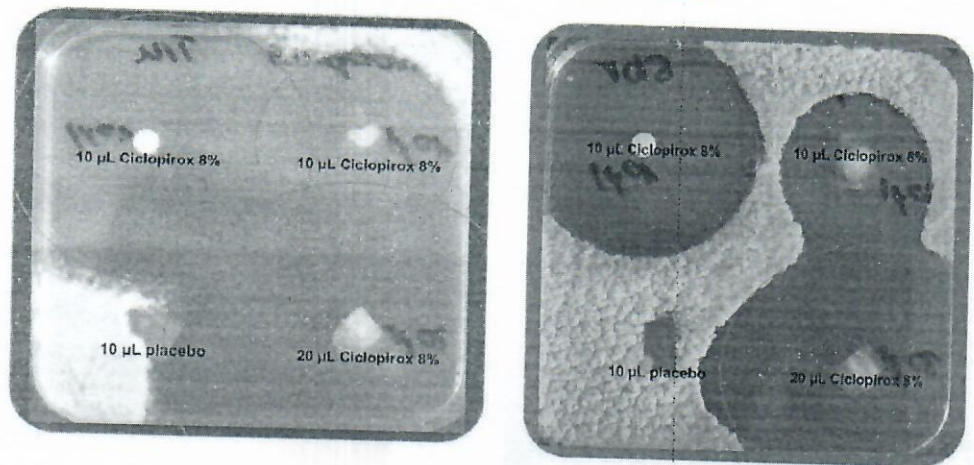
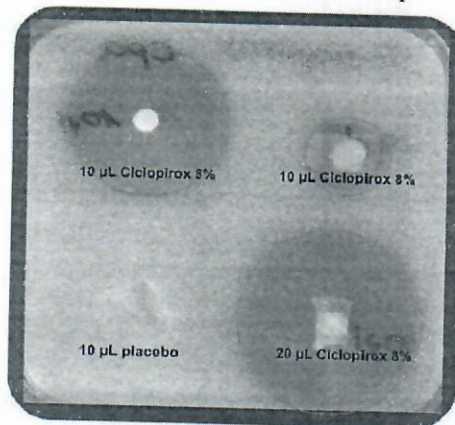


Рисунок 6. Вплив циклопіроксу, 8 % лак для нігтів, проникнення через шматочки нігтів великої рогатої худоби на ріст *Candida parapsilosis*



3) Розподіл

Звіт «Полікем» № 4790: Тест-система: Шматочки копит великої рогатої худоби. Здорові копита від забитої худоби. Метод: Дані про проникнення циклопіроксу через мембрани копит великої рогатої худоби після нанесення 75 мкл досліджуваного або контрольного засобу. Дослідницька лабораторія: Пізанський університет, Італія, 2002.

Про розподіл циклопіроксу в місці дії повідомлялося у дослідженні *in vitro* після місцевого нанесення лікувального лаку для нігтів Р-3051 порівняно з лаком для нігтів Пенлак (Монті та співавт. 2005; звіт «Полікем» № 4790). Наприкінці дослідження проникнення кількість циклопіроксу, що зберігається в мембранах копит, була еквівалентною як для лікувального лаку для нігтів Р-3051, так і для лаку для нігтів Пенлак з $9,08 \pm 0,94$ та $9,68 \pm 0,77$ мкг циклопіроксу на мг нігтя відповідно.

Див. Додаток 30 про розподіл *in vivo* циклопіроксу в нігтьовій пластині, що повідомлялося в 4 клінічних дослідженнях.

Терешлар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For H.B. [Signature]



| | |
|---|--|
| 4) Метаболізм | <p>Циклопірокс в основному виводиться шляхом кон'югації з глюкуроною кислотою. Кон'юговані метаболіти швидко виводяться нирками (Джу та співавт. 1985).</p> <p>Після в/в введення 2 % циклопіроксоламіну кроликам (15 мг/кг), співвідношення між загальним та вільним циклопіроксом було приблизно 1:1 спочатку та приблизно 5:1 через 4 години. Після інтравагінального введення циклопіроксоламіну 2 % (15 мг/кг) кроликам співвідношення завжди було приблизно 5:1 (Коппі та Сілінгарді 1992; Коппі та співавт. 1993). Ці результати демонструють, що циклопірокс в основному перетворюється на похідні глюкуроніду.</p> |
| 5) Виведення | <p>Фармакокінетичне дослідження на щурах, яким на шкіру наносили 10 мг/кг циклопіроксу (у вигляді 1 % розчину [¹⁴C]-циклопіроксоламіну в поліетиленгліколі-400) виявило виділення з сечею та калом, пік якого досягався через 2 дні після застосування. Через 14 днів після застосування 11,4 та 12,4 % застосованої дози виводилося з сечею та калом у самців та самиць відповідно. Співвідношення виділення з сечею та калом було приблизно 5:1 (Осава та співавт. 1975).</p> <p>Рівні циклопіроксу в плазмі крові кроликів після в/в введення (15 мг/кг) швидко знижувалися та не виявлялися (< 15 нг/мл) через 24 години. Період напіввиведення після внутрішньовенного введення становив $2,02 \pm 0,22$ години (Коппі та Сілінгарді 1992). У тих самих видів подібні періоди напіввиведення ($2,22 \pm 0,16$ год) спостерігалися після інтравагінального нанесення циклопіроксу (15 мг/кг). Загальний кліренс становив 0,73 та 148,5 л/год після в/в та інтравагінального застосування відповідно.</p> <p>Подібне швидке виведення з початком приблизно через 2 години після введення дози спостерігалось у собак (Келнер та співавт. 1981). Значна частка сполуки виводилася із сечею, головним чином у формі глюкуронідів.</p> |
| 6) Фармакокінетичні взаємодії (доклінічні) | <p>Заявник не проводив офіційного дослідження ФК взаємодії. Це дослідження вважається непотрібним, оскільки циклопірокс використовується лише для місцевого застосування. Крім того, циклопірокс та його сіль циклопіроксоламін представлені на світовому ринку вже більше 40 років та добре зарекомендували себе для нанесення на шкіру/нігті.</p> |
| 7) Інші фармакокінетичні дослідження | <p>Не застосовується</p> |
| 4. Токсикологія: | |
| 1) Токсичність у разі одноразового введення | <p>Гостру токсичність циклопіроксоламіну досліджували на щурах лінії Спрег-Доулі та швейцарських мишах при п/о, ч/ш, в/в та і/п введенні. Гостру пероральну токсичність досліджували на кроликах. Значення LD50, наведені в Таблиці 11, демонструють низьку гостру токсичність після п/о та ч/ш введення та помірну гостру токсичність при в/в або і/п введенні. Не спостерігалось жодних відмінностей, пов'язаних зі статтю (Сакураї та співавт. 1975).</p> |

Згідно з Оригіналом

Тор А.В.



Звіт «Полікем» № 1232/92: щури лінії Спрег-Доулі. Спосіб введення: п/о та ч/ш. Дози: п/о. 750, 1500, 3000 та 6000 мг/кг; ч/ш. 100 та 200 мг/кг. Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, Мілан, Італія, 1981.

Симптоми токсичності були неспецифічними та подібними у досліджуваних видів. Клінічними ознаками інтоксикації були порушення дихання з подальшим коматозним станом. Розтин показав ерозії та виразки у шлунково-кишковому тракті після п/о введення (звіт «Полікем» № 1232/92).

Пероральні токсичні дози циклопіроксоламіну спричиняли порушення дихання та подальший коматозний стан. Смерть, як правило, наставала у період з дня 1 по день 5. Розтин показав ерозію та виразки у шлунково-кишковому тракті після п/о введення. Симптомів токсичності не зафіксовано до максимальної ч/ш дози 200 мг/кг.

Таблиця 11: Значення LD50 циклопіроксоламіну у різних видів тварин

| Види тварин | Спосіб введення | LD50 (мг/кг) | Посилання |
|-------------|-----------------|-----------------|---|
| щур | п/о | > 2500 - 3290 | Альперман та Шютц (1981); Полікем (1981); Сакураї та співавт. (1975). Полікем (1981); Сакураї та співавт. (1975). Сакураї та співавт. (1975). Сакураї та співавт. (1975). |
| | ч/ш | > 200* - > 2500 | |
| | в/в | 72-79 | |
| | і/п | 146-172 | |
| миша | п/о | 1740-2898 | Полікем (1981); Сакураї та співавт. (1975); Альперман та Шютц (1981) Полікем (1981); Сакураї та співавт. (1975). Сакураї та співавт. (1975). Сакураї та співавт. (1975). |
| | ч/ш | > 200* - > 2500 | |
| | в/в | 71-74 | |
| | і/п | 83-88 | |
| кролик | п/о | 3065 | Альперман та Шютц (1981) |

2) Токсичність у разі повторних введень

4-тижневе дослідження пероральної токсичності на щурах

Звіт «Полікем» № 1232/92. Види: Щури-альбіноси лінії Спрег-Доулі. Спосіб введення: пероральний. Дози: 10, 30 та 100 мг/кг. Тривалість: 4 тижні. Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, 1981. Субхронічну токсичність циклопіроксоламіну (10-100 мг/кг маси тіла) при пероральному введенні протягом 4 тижнів оцінювали на самцях та самицях щурів-альбіносів лінії Спрег-Доулі (звіт «Полікем» № 4789). Щодня спостерігали за загальним станом та поведінкою тварин, а щотижня – за збільшенням маси тіла та споживанням їжі. Наприкінці лікування проводили аналіз крові та сечі. Розтин включав макроскопічне дослідження та гістологічне дослідження основних органів. Стан тварин, яким вводили циклопіроксоламін у дозах до 30 мг/кг, був хорошим протягом усього дослідження. У щурів, яким вводили найвищу дозу (100 мг/кг), спостерігалися специфічні симптоми інтоксикації, такі як щетиниста шерсть, задишка та втрата спонтанної активності; 25 % тварин групи високої дози померло. Аутоптична діагностика не виявила значних макроскопічних змін, за винятком спорадичних змін слизової оболонки шлунка при менших дозах. Збільшення маси тіла тварин, яким вводили 100 мг/кг, сповільнювалося, ймовірно, через зменшення споживання їжі.

Терешар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор А.В.



| | |
|------------------------------|--|
| | <p>Звіт «Полікем» № 1232/92. Види: Собаки, бігль. Спосіб введення: Нанесення на шкіру, вагінальне введення. Дози: 10, 20 мг/кг/день (перорально); 12,5 мг/кг/день (вагінально). Тривалість: 2 тижні. Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, 1981.</p> <p>Самцям та самицях собак щодня на шкіру наносили крем, що містить 1 або 2 % циклопіроксоламіну (що аналогічно 10 або 20 мг/кг циклопіроксоламіну на день) протягом 12 тижнів поспіль (звіт «Полікем» № 1232/92). Ще двом самицям собак щодня вагінально вводили 12,5 мг/кг циклопіроксоламіну протягом того самого періоду часу. За загальним станом, поведінкою та місцевою толерантністю тварин спостерігали щоденно, а за масою тіла – щотижня. Аналіз крові та сечі проводили на початку, в середині та наприкінці лікування. Наприкінці лікування тварин піддавали евтаназії. Лікування циклопіроксоламіном не спричинило значних клінічних або патологічних змін, та не спостерігалось жодних аномалій на місці нанесення. Розтин не виявив жодних змін, пов'язаних з лікуванням.</p> |
| 3) Генотоксичність: in vitro | <p>Дослідження генотоксичності, проведені з циклопіроксоламіном, включають випробування на точкову мутацію з різними штамами <i>Salmonella typhimurium</i>, конверсією генів у <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4, репаративний синтез ДНК у клітинах WI-38 людини, тест на мутагенність із ссавцем-посередником з використанням <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4 та аналіз з використанням <i>Saccharomyces cerevisiae</i> для дослідження зразків сечі, зібраних у досліджуваних тварин (звіт «Полікем» № 1232/92). Жодне з цих досліджень не виявило доказів мутагенної дії циклопіроксоламіну.</p> <p>Звіт «Полікем» № 1232/92. In vitro на <i>Salmonella typhimurium</i>. Дози: 1, 10, 100 та 1000 мкг/чашка. Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, 1981.</p> <p>Мутагенну активність циклопіроксоламіну досліджували у штаммах <i>Salmonella typhimurium</i> TA 1535, TA 1538, TA 100 та TA 98 за відсутності та наявності метаболічної активації фракцією мікросом печінки щурів S9. Оскільки циклопіроксоламін розчиняли та розводили в дистильованій воді, цей розчинник використовували для негативних контролів. N-метил-N'-нітро-N-нітрозоганідин та 2-ацетамінофлуорен використовували в якості позитивних контролів. Циклопіроксоламін не був генотоксичним у жодному зі штамів бактерій, досліджених до концентрації 1 мг/чашка, ні за наявності, ні за відсутності метаболічної активації.</p> <p>Звіт «Полікем» № 1232/92. In vitro на <i>Saccharomyces cerevisiae</i>. Дози: 0,01, 0,1 та 1 мкг/чашка. Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, 1981. Швидкість конверсії гена циклопіроксоламіну досліджували у <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4, який не здатний рости у культуральному середовищі з дефіцитом аденіну або триптофану як за відсутності, так і за наявності фракцій мікросом печінки щурів. N-метил-N'-нітро-N-нітрозоганідин та диметилнітросоамін використовували в якості позитивних контролів. На відміну від контрольних мутагенів, циклопіроксоламін (до 1 мкг/чашка) не зміг підвищити швидкість конверсії генів «Ade 2» та «Trp 5» як з метаболічною активацією, так і без неї. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4 також використовували для встановлення мутагенної активності метаболітів, виявлених у сечі тварин, яким вводили циклопіроксоламін до 3 мг/кг на день протягом 4 днів. Також це дослідження не змогло надати доказів мутагенного потенціалу циклопіроксоламіну або метаболітів у досліджуваних дозах. Подібним чином результат тесту на мутагенність із ссавцем-посередником самиць</p> |

Перемар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For H.O.



| | |
|--|---|
| | <p>швейцарських мишей був негативним, оскільки частота конверсій генів у <i>Saccharomyces cerevisiae</i> залишалася незмінною під впливом циклопіроксоламіну або його метаболітів.</p> <p>Циклопіроксоламін не індукував репаративний синтезу ДНК у культивованих диплоїдних клітинах людини WI-38, які піддавалися впливу субтоксичних концентрацій лікарського засобу (до концентрації 1 мг/мл). Клітини вирощували до злиття. Потім живильне середовище замінювали середовищем, яке зберігало клітини на стадії нереплікації, і після цього до культур додавали тритій-мічений тимідин. Таким чином, радіоактивність, яка міститься в ДНК під час впливу лікарського засобу, відображає відновлення ДНК. N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідин або метилхолантрен використовували в якості позитивних контролів. Циклопіроксоламін використовували до концентрації 10 мкг/мл. Лікування циклопіроксоламіном не посилювало включення [³H]-тимідину у ДНК, що вказує на те, що циклопіроксоламін не спричинив генотоксичних ефектів.</p> |
| in vivo (включаючи додаткову оцінку з токсикокінетики) | Досліджень оцінки генотоксичного потенціалу циклопіроксу in vivo не проводилось. Тим не менш, оскільки дослідження канцерогенного потенціалу молекули доступне в літературних джерелах (див. наступний розділ), а препарати циклопіроксу доступні на ринку засобів для нанесення на шкіру більше 40 років, не вважаються необхідними дослідження вивчення генотоксичного потенціалу молекули in vivo. |
| 4) канцерогенність: | Доступне дослідження канцерогенності циклопіроксу для 50-тижневого застосування на мишах (див. розділ «Довгострокові дослідження» нижче). |
| Довгострокові дослідження | Дослідження канцерогенності циклопіроксу (1 % та 5 % розчини в поліетиленгліколі 400) у мишей-самиць, яким черезшкірно вводили дозу двічі на тиждень протягом 50 тижнів з подальшим 6-місячним періодом спостереження без введення препаратів перед розтином, не виявило жодних ознак пухлин у місці введення (Альперман та Шютц 1981, NDA 21-022). |
| Короткострокові дослідження або дослідження середньої тривалості | Не застосовується |
| Додаткові дослідження | Не застосовується |
| 5) Репродуктивна токсичність та токсичний вплив на розвиток потомства: | |

Терешар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.



| | |
|--|--|
| <p>Вплив на фертильність і ранній ембріональний розвиток</p> | <p>Дослідження оцінки впливу циклопіроксоламіну на фертильність та розмноження проводили на щурах, яким вводили засіб черезшкірно. (Звіт «Полікем» № 1232/92) Звіт «Полікем» № 1232/92. Дослідження фертильності на щурах лінії Спрег-Доулі. Спосіб введення: ч/ш Дози: 1, 3 та 10 мг/кг. Тривалість: 60 днів (самці) 15 днів (самиці). Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, 1981. Дослідження фертильності показали відсутність побічних реакцій на репродуктивні функції як у самців, так і у самиць щурів лінії Спрег-Доулі, яким ч/ш вводили циклопіроксоламін у дозах до 10 мг/кг/день. Самців лікували протягом 60 днів, а самиць – 15 днів перед спаровуванням. На 20-й день вагітності половині вагітних самиць кожної групи видаляли матку під ефірним наркозом. Плоди досліджували під мікроскопом та обробляли алізариним червоним С для виявлення вад розвитку скелета. Інші вагітні щури народжували спонтанно. Новонароджених підраховували, як мертвих, так і живих, визначали їхню стать та спостерігали за приростом маси тіла до моменту відлучення. Щурів F1 розділяли за статтю та доводили до віку 10 тижнів без будь-якого фармакологічного лікування. Сорок самиць (по 10 у кожній групі) спаровували з самцями того ж покоління, а за вагітними самицями спостерігали протягом їхньої вагітності. Після лапаротомії на 20-й день вагітності проводили огляд плодів. Не було відмінностей між контрольними та досліджуваними тваринами щодо післяпологового розвитку та росту в поколінні F1.</p> |
| <p>Ембріотоксичність</p> | <p>Звіт «Полікем» № 1232/92. Ембріофетальний розвиток у новозеландських білих самиць кроликів. Спосіб введення: нанесення на шкіру. Дозування: 40 мг/кг. Тривалість: 6-18 днів вагітності. Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, 1981. Ембріотоксичність та тератогенез циклопіроксоламіну досліджували на самицях новозеландських білих кроликів, яким місцево наносили засіб на поголену спину. (Звіт «Полікем» № 1232/92). Десять тварин отримували крем циклопіроксоламін у дозі 40 мг/кг/день з 6-го по 18-й день вагітності. За загальним станом, поведінкою та викиднями у тварин спостерігали щоденно, а за масою тіла – щотижня. Після лапаротомії на 28-й день вагітності проводили ретельний огляд плодів. Дорослі вагітні тварини добре переносили циклопіроксоламін, а у плодів не спостерігалось вад розвитку або аномалій розвитку.</p> |
| <p>Пренатальна та постнатальна токсичність</p> | <p>Дані про цей сегмент відсутні. Системна абсорбція циклопіроксу після нанесення на нігті у людей є незначною, було продемонстровано, що лікарський засіб не впливає на фертильність та ембріогенез, а циклопірокс добре зарекомендував себе на ринку більше 40 років тому. Таким чином, таке дослідження не вважається необхідним.</p> |
| <p>Дослідження, при яких препарат вводиться потомству (нестатевозрілим тваринам) та/або оцінюється віддалена дія</p> | <p>Не застосовується</p> |

Переклад
 ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Гор А.В.



б) Місцева
переносимість

Випробування на чутливість до циклопіроксу

Звіт «Полікем» № 1232/92. Первинне подразнення шкіри. Спосіб введення: місцеве нанесення на шкіру. Дозування: 2 г/кг крему, 1 мл/кг розчину відповідно. Тривалість: 48 годин. Дослідницька лабораторія: Міланський державний університет, медичний факультет, Інститут фармакології, 1981.

Під час випробування на чутливість у кроликів, які отримували крем або розчин, що містить 1 % циклопіроксоламіну, відповідно, не було виявлено значного подразнення шкіри (звіт «Полікем» № 1232/92). Двадцять чотири самиці новозеландських білих кроликів були розділені на 4 групи по 6 тварин. Дві ділянки по 30 см² на спині кожної тварини були поголені. На одній ділянці зробили надріз. Одна група отримувала крем Мікопірокс, що містив 20 мг циклопіроксоламіну, інша група отримувала розчин Мікопіроксу з 10 мг циклопіроксоламіну; інші 2 групи отримували відповідний носій. Через 24 та 48 годин після нанесення еритему та набряк оцінювали за шкалою від 1 до 4 балів відповідно. Ступінь первинного подразнення для кожної групи визначали шляхом ділення загального балу на кількість тварин та на кількість критеріїв оцінки. Ступінь подразнення неушкодженої та надрізаної шкіри була нижчою за 0,5 як для допоміжних речовин, так і для лікарської форми циклопіроксоламіну. Таким чином, циклопіроксоламін вважався неподрознюючим засобом.

P-3051, циклопірокс, 8 % лак для нігтів лікувальний

Дослідження тяжкого подразнення шкіри на кроликах

Звіт «Полікем» № 4770. Первинне подразнення шкіри P-3051. Нанесення на шкіру новозеландським кроликам-альбіносам. Дозування: 0,5 мл 8 % розчину циклопіроксу. Тривалість: 24 години Дослідницька лабораторія: Центр біологічних досліджень (CERB), Божі (Франція), 2002.

Дослідження проводили згідно з Належною лабораторною практикою та відповідно до рекомендацій OECD № 404. Мета – визначити у кролика будь-який подразливий або корозійний потенціал розчину для нігтів P-3051 після однократного, напівоклюзивного, 24-годинного нанесення 0,5 мл на 6 см² з ділянку шкіри з надрізом (справа) та без надрізу (зліва) (звіт «Полікем» № 4770). Сусідні необроблені ділянки були контролем. Для випробування були потрібні три самиці кроликів. Оброблену шкіру оцінювали на наявність еритеми, струпів та набряків, та оцінювали за 4-бальною шкалою, 24 та 48 годин після обробки. Сума цих балів (2 спостереження x 2 зони x 3 кролики), поділена на 12, дала індекс первинного подразнення шкіри (II). Відповідно до тесту Дрейза досліджувані речовини класифікуються таким чином: II < 0,5 – відсутність подразнення; 0,5 < II < 2 – легке подразнення; 2 < II < 5 – подразнення; 5 < II < 8 – сильне подразнення.

Застосування P-3051 не спричинило зміну кольору або ураження на ділянках нанесення (шкіра з надрізом та без нього), а також не спостерігалось подразнення шкіри.

За експериментальних умов, прийнятих у дослідженні, розрахований індекс первинного подразнення шкіри становив 0, тому досліджувана речовина P-3051 лак для нігтів була класифікована як не подразнююча.

Перемар
ЗГІАНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В. Шид



Місцева переносимість при 28-денній багатократній дозі у кроликів

Звіт «Полікем» № 4786. Місцева переносимість Р-3051. Нанесення на шкіру новозеландським білим кроликам. Дозування: 0,5 мл 8 % розчину циклопіроксу. Тривалість: 28 днів. Дослідницька лабораторія: Центр біологічних досліджень (CERB), Божі (Франція), 2002.

Місцеву переносимість Р-3051 циклопіроксу, 8 % лак для нігтів, перевіряли та порівнювали з Мікостером® (еталонним циклопіроксом, 8 % лак для нігтів, що продається у Франції) у 28-денному дослідженні багатократних доз після нанесення на шкіру кролика з надрізом та без нього (Звіт «Полікем» № 4786). Обидва досліджувані засоби наносили на тварину свіжорозведеними (8 % циклопірокс) та розведеними 1:10 (0,8 % циклопірокс) в об'ємі 1,4 мл (0,7 мл/бік). У дослідження було включено 36 тварин, розподілених на 6 груп. Досліджувані препарати циклопіроксу 0,8 % та плацебо Р-3051 застосовували з 1-го по 6-й день та у дні 10, 19 та 28, 8 % досліджувані засоби застосовували у дні 1, 4, 10 та 28. Один раз на день, перед щоденним застосуванням та в день евтаназії, місця обробки перевіряли та оцінювали зовнішній вигляд (0 – нормальна шкіра; 1 – суха шкіра; 2 – огрубіла шкіра; 3 – шкіра з ознаками некрозу), еластичність (0 – еластична до дотик, повернення до нормального стану після здавлювання; 1 – еластична на дотик, повільне повернення до нормального стану після здавлювання; 2 – втрата еластичності, помітне уповільнення повернення до нормального стану; 3 – повна втрата еластичності на дотик, збереження положення після здавлювання), еритема або набряк (0 – немає набряку/еритеми; 1 – дуже незначна еритема/набряк; 2 – чітко виражена еритема/невеликий набряк; 3 – виражена еритема/помірний набряк; 4 – сильний набряк/еритема). Товщину шкірної складки вимірювали за допомогою мікрометра (ODITEST™) перед нанесенням у день 1, 8, 15, 22 та 29 як шкіру з надрізом, так і без нього. Під час евтаназії на всіх фіксованих та пофарбованих гематоксиліном та еозином зразках шкіри було проведено макроскопію та гістопатологічне дослідження шкіри.

Під час дослідження не було зареєстровано випадків смерті, пов'язаних з лікуванням, клінічних змін або зміни маси тіла. Кілька явищ, таких як плями, петехії, пустули та виразки, спостерігалися на ділянках з надрізом та/або без нього у групах Р-3051 (3/6 на групу) та в групі Мікостера® у співвідношенні 1:10 (2/5). У групі нерозведеного Мікостера® ті самі ознаки виникали з більшою частотою (5/5). У всіх досліджуваних тварин, у т.ч. тварин групи плацебо, протягом періоду лікування спостерігалася легке або короточасне подразнення шкіри. Жодних ознак не було зареєстровано у тварин із груп без лікування. Однак на 28-й день середній індекс подразнення шкіри в кожній групі, незалежно від стану шкіри з надрізом або без нього, був нижчим за 1 (дуже легке подразнення). Товщина шкірної складки оброблених ділянок (з надрізом або без нього) була більшою в усіх групах лікування порівняно з групами без лікування, різниця була значною для груп, які отримували нерозведений та розведений Мікостер® у співвідношенні 1:10, а також для груп розведеного Р-3051 у співвідношенні 1:10. Легкі запальні зміни, що спостерігалися в групах Р-3051 та Мікостера, були визнані клінічно незначними.

В експериментальних умовах дослідження введення Р-3051 визначило короточасне подразнення шкіри, яке до кінця періоду лікування було незначним.

Теренас
ЗГІДНО з ОРИГІНАЛОМ

For A.O.



Дослідження сенсїбілізації шкіри на морських свинках (проба Бюлера)

Звіт «Полікем» № 4769. Потенціал гіперчутливості Р-3051. Місцеве нанесення у морських свинок-альбіносів лінії Гартлі. Дозування: 0,5 мл 8 % розчину циклопіроксу. Тривалість: 29 днів. Дослідницька лабораторія: Центр біологічних досліджень (CERB), Божі (Франція), 2002.

Дослідження проводили згідно з Належною лабораторною практикою та відповідно до рекомендацій OECD № 406 «Сенсїбілізація шкіри» для проби Бюлера. Мета дослідження – оцінити можливий відстрочений потенціал сенсїбілізації лаку для нігтів Р-3051 у морських свинок при місцевому нанесенні та за відсутності будь-яких допоміжних речовин (звіт «Полікем» № 4769). Попереднє дослідження було проведено для визначення належних концентрацій, які будуть використовуватися в основному дослідженні для фаз індукції та провокації, а саме максимальної концентрації, яка викликає легке або помірне подразнення, без системного токсичного ефекту, та максимальної концентрації, яка не викликає подразнення у жодної тварин без системної токсичної дії. Досліджуваними концентраціями, вираженими у об./об., були: Р-3051, 100 %, 75 %, 50 %, 25, 10 % та 5 % лак для нігтів. Оскільки жодних ознак подразнення не спостерігалось при жодній із досліджуваних концентрацій, Р-3051 використовували у нерозведеному вигляді (100 % об./об.) як у фазі індукції, так і у фазі провокації. Первинна фаза індукції (D1) включала нанесення Р-3051 на шкіру. Друга (D8) та третя (D15) фази індукції передбачали місцеве нанесення Р-3051 на ту ж ділянку, що й D1. Тварин (10 самців та 10 самиць) не лікували між фазами D16 та D28. Фазу провокації проводили на 29-й день шляхом нанесення 0,5 мл нерозведеного Р-3051, попередньо визначеного як максимальна концентрація, що не викликає подразнення, на праву бічну область живота на площі приблизно 4 см², яка ніколи раніше не контактувала з досліджуваною речовиною. Тварини негативного контролю отримували Р-3051 на фазі провокації у тій самій дозі без попередньої фази індукції; тваринам позитивного контролю (5 самців та 5 самиць) вводили 0,5 мл 1 % спиртового розчину ДНХБ (динітрохлорбензолу). ДНХБ визнано алергенним у морських свинок та повністю виявляє ці властивості в експериментальних умовах.

Через 24 та 48 годин після зняття пов'язки ділянку провокації оцінювали на наявність еритеми та оцінювали ступінь тяжкості за такою 4-бальною шкалою: 0 – відсутність еритеми; 1 – дискретна або вогнищева еритема; 2 – помірна та зливна еритема; 3 – інтенсивна еритема та набряк.

За прийнятих експериментальних умов реакції подразнення у групі негативного контролю не спостерігалось; сенсїбілізація позитивного контролю (ДНХБ) спостерігалася у 100 % досліджуваних тварин з 1-2 балами вже через 24 години після зняття пов'язки; не спостерігалось шкірних реакцій у жодної тварини, які отримували Р-3051.

Згідно з результатами, отриманими у дослідженні, досліджувану речовину Р-3051, лак для нігтів, можна вважати засобом без сенсїбілізуючого потенціалу.

Лерешмар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тол Н.В.



| | |
|---------------------------------------|---|
| 7) Додаткові дослідження токсичності: | Не застосовується |
| антигенність (утворення антитіл) | Не застосовується |
| імунотоксичність | Не застосовується |
| дослідження механізмів дії | Циклопірокс має складний механізм дії. Ранні дані показали, що хелатування іонів металів та пригнічення залізо залежних ферментів є важливими для дії циклопіроксу (Дітмар та Логаус 1973). Нещодавно використання функціональних геномних підходів (Ніверт 2003, Лі 2005) призвело до підтвердження ролі хелатування полівалентних катіонів в якості основного механізму протигрибкової дії циклопіроксу. Механізм дії циклопіроксу та інших гідроксипіридинів досліджували у <i>C. albicans</i> . Було проведено кілька біохімічних аналізів для визначення факторів, які є критичними для протигрибкової активності. Транскрипційний аналіз у масштабі генома показав, що гени були модифіковані в присутності циклопіроксу. У той час як експресія основних генів та генів вірулентності була незмінною в клітинах, які піддавалися впливу лікарського засобу, було виявлено чітке посилення або пониження регуляції генів, що кодують пермеази або транспортери заліза, або інших генів, що кодують білки метаболізму заліза. Додавання FeCl ₃ до клітин, оброблених циклопіроксом, скасовувало ефект лікарського засобу, а додавання хелатора заліза біпіридину до живильного середовища індукувало аналогічні моделі експресії залізовмісних генів. Також було відзначено різке підвищення чутливості до окислювального стресу, що може свідчити про зниження активності залізовмісних генних продуктів, відповідальних за детоксикацію. Циклопірокс пригнічував ріст клітин <i>C. albicans</i> залежно від дози, ще один ефект, який зменшувався шляхом додавання іонів заліза. Ці дані вказують на те, що основною формою протигрибкової активності циклопіроксу є хелатування заліза, яке обмежує надходження заліза до клітини гриба та, отже, пригнічує її ріст. Метаболічна активність, доступність кисню та рівень заліза є критичними параметрами механізму дії циклопіроксу. |
| лікарська залежність | Не застосовується |
| токсичність метаболітів | Не застосовується |
| токсичність домішок | Не застосовується |
| інше | Не застосовується |

Перегляд
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For H.B.



Онїтек, лак для нїгтів лікувальний, 80 мг/г

| | |
|--|---|
| 5. Висновки щодо доклїнічного вивчення | <p>Циклопірокс добре зарекомендував себе як протигрибковий засіб, який має оригінальний та складний механїзм дії, який запобігає розвитку стїйкості грибів/бактерій до цього засобу.</p> <p>Загалом дослідження Р-3051 (циклопірокс, 8 % лак для нїгтів) показали, що:</p> <p>Дїюча речовина активна до найбільш важливих збудників онїхомїкозів людини.</p> <p>Лїкарський засіб забезпечує ефективну локальну концентрацію дїючої речовини (тобто циклопіроксу) у місці дії.</p> <p>Циклопірокс у складі розчину здатний проникати через ороговїлі тканини в ефективних концентраціях.</p> <p>Р-3051 ефективний у профїлактиці та лікуванні онїхомїкозів у експериментальній моделі онїхомїкозу.</p> <p>Клінічні токсикологічні дослідження циклопіроксу не виявили особливої небезпеки у людини щодо токсичності, генотоксичності та можливої канцерогенної дії в разі застосування повторюваної дози. У дослідженнях репродуктивної функції в щурів і кроликів не виявлено ембріо-/фетотоксичності або тератогенності. Дослідження репродуктивної функції на самцях та самицях щурів при черезшкірних дозах до 10 мг/кг/день не виявили жодного специфічного впливу на фертильність. Доказів пре- або постнатальної токсичності не було. Дослідження місцевої токсичності, проведені шляхом багатократного нанесення Р-3051 на шкіру кроликів та морських свинок, не виявили жодного значного подразнення або алергенного потенціалу лїкарського засобу.</p> |
|--|---|

Заявник (власник
реєстраційного посвідчення)

Полїкем С.А.

/підпис/

Марїона Аулі [Ms. Mariona Auli]
Старший керівник з доклїнічної
безпеки

/підпис/

Йозеф Марїа Янсат [Mr. Josef Maria
Jansat]
АДМВ & МФКЛЗ, Керівник (ADME
& DMPK) Старший керівник з
доклінічної безпеки

Згідно з оригіналом

For I.O.



Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

Appendix 29
to the Order on the expertise of the registration materials for the medicinal products submitted for state registration (renewal of registration), as well as expertise of materials concerning making variations in registration materials during the validity period of marketing authorization (p. 4 of chapter IV)

**REPORT
about pre-clinical trials**

| | | | |
|--|---|-----------------------------|----------------|
| 1. Name of the medicinal product (marketing authorization No., if applicable): | <p>ONYTEC® 80 mg/g medicated nail lacquer</p> <p>In the following pages, P-3051 is the developmental code of the final formulation of Ciclopoli nail lacquer. P-3051 and Ciclopoli are synonyms of the final marketed formulation.</p> | | |
| 1) Type of the medicinal product registered or planned for registration | Medicinal product with complete dossier (stand-alone dossier), known active substance | | |
| 2) Trials performed | <input checked="" type="checkbox"/> yes | <input type="checkbox"/> no | If no, justify |
| 2. Pharmacology | | | |
| Summary | <p>Onychomycosis is a fungal nail infection representing approximately 50% of all nail disorders. Ciclopirox is a broad spectrum antifungal agent that is effective against the major human pathogens responsible for onychomycosis such as dermatophytes (<i>Trichophyton rubrum</i>, <i>Trichophyton mentagrophytes</i> and <i>Epidermophyton floccosum</i>), yeasts (<i>Candida albicans</i> or <i>Candida parapsilosis</i>) and non-dermatophyte moulds (<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>, <i>Aspergillus</i> spp. and <i>Scytalidium</i> spp.). The therapeutic benefit of topically applied Ciclopirox, 8% transungual solution is importantly related to its antifungal properties but also to its anti-inflammatory and antibacterial properties. In fact, ciclopirox shows also activity against a large number of gram- positive and gram-negative bacteria, including</p> | | |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|--------------------------------|--|
| | <p><i>Pseudomonas</i> spp. and <i>Proteus</i> spp. and <i>Mycoplasma</i> spp. and against selected protozoa, e.g. <i>Trichomonas</i> spp.</p> <p>Unlike most antifungals currently available (e.g. azoles and the allylamines), ciclopirox does not affect sterol biosynthesis. The antifungal activity of ciclopirox is attributed to the hydroxy- pyridone group. Ciclopirox inhibits the transmembrane transport of essential substrates, like leucine, by causing their intracellular depletion and leading finally to membrane rupture. More recently, the mode of action has been carefully investigated and it is related to the high affinity of ciclopirox for trivalent metal cations such as Fe³⁺ or Al³⁺. The trapping of these essential enzymatic cofactors has an inhibitory effect on enzymes such as cytochromes that are involved in mitochondrial electron transport processes in the course of energy production. In addition, the activity of catalase and peroxidase responsible for intracellular degradation of toxic peroxides is strongly inhibited in the presence of ciclopirox. Owing the complexity of the mechanism of action and based on recent <i>in vitro</i> observations, the development of resistance against ciclopirox seems very unlikely.</p> <p>Several <i>in vitro</i> studies performed with P-3051 (ciclopirox, 8% nail lacquer) showed that:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> The formulation is active against most important human pathogens responsible for onychomycoses. <input type="checkbox"/> The excipient hydroxypropyl-chitosan is a suitable structure providing agent, with no antifungal property, that ensures effective local concentrations of the active ingredient (i.e. ciclopirox) at the site of action. <input type="checkbox"/> Ciclopirox contained in the solution is able to permeate through hornified tissues at efficacious concentrations. <input type="checkbox"/> P-3051 is effective in preventing and treating onychomycoses in an experimental model of onychomycosis. |
| <p>1) Primary pharmacology</p> | <p><i>In vitro</i> spectrum of activity</p> <p>Ciclopirox proved to be a broad spectrum antifungal agent. Table 1 summarizes literature data on the minimum inhibitory concentrations (MIC) of ciclopirox against a broad list of fungal species, recognized as human pathogens (Dittmar and Lohaus 1973 and Dittmar et al 1981).</p> |

Table 1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ciclopirox against human fungal pathogens

| Organism | No. of strains / isolates | Range MICs (mg/l) | Organism | No. of strains / isolates | Range MICs (mg/l) |
|----------------------------|---------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------|-------------------|
| Dermatophytes | | | Dimorphic fungi | | |
| Tricophyton mentagrophytes | 36 | 0.9 - 3.9 | Blastomyces dermatidis | 4 | 0.9 - 1.9 |
| Tricophyton rubrum | 45 | 0.5 - 3.9 | Histoplasma capsulatum | 6 | 0.9 - 3.9 |
| Tricophyton verrucosum | 18 | 1.9 - 3.9 | Eumycetes | | |
| Tricophyton tonsurans | 6 | 0.9 - 1.9 | Madurella grisea | 6 | 1.9 - 3.9 |
| Tricophyton quinckeanum | 4 | 1.9 | Madurella mycetomi | 4 | 1.9 |
| Other tricophyton species | 14 | 1.9 | Petriellidium boydii | 2 | 7.8 |
| Microsporum canis | 24 | 0.5- 3.9 | Actinomycet ales | | |
| Microsporum gypseum | 10 | 1.9 - 3.9 | Nocardia asteroides | 1 | 3.9 |
| Other microsporum species | 7 | 0.9 - 3.9 | Nocardia brasiliensis | 2 | 3.9 |
| Epidermophyton floccosum | 8 | 0.9 - 1.9 | Various fungi | | |
| Yeasts | | | Aspergillus flavus | 4 | 7.8 - 15.6 |
| Candida albicans | 50 | 0.9 - 3.9 | Aspergillus fumigatus | 5 | 1.9 - 7.8 |
| Candida tropicalis | 16 | 0.9 - 3.9 | Aspergillus niger | 2 | 1.9 |
| Candida krusei | 15 | 0.9 - 3.9 | Penicillum species | 4 | 1.9 |
| Candida parapsilosis | 14 | 1.9 - 3.9 | Phialophora species | 6 | 1.9 - 7.8 |
| Candida pseudotropicalis | 13 | 1.9 - 3.9 | Allescheria boundii | 2 | 7.8 - 15.6 |
| Other Candida species | 8 | 0.9 - 3.9 | Fusarium solani | 2 | 31.3 |

Comparison of the Minimum Inhibitory Concentration of Ciclopirox against *Trichophyton rubrum* strains isolated in the United States (US) and in the European Union

Polichem report n° 08-43. Test system: *T. rubrum*. Method. In vitro broth dilution. Testing facility: Center for Medical Mycology, Cleveland, OH (USA), 2008.

In order to investigate whether the susceptibility to ciclopirox of *Trichophyton rubrum* strains differs in different geographical areas, 100 clinical strains from US and 100 from EU were tested for susceptibility according to the standard CLSI M38A method. The MICs were defined as the lowest concentration of ciclopirox able to inhibit 80% of the fungal growth as compared to the growth control. The results obtained (Table 2) demonstrated that ciclopirox has a potent antifungal activity against all the *T. rubrum* strains tested with a MIC₉₀ of 0.12 µg/ml.

Table 2. Ciclopirox MIC₉₀ against *Trichophyton rubrum* US and EU clinical isolates

| | US strains | EU strains |
|---------------------------|-------------|------------|
| MIC range | 0.06 – 0.25 | 0.03 – 0.5 |
| MIC ₅₀ (µg/ml) | 0.12 | 0.12 |
| MIC ₉₀ (µg/ml) | 0.12 | 0.12 |

The MIC range of ciclopirox against the US strains were in agreement, within one dilution, with the MIC range of the EU strains, demonstrating that the pattern of susceptibility to ciclopirox is not influenced by the geographical area of origin (Polichem report n° 08-43).

Antifungal activity of ciclopirox against *Scytalidium* spp., as measured by Minimum Inhibitory and Fungicidal Concentration

Scytalidium spp. is a non-dermatophyte nail pathogen, which causes onychomycosis. The treatment of *Scytalidium* infections is generally ineffective as the fungus does not respond well to the antifungals traditionally used for the treatment of onychomycosis.

The objective of this study was to determine the antifungal activity of ciclopirox against *Scytalidium* spp., as measured by minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC).

Six strains of *Neoscytalidium dimidiatum* (formerly *S. dimidiatum*) and *S. hyalinum*, taken from the culture collection of the Center for Medical Mycology, were tested in this protocol.

The minimum inhibitory concentration (MIC) of the test articles was determined according to the CLSI M38-A2 standard. Ciclopirox endpoints were read after 24 and 48 hrs incubation at 80% inhibition. MFC determinations were performed at 48 hrs. Fungicidal activity was defined as a > 99.9% reduction in the number of CFU/ml from the starting inoculum count, and fungistatic activity was defined as < 99.9% reduction.

The results obtained (Table 3) showed a potent inhibitory activity of ciclopirox against *Scytalidium* and exerted a fungicidal activity at higher concentrations.

Table 3. MIC and MFC data of ciclopirox against *Scytalidium* isolates.

| | | Ciclopirox | | MFC |
|-------|----------------------|------------|---------|--------|
| | | 24 hr | 48 hr | |
| | | 80% | 80% | |
| 22201 | <i>N. dimidiatum</i> | 0.5 | 0.5 | 8 |
| 23579 | <i>N. dimidiatum</i> | 1 | 1 | 4 |
| 23607 | <i>N. dimidiatum</i> | 1 | 1 | 32 |
| 25536 | <i>S. hyalinum</i> | 1 | 1 | 2 |
| 26424 | <i>N. dimidiatum</i> | 0.5 | 1 | 1 |
| 26770 | <i>S. hyalinum</i> | 0.5 | 0.5 | 8 |
| Range | | 0.5 - 1 | 0.5 - 1 | 1 - 32 |

***In vitro* assessment of the frequencies of natural occurrence and of the evolution to resistance of *Trichophyton rubrum* against ciclopirox, itraconazole, terbinafine and amorolfine**

Ghelardi 2014, Test system: *T. rubrum*. Method: In vitro broth dilution and agar inhibition. Testing facility: University of Pisa, Italy

To assess the potential of *T. rubrum* (ATCC 28188 as the reference strain and CI-1 and CI-2 as clinical isolates) to select spontaneous resistant strains to ciclopirox (CPX), itraconazole (ITC), terbinafine (TRB) and amorolfine (AMF), a total of about 10⁹ CFU (Colony Forming Unit) of each strain were seeded on Sabouraud Dextrose Agar (SDA) plates each containing the corresponding minimal inhibitory concentration (MIC). The colony count was performed following incubation at 30°C for 3 weeks and the frequency of naturally occurred resistance to each antifungal was calculated by dividing the number of CFU grown on the plates containing each drug by the total number of CFU spread on these plates.

To assess the evolution to resistance of *T. rubrum*, (ATCC 28188 as reference strain and CI-1 as clinical isolate), fungal suspensions of 1 x 10⁵ CFU/ml of *T. rubrum* were serially propagated for 10 transfers (7 days incubation at 30°C for each transfer) in SDA containing sub inhibitory drug concentrations of each of the tested antimycotic (e.g. 0.5 MICs by the agar dilution assay). After the 5th and the 10th transfers, colonies were inoculated on SDA plates containing 2-fold the MICs. MICs of strains able to grow under both the experimental conditions were determined by the CLSI M-38-A2 broth microdilution standard method and compared with the wild type MICs.

The highest incidence of spontaneous resistant mutants was obtained with itraconazole that selected mutants in the three strains with a resistance frequency ranging from 2.97 x 10⁻⁷ to 7.51 x 10⁻⁷. The frequency of naturally occurring amorolfine-resistant derivatives for the three strains ranged from 1.14 x 10⁻⁹ to 5.79 x 10⁻⁹. Mutants resistant to terbinafine were obtained with strain ATCC 28188 (resistance frequency 1.38 x 10⁻⁹) and strain CI-2 (resistance frequency 2.89 x 10⁻⁹). No mutant resistant to CPX was obtained from any of the three *T. rubrum* strains (Table 4).

Table 4. Spontaneous drug-resistant *T. rubrum* mutants obtained following direct selection on plates containing inhibitory drug concentrations

| Strain | | Terbinafine | Itraconazole | Amorolfine | Ciclopirox |
|------------|-----------------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| ATCC 28188 | Total CFU plated | 7.2×10^8 | 7.2×10^8 | 7.2×10^8 | 7.2×10^8 |
| | No. of resistant colonies | 1 | 490 | 3 | 0 |
| | Resistance frequency ^a | 1.38×10^{-9} | 6.8×10^{-7} | 4.1×10^{-9} | $<1.38 \times 10^{-9}$ |
| CI-1 | Total CFU plated | 8.7×10^8 | 8.7×10^8 | 8.7×10^8 | 8.7×10^8 |
| | No. of resistant colonies | 0 | 654 | 1 | 0 |
| | Resistance frequency ^a | $<1.14 \times 10^{-9}$ | 7.51×10^{-7} | 1.14×10^{-9} | $<1.14 \times 10^{-9}$ |
| CI-2 | Total CFU plated | 6.9×10^8 | 6.9×10^8 | 6.9×10^8 | 6.9×10^8 |
| | No. of resistant colonies | 2 | 205 | 4 | 0 |
| | Resistance frequency ^a | 2.89×10^{-9} | 2.97×10^{-7} | 5.79×10^{-9} | $<1.44 \times 10^{-9}$ |

As far as the evolution to resistance is concerned, after the 5th transfer, mutants with increased resistance to itraconazole were isolated from ATCC 28188 (resistance frequency 9.6×10^{-5}) and CI-1 (resistance frequency 9.0×10^{-6}) (Table 2). From ATCC 28188, mutants with increased resistance to terbinafine were also selected (resistance frequency 1.3×10^{-7}). After the 10th transfer, ATCC 28188 and CI-1 derivatives resistant to terbinafine, itraconazole, and amorolfine concentrations were isolated. In the presence of subinhibitory drug concentrations, resistance to amorolfine, terbinafine, and itraconazole emerged rapidly in *T. rubrum*, with an almost 100-fold higher frequency compared to that of spontaneous drug-resistance. No ciclopirox-resistant mutant emerged following exposure to subinhibitory ciclopirox concentrations after 5 and 10 transfers (Table 5).

Table 5. In vitro evolution of drug-resistance in *T. rubrum* following exposure to sub-inhibitory drug concentrations for 5 or 10 transfers before selection

| Strain | Resistance frequency ^a | Terbinafine | Itraconazole | Amorolfine | Ciclopirox |
|------------|-----------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| ATCC 28188 | 5 th transfer | 1.3×10^{-7} | 9.6×10^{-5} | $<1.5 \times 10^{-8}$ | $<6.0 \times 10^{-9}$ |
| | 10 th transfer | 9.1×10^{-6} | 2.4×10^{-4} | 2.2×10^{-8} | $<1.3 \times 10^{-8}$ |
| CI-1 | 5 th transfer | $<5.2 \times 10^{-8}$ | 9.0×10^{-6} | $<3.4 \times 10^{-8}$ | $<1.7 \times 10^{-8}$ |
| | 10 th transfer | 4.4×10^{-7} | 2.6×10^{-5} | 9.1×10^{-8} | $<1.2 \times 10^{-8}$ |

^aCalculated by dividing the number of CFU grown on the plates containing each drug by the total number of CFU spread on plates.

A considerable increase in the MIC values of the antifungals that were used for selection was observed for the mutants compared to the parental strains. Terbinafine-resistant mutants showed a 500/1000-fold increase in the MIC values of terbinafine, itraconazole-resistant mutants a 4/8-fold increase in the MIC values of itraconazole, and amorolfine-resistant mutants from 16- to 64-fold increase in the MIC values of amorolfine. Interestingly, the itraconazole-resistant mutants also showed increased MIC values of amorolfine (8/32-fold) and terbinafine (4/8-fold) and amorolfine-resistant mutants increased resistance to terbinafine (from 4- to 16-fold). No variation in the MICs of itraconazole and amorolfine was observed for terbinafine-resistant mutants. No substantial differences were observed in the MICs of S and I resistant mutants. None of the mutants with increased resistance to itraconazole, amorolfine or terbinafine showed altered MICs of ciclopirox compared to the parental strains (Table 6).

Table 6. Fold increase in the MIC values of terbinafine, itraconazole, amorolfine and ciclopirox for drug-resistant *T. rubrum* mutants compared to their parental strain

| Mutants ^a | Terbinafine | Itraconazole | Amorolfine | Ciclopirox |
|---------------------------|-------------|--------------|------------|------------|
| TRB _r -S (n=1) | 50 | ns | ns | ns |
| ITC _r -S (n=5) | 4-8 | 4- | 4-8 | ns |
| AMF _r -S (n=3) | 4-8 | 8 | 16- | ns |
| TRB _r -I (n=3) | 500-1000 | ns | 32 | ns |
| ITC _r -I (n=5) | 8 | ns | ns | ns |
| AMF _r -I (n=3) | 8-16 | ns | 64 | ns |
| ITC ₁ -S (n=5) | 4-8 | 4- | 4-8 | ns |
| AMF ₁ -S (n=1) | 4 | 8 | 16 | ns |
| TRB ₁ -I (n=5) | 500 | ns | ns | ns |
| ITC ₁ -I (n=5) | 8 | 4-8 | 32 | ns |
| AMF ₁ -I (n=5) | 8-16 | ns | 32-64 | ns |

^aMutants obtained following direct selection on plates containing inhibitory drug concentrations on the basis of selection (TRB: terbinafine, ITC: itraconazole, AMF: amorolfine) and parental strain from which they derived (: ATCC 28188, 1: CI-1, 2: CI-2). n: number of strains. ns: not significant (MIC differences of ± 1 two-fold dilutions were considered not significant).

In conclusion, the overall results obtained in this study indicate that, although at low frequency, spontaneous *T. rubrum* mutants resistant to amorolfine, terbinafine, and itraconazole can be isolated and that subinhibitory drug concentrations facilitate the emergence of resistant strains. The observation that itraconazole-resistant mutants display increased MIC values of terbinafine and amorolfine suggests that ABC-transporters play a role in the cross-resistance towards these antifungals in *T. rubrum*. In addition, the results obtained in this study indicate that, among the tested drugs, ciclopirox was the only compound able to maintain the same efficacy on a wild-type population of *T. rubrum* after prolonged exposure to subinhibitory concentrations (Ghelardi 2014).

Sporicidal activity of ciclopirox

The ability of amorolfine, ciclopirox, bifonazole, terbinafine and fluconazole to kill microconidia of *Trichophyton rubrum*, chlamydoconidia of *Epidermophyton floccosum* and blastospores of *Candida albicans* has been demonstrated. The strains were clinical isolates and were cultured on Sabouraud glucose agar 2% (Oxoid, Wesel, Germany), then incubated at 25 °C for 3 days (*Candida albicans*) or for 21 days (dermatophytes). Mature cultures were harvested with sterile 0.9% saline. The microconidia suspension from *T. rubrum* was prepared using a 0.01% Tween 80 solution in sterile water to achieve better contact of the tested compounds with the spores. The suspension was then microscopically checked for the absence of mycelia fragments. The chlamydoconidium suspension of *E. floccosum* was prepared from an isolate producing chlamydoconidia in abundance which forms almost in extenso mycelia consisting of chlamydoconidium chains. These mycelia were grounded in a mortar under sterile conditions and then homogenised. The blastospore suspension of *C. albicans* was prepared in 0.9% phosphate-buffered saline. The suspension was microscopically checked for the absence of pseudomycelia. All suspensions of resting fungal cells were adjusted to a concentration of 2×10^5 CFUs per ml. The drugs were dissolved and diluted according to the instructions of the manufacturers. The following concentrations were used: 1, 10, 50, 100 and 500 µg/ml. Two hundred microlitre of each drug solution in the above-mentioned concentrations was added to 800 µl of the spore suspensions under sterile conditions. At predefined timepoints (1 h, 2 h, 4 h, 1 day, 2 day and 4 day), samples of 10 µl were taken and subjected to the determination of germinable spores. To this end, samples were processed by serial dilution, plated on Sabouraud glucose agar and incubated under appropriate conditions according to the relevant standard incubation protocols. After incubation, colony forming units were counted for every strain and the killing rate was calculated.

The effectiveness of all five antimycotics depended on the drug concentration and the incubation time: a concentration of 10–1000 times the minimum inhibitory concentration against growing hyphae cells is needed to exert a sporicidal action. Amorolfine and ciclopirox showed the same sporicidal efficacy and kinetics for all three varieties of spores. Both were more effective than fluconazole and bifonazole against microconidia and chlamydoconidia as well as slightly more potent against chlamydoconidia and blastospores than terbinafine after 4 days of incubation and at concentrations of 10 µg/ml. Finally, sporicidal activity on the tested strains was demonstrated for all five different antimycotics used for onychomycosis treatment (Seidl 2015).

***In vitro* antifungal activity of P-3051 (Ciclopirox, 8% medicated nail lacquer) Investigations on the *in vitro* antifungal activity of P-3051 on agar plate**

Polichem report n° 4975, test system : *Trichophyton mentagrophytes*. Method: *In vitro* agar diffusion method. Testing facility: IPAS SA. Ligornetto, Switzerland, 2002.

The antimycotic activity of P-3051 (ciclopirox 8%) medicated nail lacquer against *Trichophyton mentagrophytes* was investigated by the agar diffusion method

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

(Polichem report n° 4975). *Trichophyton mentagrophytes* was obtained from DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen. The strain was subcultured onto SDA, Sabouraud dextrose agar, incubated at $35 \pm 1^\circ\text{C}$ and a stock suspension of $1-5 \times 10^8$ CFU/ml was prepared in sterile saline solution. SDA Petri dishes were prepared spreading 100 μl of the strain suspension onto the agar. The test products P-3051, a reference commercial preparation (Batrafen® ciclopirox 8% medicated nail lacquer), miconazole 2% and a hydroxypropyl chitosan control solution, were added on the surface of the inoculated plates by adsorbing 10, 20 or 30 μl of the products on the plate surface or inside 5 mm in diameter wells obtained in the agar. The plates were then incubated at $32 \pm 1^\circ\text{C}$ for 14 days. Growth inhibition zones of *Trichophyton mentagrophytes* were then visually evaluated.

The application of P-3051 on the surface of the agar plate caused an almost complete inhibition of the *Trichophyton mentagrophytes* growth. A slight growth was detectable only in correspondence of the most distal areas from the sites of deposition, around the perimeter of the plate. The application of ciclopirox 8% (P-3051) inside the agar wells completely inhibited the *Trichophyton mentagrophytes* growth. The application of Batrafen® on the surface of the agar plate caused an almost complete inhibition of the *Trichophyton mentagrophytes* growth. A slight growth was detectable only in correspondence of the most distal areas from the sites of deposition. The application of Batrafen® inside the wells in the agar plate did not completely inhibit the *Trichophyton mentagrophytes* growth and some colonies were found around the perimeter of the plate (Figure 1).

Figure 1. Effect of P-3051 (right) and of Batrafen® (middle) on *Trichophyton mentagrophytes* growth (Control plate on the left)



The application of hydroxypropyl-chitosan 1% did not inhibit the *Trichophyton mentagrophytes* growth on the agar plates.

The application of miconazole on the surface of the agar plate or inside the agar wells did not inhibit completely the *Trichophyton mentagrophytes* growth. In both cases a relevant growth was visible in the distal areas around the perimeter of the plates (Figure 2).

Figure 2. Effect of 2% miconazole nitrate solution on *Trichophyton mentagrophytes* growth



Overall, the results obtained in the present study showed that all the compounds tested caused a sensible inhibition of the *Trichophyton mentagrophytes* growth. In particular, P-3051 demonstrated to be more effective than miconazole (2%) and slightly better than Batrafen® (ciclopirox 8% in a polyvinilic resin).

Investigations on the *in vitro* antifungal activity of P-3051 on dermatophytes and yeasts through broth dilution susceptibility testing

Polichem report n° 4973. Test system: *Candida parapsilosis*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichophyton rubrum*. Testing facility: IPAS SA. Ligornetto, Switzerland, 2003.

Minimum inhibitory concentrations (MICs) of P-3051 were determined for *T. rubrum* DSM 4167, *C. parapsilosis* DSM 11224 and *Scopulariopsis brevicaulis* DSM 9122 obtained from DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) (Polichem report n° 4973).

The experiment was performed in line with the reference methods for broth dilution antifungal susceptibility testing. Antifungal working solutions were prepared with appropriate two-fold serial dilutions of P-3051 or active reference (Penlac®, Dermik, U.S.) at the range of ciclopirox from 0.0015% to 0.8% (equivalent of concentrations from 15.6 µg/ml to 8 mg/ml). As inactive control, a hydroxypropyl- chitosan (HPCH) solution was tested at two-fold serial dilutions ranging from 0.006% to 0.1%. Working suspensions contained $0.5-2.5 \times 10^3$ CFU/ml of *C. parapsilosis* and $0.4-5.0 \times 10^4$ CFU/ml of *T. rubrum*. Inoculum quantitation was performed planting a 100 µl aliquot of serial dilutions on SDA, incubating at $35 \pm 1^\circ\text{C}$ and counting the number of colonies. The susceptibility test was performed twice with each strain and tubes were incubated at $35 \pm 1^\circ\text{C}$ for at least 7 days. The MIC was defined as the lowest concentration of the antifungal that substantially inhibited the growth of the organism as visually detected.

MICs of P-3051 were determined for *T. rubrum* DSM 4167 and *C. parapsilosis* DSM 11224. Both fungi did not growth even at the lowest ciclopirox concentration tested (0.0015% of ciclopirox, equivalent to a concentration of 15.6 µg/ml). P-3051 MIC for *S. brevicaulis* was 0.2% with a MIC range of 0.1%-0.2%. Excellent growth of fungi was observed in all the untreated controls and in all samples containing HPCH. By comparing the MICs for the various pathogens with the original concentration (8%) of ciclopirox in the drug product, the efficiency index of P-3051 could be

defined as over 5,000 for both dermatophytes and yeasts. No differences were observed between test and reference.

Investigations on the preventive and curative activity of P-3051 in an *in vitro* onychomycosis model

Polichem report n° 5034. Test system: Tricophyton mentagrophytes, Tricophyton rubrum, Microsporum canis. Method: In vitro, Bovine hooves Testing facility: Università Degli Studi di Milano, Italy, 2004.

Strains isolated from clinical samples (*T. rubrum*; *T. mentagrophytes*, 2 strains; and *M. canis*) were used to assess the preventive and curative activity of P-3051 (Polichem report n° 5034).

Preventive activity: bovine nail slices with a 50-90 µm thickness were treated by immersion in P-3051, reference (Batrafen®, Aventis, Italy), or HPCH solution and left to dry. Untreated nails were also tested. The tests were done in duplicate.

Three nails per SDA plate were inserted vertically and at equal distances into the whole agar thickness, so that they protruded from the agar by 4-5 mm. One entire nail fragment per plate was withdrawn after one, two, three weeks respectively. Each withdrawn nail fragment was inserted singularly in a sterile SDA plate, then incubated and examined after three weeks to check, through the presence or absence of fungal growth, whether the preventive treatment had brought about a definitive inhibition of the fungus. An identical experiment was carried out with untreated nails (control).

The study showed that after transplant of control and HPCH treated nails into new dishes containing sterile nutritional medium, all strains showed the clear formation of mycelium in all nail fragments (Table 7). After transplant of P-3051 treated nails, only one strain of *T. mentagrophytes* showed the formation of mycelium in the nails withdrawn after 14 and 21 days. In all the other treated (P-3051 or reference ciclopirox) nails the strains remained inhibited throughout the whole investigational period (three weeks).

Table 7. Preventive activity: application of test product before nail contamination. Presence or absence of fungal growth assessed 3 weeks after transplant (+: growth; -: no growth)

| Test Product | Strain | Growth after transplant on day | | |
|-----------------------------------|------------------------------|--------------------------------|----|----|
| | | 7 | 14 | 21 |
| P-3051 | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | - | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| Reference ciclopirox nail lacquer | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | - | - | - |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| HPCH solution | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |
| Untreated controls solution | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |

Curative activity: untreated bovine nail slices with a thickness of 100-150 μ m were placed on inoculated SDA plates. The plates were then incubated at 26 \pm 1 $^{\circ}$ C.m. After one week, the entire surface of the plates and the nails inserted in them were evenly covered by the mycelium. Seven, 14 and 21 days later, a nail fragment completely covered in the mycelium was withdrawn and treated, by means of a brush, with the following test preparations: P-3051, Batrafen[®], HPCH solution, or left untreated (control). After drying, the nail was inserted in the agar layer of a new, sterile SDA plate. The plate was then incubated and examined once a week for 21 days to assess the fungal growth.

Curative activity of ciclopirox: Table 8 reports data on fungal growth produced by nail fragments deeply contaminated by the mycelium of *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* or *M. canis* and subsequently treated with the test products. All strains were eradicated by both P-3051 and reference ciclopirox nail lacquer, with absence of growth at all time points. The growth of all strains was complete in SDA plates with nails treated with HPCH solution, like that of untreated controls.

Table 8. Curative activity: application of test products after nail contamination (+: growth; -: no growth)

| Test Product | Strain | Growth after transplant on day | | |
|-----------------------------------|------------------------------|--------------------------------|----|----|
| | | 7 | 14 | 21 |
| P-3051 | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | - | - | - |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| Reference ciclopirox nail lacquer | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | - | - | - |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | - | - | - |
| | <i>T. rubrum</i> | - | - | - |
| | <i>M. canis</i> | - | - | - |
| HPCH solution | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |
| Untreated controls solution | <i>T. mentagrophytes</i> (1) | + | + | + |
| | <i>T. mentagrophytes</i> (2) | + | + | + |
| | <i>T. rubrum</i> | + | + | + |
| | <i>M. canis</i> | + | + | + |

2) Secondary pharmacology

The antibacterial activity of ciclopirox

Ciclopirox has also demonstrated a uniform activity against a large number of gram-positive and gram-negative bacteria (Table 9). This antibacterial potency of ciclopirox, especially against gram-negative strains, represents the major advantage over certain azole antimycotics, since bacterial infections are commonly responsible for secondary infections.

Table 9. Minimum inhibiting concentration (MIC) of ciclopirox against gram-positive and gram- negative bacteria, mycoplasm and trichomonas (Dittmar and Lohaus, 1973; Dittmar et al, 1981)

| Organism | Strains n. | MIC range | Organisms | Strains n. | MIC range |
|-----------------------------------|------------|------------|------------------------|------------|------------|
| Staphylococcus aureus | 8 | 7.8 - 5.6 | Aerobacter aerogenes | 1 | 125 |
| Streptococcus pyogenes | 4 | 3.9 - 15.6 | Klebsiella pneumoniae | 1 | 7.08 |
| Streptococcus spp. ⁽¹⁾ | 5 | 0,25 - 7,8 | Proteus mirabilis | 5 | 31.3 - 125 |
| Listeria monocytogenes | 1 | 15.06 | Pseudomonas aeruginosa | 7 | 31.3 ->125 |
| Bacillus spp ⁽²⁾ | 5 | 3.9 - 7.8 | | | |
| Shigella flexneri | 1 | 7.08 | Mycoplasma spp. | 6 | 7.8 - 50 |
| Escherichia coli | 7 | 7.8 - 31.3 | Trichomonas vaginalis | 6 | 50 - 100 |
| Aerobacter cloacae | 1 | 31,3 | | | |

Anti-inflammatory activity of ciclopirox

Ciclopirox has been shown to inhibit 5-lipoxygenase metabolite production (5-HETE and leukotriene LTB₄) and prostaglandin E₂ (PGE₂) cellular release *in vitro* with a significant anti- inflammatory effect (Gupta and Plott 2004).

3) Safety pharmacology

No effects of note were observed with ciclopirox at the level of the central nervous system and of the respiratory system in animals. On the contrary, effects on the cardiovascular system were observed in rodents and non-rodents by oral administration.

In two 13-week oral toxicity studies, cardio-toxicity was observed in both rats and dogs at 30 and 100 mg/kg/day of ciclopirox olamine, the adverse effects appearing more severe in dogs than in rats. The NOAEL for both species was established at 10 mg/kg/day of ciclopirox olamine, (NDA 21-022 Loprox Nail Lacquer 8%)

In further 2-week oral toxico-kinetic studies in rats and dogs at 10mg/kg/day, the maximum serum drug levels ranged between 2790 and 3570 ng/ml, while in a 4-week rabbit dermal study up to 1000 mg/kg/day, the serum levels of ciclopirox were below the limit of detection (NDA 21-022 Loprox Nail Lacquer 8%).

However, from a clinical study on 454 patients with onychomycosis, which applied different nail formulations over a 52-week period, it was estimated that each patient received 0.015 grams nail lacquer per nail per day. Considering a patient under maximum exposure condition (e.g. 20 nails) and the density of Polichem 80 mg/g

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|--|--|
| | <p>ciclopirox nail lacquer (0.87 g/ml), the volume applied would be 0.34 ml, which corresponds to 27 mg of ciclopirox (0.39 mg/kg/day).</p> <p>After application on the skin, ciclopirox is known to penetrate through the epidermis into the dermis, but even under occlusion, less than 1.5% is absorbed into the systemic circulation. Because the $t_{1/2}$ is 1.7 hours, no systemic accumulation occurs (Goodman & Gilman's 2011).</p> <p>In these regards, assuming the systemic absorption of 1.5% ciclopirox under maximum exposure conditions, blood levels would account for concentrations in the range of 100 ng/ml, which are by far below the non-cardio toxic drug plasma levels observed in the animals (2790 and 3570 ng/ml).</p> <p>In addition, post marketing surveillance data of Polichem product 80 mg/g ciclopirox nail lacquer, did not show any significant safety signal for systemic organic classes (SOCs):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cardiac disorders • Nervous system disorders • Respiratory, thoracic and mediastinal disorders <p>In these regards, almost all the adverse drug reactions (ADRs) collected and entered into the database of Polichem from 2008, International Birth Date (IBD) of the product, which refers to an exposure of around 9 million patients applying the product up to 9 months only concern mild to moderate irritation phenomena that occurred at the application site (Ciclopirox topical solution, 8% nail lacquer (ciclopirox). Periodic Safety Report. 13-Mar-2017 to 12-Mar-2020).</p> |
| <p>4) Pharmacodynamic interactions</p> | <p>No formal PD interaction study was performed by the Applicant.</p> <p>Ciclopirox and its salt Ciclopirox olamine are on the market worldwide for over 40 years and are well established, no report of any interaction having been ever reported between Ciclopirox products and other drugs. Therefore, it is concluded that no interaction exists and further studies in this respect are deemed as not necessary.</p> |
| <p>3. Pharmacokinetics</p> | |
| <p>Summary</p> | <p>The pharmacokinetic profile of ciclopirox is characterized by a low rate of systemic absorption and tendency to penetrate deep layers of the skin and mucosal membranes.</p> <p>Following intravenous administration of ciclopirox olamine, there was a rapid decay of plasma levels of the unchanged compound in rabbits and dogs. A large portion of the compound is eliminated by the kidney, mainly in the form of glucuronic acid conjugate.</p> <p>In rats treated with oral ciclopirox olamine, the compound is rapidly absorbed by oral route and then distributed to all tissues with the highest concentrations found in the liver, kidney and muscular layers of the gastric wall. Rapid intestinal absorption</p> |

was also documented in the dog. Binding of ciclopirox to human plasma proteins was estimated to be 96%.

Following vaginal application to rabbits, approximately 2% of the intravaginally applied ciclopirox olamine was absorbed in the body: plasma levels of the parent compound reached their peak within 60 min and rapidly decreased thereafter. The elimination half-life was almost identical to that measured after intravenous administration. Studies with ¹⁴C-labelled ciclopirox olamine suggested apparent absorption of 42 to 97% of the applied dose to dogs. Whether this observation reflects a species-specific kinetic behaviour of ciclopirox olamine is unclear. Human studies indicated limited systemic absorption of ciclopirox olamine after vaginal application as for rabbits.

Low systemic absorption also occurs following dermal application of ciclopirox olamine. Compared toazole antimycotic, ciclopirox is more concentrated in the *stratum corneum* of the epidermis. The main biotransformation route for the absorbed ciclopirox is conjugation with glucuronic acid.

Autoradiographic studies have shown that ciclopirox crosses to some extent the placenta in rats treated orally during late pregnancy. The drug levels attained in foetal tissues are generally lower than those in maternal blood. No information is available regarding the passage of ciclopirox in milk.

Although systemic absorption of the topically applied ciclopirox is low, the kinetic data combined with toxicological considerations, suggest a cautious use of the compound during pregnancy and lactation.

In vitro animal nail penetration studies with bovine hoof slices, as a model of permeation of human nails, performed to evaluate the permeation of ciclopirox through keratin membranes after topical application of P-3051, showed a fast permeation of nail membranes by ciclopirox from P-3051 vehicle. The permeation was twice as high as the permeation from reference ciclopirox 8% medicated nail lacquer in monoester resin (Penlac), owing to the consideration that P-3051 vehicle, based on hydroxypropyl chitosan (ONY-TEC) is more suitable than the monoester resins for application of drug products to nail surface. In a further study, a specific investigation on hydroxypropyl chitosan led to the conclusion that this compound does not act as a penetration enhancer, thus it does not damage the nail structure.

An *in vitro* evaluation of ciclopirox penetration in human nails led to the conclusion that 40-50% of the applied ciclopirox dose already penetrated into the human nails during the first 6 hours after the application of P-3051, independently of nails being infected or uninfected, intact or filed.

An *in vitro* study was performed to compare nail permeation of two antifungals (ciclopirox (CPX) 8% in P-3051 and amorolfine (MRF) 5%) in the same hydroxypropyl chitosan-vehicle versus the commercially available amorolfine 5% nail lacquer (Loceryl, Galderma, France) after topical application of the mentioned products through bovine keratin membranes. CPX/sol permeated bovine membranes more easily than MRF.

The results on dermal absorption of hydroxypropyl chitosan, evaluated with the 4CJ radio-labeled compound (4CJ-Acety-HydroxyPropyl Chitosan) revealed that the

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|---|---|
| | <p>absorption rate at the concentration intended for clinical use (I%) is negligible in this experimental conditions used.</p> |
| <p>1) Analytical methods and their validation reports</p> | <p>Development and validation of a HPLC method for determining ciclopirox in finger nails</p> <p>Polichem report n° 4790: Test system: Bovine hoof slices. Healthy hooves from slaughtered cattle. Method: Permeation data of ciclopirox through bovine hoof membranes after application of 75 µl test or reference product. Testing facility: University of Pisa, Italy, 2002.</p> <p>An analytical determination of ciclopirox in fingernail clipping samples after Ciclopirox 8% medicated nail lacquer application was performed by a HPLC-UV method (Polichem report n° 4790). The linearity of the method was demonstrated in the concentration range of 0.25 – 40 µg/mg of nail. The coefficient of variation and the mean value for accuracy were below or equal to 4.0% (n=6). The limit of detection was 0.25 µg/mg of nail with a coefficient of variation of 3.5%. At the retention times of ciclopirox no significant interfering peaks were found. The solution proved to be stable for at least 24 h stored at room temperature.</p> <p>The sample preparation involved dissolution of the nail sample in 1 N sodium hydroxide solution (37°C for 16 h) and derivation of ciclopirox followed by solid-phase extraction. The chromatography was performed on a reverse-phase octadecyl column and the effluent monitored at 304 nm (Polichem report n° 4771).</p> |
| <p>2) Absorption</p> | <p><i>In vitro</i> - Animal skin penetration studies demonstrated that ciclopirox enters the skin rapidly.</p> <p>Ciclopirox lacquer formulation (containing 0.5 to 8% of the active ingredient) applied on excised pig skin was used to study the penetration properties of ciclopirox (Ceschin-Roques et al. 1991). The skin was inoculated with <i>Trichophyton mentagrophytes</i> and showed complete fungal growth inhibition in the most upper layer of the <i>stratum corneum</i> after only 30 min of drug application. With increased exposure or concentration of the drug, there was greater penetration with 100% inhibition after 18 h of exposure in all skin layers (2 to 10 strips) investigated (Ceschin- Roques et al. 1991).</p> <p>These results were corroborated by another study with ciclopirox medicated nail lacquer applied onto pig skin. The antifungal rapidly penetrated into the deeper layers of the <i>stratum corneum</i>, where it displayed full antimycotic activity (Markus 1999). Another experiment using cow horn slice demonstrated that ciclopirox is able to enter even highly keratinized tissue. Compared to azole antimycotics, ciclopirox olamine concentrates more in the <i>stratum corneum</i> of the epidermis (Jue et. al 1985).</p> <p>Fingernails of healthy volunteers were treated with ciclopirox 8% medicated nail lacquer (5-15 mg/nail) daily up to 45 days. Samples were taken after 7, 14 and 30 days, and at the end of the treatment. The ciclopirox concentration in the nail increased during the first 30 days, followed by a steady-state between days 30 to 45 of application. After 7 days of daily application, the greater amount of ciclopirox was obtained in the first layer with a relative percentage of 51.1%, and a progressive decrease occurred in the deeper layers. A more homogeneous distribution of ciclopirox occurred after 14 days of application. Thirty-two and 20% of total</p> |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

ciclopirox were found in the 1st and the 4th layer, respectively. A similar penetration pattern was observed after 30 days of daily application. The concentration of ciclopirox detected in nails after 7, 15 and 30 days of application was 0.89 ± 0.2 , 1.78 ± 0.4 and 3.35 ± 0.822 $\mu\text{g}/\text{mg}$ nail material, respectively (Ceschin-Roques et al. 1991). The concentration of ciclopirox in nail decreased below the limit of detection, already 7 days after the end of the treatment (0.05 $\mu\text{g}/\text{mg}$ nail material).

Polichem report n° 4790: Test system: Bovine hoof slices. Healthy hooves from slaughtered cattle. Method: Permeation data of ciclopirox through bovine hoof membranes after application of 75 μl test or reference product. Testing facility: University of Pisa, Italy, 2002. Published by Monti et al. 2005.

Bovine hoof slices were used in an *in vitro* study to evaluate the permeation of ciclopirox through keratin membranes as validated model of human nails, after topical application of P-3051 medicated nail lacquer in comparison to Penlac Nail Lacquer (Monti et al. 2005; Polichem report n°4790). Bovine hoof membranes of about 120 - 170 μM thickness were hydrated, placed between 2 compartments (donor and receiving chamber), in a vertical permeation cell model and received 75.0 μl of P-3051 medicated nail lacquer or the reference product Penlac Nail Lacquer (US brand for nail varnish formulation containing 8% ciclopirox) [ciclopirox 8%; (w/w) in a lacquer base consisting of polyvinyl resin and solvents]. At the end of the permeation experiments, the excess of the product was mechanically removed from membrane surface and after extraction with 1 N NaOH the content of ciclopirox was determined by HPLC.

The following permeation parameters were evaluated: the steady state flux; Q/At , where Q is the amount of permeant diffusion through area A in time t ; the lag time indicating the time that the substance needs to saturate the membrane and reaching the receiving phase; the apparent permeability coefficient (P_{app}) defined by the coefficient between the steady state flux and the initial drug concentration; and the percentage of the substance permeated after 30 h ($Q\%_{30\text{h}}$).

The steady state flux or amount of ciclopirox diffusing across a fixed area in function of the time was higher for P-3051 medicated nail lacquer and, accordingly, the percentage of ciclopirox permeated ($Q\%$) was significantly different between the two formulations, i.e. it was 2.10 and 1.06% for P-3051 medicated nail lacquer and Penlac Nail Lacquer (Table 10), respectively. In addition, the most important difference between the two test formulations was found in the lag time. P-3051 medicated nail lacquer shows a faster penetration compared to Penlac (Table 10). At the end of the permeation study, the amount of ciclopirox retained in the hoof membranes was equivalent for both P-3051 medicated nail lacquer and Penlac Nail Lacquer with 9.08 ± 0.94 and 9.68 ± 0.77 μg ciclopirox per mg nail, respectively.

Table 10: Permeation data of ciclopirox through hoof membranes after application of 75.0 μ l of the tested formulation P-3051 medicated nail lacquer or of the reference product Penlac Nail Lacquer containing each ciclopirox 8% (w/w) (n=6)

| Vehicle | Flux (μ g/cm ² h) (\pm SE) | Lag time (h) (\pm SE) | Q%30h (\pm SE) | Papp (cm/h.10 ³) (\pm SE) |
|--|---|--------------------------|-------------------|--|
| Ciclopirox medicated nail lacquer | 4.70 \pm 0.60 | 3.36 \pm 0.46 | 2.10 \pm 0.29 | 0.06 \pm 0.01 |
| Penlac[®] Nail Lacquer | 3.05 \pm 0.63 | 12.48 \pm 0.1.31 | 1.06 \pm 0.25 | 0.04 \pm 0.01 |

In another study (Polichem report n°4969), Polichem demonstrated that the effect of chitosan was not related to any penetration enhancing property, as the ciclopirox lacquer with and without chitosan, properly applied on nail (bovine hooves) or on skin (hairless mice) with occlusion to avoid evaporation, showed similar permeation of nail and of skin for both preparations. As a comment to this result, the difference between the nail permeation properties from P-3051 and from Penlac, is not due to any penetration enhancing property of hydroxypropyl chitosan (HPCH), rather to the fact that this excipient does not obstacle the passive diffusion of the active ingredient (ciclopirox) into and across the nail plate, which evidently happens with Penlac vehicle.

The amount of ciclopirox evaluated by HPLC remaining in the human fingernail (42 to 57% of the applied dose) after application of P-3051 medicated nail lacquer was not statistically different between infected and non-infected, as well as filed or unfiled human fingernails (Polichem report n°4771: In vitro evaluation of ciclopirox concentrations in extirpated or cut human fingernails after the application of the drug to infected and uninfected nails, 2002. Published by Togni & Mailland 2010). Even the lowest concentration found (1.8 μ g/mg in infected nails) was much higher (over 460 times higher) than the MICs reported in literature for all dermatophytes responsible for onychomycosis.

In vivo - Male Sprague-Dawley rats (n=18; 300 g of bodyweight) treated topically with 20 mg/kg ciclopirox olamine for 2, 4 and 8 h showed ciclopirox olamine serum levels lower than 0.8 μ g/ml. In skin layers, peak concentrations were detected in the *stratum corneum* (12.8 μ g/g tissue reached 4 h after application) and minima in the papillary layer. In the *stratum corneum*, concentrations higher than 3 μ g/g were maintained up to 8 h after dosing. No measurable levels of ciclopirox olamine were found in s.c. tissues (Polichem report n° 1232/92).

Upon dermal application of 10 mg/kg of 1% [¹⁴C]-ciclopirox olamine solution in polyethyleneglycol-400 to rats, radioactivity in blood was detectable 1 h after

application and peaked after 6 h. Seven days after application only traces of radioactivity were detectable in blood and organs (Osawa et al. 1975).

Upon application of [¹⁴C]-ciclopirox olamine as a 1% aqueous cream to healthy human dorsal skin (penetration time 6 h, occlusive dressing for 5 h), 1.3% of the dose was absorbed (Kellner et al. 1981; Jue et al. 1985). The ciclopirox concentration was high in the horny layer (2300-4500 µg/ml). The concentration of ciclopirox diminished with increasing skin depth but the levels determined in the corium were still above the MIC. These concentrations were already obtained at the first test stage after 1.5 h and did not change over the longer penetration period. After spreading [¹⁴C]-ciclopirox olamine aqueous cream on the surface of fingernails, the radioactive-labeled compound penetrated right through the nail. In dogs, the absorption of 1% aqueous ciclopirox was higher (5-15% of the dose) upon dermal application than in humans (Kellner et al. 1981).

Investigations on the antimycotic activity through bovine hoof membranes as a biological model of human nail permeation

The objective of this study was to show P-3051 permeation through bovine hoof membranes leaf to ensure that it is able to reach therapeutically sufficient concentrations at the site of fungal infection (Togni and Mailland 2010).

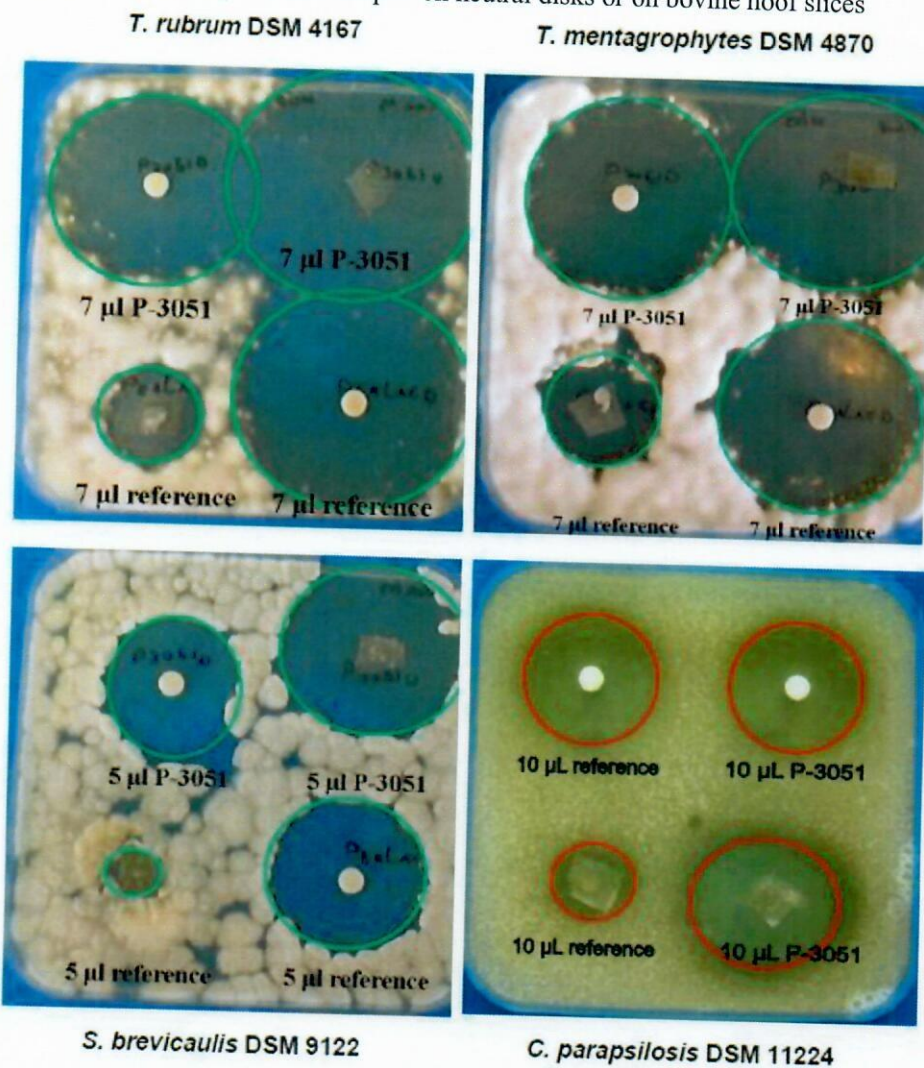
Trichophyton rubrum, *Candida parapsilosis*, *Scopulariopsis brevicaulis* and *T. mentagrophytes* were obtained from DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen). SDA medium inoculated with 0.5-1.0 x 10³ CFU/ml was poured in square Petri dishes (12x12 cm).

The test product was added to 10 mm diameter neutral disk (5, 7 or 10 µl of P-3051 per disk) and to 10 x 20 mm, 50 µm thickness bovine hoof slices (5, 7, 10 or 20 µl of P-3051 per bovine hoof slice). Disks and bovine hoof slices were placed on the surface of the inoculated agar medium and incubated at 32±1°C for at least 5 days to promote the fungal growth. As active reference, Penlac® and 1% HPCH solution were used as active and inactive reference controls, respectively. Plates were then checked for the presence and for the size of the inhibition rings. Inhibition rings were present only around disks and bovine hoof membranes soaked with P-3051 and reference. HPCH alone did not affect fungal growth. Inhibition rings around neutral disks were similar between P-

3051 and reference (Figure 3). Conversely, the inhibition rings around bovine hoof membranes soaked with P-3051 were considerably larger than those of the reference. A dose-dependence in the size of the inhibition rings was also recorded. Interestingly, when P-3051 was applied, the rings around disks and membranes were similar, indicating that P-3051 cross extremely well the barrier represented by the bovine hoof membrane.

These findings of the *in vitro* model indicated that the new ciclopirox nail lacquer, P-3051, permeates well through nails, better than reference product.

Figure 3. Inhibitions rings around fungal cultures by application of P-3051 or reference 8% ciclopirox nail lacquer on neutral disks or on bovine hoof slices



Investigations on the *in vitro* antifungal activity of ciclopirox, 8% transungual solution in bovine hoof membranes

Polichem report n° 5027. Test system: *Candida parapsilosis*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* and *Scopulariopsis brevicaulis*. Method: In vitro broth dilution. Testing facility: IPAS SA. Ligornetto, Switzerland, 2004.

According to the agar diffusion assays, SDA (Sabouraud dextrose agar) square plates were inoculated with each of the test organisms (*Trichophyton rubrum*, *Candida parapsilosis*, and *Scopulariopsis brevicaulis* (Polichem report n° 5027)). Each plate received a neutral disk with 10 µl of ciclopirox, and three 75 µm thick nail leaves with 10 µl ciclopirox 8%, 20 µl ciclopirox 8% and 10 µl placebo, respectively. Plates were incubated at 32 ± 1°C for at least 5 days and then assessed

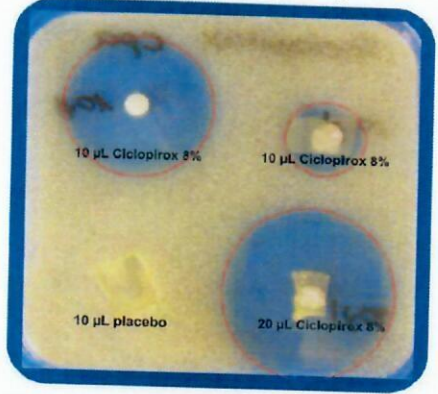
Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

for the presence and size of inhibition rings. The results of the study showed that nails treated with 10 and 20 µl ciclopirox, 8% transungual solution produced dose-dependent inhibition rings of the tested dermatophytes, namely *Trichophyton rubrum*, *Candida parapsilosis*, and *Scopulariopsis brevicaulis*. Placebo (HPCH vehicle) did not show any inhibition (Figures 4, 5 and 6).

Figures 4 (left) and 5 (right). Effect of ciclopirox, 8% transungual solution permeation through bovine nail leaf on growth of *Trichophyton rubrum* (left) or of *Scopulariopsis brevicaulis* (right)



Figure 6. Effect of ciclopirox, 8% transungual solution permeation through bovine nail leaf on *Candida parapsilosis* growth



3) Distribution

Polichem report n° 4790: Test system: Bovine hoof slices. Healthy hooves from slaughtered cattle. Method: Permeation data of ciclopirox through bovine hoof membranes after application of 75 µl test or reference product. Testing facility: University of Pisa, Italy, 2002.

The distribution of Ciclopirox in the site of action was reported by the aforementioned *in vitro* study after topical application of P-3051 medicated nail lacquer in comparison to Penlac Nail Lacquer (Monti et al. 2005; Polichem report n°4790). At the end of the permeation study, the amount of ciclopirox retained in

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|--|--|
| | <p>the hoof membranes was equivalent for both P-3051 medicated nail lacquer and Penlac Nail Lacquer with 9.08 ± 0.94 and 9.68 ± 0.77 μg ciclopirox per mg nail, respectively.</p> <p>In vivo demonstration of the distribution of Ciclopirox to the nail plate has also been reported in 4 studies in humans, please see Annex 30 for details.</p> |
| 4) Metabolism | <p>Ciclopirox is mainly eliminated by conjugation with glucuronic acid. The conjugated metabolites are rapidly excreted renally (Jue et al. 1985).</p> <p>After i.v. administration of ciclopirox olamine 2% to rabbits (15 mg/kg), the ratio between total and free ciclopirox was about 1:1 initially and about 5:1 after 4 h. After intravaginal administration of ciclopirox olamine 2% (15 mg/kg) in rabbits, the ratio was always about 5:1 (Coppi and Silingardi 1992; Coppi et al. 1993). These results demonstrate that ciclopirox is mainly transformed into glucuronide derivatives.</p> |
| 5) Elimination | <p>A pharmacokinetic study in rats dermally treated with 10 mg/kg ciclopirox (applied as 1% [^{14}C]- ciclopirox olamine solution in polyethyleneglycol-400) revealed urinary and fecal excretion which peaked 2 days after application. Fourteen days after application, 11.4 and 12.4% of the applied dose was excreted in both urine and feces in males and females, respectively. The ratio of urinary to fecal excretion was about 5:1 (Osawa et al. 1975).</p> <p>Plasma levels of ciclopirox in rabbits after i.v. administration (15 mg/kg) rapidly declined and were not detectable (< 15 ng/ml) after 24 h. The half-life after i.v.-application was 2.02 ± 0.22 h (Coppi and Silingardi 1992). In the same species, similar half-lives (2.22 ± 0.16 h) were observed after intravaginal application of ciclopirox (15 mg/kg). Total clearance was 0.73 and 148.5 l/h after i.v. and intravaginal application, respectively.</p> <p>A similar rapid elimination with an onset about 2 h after dosing was observed in dogs (Kellner et al. 1981). A large proportion of the compound was excreted in the urine, mainly in form of glucuronides.</p> |
| 6) Pharmacokinetic interactions (pre-clinical) | <p>No formal PK interaction study was performed by the Applicant. That study is deemed as not necessary, as Ciclopirox is only used by topical application. Furthermore, Ciclopirox and its salt Ciclopirox olamine are on the market worldwide for over 40 years and are well established for dermal/nail application as well.</p> |
| 7) Other pharmacokinetic trials | Not applicable |
| 4. Toxicology: | |
| 1) Single dose toxicity | <p>The acute toxicity of ciclopirox olamine was investigated in the Sprague-Dawley rat and the Swiss mouse p.o., s.c., i.v. and i.p. routes of administration. Acute oral toxicity was assessed in rabbits. The LD50 values given in Table 11 reveal a low acute toxicity after p.o. and s.c. administration and a moderate acute toxicity by i.v.</p> |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

or i.p. administration. No sex-related differences were observed (Sakurai et al. 1975).

Polichem report n° 1232/92: species Sprague-Dawley rat. Route: oral and s.c. Doses: p.o. 750, 1500, 3000 and 6000 mg/kg; s.c. 100 and 200 mg/kg. Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, Milan, Italy, 1981.

The symptoms of toxicity were non-specific and similar in the tested species. Clinical signs of intoxication included respiration disturbance and a subsequent comatose state. Autopsy revealed erosion and ulceration in the gastrointestinal tract after p.o. administration (Polichem report n° 1232/92).

Oral toxic doses of ciclopirox olamine caused respiration disturbance and a subsequent comatose state. Death usually occurred between the 1st and the 5th day. Autopsy revealed erosion and ulceration in the gastrointestinal tract after p.o. administration. No toxic symptoms were recorded up to the maximum feasible s.c. dose of 200 mg/kg.

Table 11: LD50 values of ciclopirox olamine in various animal species

| Animal species | Route | LD ₅₀ (mg/kg) | References |
|----------------|-------|--------------------------|--|
| rat | p.o. | >2500- 3290 | Alpermann and Schütz (1981); Polichem (1981); Sakurai et al. (1975) Polichem (1981); Sakurai et al. (1975) Sakurai et al. (1975) Sakurai et al. (1975) |
| | s.c. | >200* - > 2500 | |
| | i.v. | 72-79 | |
| | i.p. | 146-172 | |
| mouse | p.o. | 1740-2898 | Polichem (1981); Sakurai et al. (1975); Alpermann and Schütz (1981) Polichem (1981); Sakurai et al. (1975) Sakurai et al. (1975) Sakurai et al. (1975) |
| | s.c. | >200* - > 2500 | |
| | i.v. | 71-74 | |
| | i.p. | 83-88 | |
| rabbit | p.o. | 3065 | Alpermann and Schütz (1981) |

2) Repeated dose toxicity

4-Week Oral Toxicity Study in Rats

Polichem report n° 1232/92. Species: Albino Sprague- Dawley rats. Route: oral. Doses: 10, 30 and 100 mg/kg. Duration: 4 weeks. Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, 1981.

Subchronic toxicity of ciclopirox olamine (10 – 100 mg/kg body weight) by oral route for 4 weeks was evaluated in albino Sprague-Dawley rats of either sex (Polichem report n° 4789). The animals were observed daily for general condition and behaviour, and weekly for body weight gain and food consumption. Blood and urine analysis were performed at the end of the treatment. Autopsy included gross inspection and histological examination of main organs. Animals treated with doses up to 30 mg/kg ciclopirox olamine were in good condition throughout the whole study. Rats treated with the highest dose (100 mg/kg) showed specific

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|---------------------------|---|
| | <p>intoxication symptoms, such as bristled coat, dyspnea, and loss of spontaneous activity; 25 % of the animals of the high dose group died. Autoptic examination showed no significant macroscopic changes, except for sporadic alteration of the gastric mucosa at lower doses. The body weight gain of animals treated with 100 mg/kg was retarded, presumably due to reduced food consumption.</p> <p>Polichem report n° 1232/92. Species: Dogs, Beagle. Route: Cutaneous administration, vaginal administration. Doses: 10, 20 mg/kg/daily (oral); 12.5 mg/Kg daily (vaginal). Duration: 2 weeks. Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, 1981.</p> <p>Dogs of either sex received daily dermal applications of cream containing 1 or 2% of ciclopirox olamine (equivalent to 10 or 20 mg/kg ciclopirox olamine per day) for 12 consecutive weeks (Polichem report n° 1232/92). Two additional female dogs were treated with daily vaginal applications of 12.5 mg/kg ciclopirox olamine for the same period of time. The animals were observed daily for general condition, behaviour and local tolerability, and weekly for body weight. Blood and urine analysis were performed at the beginning, in the middle and at the end of the treatment. At the end of the treatment, animals were sacrificed. Ciclopirox olamine treatment did not cause significant clinical or pathological changes and no abnormalities were observed locally at the site of application. Necropsy did not reveal any treatment-related changes.</p> |
| 3) Genotoxicity: in vitro | <p>The genotoxicity studies performed with ciclopirox olamine include tests of point mutation using various strains of <i>Salmonella typhimurium</i>, gene conversion in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4, unscheduled DNA synthesis in human WI-38 cells, a conventional "host mediated assay" using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4 and an assay using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> to test urine samples collected from treated animals (Polichem report n° 1232/92).</p> <p>None of these studies revealed any evidence of mutagenic effects of ciclopirox olamine.</p> <p>Polichem report n° 1232/92. In vitro on <i>Salmonella typhimurium</i>. Doses: 1, 10, 100 and 1000 µg/dish. Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, 1981.</p> <p>The mutagenic activity of ciclopirox olamine was studied in <i>Salmonella typhimurium</i> strains TA 1535, TA 1538, TA 100 and TA 98 in the absence and presence of metabolic activation by S9 rat liver microsomes. As ciclopirox olamine was dissolved and diluted in distilled water, this solvent was used for negative controls. N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and 2-acetaminofluorene were used as positive controls. Ciclopirox olamine was not genotoxic in any of the bacterial strains investigated up to 1 mg/plate, neither in the presence nor the absence of metabolic activation.</p> <p>Polichem report n° 1232/92. In vitro on <i>Saccharomyces cerevisiae</i>. Doses: 0.01, 0.1 and 1 µg/dish. Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, 1981.</p> <p>The gene conversion rate of ciclopirox olamine was investigated in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4, which is unable to grow on adenine or tryptophan-deficient culture</p> |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|--|--|
| | <p>media, both in the absence and presence of rat liver microsome fractions. N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine and dimethyl-nitroso amine were used as positive controls. In contrast to the control mutagens, ciclopirox olamine (up to 1 µg/dish) was not able to increase the "Ade 2" and "Trp 5" gene conversion rate, both without or with metabolic activation. <i>Saccharomyces cerevisiae D4</i> was also used to ascertain the mutagenic activity of metabolites found in the urine of animals treated with ciclopirox olamine up to 3 mg/kg per day for 4 days. Also this study failed to provide evidence for a mutagenic potential of ciclopirox olamine or metabolites at the doses investigated. Similarly a host-mediated assay in female Swiss mice was negative as the frequency of gene conversions in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> remained unaffected by ciclopirox olamine or its metabolites.</p> <p>Ciclopirox olamine did not induce unscheduled DNA synthesis in cultured WI-38 diploid human cells exposed to sub-toxic concentrations of the drug (up to 1 mg/ml). The cells were grown until confluence. Then the growth medium was replaced by a medium keeping the cell in their non-replication stage and tritiated thymidine was added to the cultures, thereafter. Hence, the radioactivity included in the DNA upon drug exposure reflects DNA repair. N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine or methylcholanthrene were used as positive controls. Ciclopirox olamine was used up to 10 µg/ml. Treatment with ciclopirox olamine did not enhance incorporation of [³H]-thymidine in the DNA indicating that ciclopirox olamine failed to induce genotoxic effects.</p> |
| Genotoxicity in vivo (including additional toxicokinetic evaluation) | No studies are available on in vivo evaluation of genotoxic potential of Ciclopirox. Nevertheless, as a study investigating carcinogenic potential of the molecule is available in the literature (see next Section), and Ciclopirox products are on the market for dermal application since over 40 years, no studies are deemed as necessary to investigate the in vivo genotoxic potential of the molecule. |
| 4) Cancerogenic potential: | A carcinogenicity study of Ciclopirox is available for 50 weeks administration in mice (see section "Long-term" below) |
| Long-term trials | A carcinogenicity study of ciclopirox (1% and 5% solutions in polyethylene glycol 400) in female mice dosed cutaneously twice per week for 50 weeks followed by a 6 month drug free observation period prior to necropsy revealed no evidence of tumours at the application site (Alpermann and Schütz 1981, NDA 21-022). |
| Short-term or medium-term trials | Not applicable |
| Additional trials | Not applicable |
| 5) Reproductive and fetal toxicity: | |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|---|--|
| Fertility and early embryonal development effects | <p>Studies evaluating the effect of ciclopirox olamine on fertility and reproduction performance were carried out in rats treated s.c. (Polichem report n° 1232/92) Polichem report n° 1232/92. Fertility study in Sprague Dawley rats. Route: s.c. Doses: 1, 3 and 10 mg/kg. Duration: 60 days (males) 15 days (females). Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, 1981.</p> <p>Fertility studies indicated no adverse effects on reproductive functions in both male and female Sprague-Dawley rats treated s.c. with ciclopirox olamine at doses up to 10 mg/kg/day. Males were treated for 60 days and females were treated for 15 days before mating. On day 20 of pregnancy, the uterus was removed under ether anaesthesia in half of the pregnant females of each group. Foetuses were examined under the microscope and treated with S alizarin red to detect skeletal malformations. The other pregnant rats gave birth spontaneously. The newborns were counted, both dead and alive, their sex was determined and their weight gain was followed until their weaning. The rats of F1 were divided by sex and brought to the age of 10 weeks without any pharmacological treatment. Forty females (10 of each group) were mated with males of the same generation and pregnant females were followed up during the course of their pregnancy. After laparotomy, on the 20th day of pregnancy, the foetuses were examined. There were no differences between control and treated animals with regard to postnatal development and growth in the F1 generation.</p> |
| Embryotoxicity | <p>Polichem report n° 1232/92. Embryofetal Development in New Zealand White she-rabbits. Route: dermal application. Dose: 40 mg/kg. Duration: gestation days 6-18. Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, 1981.</p> <p>Foetal toxicity and teratogenesis of ciclopirox olamine was investigated in female New Zealand White rabbits treated by topical application of the shaved back. (Polichem report n° 1232/92). Ten animals were treated with ciclopirox olamine cream at a dose of 40 mg/kg/day from the 6th to the 18th day of pregnancy. The animals were observed daily for general condition, behaviour, and abortions, and weekly for body weight gain. After laparotomy, on the 28th day of pregnancy, the foetuses were carefully examined. The administration of ciclopirox olamine was well tolerated by the adult pregnant animals and no malformations or developmental abnormalities were seen in foetuses.</p> |
| Prenatal and postnatal toxicity | <p>No data are available on this segment. The systemic absorption of Ciclopirox after nail application in humans is negligible, the product has been demonstrated to be devoid of effects on fertility and on embryogenesis, and Ciclopirox is well established on the market for over 40 years. Thus, such study is not deemed as necessary.</p> |
| Investigations of the offspring outcomes (juvenile animals) | Not applicable |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|---------------------------------|---|
| and/or remote effect evaluation | |
| 6) Local intolerability | <p>Ciclopirox irritation assay</p> <p>Polichem report n° 1232/92. Primary skin irritation. Route: topical application to skin. Dose: 2 g/kg of cream, 1 ml/Kg solution, respectively. Duration: 48 hours. Testing facility: Milan University, School of Medicine, Pharmacology Institute, 1981.</p> <p>In primary irritation assays in rabbits treated with cream or solution containing 1% ciclopirox olamine, respectively, no significant skin irritation was seen (Polichem report n° 1232/92). Twenty-four female New Zealand White rabbits were subdivided into 4 groups of 6 animals. Two areas of 30 cm² each on the back of each animal were depilated and shaved. One area was scarified. One group received Micopirox cream containing 20 mg ciclopirox olamine, another Micopirox solution with 10 mg of ciclopirox olamine; the remaining 2 groups were treated with the respective vehicle. Twenty-four and 48 h after application, erythema and oedema were rated according to a 1-4 scoring scale, respectively. The degree of primary irritation for each group was determined by dividing the total score by the number of animals and by the number of rating criteria. The degree of irritation on the intact and scarified skin was below 0.5, both for the excipients and for the ciclopirox olamine formulations. Hence, ciclopirox olamine was regarded as non-irritant.</p> <p>P-3051, ciclopirox 8% medicated nail lacquer</p> <p>Acute skin irritation study in the rabbit</p> <p>Polichem report n° 4770. Primary skin irritation of P-3051. Dermal application to New-Zealand Albino Rabbit. Dose: 0.5 ml 8% Ciclopirox solution. Duration: 24 h. Testing facility: Centre De Recherches Biologiques CERB, Baugy (France), 2002.</p> <p>The study was conducted under GLP conditions and according to the OECD test guideline No. 404. The aim was to determine in the rabbit any irritant or corrosive potential of P-3051 nail solution following a 0.5 ml single, semi-occluded, 24-hour application on 6 cm² abraded (right flank) and non-abraded (left-flank) skin areas (Polichem report n° 4770). Adjacent non-treated areas served as controls. Three female rabbits were required for the test. Treated skin was evaluated for erythema, eschar and oedema formation and scored according to a 4-point scale, 24 and 48 hours after the removal of the treatment. The sum of these scores (2 observations x 2 zones x 3 rabbits) divided by 12 gave the cutaneous primary irritation index (II). According to Draize's method, the test substances are classified as follow: II<0.5 non-irritant; 0.5<II<2 slightly irritant; 2<II<5 irritant; 5<II<8 very irritant.</p> <p>The application of P-3051 neither induced colouration or lesion on the application sites (abraded and non-abraded skin), nor skin irritation was observed.</p> |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

Under the experimental conditions adopted in the study, the calculated cutaneous primary irritation index was 0, therefore the test substance P-3051 nail lacquer was classified as non-irritant.

Local tolerance in a 28-day repeated dose in the rabbit

Polichem report n° 4786. Local tolerance of P-3051. Dermal application to New-Zealand White Rabbit. Dose: 0.5 ml 8% Ciclopirox solution. Duration: 28 days. Testing facility: Centre De Recherches Biologiques CERB, Baugy (France), 2002.

The local tolerance of P-3051 ciclopirox 8% nail lacquer was tested and compared with MycoSter® (a reference 8% ciclopirox nail lacquer marketed in France) in a 28-day repeated dose study, following application to abraded and non-abraded rabbit skin (Polichem report n° 4786). Both test preparations were applied undiluted (8% ciclopirox) and 1:10 diluted (0.8% ciclopirox) in a volume of 1.4 ml (0.7 ml/flank) per animal. The study involved 36 animals distributed into 6 groups. The ciclopirox 0.8% test preparations and P-3051 placebo were applied from day 1 to day 6 and on day 10, 19 and 28, the 8% test preparations were applied on day 1, 4, 10 and 28. Once a day, before the daily application and on the day of sacrifice, the treatment sites were checked and scored for appearance (0 normal skin; 1 dry skin; 2 rough skin; 3 skin with signs of necrosis), suppleness (0 supple to touch, return to normal after pinching; 1 supple to touch, slowly return to normal after pinching; 2 loss of suppleness, marked slowing of return to normal; 3 total loss of suppleness to touch, remaining in position after pinching), erythema or oedema, (0 no oedema/erythema; 1 very slight erythema/oedema; 2 well defined erythema/slight oedema; 3 marked erythema/moderate oedema; 4 severe oedema/erythema). Skin-fold thickness was measured by means of a micrometer (ODITEST™) before application, on days 1, 8, 15, 22 and 29 on both abraded and non-abraded skin. At sacrifice, gross necropsy and skin histopathology examination was performed on all fixed and haematoxylin and eosin stained skin specimens.

No treatment-related deaths, clinical or body weight changes were recorded during the study.

Few dermal observations, such as maculae, petechiae, pustules and ulceration, occurred on the abraded and/or non-abraded zones in P-3051 groups (3/6 per group) and in the 1:10 diluted MycoSter® group (2/5). In the undiluted MycoSter® group, the same dermal signs occurred with higher incidence (5/5). In all treated animals, including placebo treated animals, a slight to transiently marked cutaneous irritation was observed during the treatment period. No findings were recorded in animals from untreated groups. However, at day 28 the mean cutaneous irritation index of each group, regardless the abraded or non-abraded skin condition, resulted below 1 (very slight irritation). Skin-fold thickness of the treated sites (either abraded or non-abraded) was greater in all treated groups when compared to the untreated, the difference being significant for the undiluted and the 1:10 diluted MycoSter® groups and for the 1:10 diluted P-3051 group. Mild inflammatory changes observed in the groups treated with P-3051 and MycoSter were judged as not clinically relevant.

In conclusion, under the experimental conditions of the study, the application of P-3051 determined a transient skin irritation, which resulted as slight by the end of the treatment period.

Skin sensitization study in the guinea-pig (Buehler test)

Polichem report n° 4769. Hypersensitivity potential of P-3051. Topical administration to Albino Hartley guinea-pig. Dose: 0.5 ml 8% Ciclopirox solution. Duration: 29 days. Testing facility: Centre De Recherches Biologiques CERB, Baugy (France), 2002.

The study was conducted under GLP conditions and according to the OECD test guideline No. 406 "skin sensitization" for Buehler test. Aim of the study was to evaluate the possible delayed sensitizing potential of P-3051 nail lacquer in the guinea-pig by topical application and in the absence of any adjuvant (Polichem report n° 4769). A preliminary study was performed to identify the adequate concentrations to be used in the main study for the induction and challenge phases, namely the maximum concentration which causes slight to moderate irritation without having any systemic toxic effect and the maximum concentration causing no irritation in any of the animals with no systemic toxic effects. The tested concentrations, expressed as percentage of volume by volume, were: 100%, 75%, 50%, 25, 10% and 5% P-3051 nail lacquer. Since no signs of irritation were observed at any of the tested concentrations, P-3051 was used as undiluted (100% v/v) in both the induction and challenge phases. The primary induction phase (D1) consisted of the application of P-3051 to the skin. The second (D8) and third (D15) induction phases involved topical application of P-3051 at the same site as D1. The animals (10 males and 10 females) were left without further treatment from D16 to D28. The challenge was performed on day 29, by applying 0.5 ml of undiluted P-3051, previously determined as the maximum non-irritant concentration, to the right lateral abdominal region, in an area of approximately 4 cm², never previously in contact with the test substance. The negative control animals received the challenge with P-3051 at the same dose, without any prior induction phase; the positive control animals (5 males and 5 females) received 0.5 ml of 1% DNCB (dinitrochlorobenzene) alcoholic solution. DNCB is recognized as being allergenic in the guinea pig, and fully exerts these properties under the experimental conditions employed. At 24 and 48 hours from the removal of the dressing, the challenge site was evaluated for the presence of erythema and scored for severity, according to the following 4-point scale: 0 no erythema; 1 discrete or patchy erythema; 2 moderate and confluent erythema; 3 intense erythema and swelling. Under the experimental conditions adopted, there was no irritation reaction in the negative control group; the sensitizing capacity of the positive control (DNCB) was observed in 100% of the treated animals with scores ranging from 1 to 2 already 24 hours after the removal of the dressing; no skin reactions were recorded in any of the animals treated with P-3051.

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|---|---|
| | Based on the results obtained in the study, the test substance P-3051 nail lacquer can be considered as free of sensitising potential. |
| 7) Additional toxicity trials: | Not applicable |
| Antigenicity (antibodies formation) | Not applicable |
| Immunotoxicity | Not applicable |
| Investigations of the mechanisms of actions | Ciclopirox acts with a complex mechanism of action. Early data indicated that chelation of metal ions and inhibition of iron-dependent enzymes are of importance in the action of ciclopirox (Dittmar & Lohaus 1973,). More recently, the use of functional genomic approaches (Niewerth 2003, , Lee 2005) led to confirmation of the role of chelation of polyvalent cations as the main mechanism of the antifungal action of ciclopirox. The mode of action of ciclopirox and other hydroxypyridones was investigated in <i>C. albicans</i> . Multiple biochemical assays were performed to identify factors that were critical for antifungal activity. Genome-wide transcriptional profiling assays showed that genes were modified in the presence of ciclopirox. Whereas the expression of essential and virulence genes was unchanged in cells exposed to the drug, a distinct up- or downregulation of genes encoding iron permeases or transporters or other genes encoding proteins of iron metabolism was found. Addition of FeCl ₃ to ciclopirox-treated cells reversed the effect of the drug and addition of the iron chelator bipyridine to the growth medium induced similar patterns of expression of iron-regulated genes. A dramatic increase in sensitivity to oxidative stress was also noted, which may indicate that the activities of iron-containing gene products responsible for detoxification were reduced. Ciclopirox inhibited growth of <i>C. albicans</i> cells in a dose-dependent manner, another effect that was reduced by the addition of iron ions. These data strongly indicate that the principal mode of antifungal activity of ciclopirox is iron chelation, which restricts the availability of iron to the fungal cell and consequently inhibits its growth. Metabolic activity, oxygen accessibility and iron levels are critical parameters in the mode of action of ciclopirox. |
| Medical addiction | Not applicable |
| Metabolite toxicity | Not applicable |
| Impurities toxicity | Not applicable |
| Other | Not applicable |

Onytec 80 mg/g medicated nail lacquer

| | |
|---|---|
| 5. Conclusions about pre-clinical study | <p>Ciclopirox is a well-established antifungal agent, provided with an original and complex mechanism of action, which prevents the development of fungal/bacterial resistances to this agent.</p> <p>Overall, the studies performed with P-3051 (ciclopirox, 8% nail lacquer) showed that:</p> <p>The active ingredient is active against the most important human pathogens responsible for onychomycoses.</p> <p>The formulation ensures effective local concentrations of the active ingredient (i.e. ciclopirox) at the site of action.</p> <p>Ciclopirox contained in the solution is able to permeate through hornified tissues at efficacious concentrations.</p> <p>P-3051 is effective in preventing and treating onychomycoses in an experimental model of onychomycosis.</p> <p>Non clinical toxicology data gathered with ciclopirox revealed no special hazard for humans based on conventional studies of repeated dose toxicity, genotoxicity and carcinogenic potential. In reproduction studies in rats and rabbits no embryo-/foetotoxicity or teratogenicity was found. Reproduction studies in male and female rats at subcutaneous doses up to 10 mg/kg/day did not reveal any specific effects on fertility. There was no evidence for peri- or postnatal toxicity.</p> <p>The local toxicity studies performed by repeated dermal application of the formulation of P-3051, in rabbits and guinea pigs, did not reveal any significant irritant or allergenic potential of the formulation.</p> |
|---|---|

Applicant (marketing authorization holder)

Polichem S.A.

Ms. Mariona Auli
Senior Leader of Preclinical Safety

Mr. Josep Maria Jansat
ADME & DMPK and Leader

Appendix 30
 to the Order on the expertise of the registration materials for the medicinal products submitted for state registration (renewal of registration), as well as expertise of materials concerning making variations in registration materials during the validity period of marketing authorization
 (p. 4 of chapter IV)

**REPORT
 about clinical trial "CH-OPLC-001-CLPRX-02"**

| | | | |
|--|--|-----------------------------|----------------|
| 1. Name of the medicinal product (marketing authorization No., if applicable): | ONYTEC® 80 mg/g medicated nail lacquer Synonyms used during the product development: P-3051, Ciclopoli | | |
| 2. Applicant | Polichem S.A., Luxembourg | | |
| 3. Manufacturer | ALFASIGMA S.P.A, Italy; ALMIRALL HERMAL GmbH, Germany | | |
| 4. trials performed: | X yes | <input type="checkbox"/> no | If no, justify |
| 1) type of the medicinal product registered or planned for registration | Medicinal product with complete dossier (stand-alone dossier), known active substance | | |
| 5. Full name of the clinical trial, trial code number | Title: <i>European, multicentre, randomised, parallel groups, comparative evaluation of the efficacy and safety of a new water-soluble 8% ciclopirox lacquer P-3051, versus its own placebo (double blind) and versus a water-insoluble standard reference (open label) within the frame of a comprehensive management programme with regular removal of infected nail, in the treatment of onychomycosis, with blind final evaluation of the primary clinical end-point</i> Trial code: CH-OPLC-001-CLPRX-02 | | |
| 6. clinical trial phase | Phase III | | |
| 7. Clinical trial period | from 7 June 2002 to 11 January 2006 | | |

| | |
|--|---|
| 8. Countries where the clinical trial was performed | Czech Rep., Latvia, Poland, France, Germany, Italy |
| 9. Number of participants | planned: 460 actual: 467 |
| 10. Aim and secondary objectives of the clinical trial | <p>The primary objective of the present study is to evaluate the efficacy of P-3051 compared to Placebo (superiority contrast) and against lacquer available on the market (Penlac®) (non inferiority contrast) on the treatment of onychomycosis. Primary end point: complete cure.</p> <p>Secondary objectives:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Clinical success: defined as: decrease of diseased nail area to $\leq 10\%$ of total as assessed by the International Scientific Study Coordinator and conversion to negative of the microscopy examination (KOH) and of the culture. • Responder, defined as: subjects presenting with either cure or clinical success. • Improvement: defined as patients with at least 20% decrease of diseased nail area, as assessed by the blinded Evaluator, at the end of treatment versus baseline and conversion to negative KOH and culture. • Decrease of diseased nail area to $\leq 10\%$ of total as assessed by the International Scientific Study Coordinator. • Conversion to negative of culture. • Negative microscopy findings on KOH examination. • Preliminary assessment by the Investigator of responder rate on an open label basis. • Growth rate of healthy nail. • Overall safety. |
| 11. Clinical trial design | <p>Design was multinational, multicentre, randomised, comparative parallel group, three-arm study, that compared P-3051 with a reference 8% ciclopirox lacquer formulation (Penlac®) and P-3051 placebo, in a 2:2:1 ratio, all given for 48 weeks, in the assessment of efficacy and safety in patients with mild to moderate onychomycosis due to dermatophyte fungi. Double blind P-3051 versus its own placebo (vehicle of P-3051). Open label P-3051 and its placebo versus standard reference. Final evaluation by the International Scientific Study Coordinator.</p> |
| 12. Main inclusion criteria | <p>Written informed consent.</p> <p>Adult outpatients of either sex.</p> <p>Age range ≥ 18 to ≤ 70 years.</p> <p>Clinical diagnosis of mild to moderate onychomycosis (i.e.: involving $\geq 25\%$ to $\leq 60\%$ of the nail surface) without lunula involvement, diagnosis established at least 6 months prior to inclusion in the study.</p> <p>Distal subungual onychomycosis of at least one big-toe nail.</p> |

| | |
|---|--|
| | <p>Culture proven disease at the screening visit and before the randomisation visit.</p> <p>Positive KOH (Potassium hydroxide preparation) both at screening and at randomisation visits.</p> |
| <p>13. Study drug, dose, method of administration, strength</p> | <p>P-3051 (Onytec 80 mg/g medicated water soluble nail lacquer) to be applied by brush daily at night on the infected nails, over the entire nail plate and approximately 5 mm of the surrounding skin and to any exposed nail bed, the hyponychium, and the free under-surface of the nail plate. P-3051 had to be removed weekly by water. Monthly removal of infected nail tissue.</p> |
| <p>14. Reference drug, dose, method of administration, strength</p> | <p>Placebo (P-3051 vehicle) to be applied by brush daily at night on the infected nails, over the entire nail plate and approximately 5 mm of the surrounding skin and to any exposed nail bed, the hyponychium, and the free under-surface of the nail plate. Placebo had to be removed weekly by water. Monthly removal of infected nail tissue.</p> <p>Reference drug: Penlac® (80 mg/g ciclopirox medicated insoluble nail lacquer) to be applied by brush daily at night on the infected nails, over the entire nail plate and approximately 5 mm of the surrounding skin and to any exposed nail bed, the hyponychium, and the free under-surface of the nail plate. The reference had to be removed weekly by isopropyl alcohol and nail surface filing (according to labelling). Monthly removal of infected nail tissue.</p> |
| <p>15. Concomitant therapy</p> | <p>Antibiotics and antimycotics were not allowed.</p> <p>A 4-week wash-out and an 8-week follow-up after treatment discontinuation were scheduled.</p> |
| <p>16. Efficacy endpoints</p> | <p>Primary efficacy endpoint:</p> <p>Rate of complete cure defined as: complete replacement of the diseased nail by new healthy nail (clear nail) as assessed by the ISSC accompanied by conversion to negative finding on microscopy KOH examination and on culture at week 48 (visit 7) and confirmed at week 52 (visit 8). Rate of recurrence (relapse/re-infection) at follow-up week 60 (visit 9).</p> <p>Secondary efficacy endpoints:</p> <p>Rate of clinical success, defined as: decrease of diseased nail area to $\leq 10\%$ of total as assessed by the ISSC and conversion to negative of the microscopy examination (KOH) and of the culture.</p> <p>Rate of Responders, defined as: subjects presenting with Complete Cure or Clinical Success.</p> <p>Rate of Improvement, defined as: subjects with at least 20% decrease of diseased nail area, as assessed by the ISSC, at the end of treatment versus baseline and conversion to negative KOH and culture</p> <p>Decrease of diseased nail area to $\leq 10\%$ of total as assessed by the ISSC Evaluator.</p> <p>Conversion to negative of culture.</p> |

| | |
|--------------------------------|--|
| | <p>Conversion to negative of microscopy findings on KOH examination. Preliminary assessment of responder rate by Investigators on an open label Growth rate of healthy nail. Time (months) to complete cure or clinical success Acceptance of therapy by patient measured on a four-point scale.</p> |
| <p>17. Safety endpoints</p> | <p>Recording of adverse events. Local tolerability at the application site. Changes in laboratory parameters values on treatment.</p> |
| <p>18. Statistical methods</p> | <p>Sample size</p> <p>The statistical power to test the primary hypothesis of the trial was approximately 80% for the non-inferiority contrast “P-3051 vs. Penlac®” and 85% for the superiority contrast “P-3051 vs. placebo”, and was based on the following assumptions: 1). Total sample size of 410 evaluable patients randomized in a 2:2:1 allocation ratio for P-3051, Penlac® and placebo, respectively. 2). A rate of “complete cure” at week 48 (primary endpoint) of 12% in the reference Penlac® group. 3). A true active treatment difference equal to 0 and a choice of non-inferiority threshold equal to 10%. 4). A rate of “complete cure” at week 48 of 0.9 in placebo group. 5). A one-tailed probability of type 1 error equal to 0.025 both for the non-inferiority and the superiority test. Taking into account 10% as a reasonable figure for drop-out, the drawn sample should be no less than 460 patients.</p> <p>Analysis set</p> <p>Deviations from protocol were noticed by the ISSC in about 20% of patients as a result of his blinded evaluation of photographs, with proximal nail involvement and/or > 60% affected area (until 100%) at baseline. Before unblinding, it was decided to include all those patients into intent-to-treat (ITT) and per protocol (PP) populations. The primary parameter, complete cure rate, has been evaluated testing the superiority contrast, P-3051 vs. placebo, and the non-inferiority contrast, P-3051 vs. reference drug, in hierarchical sequence. The null hypothesis of inferiority had to be rejected if the lower two-tailed 95% confidence limit of the difference between P-3051 and reference drug complete cure rates was greater than -10%. It has been used the Fisher exact test for the comparison of P-3051 with placebo. Homogeneity of treatment difference among centres has been tested by means of the Breslow–Day test. The primary analysis was made on the ITT population; a confirmatory analysis was performed on the PP population. Interpretation of non inferiority as superiority of P-3051 vs. reference drug was foreseen by the protocol in case the actual data justified the switch from non-inferiority to superiority, according to the CPMP/EWP/482/99. 9 Switching the non-inferiority to superiority hypothesis did not require any supplementary statistical analysis, considering that superiority was tested directly using the confidence limits calculated for non-inferiority objective. If the 95% confidence interval of the treatment difference not only lied entirely above -10%, but also above zero, then there was evidence of superiority of P-3051 vs. reference in terms of statistical significance at the</p> |

5% level ($P < 0.05$). For the following secondary parameters – responder rate, decrease of diseased nail area to $\leq 10\%$ of total, conversion to negative of culture – the 95% confidence interval of the rate difference was calculated for the contrast P-3051 vs. reference while the Fisher exact test was used to compare P-3051 with placebo. For the growth rate of healthy nail, the analysis was conducted on the ITT analysis set only. Using treatment as a fixed effect and time as a random effect, a treatment by time interaction effect was estimated using the longitudinal models of Laird and Ware. ITT data in this approach were analysed as observed cases. Descriptive statistics were used to summarize the safety parameters.

19. Demographic parameters of the studied population (sex, age, race etc.)

The actual number of randomized patients were 467; namely, 182 in the P-3051 group, 188 in the reference group and 97 in the placebo group. One patient of P-3051 dropped-in to reference at week 24 and was excluded from all analyses. All patients were Caucasian, and there was a higher proportion of females compared to males in all groups. The three groups were similar with respect to sex, age and weight (Table 1). The three groups were also similar in the number of affected toenails (mean of about 4/patient), and in causative pathogen (i.e. *Trichophyton rubrum* in about 50–54% of cases, *Trichophyton mentagrophytes* in 37–39%, and *Epidermophyton floccosum* in 1–3% of cases). The percentage of diseased target nail area – on average 43–44% in all groups – is consistent with a population of moderately to severely affected patients (Table 1). The patients with proximal involvement and/or > 60–100% affected nail area at baseline were 40 (22.1%) in P-3051, 38 (20.2%) in reference and 20 (20.6%) in placebo group.

Table 1: demographic data of patients (safety data set).

| Variable | Placebo (n = 97) | P-3051 (n = 181) | Reference (n = 188) | All patients (n = 466) |
|---|------------------|------------------|---------------------|------------------------|
| Gender | | | | |
| Female (%) | 73.2 | 58.6 | 62.8 | 63.3 |
| Male (%) | 26.8 | 41.4 | 37.2 | 36.7 |
| Age (years) | | | | |
| Mean ± SD | 49.5 ± 12.43 | 49.47 ± 12.44 | 50.36 ± 11.09 | 49.84 ± 11.89 |
| Weight (kg) | | | | |
| Mean ± SD | 73.88 ± 13.81 | 75.69 ± 13.62 | 75.31 ± 13.59 | 75.16 ± 13.64 |
| Ethnicity | | | | |
| Caucasian (%) | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Positive KOH at baseline | | | | |
| Percentage of patients | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Positive culture at baseline | | | | |
| Any dermatophyte (%) | 100 | 100 | 100 | 100 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (%) | 39.2 | 36.8 | 37.8 | 37.7 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> (%) | 52.6 | 54.4 | 50.5 | 52.5 |
| <i>Trichophyton</i> spp.(%) | 5.1 | 5.5 | 6.9 | 6.0 |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> (%) | 1.0 | 1.6 | 2.7 | 2.1 |
| Other dermatophytes (%) | 2.1 | 1.7 | 2.1 | 1.9 |
| Total number of toenails with onychomycosis | | | | |
| Mean ± SD | 3.98 ± 2.44 | 4.36 ± 2.55 | 4.09 ± 2.54 | 4.17 ± 2.52 |
| Percentage of diseased target nail area | | | | |
| Mean ± SD | 43.4 ± 18.8 | 44.5 ± 19.9 | 44.1 ± 18.8 | 44.1 ± 19.2 |

20. Effectiveness results

The study attained its primary objectives: the P-3051 treated subjects obtained complete cure in 10 of 175 ITT and 10 of 168 PP subjects versus 0 of 94 ITT or respectively 0 of 89 PP in the placebo group: Fisher exact test p=0.0165 respectively 0.0167. Penlac® treated subjects obtained complete cure in 6 of 185 ITT or 6 of 179 PP ones. The subjects that the ISSC considered to violate the disease severity criteria on admission are evenly distributed between the three treatment groups, possibly due to the treatment allocation by balanced blocks. Therefore the minor differences initial disease severity do not influence the results.

Results are summarized in Table 2.

Table 2: results over time of the primary efficacy endpoint “complete cure rate” and of secondary efficacy endpoints at end of treatment and end of follow up.

| Variable | P-3051 % (n/N) | Penlac® % (n/N) | Placebo % (n/N) | P-3051 vs Placebo † | P-3051 vs Penlac® ‡ |
|--|----------------|-----------------|-----------------|---------------------|---------------------|
| Primary endpoint | | | | | |
| Complete Cure rate | | | | | |
| Week 48 (confirmed at week 52)- ITT | 5.7 (10/175) | 3.2 (6/185) | 0 (0/94) | p= 0.0165 | 2.5 (-1.8÷6.8) |
| Week 60 | 12.7 (20/157) | 5.8 (9/156) | 1.3 (1/75) | p= 0.0029 | 7 (0.6÷13.3) # |
| Secondary endpoints | | | | | |
| Rate of conversion to negative of culture | | | | | |
| Week 48 (confirmed at week 52)- ITT | 89.1 (156/175) | 90.8 (168/185) | 69.1 (65/94) | p= 0.0001 | -1.7 (-7.9÷4.5) |
| Week 60 | 79 (124/157) | 79.7 (126/158) | 72.4 (55/76) | p= 0.3204 | -0.8 (-9.7÷8.2) |
| Responder rate | | | | | |
| Week 48 (confirmed at week 52)- ITT | 24 (42/175) | 17.3 (32/185) | 6.4 (6/94) | p= 0.0002 | 6.7 (-1.7÷15.1) |
| Week 60 | 28.7 (45/157) | 17.3 (27/156) | 14.7 (11/75) | p= 0.0217 | 11.4 (2.1÷20.6) # |
| Decrease of diseased nail area | | | | | |
| Week 48 (confirmed at week 52)- ITT | 28 (49/175) | 18.9 (35/185) | 10.6 (10/94) | p= 0.0011 | 9.1 (0.4÷17.8) # |
| Week 60 | 36.3 (57/157) | 21.8 (34/156) | 16.2 (12/74) | p= 0.0020 | 14.5 (4.6÷24.4) # |

*Fisher exact test for the planned comparison P-3051 vs. placebo;
 †Risk difference with associated two-sided 95% confidence interval;
 ‡superiority comparison P-3051 vs. reference (Fisher exact test).
 # P<0.05 vs reference Penlac

Therefore, P-3051 was definitely superior to placebo and not inferior to Penlac® with a marginal trend to superiority for P-3051 versus Penlac® mean complete cure rate and 95%CI ITT [5.71 (2.28 to 9.15) versus 3.24(0.69 to

5.80) respectively] the upper 95%CI of Penlac® just overlaps the mean P-3051 cure rate. The other analyses show consistent results.

Furthermore, at the end of follow-up (week 60), percentages of patients with complete cure, in P-3051 group, further increased compared to reference group, being 119% higher than reference for cure rate (P < 0.05). This effect, due to continuous growth of healthy nail after the end of treatment, was not unexpected and was more evident in the P-3051 group. The other analyses show consistent results. Conversion to negative of mycology culture was reached already at 12-week visit in 77% of patients in both P-3051 and reference drug, and 48% with placebo. Negative culture was then reached by about 90% of patients at the next time point, 24 weeks, and this performance was maintained until the end of treatment and 4-week washout.

At the end of 12-week follow-up, negativity of culture was still present in 76% of patients who applied P-3051 or reference. At the end of treatment, the percentage of responders, in the P-3051 group, was consistently higher than in the reference group. At the end of follow-up, percentages of responder patients in the P-3051 group further increased compared to the reference group, being 66% higher for responder rate (P < 0.05) in ITT population. At end of treatment, the percentage of patients with decrease of diseased nail area to ≤ 10% of the total nail surface, was consistently higher in the P-3051 group than in the reference group. At the end of follow-up, percentages in the P-3051 group further increased compared to the reference group, being 67% higher for responder rate (P < 0.05) in ITT population. The estimates of weekly growth of healthy nail obtained by fitting straight lines to data of active treatment period were: + 0.7‰ with placebo, + 2.9‰ with P-3051 and + 1.9‰ with reference. Only the comparison between P-3051 vs. placebo was found statistically significant (P = 0.0015).

21. Safety results

Treatment-emergent adverse events (TEAE) occurred in about 23% of patients belonging to the Safety dataset and were randomly distributed in the three treatment arms. In only 1.1% of patients, TEAE were classified as definitely/possibly/ probably study drug related [3 (3.1%) in Placebo treatment arm, 0 (0%) in P-3051 treatment arm and 2 (1.1%) in Penlac® treatment arm]. Among the drug related AEs, none was serious, nor severe, nor was the cause of patient dropout. Apart from the case of oedema legs, which was defined as remote relationship with Penlac®, no drug-related systemic adverse event was reported. The two cases of infection/worsening (onychomycosis; tinea) in placebo group were expected, as were the two local adverse events pruritus in placebo group, and petechiae in Penlac® group.

Tolerability at the application site continuously monitored throughout the randomised treatment period by using a check list for objective and subjective symptoms, gave the following results: only few signs and symptoms were recorded at the different observation times without any increase on time that might be considered as a sign of cumulative intolerance. The subjective symptoms were short lasting after the application of products. Overall, signs were 3 times more frequent with Penlac® (8.6%) than with P-3051 (2.8%) and symptoms were twice more frequent with Penlac® (16%) than with P-3051 (7.8%). In placebo group, 7.2% signs and 12.4% symptoms were recorded. The most frequent sign recorded was erythema, observed by the

| | |
|---|---|
| | <p>Investigator in 2.8% of patients in P-3051 group, and in 8.6% in Penlac® group; erythema was additionally reported by a further 2.1% of patients in the reference group. The most frequent symptom was burning, reported in 2.8% of patients in P-3051 group and in 10.7% in Penlac® group.</p> |
| <p>22. Conclusion (final conclusions)</p> | <p>This was a large, long-term, controlled study of an original nail lacquer, P-3051, containing 8% ciclopirox as the sole active principle, formulated in a new water soluble technology developed by Polichem SA, Lugano, Switzerland. The need of new products for the treatment of onychomycosis is due to the rather low efficacy rate, only 38% for the golden standard, oral terbinafine, accompanied by rare, but not acceptable, risk of serious adverse drug reactions leading to fatal outcome. Local products are commercially available, including 8% ciclopirox water insoluble old formulation nail lacquer, but they are less active and require removal procedures that are time-consuming and often bothersome, and that may damage the newly growing nail.</p> <p>P-3051 was compared to placebo and to the water insoluble reference standard, Penlac® (US) in a multicentre, multinational, randomized, double blind/blind assessment, parallel groups, long-term study in onychomycosis due to dermatophyte fungi. Overall, 467 patients were randomized in a 2:2:1 ratio among test product, reference product and placebo. They underwent a 4-8 week run in, 48 week treatment and 12 week follow up, including a 4 week washout. Efficacy endpoints were cure rate (both mycological and clinical), clinical success, responder rate and a number of secondary endpoints.</p> <p>The effect of test and reference active treatments on mycological findings was similar, with about 90% conversion to negative of culture at end of treatment, while the negative microscopy findings in the KOH test, had a lower rate.</p> <p>Interestingly, P-3051 was more active than reference Penlac®, in healthy nail growth rate, and this difference could explain the trend to higher efficacy rate of the P-3051 group on primary and secondary parameters, namely cure rate, responder rate, clinical success, and decrease of diseased nail.</p> <p>Rate of responsiveness of patients to the reference Penlac®, in our experience, was also consistent with literature data of that product: 18% of patients in the evaluation of the International Scientific Study Coordinator and 20% in the open preliminary evaluation of the local Investigators reached the $\leq 10\%$ involved area in presence of negativity to both culture and microscopy KOH examination.</p> <p>The large difference between the rate of efficacy in mycology parameters and in clinical parameters seen for Penlac® may partly be due to the application and removal procedures of the reference product: the weekly use of organic solvents and nail filings necessary to remove the previous layers of Penlac® before the application of the new dose, besides being time-consuming and bothersome for many patients, may constitute a further factor of nail damage, possibly favouring the reinfection of the newly growing nail. P-3051, not requiring such potentially nail damaging procedures, showed the same difference to a lower extent.</p> <p>Safety profile was good for all groups.</p> |

| | |
|--|---|
| | <p>The absence of systemic side effects of Penlac® is known from the labelling of that product, and was confirmed by the present investigation. P-3051 was also devoid of any systemic effect, as expected due to the low systemic absorption, not exceeding 2% of the applied dose and identical to that of Penlac®.</p> <p>The safety profile of P-3051 was excellent, with no systemic effects as expected, and with much lower rate (1/3 to 1/2) of the minimal signs/symptoms of local irritation at the application site compared to Penlac®.</p> |
|--|---|

Applicant (marketing authorization holder)

Polichem S.A.



Jordi Galván
Global Medical Lead

Додаток 30
до Порядку проведення експертизи
реєстраційних матеріалів на лікарські
засоби, що подаються на державну
реєстрацію (перереєстрацію), а також
експертизи матеріалів про внесення змін до
реєстраційних матеріалів протягом дії
реєстраційного посвідчення
(пункт 4 розділу IV)

ЗВІТ
про клінічне випробування "СН-ОPLC-001-CLPRX-02"

| | | | |
|---|--|-----------------------------|-----------------------|
| 1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення) | ОНІТЕК®, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г Синоніми, використані під час розробки лікарського засобу: P-3051, Циклополі | | |
| 2. Заявник | Полікем С.А., Люксембург | | |
| 3. Виробник | АЛЬФАСІГМА С.П.А., Італія АЛМІРАЛЛ ХЕРМАЛ ГмбХ, Німеччина | | |
| 4. Проведені дослідження: | X так | <input type="checkbox"/> ні | Якщо ні, обґрунтувати |
| 1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація | Лікарський засіб за повним досьє (автономне досьє), відома діюча речовина | | |
| 5. Повна назва клінічного випробування, кодований номер клінічного випробування | Назва: <i>Європейське багатоцентрове рандомізоване порівняльне дослідження у паралельних групах для оцінки ефективності та безпеки нового розчинного у воді циклопіроксу, 8 % лак для нігтів, P-3051, порівняно з плацебо (подвійне сліпе) та порівняно з нерозчинним у воді еталонним стандартом (відкрите) в рамках комплексної програми лікування з регулярним видаленням зараженого нігтя, при лікуванні оніхомікозу, зі сліпою остаточною оцінкою первинної клінічної кінцевої точки</i> Код дослідження: СН-ОPLC-001-CLPRX-02 | | |
| 6. Фаза клінічного випробування | Фаза III | | |
| 7. Період проведення клінічного випробування | з 7 червня 2002 року по 11 січня 2006 року | | |

Геремад
ЗГІДНО з ОРИГІНАЛОМ

Гор А.В.



| | |
|---|---|
| 8. Країни, де проводилося клінічне випробування | Чехія, Латвія, Польща, Франція, Німеччина, Італія |
| 9. Кількість досліджуваних | запланована: 460 фактично: 467 |
| 10. Мета та вторинні цілі клінічного випробування | <p>Головна мета цього дослідження – оцінити ефективність P-3051 порівняно з плацебо (більш ефективна контрастна речовина) та лаком, доступним на ринку (Пенлак®) (не менш ефективна контрастна речовина), при лікуванні оніхомікозу. Первинна кінцева точка: повне вилікування.</p> <p>Вторинні цілі:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Клінічний успіх: визначається як: зменшення ураженої площі нігтя до < 10 % від загальної за оцінкою координатора міжнародних наукових досліджень (КМНД) та конверсії результатів мікроскопічного дослідження (КОН) та посіву на негативні. • Пацієнт, який відповів на лікування: визначається як: учасники, у яких спостерігається відповідь на лікування або клінічний успіх. • Покращення: визначається як: пацієнти зі зменшенням площі уражених нігтів не менш ніж на 20 %, за оцінкою засліпленого оцінювача, наприкінці лікування в порівнянні з вихідним рівнем і переходом до негативних результатів мікроскопії з КОН та аналізу на грибкову культуру. • Зменшення площі ураженого нігтя до < 10 % від загальної площі за оцінкою координатора міжнародних наукових досліджень. • Конверсія результатів посіву на негативні. • Негативні результати мікроскопічного дослідження КОН. • Попередня відкрита оцінка Дослідником частки пацієнтів, які відповіли на лікування. • Швидкість росту здорового нігтя. • Загальна безпека. |
| 11. Дизайн клінічного випробування | Багатонаціональне багатоцентрове рандомізоване порівняльне дослідження у трьох паралельних групах для порівняння P-3051 з еталонним циклопіроксом, 8 % лак для нігтів (Пенлак®), та P-3051 плацебо у співвідношенні 2:2:1 протягом 48 тижнів для оцінки ефективності та безпеки у пацієнтів із оніхомікозом легкого та середнього ступеня тяжкості, спричиненим дерматофітними грибами. Подвійне сліпе дослідження порівняння P-3051 та плацебо (носій P-3051). Відкрите дослідження порівняння P-3051, плацебо та еталонного стандарту. Остаточна оцінка координатора міжнародних наукових досліджень. |
| 12. Основні критерії включення | <p>Письмова інформована згода.</p> <p>Дорослі амбулаторні пацієнти будь-якої статі.</p> <p>Віковий діапазон від ≥ 18 до ≤ 70 років.</p> <p>Клінічний діагноз оніхомікозу легкого та помірного ступеня тяжкості (тобто: ураження від ≥ 25 % до ≤ 60 % поверхні нігтя) без ураження нігтьової лунки, діагноз поставлено принаймні за 6 місяців до включення в дослідження.</p> <p>Дистальний піднігтьовий оніхомікоз принаймні одного нігтя великого пальця ноги.</p> |

Згідно з Оригіналом

Бор Н.В.



| | |
|--|---|
| | <p>Захворювання, підтверджене культурою під час скринінгового та рандомізаційного візиту.</p> <p>Позитивний результат дослідження КОН (препарат гідроксиду калію) під час скринінгового та рандомізаційного візиту.</p> |
| <p>13. Досліджуваний лікарський засіб, спосіб застосування, сила дії</p> | <p>P-3051 (Онітек, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г (розчинний у воді)) наносити пензлем щодня на ніч на заражені нігті, на всю нігтьову пластину та приблизно на 5 мм навколо шкіри, а також на будь-яку відкриту нігтьову пластину, гіпоніхій, та вільну нижню поверхню нігтьової пластини. P-3051 потрібно було щотижня змивати водою. Щомісячне видалення зараженої тканини нігтя.</p> |
| <p>14. Препарат порівняння, доза, спосіб застосування, сила дії</p> | <p>P-3051 (носії P-3051) наносити пензлем щодня на ніч на заражені нігті, на всю нігтьову пластину та приблизно на 5 мм навколо шкіри, а також на будь-яку відкриту нігтьову пластину, гіпоніхій, та вільну нижню поверхню нігтьової пластини. Плацебо потрібно було щотижня змивати водою. Щомісячне видалення зараженої тканини нігтя.</p> <p>Еталонний лікарський засіб: Пенлак® (Онітек, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г (нерозчинний у воді)) наносити пензлем щодня на ніч на заражені нігті, на всю нігтьову пластину та приблизно на 5 мм навколо шкіри, а також на будь-яку відкриту нігтьову пластину, гіпоніхій, та вільну нижню поверхню нігтьової пластини. Еталон потрібно було щотижня змивати ізопропіловим спиртом та підпилювати поверхню нігтя (відповідно до інструкції на етикетці). Щомісячне видалення зараженої тканини нігтя.</p> |
| <p>15. Супутня терапія</p> | <p>Антибіотичні та протигрибкові засоби протипоказані.</p> <p>Було заплановано 4-тижневе відмивання та 8-тижневе подальше спостереження після припинення лікування.</p> |
| <p>16. Критерії оцінки ефективності</p> | <p>Первинна кінцева точка ефективності:</p> <p>Рівень повного вилікування визначається як: повна заміна хворого нігтя новим здоровим нігтем (чистий ніготь) згідно з оцінкою ISSC, що супроводжується конверсією результатів мікроскопічного дослідження КОН та посіву на негативні на тижні 48 (візит 7) та підтверджено на тижні 52 (візит 8). Частота рецидивів (рецидив/повторне зараження) на тижні 60 подальшого спостереження (візит 9).</p> <p>Вторинні кінцеві точки ефективності:</p> <p>Рівень клінічного успіху: визначається як: зменшення ураженої площі нігтя до < 10 % від загальної за оцінкою КМНД та конверсії результатів мікроскопічного дослідження (КОН) та посіву на негативні.</p> <p>Частка пацієнтів, які відповіли на лікування: визначається як: учасники, у яких спостерігається повне вилікування або клінічний успіх.</p> <p>Рівень покращення: визначається як: учасники зі зменшенням площі уражених нігтів не менш ніж на 20 %, за оцінкою КМНД, наприкінці лікування в порівнянні з вихідним рівнем і переходом до негативних результатів мікроскопії з КОН та аналізу на грибову культуру.</p> <p>Зменшення площі ураженого нігтя до $\leq 10\%$ від загальної площі, за оцінкою КМНД.</p> |

Згідно з Оригіналом

Тор. Н.В.



| | |
|------------------------------------|---|
| | <p>Конверсія результатів посіву на негативні. Конверсія результатів мікроскопічного дослідження КОН на негативні. Попередня відкрита оцінка Дослідниками частки пацієнтів, які відповіли на лікування Швидкість росту здорового нігтя. Час (місяці) до повного вилікування або клінічного успіху Прийняття терапії пацієнтом вимірюється за 4-бальною шкалою.</p> |
| <p>17. Критерії оцінки безпеки</p> | <p>Реєстрація небажаних явищ. Місцева переносимість у місці нанесення. Зміна значень лабораторних показників при лікуванні.</p> |
| <p>18. Статистичні методи</p> | <p>Розмір вибірки Статистична потужність для перевірки первинної гіпотези дослідження становила приблизно 80 % для не менш ефективної контрастної речовини «P-3051 та Пенлак®» та 85 % для більш ефективної контрастної речовини «P-3051 та плацебо» та базувалася на таких припущеннях: 1) Загальний розмір вибірки з 410 оцінюваних пацієнтів, рандомізованих у співвідношенні розподілу 2:2:1 у групі P-3051, Пенлак® та плацебо відповідно. 2) Рівень «повного вилікування» на тиждні 48 (первинна кінцева точка) становив 12 % у групі еталону Пенлаку®. 3) Фактична різниця інтенсивного лікування дорівнює 0, а вибір порогу не меншої ефективності дорівнює 10 %. 4) Рівень «повного вилікування» на тиждні 48 становив 0,9 у групі плацебо. 5) Одностороння ймовірність помилки типу 1 дорівнює 0,025 як для тесту не меншої ефективності, так і для тесту більшої ефективності. Беручи до уваги 10 % як прийнятний відсоток пацієнтів, виключених з дослідження, розмір вибірки має становити не менше 460 пацієнтів. Аналізована вибірка Відхилення від протоколу були помічені КМНД у приблизно 20 % пацієнтів у результаті сліпої оцінки знімків, із включенням проксимального нігтя та/або > 60 % ураженої ділянки (до 100 %) на вихідному рівні. Перед розсліпленням було прийнято рішення включити усіх цих пацієнтів до популяції пацієнтів, включених до дослідження (ППВД), та протокольної популяції (ПП). Основний параметр, рівень повного вилікування, оцінювався шляхом випробування більш ефективної контрастної речовини, P-3051 та плацебо, та не менш ефективної контрастної речовини, P-3051 та еталонного лікарського засобу, в ієрархічній послідовності. Нульову гіпотезу меншої ефективності потрібно було відхилити, якщо нижня межа двостороннього 95 % довірчого інтервалу різниці між рівнем повного вилікування з P-3051 та еталонним лікарським засобом перевищувала -10 %. Було використано точний критерій Фішера для порівняння P-3051 з плацебо. Однорідність різниці у лікуванні між центрами перевіряли за допомогою тесту Бреслоу-Дея. Первинний аналіз проводився у ППВД; був проведений підтверджуючий аналіз ПП. Глумачення не меншої ефективності в якості більшої ефективності P-3051 порівняно з еталонним лікарським засобом було передбачено протоколом у випадку, якщо фактичні дані виправдовували зміну з не меншої ефективності на більшу ефективність відповідно до СРМР/ЕWP/482/99. 9. Зміна гіпотези від не меншої ефективності до більшої ефективності не вимагала жодного додаткового статистичного аналізу, враховуючи, що більша ефективність перевірялася</p> |

Перша ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ
 For H.B. *[Signature]*



безпосередньо з використанням меж довірчого інтервалу, розрахованих для не меншої ефективності. Якщо 95 % довірчий інтервал різниці в лікуванні не тільки повністю перевищував -10 %, але й був вище нуля, тоді були докази більшої ефективності P-3051 порівняно з еталоном з точки зору статистичної значущості на рівні 5 % ($P < 0,05$). Для таких вторинних параметрів, як частка пацієнтів, які відповіли на лікування, зменшення ураженої площі нігтя до ≤ 10 % від загальної кількості, конверсія результатів посіву на негативні, 95 % довірчий інтервал різниці частоти був розрахований для контрастної речовини P-3051 порівняно з еталоном, тоді як точний критерій Фішера використовували для порівняння P-3051 з плацебо. Для швидкості росту здорового нігтя аналіз проводився лише для аналізу ППВД. Лікування в якості фіксованого ефекту та часу в якості випадкового ефекту, лікування за ефектом взаємодії з часом оцінювали за допомогою поздовжніх моделей Лейрда та Вара. Дані про ППВД у цьому підході аналізувалися як спостережувані випадки. Для узагальнення параметрів безпеки використовували описову статистику.

19. Демографічні показники досліджуваної популяції (стать, вік, раса, тощо)

Фактична кількість рандомізованих пацієнтів становила 467; а саме 182 у групі P-3051, 188 у групі еталону та 97 у групі плацебо. Один пацієнт групи P-3051 перейшов на еталон на тижні 24 та був виключений з усіх аналізів. Усі пацієнти були представниками європеїдної раси та в усіх групах переважали жінки. Три групи були подібними за статтю, віком та вагою (Таблиця 1). Три групи також були подібними за кількістю уражених нігтів на ногах (у середньому прибіл. 4/пацієнта) та за збудником (тобто *Trichophyton rubrum* прибіл. у 50-54 % випадків, *Trichophyton mentagrophytes* у 37-39 % випадків та *Epidermophyton floccosum* у 1-3 % випадків). Відсоток ураженої цільової ділянки нігтя – у середньому 43-44 % в усіх групах – відповідає популяції пацієнтів із помірним та тяжким ураженням (Таблиця 1). Пацієнтів із проксимальним ураженням та/або > 60-100 % ураженої ділянки нігтя на вихідному рівні було 40 (22,1 %) у групі P-3051, 38 (20,2 %) у групі еталону та 20 (20,6 %) у групі плацебо.

Таблиця 1: демографічні дані пацієнтів (набір даних про безпеку).

| Змінна | Плацебо (n = 97) | P-3051 (n = 181) | Еталон (n = 188) | Усі пацієнти (n = 466) |
|---|------------------|------------------|------------------|------------------------|
| Стать | | | | |
| Жінки (%) | 73,2 | 58,6 | 62,8 | 63,3 |
| Чоловіки (%) | 26,8 | 41,4 | 37,2 | 39,7 |
| Вік (років) | | | | |
| Середнє значення ± СВ | 49,5 ± 12,43 | 49,47 ± 12,44 | 50,38 ± 11,09 | 49,84 ± 11,89 |
| Вага (кг) | | | | |
| Середнє значення ± СВ | 73,88 ± 13,81 | 75,69 ± 13,62 | 75,31 ± 13,59 | 75,16 ± 13,64 |
| Етнічна приналежність | | | | |
| Представники європеїдної раси (%) | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Позитивний КОН на вихідному рівні | | | | |
| Відсоток пацієнтів | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Позитивна культура на вихідному рівні | | | | |
| Будь-який дерматофіт (%) | 100 | 100 | 100 | 100 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (%) | 39,2 | 36,8 | 37,8 | 37,7 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> (%) | 52,6 | 54,4 | 50,5 | 52,5 |
| <i>Trichophyton spp.</i> (%) | 5,1 | 5,5 | 6,9 | 6,0 |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> (%) | 1,0 | 1,6 | 2,7 | 2,1 |
| Інші дерматофіти (%) | 2,1 | 1,7 | 2,1 | 1,9 |
| Загальна кількість нігтів на ногах з оніхомікозом | | | | |
| Середнє значення ± СВ | 3,98 ± 2,44 | 4,36 ± 2,55 | 4,09 ± 2,54 | 4,17 ± 2,52 |
| Відсоток ураженої цільової ділянки нігтя | | | | |
| Середнє значення ± СВ | 43,4 ± 18,8 | 44,5 ± 19,9 | 44,1 ± 18,8 | 44,1 ± 19,2 |

Згідно з оригіналом

For M.B.



20.
Результати
ефективності

Дослідження досягло своїх основних цілей: пацієнти, які отримували P-3051, повністю одужали у 10 із 175 ППВД та 10 із 168 ПП та 0 із 94 ППВД або відповідно 0 із 89 ПП у групі плацебо: Точний критерій Фішера $p = 0,0165$ відповідно $0,0167$. Учасники, які отримували Пенлак®, повністю одужали у 6 із 185 ППВД або у 6 із 179 ПП. Учасники, яких КМНД вважав такими, що порушують критерії тяжкості захворювання при надходженні, були рівномірно розподілені між трьома групами лікування, можливо, через розподіл лікування за збалансованими блоками. Тому незначні різниці у початковій тяжкості захворювання не впливають на результати.

Результати узагальнені у Таблиці 2.

Таблиця 2: подальші результати для первинної кінцевої точки ефективності «рівень повного вилікування» та вторинної кінцевої точки ефективності наприкінці лікування та наприкінці подальшого спостереження.

| Змінна | P-3051 (n/N) | % (n/N) | Пенлак® (n/N) | % (n/N) | Плацебо (n/N) | % (n/N) | P-3051 та плацебо † | P-3051 та Пенлак® ‡ |
|---|-------------------|-------------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------------|------------------------|
| Первинна кінцева точка | | | | | | | | |
| Рівень повного вилікування | | | | | | | | |
| Тиждень 48 (підтверджено на тижні 52) – ППВД | 5,7 (10/175) | 3,2 (6/185) | 0 (0/94) | | | | $p = 0,0165$ | 2,5 (-1,8÷6,8) |
| Тиждень 60 | 12,7 (20/157) | 5,8 (9/156) | 1,3 (1/75) | | | | $p = 0,0029$ | 7 (0,6÷13,3) # |
| Вторинні кінцеві точки | | | | | | | | |
| Частота конверсії результатів посіву на негативні культури | | | | | | | | |
| Тиждень 48 (підтверджено на тижні 52) – ППВД | 89,1 (156/175) | 90,8 (168/185) | 69,1 (65/94) | | | | $p = 0,0001$ | -1,7 (-7,9÷4,5) |
| Тиждень 60 | 79 (124/157) | 79,7 (126/158) | 72,4 (55/76) | | | | $p = 0,3204$ | -0,8 (-9,7÷8,2) |
| Частка пацієнтів, які відповіли на лікування | | | | | | | | |
| Тиждень 48 (підтверджено на тижні 52) – ППВД | 24 (42/175) | 17,3 (32/185) | 6,4 (6/94) | | | | $p = 0,0002$ | 6,7 (-1,7÷15,1) |
| Тиждень 60 | 28,7 (45/157) | 17,3 (27/156) | 14,7 (11/75) | | | | $p = 0,0217$ | 11,4 (2,1÷20,6) # |
| Зменшення ураженої поверхні нігтя | | | | | | | | |
| Тиждень 48 (підтверджено на тижні 52) – ППВД | 28 (49/175) | 18,9 (35/185) | 10,6 (10/94) | | | | $p = 0,0011$ | 9,1 (0,4÷17,8) # |
| Тиждень 60 | 36,3 (57/157) | 21,8 (34/156) | 16,2 (12/74) | | | | $p = 0,0020$ | 14,5 (4,6÷24,4) # |

*Точний критерій Фішера для запланованого порівняння P-3051 з плацебо;
 † Різниця ризиків із пов'язаним двостороннім 95 % довірчим інтервалом;
 ‡ порівняння більшої ефективності P-3051 порівняно з еталоном (точний критерій Фішера).
 # $P < 0,05$ порівняно з еталоном Пенлаком

Таким чином, P-3051 однозначно був більш ефективним, ніж плацебо, та не менш ефективним, ніж Пенлак®, з незначною тенденцією до більшої ефективності середнього рівня повного вилікування з P-3051 та Пенлаком® та 95 % ДІ ППВД [5,71 (2,28 та 9,15) та 3,24 (0,69 та 5,80) відповідно], верхня межа 95 % ДІ Пенлаку® просто перебиває середній рівень вилікування з P-3051. Інші аналізи показують послідовні результати.

Крім того, наприкінці спостереження (тиждень 60) відсоток пацієнтів, які повністю одужали, у групі P-3051 ще більше збільшився порівняно з групою еталону, будучи на 119 % вищим, ніж еталон у рівні вилікування ($P < 0,05$). Цей ефект, завдяки

Сергій
 ЗГІАНО З ОРИГІНАЛОМ
 For UV.


постійному зростанню здорового нігтя після закінчення лікування, не був неочікуваним та був більш очевидним у групі P-3051. Інші аналізи показують послідовні результати. Конверсію результатів мікологічного посіву на негативні було досягнуто вже під час 12-тижневого візиту у 77 % пацієнтів як у групі P-3051, так і у групі еталону, та у 48 % пацієнтів у групі плацебо. Негативна культура спостерігалась приблизно у 90 % пацієнтів у наступний момент часу, 24 тижні, а ця ефективність зберігалася до кінця лікування та 4-тижневого відмивання.

Наприкінці 12-тижневого подальшого спостереження негативна культура все ще спостерігалась у 76 % пацієнтів, які отримували P-3051 або еталон. Наприкінці лікування відсоток пацієнтів, які відповіли на лікування, у групі P-3051 був незмінно вищим, ніж у групі еталону. Наприкінці подальшого спостереження відсоток пацієнтів, які відповіли на лікування, у групі P-3051 ще більше збільшився порівняно з групою еталону, будучи на 66 % вищим для частки пацієнтів, які відповіли на лікування ($P < 0,05$) у ППВД. Наприкінці лікування відсоток пацієнтів зі зменшенням ураженої поверхні нігтя до < 10 % від загальної поверхні нігтя був стабільно вище у групі P-3051, ніж у групі еталону. Наприкінці подальшого спостереження відсоток у групі P-3051 ще більше збільшився порівняно з групою еталону, будучи на 67 % вищим для частки пацієнтів, які відповіли на лікування ($P < 0,05$) у ППВД. Результати оцінки щотижневого росту здорового нігтя, отримані шляхом підгонки прямих ліній до даних періоду інтенсивного лікування, були: + 0,7 % з плацебо, 2,9 % з P-3051 та 1,9 % з еталonom. Лише порівняння між P-3051 та плацебо було визнано статистично значущим ($P = 0,0015$).

21. Результати безпеки

Небажані явища, що виникли під час лікування (НЯВЛ), спостерігалися приблизно у 23 % пацієнтів, які належать до набору даних безпеки, та були випадковим чином розподілені в трьох групах лікування. Лише у 1,1 % пацієнтів НЯВЛ були класифіковані як точно/можливо/імовірно пов'язані з досліджуваним засобом [3 (3,1 %) у групі плацебо, 0 (0 %) у групі P-3051 та 2 (1,1 %) у групі Пенлаку®]. Серед небажаних явищ, пов'язаних із застосуванням лікарського засобу, жодне не було серйозним або тяжким, а також не був причиною виключення пацієнтів із дослідження. Окрім випадку набряку ніг, який був визначений як віддалений зв'язок із Пенлаком®, не повідомлялося про системні небажані явища, пов'язані із застосуванням засобу. Два випадки зараження/погіршення (оніхомікоз; лишай) у групі плацебо були очікуваними, як і два місцеві небажані явища: свербіж у групі плацебо та петехії у групі Пенлаку®.

Переносимість у місці нанесення, що постійно контролювалася протягом рандомізованого періоду лікування за допомогою чек-листу для об'єктивних та суб'єктивних симптомів, дала такі результати: було зареєстровано лише кілька ознак та симптомів у різні періоди спостереження без будь-якого збільшення часу, яке можна вважати ознакою сумарної непереносимості. Суб'єктивні симптоми були короткочасними після нанесення засобів. Загалом ознаки були в 3 рази частішими з Пенлаком® (8,6 %), ніж з P-3051 (2,8 %), а симптоми були вдвічі частіше з Пенлаком® (16 %), ніж з P-3051 (7,8 %). У групі плацебо було зареєстровано 7,2 % ознак та 12,4 % симптомів.

Сергей
ЗГІДНО з ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.



| | |
|--|---|
| | <p>Найчастішою зареєстрованою ознакою була еритема, яку спостерігав дослідник у 2,8 % пацієнтів у групі P-3051 та у 8,6 % у групі Пенлаку®; про еритему додатково повідомили ще 2,1 % пацієнтів у групі еталону. Найчастішим симптомом було печіння, про яке повідомляли 2,8 % пацієнтів у групі P-3051 та 10,7 % у групі Пенлаку®.</p> |
| <p>22. Висновок (заключення)</p> | <p>Це було велике довготривале контрольоване дослідження оригінального лаку для нігтів P-3051, що містить 8 % циклопіроксу в якості єдиної діючої речовини, створеного за новою водорозчинною технологією, розробленою компанією «Полікем С.А.», Лугано, Швейцарія. Потреба у нових засобах для лікування оніхомікозу зумовлена досить низьким рівнем ефективності, лише 38 % для золотого стандарту, перорального тербінафіну, що супроводжується рідкісним, але неприйнятним ризиком серйозних небажаних лікарських реакцій, що призводять до смерті. Доступні у продажу місцеві засоби, включаючи стару лікарську форму циклопіроксу, 8 % лак для нігтів (нерозчинний у воді), але вони менш активні та вимагають довготривалих та обтяжливих процедур змивання, які можуть пошкодити відростаючий ніготь.</p> <p>P-3051 порівнювали з плацебо та нерозчинним у воді еталонним стандартом Пенлак® (США) у багатоцентровому багатонаціональному рандомізованому подвійному сліпому/сліпому довгостроковому дослідженні к паралельних групах при оніхомікозі, спричиненому дерматофітними грибами. Загалом 467 пацієнтів були рандомізовані у співвідношенні 2:2:1 у групи досліджуваного засобу, еталонного лікарського засобу та плацебо. Вони пройшли 4-8-тижневий період введення, 48-тижневий період лікування та 12-тижневий період подальшого спостереження, включаючи 4-тижневе відмивання. Кінцевими точками ефективності були рівень вилікування (мікологічні та клінічні параметри), клінічний успіх, частка пацієнтів, які відповіли на лікування, та кількість вторинних кінцевих точок.</p> <p>Вплив досліджуваного та еталонного лікарського засобу на результати мікологічного дослідження був подібним, з конверсією приблизно 90 % результатів посіву на негативні наприкінці лікування, тоді як негативні результати мікроскопії у дослідженні КОН мали нижчий показник.</p> <p>Цікаво, що P-3051 був більш активним, ніж еталонний Пенлак®, щодо швидкості росту здорових нігтів, а ця різниця могла пояснити тенденцію до більшої ефективності у групі P-3051 за первинними та вторинними параметрами, а саме рівнем вилікування, частотою пацієнтів, які відповіли на лікування, клінічним успіхом та зменшенням хворих нігтів.</p> <p>Рівень відповіді пацієнтів на еталонний Пенлак®, згідно з нашим досвідом, також узгоджувався з літературними даними щодо цього лікарського засобу: 18 % пацієнтів за оцінкою координатора міжнародних наукових досліджень та 20 % за відкритою попередньою оцінкою місцевих дослідників досягли ≤ 10 % ділянки за наявності негативних результатів посіву та мікроскопічного дослідження КОН.</p> <p>Велика різниця між рівнем ефективності мікологічних параметрів та клінічних параметрів, що спостерігаються для Пенлаку®, може бути частково пов'язана з процедурами нанесення та змивання еталонного лікарського засобу: щотижневе</p> |

Терешар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ
For H.B. *[Signature]*



застосування органічних розчинників та пилок для нігтів, необхідних для видалення попередніх шарів Пенлаку® перед нанесенням нової дози, окрім того, що це займає багато часу та набридає багатьом пацієнтам, може стати додатковим фактором пошкодження нігтя, що може сприяти повторному зараженню щойно відрослого нігтя. P-3051, який не вимагає таких процедур, які можуть пошкодити нігті, продемонстрував таку саму різницю у меншій мірі.

Профіль безпеки був хорошим для всіх груп.

Про відсутність системних побічних ефектів Пенлаку® вказано на етикетці цього лікарського засобу та це було підтверджено у поточному дослідженні. P-3051 також не демонстрував системного ефекту, як і очікувалося, через низьку системну абсорбцію, що не перевищує 2 % застосованої дози та ідентична до Пенлаку®.

Профіль безпеки P-3051 був чудовим, без системних ефектів, як очікувалося, і з набагато нижчою частотою (від 1/3 до 1/2) мінімальних ознак/симптомів місцевого подразнення у місці нанесення порівняно з Пенлаком®.

Заявник (власник
реєстраційного
посвідчення)

Полікем С.А.

/Підпис/
Йорді Гальван [Gordi Galvan]
Керівник міжнародного рівня з питань медицини

Сергієнко
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Гор Н.В.



Appendix 30
to the Order on the expertise of the
registration materials for the medicinal
products submitted for state registration
(renewal of registration), as well as
expertise of materials concerning making
variations in registration materials during
the validity period of marketing
authorization
(p. 4 of chapter IV)

REPORT
about clinical trial "PM1125"

| | | | |
|--|---|-----------------------------|----------------|
| 1. Name of the medicinal product (marketing authorization No., if applicable): | ONYTEC® 80 mg/g medicated nail lacquer Synonyms used during the product development: P-3051, Ciclopoli | | |
| 2. Applicant | Polichem S.A., Luxembourg | | |
| 3. Manufacturer | ALFASIGMA S.P.A, Italy; ALMIRALL HERMAL GmbH, Germany | | |
| 4. trials performed: | X yes | <input type="checkbox"/> no | If no, justify |
| 1) type of the medicinal product registered or planned for registration | Medicinal product with complete dossier (stand-alone dossier), known active substance | | |
| 5. Full name of the clinical trial, trial code number | Title: <i>Randomized, open-label, controlled study on the efficacy of Ciclopoli® (ciclopirox 8% nail lacquer) versus Loceryl® (amorolfine 5% nail lacquer) on the culture conversion to negative in patients with onychomycosis</i> Trial code: PM1125 EudraCT number: 2011-003087-70 | | |
| 6. clinical trial phase | Phase III | | |
| 7. Clinical trial period | from 21 Feb 2012 to 27 May 2014 | | |
| 8. Countries where the clinical trial was performed | Latvia, Russia | | |

| | |
|---|---|
| <p>9. Number of participants</p> | <p>planned: 120 actual: 137</p> |
| <p>10. Aim and secondary objectives of the clinical trial</p> | <p>The primary objective of the study was to evaluate the efficacy of Ciclopoli® (ciclopirox 8%, coded as P-3051) water soluble nail lacquer and Loceryl® (amorolfine 5%) water insoluble nail lacquer in the conversion to negative of culture evaluated at week 12.</p> <p>Secondary objectives:</p> <p>The secondary objectives of the study were to evaluate the effects of the IMPs in the following parameters:</p> <p><i>12-week study:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Conversion to negative of culture evaluated at 4 and 8 weeks; • Conversion to negative of microscopy (KOH), monitored at 4, 8 and 12 weeks; • Mycological cure (defined as negative KOH microscopy and negative culture) evaluated at 4, 8 and 12 weeks; • Determination of nail infected area at weeks 4, 8 and 12 weeks compared to baseline; • Determination of growth rate of healthy nail at weeks 4, 8 and 12 weeks; • Responders rate at week 12, defined as patients with conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination and with decrease of affected nail area to $\leq 10\%$ of total; • Complete cure rate at week 12, defined as complete replacement of the affected nail by new healthy nail, accompanied by conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination); <p><i>48-week study:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Conversion to negative of culture evaluated at 4, 8, 24 and 48 weeks; • Conversion to negative of microscopy (KOH), monitored at 4, 8, 12, 24 and 48 weeks; • Mycological cure (defined as negative KOH microscopy and negative culture) evaluated at 4, 8, 12, 24 and 48 weeks; • Determination of nail infected area at 4, 8, 12, 24 and 48 weeks compared to baseline; • Determination of growth rate of healthy nail at 4, 8, 12, 24 and 48 weeks; • Responders rate at weeks 12, 24 and 48, defined as patients with conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination and with decrease of affected nail area to $\leq 10\%$ of total; • Complete cure rate at weeks 12, 24 and 48, defined as complete replacement of the affected nail by new healthy nail, accompanied by conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination); • Overall safety and local tolerability. |
| <p>11. Clinical trial design</p> | <p>This was a phase III, randomized, open-label, controlled study to evaluate the conversion to negative of culture, after 12 weeks of treatment with P-3051 nail lacquer compared to amorolfine 5% nail lacquer.</p> <p>The study consisted of a screening phase of 4 weeks, a treatment phase of 12 weeks (12-week study) and an active Follow-up phase of 36 weeks (48-week study). Five visits were foreseen in all sites (Russia and Latvia): Visit 1 was</p> |

| | |
|--|--|
| | <p>the screening visit (-4 or -5 weeks) followed by the randomization Visit 2 (day 0), Visit 3 (4 weeks), Visit 4 (8 weeks) and Visit 5 (12 weeks). The duration of the whole study per patient was 16-17 weeks. Two additional visits in the 48-week study (active Follow-up phase) were foreseen in the Latvian centres at week 24 (Visit 6) and at week 48 (Visit 7). The duration of the whole study for those patients entering the 48-week study was 52-53 weeks.</p> |
| 12. Main inclusion criteria | <p>Written informed consent before starting any study related procedures; patients aged 18 up to 75 years old; males or females; patients with established clinical diagnosis of distal sub-ungual onychomycosis caused by fungal nail pathogens, affecting at least one big toenail with indication for topical treatment; percent of infected nail area between 25% and 75%; patients with both positive KOH and culture for fungal nail pathogens (dermatophytes, white yeasts and/or <i>Scopulariopsis</i> spp. and/or <i>Fusarium</i> spp.) in screening target nail sample.</p> |
| 13. Study drug, dose, method of administration, strength | <p>P-3051 (Onytec 80 mg/g medicated water soluble nail lacquer) applied once daily to all affected toenails and (if applicable) also to all affected fingernails.</p> |
| 14. Reference drug, dose, method of administration, strength | <p>Amorolfine 5% (Loceryl® nail lacquer) applied twice weekly to all affected toenails and (if applicable) also to all affected fingernails.</p> |
| 15. Concomitant therapy | <p>Patients were not allowed to take any other drugs having anti-fungal activity, either topical on the affected nail or systemic, during the whole study period.</p> <p>Systemic glucocorticosteroids, antimetabolites, immunostimulant or immunosuppressive agents had not to be given throughout the study, neither topically (in the nail) nor systemically. However, local treatment of mycoses developing on other areas of the skin could be applied only once during the study for short-term treatment (4 weeks).</p> <p>The use of other medication should have been limited to those that were essential, provided they did not conflict with the study inclusion/exclusion criteria. The dosage and treatment regimens of any medication should have been maintained unchanged throughout the study period. The use of all medications had to be recorded in the eCRF; generic name should have been recorded as well as strength, posology, administration route and duration of therapy.</p> <p>Use of antibiotics having no anti-fungal activity was allowed.</p> |
| 16. Efficacy endpoints | <p>Primary efficacy endpoint: Conversion to negative of culture evaluated at 12 weeks.</p> <p>Secondary efficacy endpoints:</p> |

| | |
|-------------------------|---|
| | <p><i>Secondary Endpoints at 12 weeks</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Conversion to negative of culture evaluated at 4 and 8 weeks; • Conversion to negative of microscopy (KOH), monitored at 4, 8 and 12 weeks; • Determination of nail infected area at weeks 4, 8 and 12 weeks compared to baseline; • Determination of growth rate of healthy nail at weeks 4, 8 and 12; • Responders rate at week 12, defined as patients with conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination and with decrease of affected nail area to $\leq 10\%$ of total; • Complete cure rate at week 12, defined as complete replacement of the affected nail by new healthy nail, accompanied by conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination. <p><i>Secondary Endpoints at 48 weeks</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Conversion to negative of culture evaluated at 4, 8, 24 and 48 weeks; • Conversion to negative of microscopy (KOH), monitored at 4, 8, 12, 24 and 48 weeks; • Determination of nail infected area at weeks 4, 8, 12, 24 and 48 weeks compared to baseline; • Determination of growth rate of healthy nail at weeks 4, 8, 12, 24 and 48; • Responders rate at weeks 12, 24 and 48, defined as patients with conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination and with decrease of affected nail area to $\leq 10\%$ of total; • Complete cure rate at weeks 12, 24 and 48, defined as complete replacement of the affected nail by new healthy nail, accompanied by conversion to negative of culture and of microscopic KOH examination. |
| 17. Safety endpoints | <ul style="list-style-type: none"> • Adverse events (AEs); • Local tolerability (skin irritation); • Patient's evaluation of therapy (poor, good, moderate, very good; not evaluated). |
| 18. Statistical methods | <p><u>Sample size</u></p> <p>The null hypothesis to be tested was $H_0: \pi_C - \pi_A \leq -9.0$ (i.e. the success rate with ciclopirox was not equivalent and was inferior to that with amorolfine) versus the alternative hypothesis that $H_1: \pi_C - \pi_A > -9.0$ (the success rate was not inferior), where π_C and π_A are the success rates in the ciclopirox and amorolfine treatment groups, respectively.</p> <p>It was assumed that the success rate with amorolfine and ciclopirox would be 66% and 80% respectively (8). Thus, assuming that the true difference in favour of the new treatment would be -14%, 60 patients per group were required to be 80% sure (power = 80%) that the limit of a one sided 97.5% confidence interval (or equivalently a 95% two-sided confidence interval) excluded a difference in favour of the standard treatment of more than -9%.</p> <p>Calculation based on the formula:</p> |

$$n = f(\alpha, \beta) \times [\pi_s \times (100 - \pi_s) + \pi_e \times (100 - \pi_e)] / (\pi_s - \pi_e - d)^2$$

where π_s and π_e are the true percent 'success' in the standard and new (experimental) treatment group respectively,

$$f(\alpha, \beta) = [\Phi^{-1}(\alpha) + \Phi^{-1}(\beta)]^2$$

Φ^{-1} is the cumulative distribution function of a standardized normal deviate.

Analysis set

The following populations were considered in the statistical analysis:

- Safety population: all randomized patients who received at least one dose of the IMP;
- Intention-to-Treat at 12 weeks (ITT 12w) population: all randomized patients who received at least one dose of the IMP, with baseline evaluation and with at least one post-baseline efficacy measurement, i.e. any post-baseline measurement of primary efficacy variable (all centres);
- Intention-to-Treat at 48 weeks (ITT 48w) population: all randomized patients who received at least one dose of the IMP, with baseline evaluation and with at least one post-baseline efficacy measurement, i.e. any post-baseline measurement of primary efficacy variable (Latvian centre);
- Per Protocol at 12 weeks (PP 12w) population: all patients who completed the study without any major protocol violation, assessed before locking the database, and had valid data at baseline and at the end of treatment (all centres);
- Per Protocol at 48 weeks (PP 48w) population: all patients who completed the study without any major protocol violation, assessed before locking the database, and had valid data at baseline and at the end of treatment (Latvian centre).

The results were presented in form of descriptive statistics, i.e. number of observation, mean, standard deviation, median, minimum and maximum, for continuous variables, and frequency distributions (number and percentages) for categorical variables.

For both P-3051 and amorolfine 5%, the culture conversion to negative after 12 weeks of treatment was assumed 14%. The non-inferiority level was set at 9%. The statistical significance was evaluated by testing the differences of the culture conversion to negative under consideration of the no inferiority border, using a one-sided confidence interval of 2.5% or a two-sided 95% confidence interval (CI).

If the 95% CI for the treatment effect not only lied entirely above -9.0% but also above zero then there was evidence of superiority in terms of statistical significance at the 5% level ($P < 0.05$). In this case the P-value associated with a test of superiority was calculated.

The z-test was used to assess the difference in proportions of culture conversion, whether assessed by culture or KOH, between the two treatment groups at 4, 8 and 12 weeks, and, for the 48-week study, at 24 and 48 weeks.

The difference between treatments for nail infected area at 4, 8 and 12 weeks and, for the 48-week study, at 24 and 48 weeks, with respect to baseline was assessed with the Analysis of Covariance (ANCOVA). The z-test was used to assess the difference between the two treatments with respect to the proportions of responders and the proportion of completed cure cases at week 12 and, for the 48-week study, at 24 and 48 weeks. The difference between treatments in nail fragility score assessed at 4, 8 and 12 weeks and, for the 48-week study, at 24 and 48 weeks, with respect to baseline was assessed with the Non Parametric ANCOVA.

The same models were applied on PP population as supportive efficacy analysis for both aforementioned parameters.

All AEs were coded according to MedDRA dictionary (version 16) and the incidence rates were tabulated by Preferred Term (PT) and by System Organ Class (SOC) per each treatment group. Severity and relationship to study drug were assessed per each event.

The z-test was used to assess the difference in the skin irritation rate as assessed by the skin irritation test performed throughout the study.

The Chi-Square test was used to assess the patient's judgment of the therapy.

19. Demographic parameters of the studied population (sex, age, race etc.)

A total of 206 patients were screened for the study and 137 were randomized to the assigned treatment: 69 patients (50.4% of randomised) were randomised to receive P-3051 and 68 (49.6%) were randomised to receive amorolfine 5%. Overall, 120 patients (60 in each group) were randomised in the Latvian centre and 17 patients were randomised in the Russian centres. All patients randomised in the Russian centres completed the 12-week treatment period only and did not continue the study after week 12. All randomised patients in the Latvian centre completed the overall 48-week treatment period.

Table 1: demographic data of patients (ITT 12-wk population).

| | | P-3051 (N=69) | | Amorolfine 5% (N=68) | | Total (N=137) | |
|---------------|-----------|------------------|-------|----------------------------|-------|------------------|-------|
| Age, years | Mean | 51.64 | | 52.91 | | 52.27 | |
| | SD | 11.30 | | 13.07 | | 12.18 | |
| | Median | 55.0 | | 56.0 | | 56.0 | |
| | Min | 24 | | 20 | | 20 | |
| | Max | 76 | | 72 | | 76 | |
| Gender, N (%) | Male | 13 | 18.8 | 14 | 20.6 | 27 | 19.7 |
| | Female | 56 | 81.2 | 54 | 79.4 | 110 | 80.3 |
| Ethnic origin | Caucasian | 69 | 100.0 | 67 | 100.0 | 137 | 100.0 |
| | | | 0 | | 0 | | 0 |

20. Effectiveness results

Primary end-point: conversion to negative of culture evaluated at 12 weeks

ITT 12w population

At week 12, conversion to negative of cultures was observed in 54 patients (78.3%) in the P-3051 group and in 44 (64.7%) in the amorolfine 5% group. The difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.136. The 95% CI of the difference between groups was -0.014 to 0.285, and lied entirely above the pre-specified limit of -9%, thus showing that P-3051 was not inferior to amorolfine 5%. The difference between groups was not statistically significant (P = 0.079).

PP 12w population

At week 12, conversion to negative of cultures was observed in 51 patients (79.7%) in the P-3051 group and in 43 (64.2%) in the amorolfine 5% group. The difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.155. The 95% CI of the difference between groups was 0.004 to 0.306, and lied entirely above the pre-specified limit of -9%, thus showing that P-3051 was not inferior to amorolfine 5%. In addition, the difference between groups was statistically significant (P = 0.049), in favour of the P-3051 group.

Main Secondary endpoints

Conversion to negative of culture evaluated at the other time-points

ITT 12w population

The conversion to negative of cultures at week 4 was observed in 12 patients (17.4%) in the P-3051 group and in 7 (10.3%) in the amorolfine 5% group (N.S., P = 0.229).

At week 8, conversion to negative of cultures was observed in 25 patients (36.2%) in the P-3051 group and in 9 (13.2%) in the amorolfine 5% group. The difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.230 and the 95% CI of the difference between groups was 0.091 to 0.369, thus showing that the difference between groups was statistically significant (P = 0.002), in favour of the P-3051 group.

ITT 48w population

At week 24, conversion to negative of cultures was observed in all 59 patients (98.3%) in the P-3051 group and in 52 (86.7%) in the amorolfine 5% group.

At week 48, conversion to negative of cultures was observed in all 60 patients (100.0%) in the P-3051 group and in 49 (81.7%) in the amorolfine 5% group.

The comparison between groups at week 48 showed that the difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.183. The 95% CI of the difference was 0.085 to 0.281, thus showing that the difference between groups was statistically significant (P = 0.001), in favour of the P-3051 group. Statistically significant differences between groups, in favour of the P-3051 group, were also observed at week 8 (P < 0.001) and at week 24 (P = 0.015).

PP population

The results in the PP 12w and in the PP 48w population were consistent with those observed in the respective ITT populations.

Conversion to negative of microscopy (KOH)

ITT 12w population

At week 8, conversion to negative of microscopy (KOH) was observed in 18 patients (26.1%) in the P-3051 group and in 2 (2.9%) in the amorolfine 5% group. The difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.231. The 95% CI of the difference between groups was 0.120 to 0.343, thus showing that the difference between groups was statistically significant (P = 0.0001), in favour of the P-3051 group.

At week 12, conversion to negative of microscopy (KOH) was observed in 44 patients (63.8%) in the P-3051 group and in 37 (54.4%) in the amorolfine 5% group (N.S., P = 0.265).

ITT 48w population

At week 48, conversion to negative of microscopy (KOH) was observed in all 60 patients (100.0%) in the P-3051 group and in 53 (88.3%) in the amorolfine 5% group. The proportion of patients with conversion to negative of microscopy (KOH) was also higher in the P-3051 group than in the amorolfine 5% group at week 8, 12 and 24 (98.3% of P-3051 vs 86.7% of amorolfine 5%).

The comparison between groups at week 48 showed that the difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.117. The 95% CI of the difference between groups was 0.035 to 0.198, thus showing that the difference between groups was statistically significant (P = 0.006), in favour of the P-3051 group. Statistically significant differences between groups, in favour of the P-3051 group, were also observed at week 8 (P < 0.0001) and week 24 (P = 0.015).

PP population

The results in the PP 12w and in the PP 48w population were consistent with those observed in the respective ITT populations.

Mycological cure

ITT 12w population

At week 8, mycological cure was observed in 18 patients (26.1%) in the P-3051 group and in 1 (1.5%) in the amorolfine 5% group. The difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.246. The 95% CI of the difference between groups was 0.139 to 0.354, thus showing that the difference between groups was statistically significant (P < 0.0001), in favour of the P-3051 group.

At week 12, mycological cure was observed in 45 patients (65.2%) in the P-3051 group and in 36 (52.9%) in the amorolfine 5% group (N.S., P = 0.144).

ITT 48w population

At week 48, mycological cure was observed in all 60 patients (100.0%) in the P-3051 group and in 49 (81.7%) in the amorolfine 5% group. The proportion of patients who achieved mycological cure was also higher in the P-3051 group than in the amorolfine 5% group at week 8, 12 and 24 (96.7% of P-3051 vs. 86.7 of amorolfine 5%).

The comparison between groups at week 48 showed that the difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.183. The 95% CI of the difference between groups was 0.085 to 0.281, thus showing that the difference between groups was statistically significant ($P < 0.001$), in favour of the P-3051 group. Statistically significant differences between groups, in favour of the P-3051 group, were also observed at week 8 ($P < 0.0001$) and week 24 ($P = 0.047$).

PP population

The results in the PP 12w and in the PP 48w population were consistent with those observed in the respective ITT populations. However, the difference between groups at week 24 was not statistically significant.

Responders rate

ITT 48w population

Response at week 24 was observed in 24 patients (40.0%) in the P-3051 group and in 16 (26.7%) in the amorolfine 5% group (N.S., $P = 0.121$).

Response at week 48 was observed in 35 patients (58.3%) in the P-3051 group and in 16 (26.7%) in the amorolfine 5% group. The difference between the P-3051 group and the amorolfine 5% group was equal to 0.317. The 95% CI of the difference between groups was 0.149 to 0.484, thus showing that the difference between groups was statistically significant ($P < 0.001$), in favour of the P-3051 group.

PP population

The results in the PP 12w and in the PP 48w population were consistent with those observed in the respective ITT populations. Furthermore, a statistically significant difference between groups, in favour of the P-3051 group, was also observed at week 24 ($P = 0.038$).

Complete cure

ITT 48w population

Complete cure at week 24 was observed in 9 patients (15.0%) in the P-3051 group and in 6 (10.0%) in the amorolfine 5% group. (difference not significant, $P = 0.408$).

Complete cure at week 48 was observed in 21 patients (35.0%) in the P-3051 group and in 7 (11.7%) in the amorolfine 5% group. ($P < 0.001$, in favour of the P-3051 group).

PP population

The results were consistent with those observed in the ITT population.

| | |
|---|--|
| | <p>The results of the other secondary efficacy variables of the study (nail infected area, growth rate of healthy nail area and brittle nail evaluation of the target big toenail) showed improvements from baseline to week 12 (ITT 12w population) and to week 48 (ITT 48w population) in both treatment groups, and the comparisons between groups did not show statistically significant differences.</p> |
| <p>21. Safety results</p> | <p>Adverse events</p> <p>The rate of patients with treatment emergent adverse events (TEAEs) was similar in the P-3051 group (22 patients, 31.9%; 24 TEAEs in total) and in the amorolfine 5% group (23 patients, 33.8%; 34 TEAEs in total). None of patients in both groups had SAEs, AEs of severe intensity, treatment-related AEs or AEs that led to definite discontinuation of the IMP. One patient (1.4%) in the P-3051 group temporarily discontinued the IMP due to AEs. Headache, with 8 patients (34.8%) in the P-3051 group and 11 (36.7%) in the amorolfine 5% group, was the most commonly reported AE by PT.</p> <p>Local tolerability (skin irritation)</p> <p>The number of cases with irritation was 10 (2.06% of total number of nails with evidence of onychomycosis) in the P-3051 group and 6 (1.12%) in the amorolfine 5% group. The comparison between groups did not show statistically significant differences (P = 0.230).</p> |
| <p>22. Conclusion (final conclusions)</p> | <p>The primary objective of this phase III study was to evaluate the kinetic of culture conversion to negative of ciclopirox 8% HPCH administered daily compared to amorolfine administered twice a week in patients affected by mild-to moderate, distal sub-ungual onychomycosis of the toenails in a 3-month treatment course.</p> <p>A total of 137 patients were randomized to the assigned treatment: 69 (50.4% of randomised) were randomised to receive P-3051 and 68 (49.6%) were randomised to receive amorolfine 5% (ITT 12w population). Overall, 120 patients (60 in each group) that continued and completed treatment for 48 weeks were randomised in the Latvian centre (ITT 48w population). Seventeen patients who did not continue the study after 12 weeks (completed by all patients) were randomised in the Russian centres.</p> <p>All randomised patients in both groups regularly completed the study, and were included in both the safety and the ITT 12w population.</p> <p>The two treatment groups were well matched for the demographic and other baseline parameters.</p> <p>The study met its primary objective: in fact, in the ITT 12w population, the rate of patients having a conversion to negative of the fungal culture was not inferior with test compared to reference treatment. Furthermore, a statistical superiority (P = 0.002) was present already after 8 weeks of treatment with P-3051 (Ciclopoli® nail lacquer) in comparison to amorolfine 5% (Loceryl® nail lacquer), showing an earlier and faster effect on nail pathogen eradication. Consistent with the ITT 12w population, in the PP 12w population the conversion to negative of cultures was statistically significant after 12 weeks (P = 0.049) in P-3051 treatment group in comparison to amorolfine 5% arm.</p> |

The statistical superiority was already shown after 8 weeks of treatment (P = 0.002) consistent with the ITT 12w population.

The results at week 48 in the ITT 48w population, showed that conversion to negative of cultures was sustained up to the end of the 48-week treatment period. All 60 patients (100.0%) in the P-3051 group and 49 patients (81.7%) in the amorolfine 5% group achieved conversion to negative of cultures. The difference between groups was statistically significant (P = 0.001). Statistically significant differences between groups, in favour of the P-3051 group, were also observed in the ITT 48w population at week 8 (P < 0.001) and at week 24 (P = 0.015). The same results were observed in the PP 48w population.

The secondary objectives of the study confirmed the better performance of P-3051 compared to amorolfine nail lacquer in the treatment of onychomycosis.

Complete cure rate in the ITT 48w population, was statistically significant between P-3051 and amorolfine 5% (P < 0.001). It was achieved in 21 patients (35.0%) in the P-3051 group and in 7 (11.7%) in the amorolfine 5% group.

A statistical superiority between P-3051 and amorolfine 5% was achieved also in the responder rate (P < 0.001) after week 48 of treatment. The results showed that response was observed in 35 patients (58.3%) in the P-3051 group and in 16 (26.7%) in the amorolfine 5% group. No statistical superiority was observed after 24 weeks of treatment.

More patients in the P-3051 group than in the amorolfine 5% group had conversion to negative of microscopy (KOH) at all time points. At week 12 (ITT 12w population), conversion to negative of microscopy (KOH) in the ITT 12w population was observed in 44 patients (63.8%) in the P-3051 group and in 37 (54.4%) in the amorolfine 5% group. Statistically significant differences between groups (ITT 12w and PP 12w population) were observed at week 8, in favour of the P-3051 group (P = 0.0001), as well as statistically significant differences between groups, in favour of the P-3051 group, were also observed at week 24 (P = 0.015) and at week 48 (P = 0.006) in the ITT 48w population, in favour of the P-3051 group. The same results were observed in the PP 48w population.

Consistent with the results of conversion to negative of microscopy (KOH) more patients in the P-3051 group than in the amorolfine 5% group had mycological cure. At week 12, mycological cure in the ITT 12w population was observed in 45 patients (65.2%) in the P-3051 group and in 36 (52.9%) in the amorolfine 5% group. A statistically significant differences between groups (ITT 12w and PP 12w population) were observed at week 8, in favour of the P-3051 group (P < 0.0001). Similarly, the results in the ITT 48w population confirmed the statistically significant difference, in favour of the P-3051 group, at both week 24 (P = 0.047) and at week 48 (P < 0.001), which was also reported in the PP 48w population.

The results in the PP 12w and in the PP 48w population were consistent with those observed in the respective ITT populations.

Both treatments were safe and well tolerated, as a result of the negligible exposure following the topical application.

The rate of patients with TEAEs was similar in the P-3051 group (22 patients, 31.9%; 24 TEAEs in total) and in the amorolfine 5% group (23 patients, 33.8%; 34 TEAEs in total). None of patients in both groups had SAEs, AEs of severe intensity, treatment-related AEs or AEs that led to definite discontinuation of the IMP. One patient (1.5%) in the P-3051 group temporary discontinued the IMP due to AEs. Furthermore, very few cases in both groups showed evidence of skin surrounding treated nails irritation at the post-baseline visits.

In conclusion, the results of the study showed that:

- The study has attained its primary objective, i.e. P-3051 after 12 weeks of treatment was not inferior to amorolfine 5% in the culture conversion to negative. Moreover, a statistical significant superiority was observed after 8 weeks of treatment in favour of P-3051, showing a faster effect on nail pathogen eradication. The results of secondary endpoints in the ITT 48w population showed a statistical superiority both in the responder rate (P<0.001) and in complete cure rate (P<0.001)
- In ITT 48w population, the mycological cure was achieved in all patients treated with P-3051 (100.0%) compared to amorolfine 5% (P<0.001). The superiority of P-3051 versus amorolfine 5% was already evident after 24 weeks of treatment (P<0.05).
- Improvements in both groups were observed for nail infected area, growth rate of healthy nail area and brittle nail evaluation of the target big toenail, without statistically significant differences between groups.
- Both P-3051 and amorolfine 5% were well tolerated in terms of local and general adverse reactions.

The study shows that already after a 12-week daily treatment with P-3051, the rate of patients having a conversion to negative of the fungal culture is statistically superior in comparison to the twice weekly amorolfine 5% group, in mild-to-moderate onychomycotic patients. Moreover, P-3051 superiority, already evident after an 8-week treatment, showed an earlier and faster effect on nail pathogen eradication, in comparison to amorolfine. Furthermore, the effects of treatment with P-3051 were sustained and even increased after 48 weeks of treatment. P-3051 had already showed superiority versus the old formulation of ciclopirox 8% nail lacquer: considering the statistical superiority of P-3051 achieved also in this comparative study vs amorolfine 5%, P-3051 can be considered the most effective topical product available in Europe for the treatment of mild to moderate onychomycosis.

Applicant (marketing authorization holder)

Polichem S.A.



Jordi Galván
Global Medical Lead

Додаток 30
до Порядку проведення експертизи
реєстраційних матеріалів на лікарські
засоби, що подаються на державну
реєстрацію (перереєстрацію), а також
експертизи матеріалів про внесення змін
до реєстраційних матеріалів протягом дії
реєстраційного посвідчення (пункт 4
розділу IV)

ЗВІТ
про клінічне випробування "PM1125"

| | | | |
|--|--|-----------------------------|-----------------------|
| 1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення) | ОНІТЕК®, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г Синоніми, використані під час розробки лікарського засобу: P-3051, Циклополі | | |
| 2. Заявник | Полікем С.А., Люксембург | | |
| 3. Виробник | АЛЬФАСІГМА С.П.А., Італія; АЛМІРАЛІ ХЕРМАЛІ ГмБХ, Німеччина | | |
| 4. Проведені дослідження: | <input checked="" type="checkbox"/> так | <input type="checkbox"/> ні | Якщо ні, обґрунтувати |
| 1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація | Лікарський засіб за повним досьє (автономне досьє), відома діюча речовина | | |
| 5. Повна назва клінічного випробування, кодовий номер клінічного випробування | Назва: <i>Рандомізоване відкрите контрольоване дослідження ефективності лікарських засобів Циклополі® (циклопірокс, 8 % лак для нігтів) та Лоцерил® (аморолфін, 5 % лак для нігтів) щодо конверсії результатів посіву на негативні у пацієнтів з оніхомікозом</i> Код дослідження: PM1125 Номер у базі даних EudraCT: 2011-003087-70 | | |
| 6. Фаза клінічного випробування | Фаза III | | |
| 7. Період проведення клінічного випробування | з 21 лютого 2012 року по 27 травня 2014 року | | |
| 8. Країни, де проводилося клінічне випробування | Латвія, Росія | | |

Теремар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.



| | |
|---|---|
| 9. Кількість досліджуваних | запланована: 120 фактично: 137 |
| 10. Мета та вторинні цілі клінічного випробування | <p>Первинна мета дослідження – оцінити ефективність розчинного у воді лаку для нігтів Циклополі® (циклопірокс 8 %, код P-3051) та нерозчинного у воді лаку для нігтів Лоцерил® (аморолфін 5 %) у конверсії результатів посіву на негативні, оціненої на тижні 12.</p> <p>Вторинні цілі:</p> <p>Вторинні цілі дослідження – оцінити вплив досліджуваних лікарських засобів (ДЛЗ) за такими параметрами:</p> <p><i>12-тижневє дослідження:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Конверсія результатів посіву на негативні, оцінена на тижнях 4 та 8; • Конверсія результатів мікроскопічних досліджень на негативні (КОН), оцінена на тижнях 4, 8 та 12; • Мікологічне вилікування (визначається як негативний результат мікроскопічного дослідження КОН та посіву), оцінене на тижнях 4, 8 та 12; • Визначення зараженої ділянки нігтя на тижнях 4, 8 та 12 порівняно з вихідним рівнем; • Визначення швидкості росту здорового нігтя на тижнях 4, 8 та 12; • Частка пацієнтів, які відповіли на лікування на тижні 12, визначена як пацієнти з конверсією результатів посіву та мікроскопічного дослідження КОН на негативні та зі зменшенням ураженої площі нігтя до < 10 % від загальної; • Рівень повного вилікування на тижні 12, що визначається як повна заміна ураженого нігтя новим здоровим нігтем, що супроводжується конверсією результатів культури та мікроскопічного дослідження КОН на негативні); <p><i>48-тижневє дослідження:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Конверсія результатів посіву на негативні, оцінена на тижнях 4, 8, 24 та 48; • Конверсія результатів мікроскопічних досліджень на негативні (КОН), оцінена на тижнях 4, 8, 12, 24 та 48; • Мікологічне вилікування (визначається як негативний результат мікроскопічного дослідження КОН та посіву), оцінене на тижнях 4, 8, 12, 24 та 48; • Визначення зараженої ділянки нігтя на тижнях 4, 8, 12, 24 та 48 порівняно з вихідним рівнем; • Визначення швидкості росту здорового нігтя на тижнях 4, 8, 12, 24 та 48; • Частка пацієнтів, які відповіли на лікування на тижнях 12, 24 та 48, визначена як пацієнти з конверсією результатів посіву та мікроскопічного дослідження КОН на негативні та зі зменшенням ураженої площі нігтя до ≤ 10 % від загальної; • Рівень повного вилікування на тижнях 12, 24 та 48, що визначається як повна заміна ураженого нігтя новим здоровим нігтем, що супроводжується конверсією результатів культури та мікроскопічного дослідження КОН на негативні); • Загальна безпека та місцева переносимість. |
| 11. Дизайн клінічного випробування | <p>Це було рандомізоване відкрите, контрольоване дослідження фази III для оцінки конверсії результатів посіву на негативні після 12 тижнів лікування лікарськими засобами P-3051, лак для нігтів, та аморолфін, 5 % лак для нігтів.</p> <p>Дослідження складалося з фази скринінгу тривалістю 4 тижні, фази лікування тривалістю 12 тижнів (12-тижневє дослідження) та фази активного подальшого спостереження тривалістю 36 тижнів (48-тижневє дослідження). Було</p> |

Леремар

ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Гор А.В.



| | |
|--|---|
| | <p>передбачено п'ять візитів у всіх дослідницьких лабораторіях (Росія та Латвія): Візит 1 був скринінговим візитом (тиждень -4 або -5), після чого слідував рандомізаційний візит 2 (день 0), візит 3 (тиждень 4), візит 4 (тиждень 8) та візитом 5 (тиждень 12). Тривалість усього дослідження на одного пацієнта становила 16-17 тижнів. Два додаткових візити в 48-тижневому дослідженні (активна фаза подальшого спостереження) були передбачені в латвійських центрах на тижнях 24 (візит 6) та 48 (візит 7). Тривалість усього дослідження для пацієнтів, які взяли участь у 48-тижневому дослідженні, становила 52-53 тижні.</p> |
| <p>12. Основні критерії включення</p> | <p>Письмова інформована згода перед початком будь-яких процедур, пов'язаних з дослідженням; пацієнти у віці від 18 до 75 років; чоловіки або жінки; пацієнтів зі встановленим клінічним діагнозом дистального піднігтьового оніхомікозу, спричиненого грибками нігтів, що вражають принаймні один ніготь великого пальця ноги з показаннями для місцевого лікування; відсоток зараженої площі нігтя від 25 % до 75 %; пацієнти з позитивним результатом КОН та посівом на грибкові збудники нігтів (дерматофіти, білі дріжджі та/або <i>Scopulariopsis</i> spp. та/або <i>Fusarium</i> spp.) при скринінгу зразка цільового нігтя.</p> |
| <p>13. Досліджуваний лікарський засіб, спосіб застосування, сила дії</p> | <p>Р-3051 (Онітек, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г (розчинний у воді)) наносити один раз на день на усі уражені нігті на ногах та (за необхідності) також на всі уражені нігті рук.</p> |
| <p>14. Препарат порівняння, доза, спосіб застосування, сила дії</p> | <p>Аморолфін 5 % (Лоцерил®, лак для нігтів) наносити один раз на день на усі уражені нігті на ногах та (за необхідності) також на всі уражені нігті рук.</p> |
| <p>15. Супутня терапія</p> | <p>Пацієнтам були протипоказані будь-які інші протигрибкові засоби, з місцевою або системною дією на уражений ніготь, протягом усього періоду дослідження. Системні глюкокортикостероїди, антиметаболіти, імуностимулюючі або імунодепресивні засоби для місцевого (ніготь) або системного застосування протипоказані протягом усього дослідження. Проте місцеве лікування мікозів, що розвиваються на інших ділянках шкіри, було можливим лише один раз під час короткострокового дослідження (4 тижні). Застосування інших лікарських засобів мало бути обмежено лише необхідними, за умови, що вони не суперечать критеріям включення/виключення дослідження. Дозування та схеми лікування будь-яким засобом повинні залишатися незмінними протягом усього періоду дослідження. Застосування усіх лікарських засобів необхідно реєструвати в ePRK; міжнародну непатентовану назву,</p> |
| <p>16. Критерії оцінки ефективності</p> | <p>Первинна кінцева точка ефективності: Конверсія результатів посіву на негативні, оцінена на тижні 12. Вторинні кінцеві точки ефективності: <i>Вторинні кінцеві точки на тижні 12</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Конверсія результатів посіву на негативні, оцінена на тижнях 4 та 8; • Конверсія результатів мікроскопічних досліджень на негативні (КОН), оцінена на тижнях 4, 8 та 12; |

Територія
 ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ
 Тор. М.В.



| | |
|-----------------------------|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> • Визначення зараженої ділянки нігтя на тижнях 4, 8 та 12 порівняно з вихідним рівнем; • Визначення швидкості росту здорового нігтя на тижнях 4, 8 та 12; • Частка пацієнтів, які відповіли на лікування на тижні 12, визначена як пацієнти з конверсією результатів посіву та мікроскопічного дослідження КОН на негативні та зі зменшенням ураженої площі нігтя до < 10 % від загальної; • Рівень повного вилікування на тижні 12, що визначається як повна заміна ураженого нігтя новим здоровим нігтем, що супроводжується конверсією результатів культури та мікроскопічного дослідження КОН на негативні). <p><i>Вторинні кінцеві точки на тижні 48</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Конверсія результатів посіву на негативні, оцінена на тижнях 4, 8, 24 та 48; • Конверсія результатів мікроскопічних досліджень на негативні (КОН), оцінена на тижнях 4, 8, 12, 24 та 48; • Визначення зараженої ділянки нігтя на тижнях 4, 8, 12, 24 та 48 порівняно з вихідним рівнем; • Визначення швидкості росту здорового нігтя на тижнях 4, 8, 12, 24 та 48; • Частка пацієнтів, які відповіли на лікування на тижнях 12, 24 та 48, визначена як пацієнти з конверсією результатів посіву та мікроскопічного дослідження КОН на негативні та зі зменшенням ураженої площі нігтя до < 10 % від загальної; • Рівень повного вилікування на тижнях 12, 24 та 48, що визначається як повна заміна ураженого нігтя новим здоровим нігтем, що супроводжується конверсією результатів культури та мікроскопічного дослідження КОН на негативні). |
| 17. Критерії оцінки безпеки | <ul style="list-style-type: none"> • Небажані явища (НЯ); • Місцева переносимість (подразнення шкіри); • Оцінка пацієнтом терапії (погано, добре, помірно, дуже добре; не оцінювалося). |
| 18. Статистичні методи | <p><u>Розмір вибірки</u></p> <p>Нульовою гіпотезою для перевірки була $H_0: \pi_C - \pi_A \leq -9,0$ (тобто рівень успіху при застосуванні циклопіроксу не був еквівалентним та був нижчим за такий при застосуванні аморолфіну) порівняно з альтернативною гіпотезою, що $H_1: \pi_C - \pi_A > -9,0$ (рівень успіху був не гіршим), де π_C та π_A є рівнями успіху у групах циклопіроксу та аморолфіну відповідно.</p> <p>Передбачалося, що рівень успіху аморолфіну та циклопіроксу становитиме 66 % та 80 % відповідно (8). Таким чином, якщо припустити, що фактична різниця на користь нового лікування становитиме -14 %, 60 пацієнтів на групу мали бути на 80 % впевнені (потужність = 80 %), що межа одностороннього 97,5 % довірчого інтервалу (або аналогічно 95 % двостороннього довірчого інтервалу) виключає різницю на користь стандартного лікування більше ніж на -9 %.</p> |

Згідно з Оригіналом

Тор Н.В.



Розрахунок за формулою:

$$n = f(\alpha, \beta) \times [x(100 - \pi_s) + \pi_e \times (100 - \pi_e)] / (\pi_s - \pi_e - d)^2$$

де π_s та π_e є фактичним відсотком «успіху» у стандартній та новій (експериментальній) групі лікування відповідно,

$$f(\alpha, \beta) = [\Phi^{-1}(\alpha) + \Phi^{-1}(\beta)]^2$$

Φ^{-1} – інтегральна функція розподілу стандартизованого нормального відхилення.

Аналізована вибірка

У статистичному аналізі розглядалися такі популяції:

- Популяція безпеки: усі рандомізовані пацієнти, які отримали принаймні одну дозу ДЛЗ;
- Популяція пацієнтів, включених до дослідження на тижні 12 (ППВД т12): усі рандомізовані пацієнти, які отримали принаймні одну дозу ДЛЗ, з оцінкою вихідного рівня та з принаймні одним вимірюванням ефективності від вихідного рівня, тобто будь-яким вимірюванням змінної первинної ефективності (усі центри);
- Популяція пацієнтів, включених до дослідження на тижні 48 (ППВД т48): усі рандомізовані пацієнти, які отримали принаймні одну дозу ДЛЗ, з оцінкою вихідного рівня та з принаймні одним вимірюванням ефективності від вихідного рівня, тобто будь-яким вимірюванням змінної первинної ефективності (усі центри);
- Протокольна популяція на тижні 12 (ПП т12): усі пацієнти, які завершили дослідження без серйозних відхилень від протоколу, оцінені перед закриттям бази даних, які мали дійсні дані на початку та наприкінці лікування (усі центри);
- Протокольна популяція на тижні 48 (ПП т48): усі пацієнти, які завершили дослідження без серйозних відхилень від протоколу, оцінені перед закриттям бази даних, які мали дійсні дані на початку та наприкінці лікування (латвійський центр).

Результати були представлені у формі описової статистики, тобто кількості спостережень, середнього значення, стандартного відхилення, медіани, мінімального та максимального значення для безперервних змінних, а також розподілу частот (кількість та відсотки) для категоріальних змінних.

Як для Р-3051, так і для аморолфіну 5 %, конверсія результатів посіву на негативні після 12 тижнів лікування становила 14 %. Рівень не меншої ефективності встановили на рівні 9 %. Статистичну значущість оцінювали шляхом перевірки різниці конверсії результатів посіву на негативні з урахуванням межі не меншої ефективності, використовуючи односторонній довірчий інтервал 2,5 % або двосторонній 95 % довірчий інтервал (ДІ).

Якщо 95 % ДІ для ефекту лікування не тільки повністю перевищував -9,0 %, але й був вище нуля, тоді були докази більшої ефективності Р-3051 порівняно з еталонним з точки зору статистичної значущості на рівні 5 % ($P < 0,05$). У цьому випадку було розраховано Р-значення, пов'язане з випробуванням більшої ефективності.

Z-тест використовували для оцінки різниці у пропорціях конверсії посіву, незалежно від того, чи оцінюється посів або КОН, між двома групами лікування на тижнях 4, 8 та 12, а для 48-тижневого дослідження на тижнях 24 та 48.

Сертифікат
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ
Тор. М.В.



Різницю між лікуванням зараженої ділянки нігтя на тижнях 4, 8 та 12 та, для 48-тижневого дослідження, на тижнях 24 та 48, щодо вихідного рівня оцінювали за допомогою коваріаційного аналізу (ANCOVA). Z-тест використовували для оцінки різниці між двома методами лікування щодо пропорції пацієнтів, які відповіли на лікування, та пропорції випадків повноговилікування на тижні 12 та, для 48-тижневого дослідження, на тижнях 24 та 48. Різницю між лікуванням чутливості нігтів, оціненої на тижнях 4, 8 та 12 та, для 48-тижневого дослідження, на тижнях 24 та 48, щодо вихідного рівня оцінювали за допомогою непараметричного ANCOVA.

Ті самі моделі застосовували до ПП в якості допоміжного аналізу ефективності для обох вищезгаданих параметрів.

Усі НЯ були закодовані відповідно до словника MedDRA (версія 16), а коефіцієнти частоти захворюваності були зведені у таблицю за бажаним терміном (БТ) та класом систем органів (КСО) для кожної групи лікування. Тяжкість та зв'язок із досліджуваним засобом оцінювали для кожного явища. Z-тест використовували для оцінки різниці у рівні подразнення шкіри за допомогою випробування на подразнення шкіри, який проводили протягом усього дослідження.

Тест Хі-квадрат використовували для оцінки пацієнтом терапії.

19. Демографічні показники досліджуваної популяції (стать, вік, раса, тощо)

Загалом 206 пацієнтів пройшли скринінг для дослідження, а 137 були рандомізовані у групи лікування: 69 пацієнтів (50,4 % рандомізованих) були рандомізовані у групу Р-3051, а 68 (49,6 %) – у групу аморолфіну 5 %. Загалом 120 пацієнтів (60 у кожній групі) були рандомізовані в латвійському центрі та 17 пацієнтів були рандомізовані в російських центрах. Усі пацієнти, рандомізовані в російських центрах, завершили лише 12-тижневий період лікування та не продовжували дослідження після тижня 12. Усі рандомізовані пацієнти в латвійському центрі завершили загальний 48-тижневий період лікування.

Таблиця 1: демографічні дані пацієнтів (ППВД т12).

| | | Р-3051 (N = 69) | | Аморолфін 5 % (N = 68) | | Всього (N = 137) | |
|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------|------------------------------|--------|---------------------|--------|
| Вік, роки | Середнє значення | 51,64 | | 52,91 | | 52,27 | |
| | СВ | 11,30 | | 13,07 | | 12,18 | |
| | Медіана | 55,0 | | 56,0 | | 56,0 | |
| | Мін. | 24 | | 20 | | 20 | |
| | Макс. | 76 | | 72 | | 76 | |
| Стать, N (%) | Чоловіки | 13 | 18,8 | 14 | 20,6 | 27 | 19,7 |
| | Жінки | 56 | 81,2 | 54 | 79,4 | 110 | 80,3 |
| Етнічне походження | Представники європеоїдної раси | 69 | 100,00 | 67 | 100,00 | 137 | 100,00 |

Лерехмар
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For H.B.



20.
Результати
ефективності

Первинна кінцева точка: конверсія результатів посіву на негативні, оцінена на тижні 12

ППВД m12

На тижні 12 конверсія результатів посіву на негативні спостерігалася у 54 пацієнтів (78,3 %) у групі P-3051 та у 44 (64,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Різниця між групою P-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,136. 95 % ДІ різниці між групами становив від -0,014 до 0,285 та повністю перевищував попередньо встановлену межу в -9 %, таким чином демонструючи, що P-3051 не менш ефективний, ніж аморолфін 5 %. Різниця між групами не була статистично значущою (P = 0,079).

ПП m12

На тижні 12 конверсія результатів посіву на негативні спостерігалася у 51 пацієнтів (79,7 %) у групі P-3051 та у 43 (64,2 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Різниця між групою P-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,155. 95 % ДІ різниці між групами становив від 0,004 до 0,306 та повністю перевищував попередньо встановлену межу в -9 %, таким чином демонструючи, що P-3051 не менш ефективний, ніж аморолфін 5 %. Крім того, різниця між групами була статистично значущою (P = 0,049) на користь групи P-3051.

Основні вторинні кінцеві точки

Конверсія результатів посіву на негативні в інші моменти часу

ППВД m12

Конверсія результатів посіву на негативні на тижні 4 спостерігалася у 12 пацієнтів (17,4 %) у групі P-3051 та у 7 (10,3 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 % (відсутність суттєвої різниці, P = 0,229).

На тижні 8 конверсія результатів посіву на негативні спостерігалася у 25 пацієнтів (36,2 %) у групі P-3051 та у 9 (13,2 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Різниця між групою P-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,230, а 95 % ДІ різниці між групами становив від 0,091 до 0,369, таким чином демонструючи, що різниця між групами була статистично значущою (P = 0,002), на користь групи P-3051.

ППВД m48

На тижні 24 конверсія результатів посіву на негативні спостерігалася в усіх 59 пацієнтів (98,3 %) у групі P-3051 та у 52 (86,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %.

На тижні 48 конверсія результатів посіву на негативні спостерігалася в усіх 60 пацієнтів (100,0 %) у групі P-3051 та у 49 (81,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %.

Порівняння між групами на тижні 48 показало, що різниця між групою P-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,183. 95 % ДІ різниці становив від 0,085 до 0,281, таким чином демонструючи, що різниця між групами була статистично значущою (P = 0,001) на користь групи P-3051. Статистично значущі різниці між групами на користь групи P-3051 також спостерігалися на тижнях 8 (P < 0,001) та 24 (P = 0,015).

Згідно з оригіналом
Тор А.В.



ПП

Результати у ПП т12 та ПП т48 узгоджувалися з тими, які спостерігалися у відповідних ППВД.

Конверсія результатів мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні.

ППВД т12

На тижні 8 конверсія результатів мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні спостерігалася у 18 пацієнтів (26,1 %) у групі Р-3051 та у 2 (2,9 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Різниця між групою Р-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,231. 95 % ДІ різниці між групами становив від 0,120 до 0,343, таким чином демонструючи, що різниця між групами була статистично значущою (P = 0,0001) на користь групи Р-3051.

На тижні 12 конверсія результатів мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні спостерігалася у 44 пацієнтів (63,8 %) у групі Р-3051 та у 37 (54,4 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 % (відсутність суттєвої різниці, P = 0,265).

ППВД т48

На тижні 48 конверсія результатів мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні спостерігалася в усіх 60 пацієнтів (100,0 %) у групі Р-3051 та у 53 (88,3 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Частка пацієнтів із конверсією результатів мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні також була вищою в групі Р-3051, ніж у групі аморолфіну 5 % на тижнях 8, 12 та 24 (98,3 % для Р-3051 та 86,7 % для аморолфіну 5 %).

Порівняння між групами на тижні 48 показало, що різниця між групою Р-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,117. 95 % ДІ різниці між групами становив від 0,035 до 0,198, таким чином демонструючи, що різниця між групами була статистично значущою (P = 0,006) на користь групи Р-3051. Статистично значущі різниці між групами на користь групи Р-3051 також спостерігалися на тижнях 8 (P < 0,0001) та 24 (P = 0,015).

ПП

Результати у ПП т12 та ПП т48 узгоджувалися з тими, які спостерігалися у відповідних ППВД.

Мікологічне вилікування

ППВД т12

На тижні 8 мікологічне вилікування спостерігалася у 18 пацієнтів (26,1 %) у групі Р-3051 та у 1 (1,5 %) пацієнта у групі аморолфіну 5 %. Різниця між групою Р-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,246. 95 % ДІ різниці між групами становив від 0,139 до 0,354, таким чином демонструючи, що різниця між групами була статистично значущою (P < 0,0001) на користь групи Р-3051.

На тижні 12 мікологічне вилікування спостерігалася у 45 пацієнтів (65,2 %) у групі Р-3051 та у 36 (52,9 %) пацієнта у групі аморолфіну 5 % (відсутність суттєвої різниці, P = 0,144).

Згідно з оригіналом

Тор. Н.В.



ППВД т48

На тижні 48 мікологічне вилікування спостерігалось в усіх 60 пацієнтів (100,0 %) у групі Р-3051 та у 49 (81,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Частка пацієнтів, які досягли мікологічного вилікування, також була вищою в групі Р-3051, ніж у групі аморолфіну 5 % на тижнях 8, 12 та 24 (96,7 % для Р-3051 та 86,7 % для аморолфіну 5 %).

Порівняння між групами на тижні 48 показало, що різниця між групою Р-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,183. 95 % ДІ різниці між групами становив від 0,085 до 0,281, таким чином демонструючи, що різниця між групами була статистично значущою ($P < 0,001$) на користь групи Р-3051. Статистично значущі різниці між групами на користь групи Р-3051 також спостерігалися на тижнях 8 ($P < 0,0001$) та 24 ($P = 0,047$).

ПП

Результати у ПП т12 та ПП т48 узгоджувалися з тими, які спостерігалися у відповідних ППВД. Однак різниця між групами на тижні 24 не була статистично значущою.

Частка пацієнтів, які відповіли на лікуванняППВД т48

Відповідь на тижні 24 спостерігалася у 24 пацієнтів (40,0 %) у групі Р-3051 та у 16 (26,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 % (відсутність суттєвої різниці, $P = 0,121$).

Відповідь на тижні 48 спостерігалася у 35 пацієнтів (58,3 %) у групі Р-3051 та у 16 (26,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Різниця між групою Р-3051 та групою аморолфіну 5 % дорівнювала 0,317. 95 % ДІ різниці між групами становив від 0,149 до 0,484, таким чином демонструючи, що різниця між групами була статистично значущою ($P < 0,001$) на користь групи Р-3051.

ПП

Результати у ПП т12 та ПП т48 узгоджувалися з тими, які спостерігалися у відповідних ППВД. Крім того, статистично значуща різниця між групами на користь групи Р-3051 також спостерігалася на тижні 24 ($P = 0,038$).

Повне вилікуванняППВД т48

Повне вилікування на тижні 24 спостерігалось у 9 пацієнтів (15,0 %) у групі Р-3051 та у 6 (10,0 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. (різниця незначна, $P = 0,408$).

Повне вилікування на тижні 48 спостерігалось у 21 пацієнтів (35,0 %) у групі Р-3051 та у 7 (11,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. ($P < 0,001$, на користь групи Р-3051).

ПП

Результати відповідали результатам, які спостерігалися в ППВД.

Результати інших вторинних змінних ефективності дослідження (заражена ділянка нігтя, швидкість росту здорової ділянки нігтя та оцінка цільового нігтя на великому пальці) показали покращення порівняно з вихідним рівнем до тижня 12 (ППВД т12) та до тижня 48 (ППВД т48) в обох групах лікування, а порівняння між групами не показало статистично значущих різниць.

Сергей
ЗГІАНО З ОРИГІНАЛОМ

Тол М.В.



| | |
|--------------------------------------|--|
| <p>21. Результати безпеки</p> | <p>Небажані явища</p> <p>Частота пацієнтів із небажаними явищами, що виникли під час лікування (НЯВЛ), була подібною в групі P-3051 (22 пацієнти, 31,9 %; загалом 24 НЯВЛ) та в групі аморолфіну 5 % (23 пацієнти, 33,8 %; загалом 34 НЯВЛ). У жодного пацієнта в обох групах не було СНЯ, НЯ тяжкого ступеня, НЯ, пов'язаних з лікуванням, або НЯ, які призвели до остаточної відміни ДЛЗ. Один пацієнт (1,4 %) у групі P-3051 тимчасово припинив застосування ДЛЗ через НЯ. Головний біль у 8 пацієнтів (34,8 %) у групі P-3051 та 11 (36,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 % був найбільш поширеним небажаним явищем згідно з БТ.</p> <p>Місцева переносимість (подрознення шкіри)</p> <p>Кількість випадків подразнення становила 10 (2,06 % від загальної кількості нігтів із ознаками оніхомікозу) у групі P-3051 та 6 (1,12 %) у групі аморолфіну 5 %. Порівняння між групами не виявило статистично значущих різниць (P = 0,230).</p> |
| <p>22. Висновок (заключення)</p> | <p>Головна мета цього дослідження фази III – оцінити кінетику конверсії результатів посіву на негативні при щоденному введенні циклопіроксу 8 % ПГХ порівняно з аморолфіном, який вводили двічі на тиждень у пацієнтів із легким або помірним дистальним піднігтьовим оніхомікозом нігтів на ногах під час 3-місячного курсу лікування.</p> <p>Загалом 137 пацієнтів були рандомізовані у такі групи: 69 (50,4 % рандомізованих) були рандомізовані у групу P-3051 та 68 (49,6 %) були рандомізовані у групу аморолфіну 5 % (ППВД t12). Загалом 120 пацієнтів (60 у кожній групі), які продовжували та завершили лікування протягом 48 тижнів, були рандомізовані в латвійському центрі (ППВД t48). Сімнадцять пацієнтів, які не продовжили дослідження через 12 тижнів (пройшли всі пацієнти), були рандомізовані в російських центрах.</p> <p>Усі рандомізовані пацієнти в обох групах пройшли дослідження та були включені як у популяцію безпеки, так і в ППВД t12.</p> <p>Дві групи лікування були підібрані за демографічними та іншими вихідними параметрами.</p> <p>Дослідження досягло своєї головної мети: фактично, у ППВД t12 частота пацієнтів, у яких виявилася негативна грибкова культура, не поступалася випробуванню порівняно з еталонним лікуванням. Крім того, статистична перевага (P = 0,002) спостерігалася вже після 8 тижнів лікування P-3051 (Циклополі® лак для нігтів) порівняно з аморолфіном 5 % (Лоцерил® лак для нігтів), демонструючи більш ранню та швидшу ерадикацію патогенів нігтів.</p> <p>Відповідно до ППВД t12, у ПП t12 конверсія результатів посіву на негативні була статистично значущою через 12 тижнів (P = 0,049) у групі P-3051 порівняно з групою аморолфіну 5 %. Статистична перевага спостерігалася вже після 8 тижнів лікування (P = 0,002), що відповідає ППВД t12.</p> <p>Результати на тижні 48 у ППВД t48 показали, що конверсія результатів посіву на негативні зберігалася до кінця 48-тижневого періоду лікування. Усі 60 пацієнтів (100,0 %) у групі P-3051 та 49 пацієнтів (81,7 %) у групі аморолфіну 5 % досягли негативного результату посіву. Різниця між групами була статистично значущою (P = 0,001). Статистично значущі різниці між групами на користь групи P-3051 також спостерігалися у ППВД t48 на тижнях 8 (P < 0,001) та 24 (P = 0,015). Такі ж результати спостерігалися у ПП t48.</p> |

Згідно з оригіналом

For H.B.



Вторинні цілі дослідження підтвердили кращу ефективність P-3051 порівняно з аморолфіном, лак для нігтів, у лікуванні оніхомікозу.

Рівень повного вилікування у ППВД т48 була статистично значущою між P-3051 та аморолфіном 5 % ($P < 0,001$). Відповідь спостерігалася у 21 пацієнта (35,0 %) у групі P-3051 та у 7 (11,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %.

Статистична перевага між P-3051 та аморолфіном 5 % була досягнута також у частці пацієнтів, які відповіли на лікування ($P < 0,001$) після 48 тижня лікування. Результати показали, що відповідь спостерігалася у 35 пацієнтів (58,3 %) у групі P-3051 та у 16 (26,7 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Після 24 тижнів лікування не спостерігалася жодної статистичної переваги.

У більшій кількості пацієнтів у групі P-3051, ніж у групі аморолфіну 5 %, спостерігалася конверсія результатів мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні в усі моменти часу. На тижні 12 (ППВД т12) конверсія результатів мікроскопічного дослідження (КОН) у ППВД т12 на негативні спостерігалася у 44 пацієнтів (63,8 %) у групі P-3051 та у 37 (54,4 %) пацієнтів у групі аморолфіну 5 %. Статистично значущі різниці між групами (ППВД т12 та ПП т12) спостерігалися на тижні 8 на користь групи P-3051 ($P = 0,0001$), а також статистично значущі різниці між групами на користь групи P-3051 спостерігалися тижнях 24 ($P = 0,015$) та 48 ($P = 0,006$) у ППВД т48 на користь групи P-3051. Такі ж результати спостерігалися у ПП т48.

Відповідно до конверсії результатів мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні, більше пацієнтів у групі P-3051, ніж у групі аморолфіну 5 %, досягли мікологічного вилікування. На тижні 12 мікологічне вилікування у ППВД т12 спостерігалася у 45 пацієнтів (65,2 %) у групі P-3051 та у 36 (52,9 %) пацієнта у групі аморолфіну 5 %. Статистично значущі різниці між групами (ППВД т12 та ПП т12) спостерігалися на тижні 8 на користь групи P-3051 ($P < 0,0001$). Подібним чином результати в популяції ППВД т48 підтвердили статистично значущу різницю на користь групи P-3051 як на тижні 24 ($P = 0,047$), так і на тижні 48 ($P < 0,001$), про що також повідомлялося в ППВД т48

Результати у ПП т12 та ПП т48 узгоджувалися з тими, які спостерігалися у відповідних ППВД.

Обидва методи лікування були безпечними та добре переносилися внаслідок незначного впливу після місцевого застосування.

Частота пацієнтів із НЯВЛ, була подібною в групі P-3051 (22 пацієнта, 31,9 %; загалом 24 НЯВЛ) та в групі аморолфіну 5 % (23 пацієнта, 33,8 %; загалом 34 НЯВЛ). У жодного пацієнта в обох групах не було СНЯ, НЯ тяжкого ступеня, НЯ, пов'язаних з лікуванням, або НЯ, які призвели до остаточної відміни ДЛЗ. Один пацієнт (1,5 %) у групі P-3051 тимчасово припинив застосування ДЛЗ через НЯ. Крім того, дуже мало випадків в обох групах продемонстрували ознаки подразнення шкіри навколо оброблених нігтів під час візитів від вихідного рівня.

Згідно з оригіналом

Тор. Н.В.



| | |
|--|---|
| | <p>Результати дослідження показали, що:</p> <p>Дослідження досягло своєї головної мети, тобто P-3051 після 12 тижнів лікування був не менш ефективним, ніж аморолфін 5 % у конверсії результатів посіву на негативні. Крім того, після 8 тижнів лікування спостерігалася статистично значуща перевага на користь P-3051, демонструючи швидшу ерадикацію патогенів нігтів. Результати вторинних кінцевих точок у ППВД т48 показали статистичну перевагу як у частоті пацієнтів, які відповіли на лікування ($P < 0,001$), так і в рівні повного вилікування ($P < 0,001$).</p> <p>У ППВД т48 мікологічне вилікування було досягнуто в усіх пацієнтів, які отримували P-3051 (100,0 %) порівняно з аморолфіном 5 % ($P < 0,001$). Перевага P-3051 порівняно з аморолфіном 5 % стала очевидною вже через 24 тижні лікування ($P < 0,05$).</p> <p>Покращення в обох групах спостерігалася стосовно зараженої ділянки нігтя, швидкості росту здорової ділянки нігтя та оцінки ламкості цільового нігтя на великому пальці, без статистично значущих різниць між групами.</p> <p>Як P-3051, так і аморолфін 5 % добре переносився з огляду на місцеві та загальні побічні реакції.</p> <p>Дослідження показує, що вже після 12-тижневого щоденного лікування P-3051 відсоток пацієнтів із конверсією результатів грибкової культури на негативні є статистично вищим порівняно з групою аморолфіну 5 % двічі на тиждень у пацієнтів із оніхомікозом легкого та середнього ступеня. Крім того, перевага P-3051, яка вже була очевидна після 8-тижневого лікування, показала більш ранню та швидку ерадикацію патогенів нігтів порівняно з аморолфіном. Крім того, ефект лікування P-3051 зберігався та навіть посилювався після 48 тижнів лікування. P-3051 вже показав перевагу порівняно з попередньою лікарською формою циклопіроксу, 8 % лак для нігтів: враховуючи статистичну перевагу P-3051, досягнуту також у цьому порівняльному дослідженні, порівняно з аморолфіном 5 %, P-3051 можна вважати найефективнішим місцевим засобом, доступним на ринку Європи для лікування оніхомікозу легкого та середнього ступеня.</p> |
|--|---|

Заявник (власник реєстраційного посвідчення)

Полікем С.А.

/Підпис/
Йорді Гальван [Gordi Galvan]

Керівник міжнародного рівня з питань медицини

Горді Гальван
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ



ТОВ ДІЛЕО ФАРМА
ІДЕНТИФІКАЦІЙНИЙ КОД 36691994

Appendix 30
 to the Order on the expertise of the registration materials for the medicinal products submitted for state registration (renewal of registration), as well as expertise of materials concerning making variations in registration materials during the validity period of marketing authorization
 (p. 4 of chapter IV)

**REPORT
 about clinical trial "PM 0921"**

| | | | |
|--|--|-----------------------------|----------------|
| 1. Name of the medicinal product (marketing authorization No., if applicable): | ONYTEC® 80 mg/g medicated nail lacquer Synonyms used during the product development: P-3051, Ciclopoli | | |
| 2. Applicant | Polichem S.A., Luxembourg | | |
| 3. Manufacturer | ALFASIGMA S.P.A, Italy; ALMIRALL HERMAL GmbH, Germany | | |
| 4. trials performed: | X yes | <input type="checkbox"/> no | If no, justify |
| 1) type of the medicinal product registered or planned for registration | Medicinal product with complete dossier (stand-alone dossier), known active substance | | |
| 5. Full name of the clinical trial, trial code number | Title: <i>Ciclopirox HPCH Nail Lacquer after Failure of Topical Treatment with Amorolfine</i> Trial code: PM 0921 | | |
| 6. clinical trial phase | Phase IV | | |
| 7. Clinical trial period | from 7 June 2011 to 8 January 2013 | | |
| 8. Countries where the clinical trial was performed | Germany | | |
| 9. Number of participants | planned: 70 actual: 70 | | |

| | |
|--|--|
| 10. Aim and secondary objectives of the clinical trial | <p>The aim of this non-interventional study (NIS) was to document and evaluate data for the safety and efficacy of a 6-month treatment with Ciclopoli 8% nail lacquer in daily practice used in patients with persistent onychomycosis (proven clinically and by routine laboratory examination [KOH microscopy test]) after unsuccessful topical treatment with amorolfine.</p> <p>The objective of the study was to assess the efficacy and tolerability of 6-month treatment with Ciclopoli 8% nail lacquer, for treatment of onychomycosis in patients who previously failed topical treatment with amorolfine 5%.</p> |
| 11. Clinical trial design | <p>A total of 10 German sites participated in the present non-interventional study (NIS), conducted from June 2011 to January 2013. The study was performed under the exclusive therapeutic responsibility of the physician. The study was fully GCP and ICH compliant and the protocol was approved by the institutional ethics committee of Munich according to the local regulations. All patients enrolled provided their written informed consent before starting any protocol procedure. In compliance with the approved labelling, all patients of the study had been treated for distal lateral subungual onychomycosis. Treatment failure in clinical or mycological outcome was defined according to Scher et al [Onychomycosis: diagnosis and definition of cure. <i>J Am Acad Dermatol.</i> 2007; 56: 939-944.]: positive KOH test with onychomycotic dystrophy leaving more than 10% of nail plate, in at least one toenail or one fingernail, chosen as target nail. Eligible patients had to have failed a previous topical antimycotic treatment based on amorolfine 5%, which had lasted at least 6 months and had terminated no longer than one month before the inclusion into the NIS. The inclusion of the patient into NIS was considered after the decision of the investigator for treatment of P-3051 was made. No concomitant oral treatments for onychomycosis were allowed. Each patient underwent a study visit at three different time points, chosen in accordance with the usual clinical setting in this indication. Patients who had failed an amorolfine treatment defined as above were selected for the study. The evaluation of the enrolment was considered as the baseline time point (Visit 1). The failure of previous treatment was proven clinically and by routine laboratory examination, including nail-scrapings for mycological assessments, placing the specimens in a drop of Calcofluor stain, mounted with a cover slip, and examined at 40x under a fluorescent microscope (KOH microscopy) and - but not compulsory - the culture examination, by plating onto general and inhibitory media the nail-scraping. After an incubation period of 4 weeks, the identification of the filamentous fungi is based on an evaluation of their colony characteristics and microscopic morphology. Patients fulfilling inclusion criteria were instructed to start the daily application of the P-3051 nail lacquer for 24 weeks. KOH assessment (primary endpoint) of the target nail was repeated by the investigator at Visit 3 (end of treatment).</p> |
| 12. Main inclusion criteria | <ul style="list-style-type: none"> • Written informed consent. • Adult outpatients of either sex >18 years old. • Indication for local treatment of onychomycosis with Ciclopoli 8% nail lacquer. • Laboratory finding positive for fungi (KOH microscopy). |

| | |
|--|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> • Affected area of minimum 10% of at least one toenail or one fingernail. • Unsuccessful topical amorolfine treatment lasted at least 6 months and concluded no later than one month before inclusion • No concomitant oral treatment for onychomycosis |
| 13. Study drug, dose, method of administration, strength | P-3051 (Onytec 80 mg/g medicated water soluble nail lacquer) to be applied by brush daily at night on the infected toenails and/or fingernails, and to be removed weekly by water. Treatment duration: 6 months |
| 14. Reference drug, dose, method of administration, strength | Not applicable |
| 15. Concomitant therapy | No concomitant oral treatments for onychomycosis were allowed. |
| 16. Efficacy endpoints | <p>Primary efficacy endpoint:</p> <p>Rate of patients with conversion to negative of direct microscopy examination, (KOH test) on the target nail after 6 months of treatment.</p> <p>Secondary efficacy endpoints:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Clinical improvement of the target nail (change of affected area compared to baseline assessed by Physician) after 3 and 6 months of treatment. • Clinical evaluation of the number of affected nails at baseline and at the end of 6-month therapy. • Patient's treatment satisfaction assessed by Clinical Global Impression-scale (CGI) after 3 and 6 months. • Investigator's treatment satisfaction by CGI with the previous amorolfine treatment at screening. • Investigator's treatment satisfaction by CGI after 6 months. |
| 17. Safety endpoints | Recording of adverse events/adverse drug reactions |
| 18. Statistical methods | <p><u>Interim analysis</u></p> <p>The pre-planned interim analysis of the primary efficacy endpoint (patients with negative KOH-test at Visit 3) was performed to monitor the progress of the non-interventional study. No adaptations to the study design, sample size or any other feature of this non-interventional study were planned. Based on the results of the Data Review Meeting on 07 May 2012, 37 patients fulfilling the following criteria were included into the Full Analysis Set for Interim Analysis (FAS-IA):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Having at least one application of Ciclopoli 8% nail lacquer and one visit with documentation of response data • Having completed Visit 3 until the end of February 2012 • Being included at a centre with at least 5 patients |

Final analysis

Continuous data were presented by sample size (N), arithmetic mean, standard deviation, minimum, median, and maximum. Categorical data were presented by frequencies and percentages. All tests for efficacy were performed "two-sided" using an alpha-level of 5%. No alpha-adjustment was needed because of the explorative character of the analyses. The analysis of the efficacy endpoints was performed in the Full Analysis Set (FAS). The primary endpoint (patients with negative KOH-test at Visit 3) was calculated with and without imputation of missing data by using the following rules:

- If documentation of the KOH-test was missing at Visit 3 (month 6) a negative mycotic culture at this time point was defined.
- For patients with premature termination and missing documentation of Visit 3, the primary endpoint was achieved if the affected area of the target nail is 0% at Visit 2 (month 3). Response rates from as many patients as possible (with imputation if necessary) were the main analysis, while response rates for the subset of patients with complete data (no imputation) served as a robustness analysis. The relative frequency of primary endpoint together with its 2-sided 95% confidence interval (CI) was calculated using the binomial distribution. Assumption for sample size calculation was a response rate of 63% with a 2-sided 5% CI being completely above 50% to conclude that at least every second patient (i.e. 50% response rate) was benefitting from a subsequent treatment with Ciclopoli 8% nail lacquer after unsuccessful treatment with topical amorolfine.

Descriptive statistics for continuous data were displayed following secondary efficacy endpoint:

- Clinical improvement (change of affected area compared to baseline) of the target nail after 3 and 6 months

Descriptive statistics for categorical data were displayed for the following secondary efficacy endpoints:

- Clinical improvement in the number of affected nails after 6 months
- Change in patients satisfaction through CGI from month 3 to month 6
- Difference in investigators satisfaction between study treatment and previous treatment with amorolfine (CGI scale). Furthermore, the difference in investigator's satisfaction between study treatment and previous treatment with amorolfine was analysed by Wilcoxon-Signed-Rank test. The null-hypothesis of this secondary endpoint was defined as no difference in investigator's satisfaction between the two treatments.

The evaluation of the safety variable (adverse events) was performed in the SES (Safety Evaluable Set). Unrelated AEs (causal relation = unlikely) should be listed per patient. ADRs (treatment related AEs) were planned to be tabulated considering the variables frequency intensity, investigator's causality assessment, actions taken and outcome. Depending on the number

of events, serious ADRs would be tabulated in the same way as ADRs or listed by patient.

19. Demographic parameters of the studied population (sex, age, race etc.)

Overall, 70 patients were enrolled in this non-interventional study. Four patients prematurely discontinued after 12 weeks: out of these, 3 were lost to follow up and the last one abandoned due to an adverse event not related to study drug (broken leg). None of the enrolled patients was excluded from the efficacy analysis. At baseline, patient's mean age was 59.2 ± 13.2 years. The patients were Caucasian (98.6%) or African (1.4%) and there was a higher proportion of females (58.6%) compared to males (41.4%) (Table 1). All 70 patients in the FAS complied with the eligibility criteria. The majority of target nails (94.3%) were located on the toes, with 85.7% on the big toe. Only 5.7% (4 of 70 nails) were fingernails with a comparable distribution at the 1st, 2nd and 3rd finger and mostly on the right side. The distribution of toenails between the left and right side was comparable (48.6% on the left and 45.7% on the right). The 4th and 5th toe or finger was never selected as a target nail. Culture was available at baseline in 48 patients: all were positive to dermatophytes, out of them 64.6% for Trichophyton spp. (T.rubrum/T.mentagrophytes), 20.8% for undefined Dermatophytes and 8.3% for mixed fungi. Positivity for Scopulariopsis brevicaulis, undefined moulds or undefined yeasts was reported for one (2.1%) patient each. The average affected area of target nail at baseline was 38.1% with a standard deviation (SD) of 20.2%.

Demographic data are reported in the following Table 1.

Table 1: Demographic data.

| Variable | Statistical parameter | Treatment with P-3051 (N=70) |
|----------------------|-----------------------|------------------------------|
| Ethnic origin | | |
| Caucasian | N (%) | 69 (98.6) |
| African | N (%) | 1 (1.4) |
| Gender | | |
| Male | N (%) | 29 (41.4) |
| Female | N (%) | 41 (58.6) |
| Age [years] | Mean \pm SD | 59.2 ± 13.2 |
| | Min-Max | 26.0-83.0 |

20. Effectiveness results

The response rates for treatment with P-3051 are presented in Table 2: 41 patients responded successfully to treatment, while 25 patients failed to respond. Four further patients had missing values for the KOH-test at Visit 3.

Table 2: Response rates to P-3051 treatment at visit 3.

| Result of KOH-test at Visit 3 / Response rate of the target nail after treatment | Patients | |
|--|-----------|--------------|
| | N | % |
| In total | 70 | 100.0 |
| success | 41 | 58.6 |
| failure | 25 | 35.7 |
| missing values | 4 | 5.7 |
| FAS population | 70 | 100.0 |
| success | 41 | 58.6 |
| failure | 29 | 41.4 |
| PP population | 66 | 100.0 |
| success | 41 | 62.1 |
| failure | 25 | 37.9 |

In the FAS analysis, the estimate of the response rate for the primary endpoint was 58.6% with a 2-sided 95% confidence interval ranging from 46.17% to 70.23% (Clopper-Pearson Exact method). Because the hypothesized minimal response rate of 15.7% falls outside the confidence intervals, this result is highly statistically significant ($P < 0.0001$). The analysis on PP population confirmed that on FAS set: primary endpoint was achieved by 62.1% of patients (95% CI: 44.34% - 73.78% Clopper-Pearson Exact method). Again, the hypothesized minimal response rate of 15.7% falls outside the confidence interval ($P < 0.0001$). As secondary endpoints, the culture examination pre- and post-treatment was available in 28 patients. Out of these, the mycological culture was converted to negative in 25 patients (89%), while only in 3 patients it was not (10.7%). Furthermore, 17 out of those patients were also negative to the direct KOH microscopic examination. Those patients, defined as "mycological cure", (i.e. as negative microscopy and negative culture) were in proportion 60.7% of all patients with pre- and post- mycotic culture available (95% CI: 40.58% - 78.50%, $P < 0.0001$, Clopper- Pearson Exact method). At the end of treatment, the percentage of responders, defined as negative KOH microscopy and negative culture and $< 10\%$ residual involvement of the target toenail, was 21.4%, matching those patients where the decrease of the residual involvement of the target nail area was $\leq 5\%$. The complete cure rate (defined as composite of negative KOH microscopy and negative culture and no residual clinical involvement of the target toenail) was obtained in 10.7% (95% CI: 2.27% - 28.23%; $P < 0.0001$, Clopper - Pearson Exact method). A gradual, clear decrease of diseased target nail area was shown during treatment (Table 3).

Table 3: Percentage of diseased target nail surface (FAS).

| | Baseline N=70 | Month 3 (V 2) N=67 | Month 6 (V 3) N=66 |
|----------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|
| Mean ± SD | 38.1 ± 20.2 | 29.3 ± 19.4 | 22.8 ± 20.4 |
| Min-Max | 10 - 100 | 5 - 100 | 0 - 90 |
| Difference vs. baseline | — | -9.0 ± 11.1 | -15.6 ± 17.9 |
| Min-Max | — | -50.0 - 5.0 | -90.0 - 20.0 |

21. Safety results

No adverse drug reactions (ADRs) were reported during the observational period of this NIS. Only one patient discontinued the observation prematurely due to an event (broken leg) that was categorized as not related to the treatment.

22. Conclusion (final conclusions)

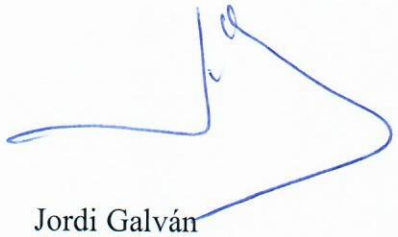
This study, even within the limits of the small patient number and the NIS design (KOH microscopy as primary mycology assessment and lack of an active reference comparison), showed a clinical benefit with P-3051 in patients who failed to respond to an onychomycosis treatment with amorolfine. The non-interventional nature of the study reflects the normal clinical practice of the country in which the study had to be performed: in particular German Ethical Authorities approved the study with the recommendation to perform culture and KOH at baseline to confirm the diagnosis of onychomycosis and to follow the outcome of direct examination by KOH microscopy. Therefore, microbiological culture was not considered compulsory at each visit and the assessment of culture was used as secondary endpoint as not always performed. In clinical practice, KOH microscopy is easier, faster and cheaper, and it is known that culture evaluation gives many false negative results, due to subjectivity in collecting nail specimens. Instead, KOH gives much fewer false negatives and “absence of a proof is not a proof of absence”. A weak point of this study was the lack of an active reference comparison. On the other hand, as the selected patients were resistant to amorolfine, no therapeutic option was available other than ciclopirox, and randomising part of the patients to placebo would not have been an option from the ethical point of view. Amorolfine is commonly believed to be an effective treatment of onychomycosis but the scientific data are controversial. Even a combination of amorolfine used topically in conjunction with oral terbinafine gave contradictory results in terms of benefit to the patient. Although it is a potent anti-fungal agent in in vitro studies, amorolfine shows a very poor penetration into the nail plate both in in vitro models and in vivo studies in healthy volunteers and a high failure rate (even if probably underestimated) was reported in the only available placebo controlled randomized study. According to therapeutic guidelines and common clinical practice, those failed patients should undergo a subsequent active treatment with oral terbinafine or itraconazole despite cross resistance among amorolfine, terbinafine and itraconazole, due to a similar mechanisms of action, having been recently described in an in vitro study (See Annex 29). Conversely, ciclopirox has no resistance potential and does not show cross resistance with the membrane ergosterol biosynthesis inhibitors and has already shown a statistically significant clinical efficacy

when formulated with hydroxypropyl chitosan technology (P-3051). The present study showed that treatment failures with amorolfine 5%, subsequently treated with P-3051 for 24 weeks, resulted in a statistically and clinically significant high success rate. The effect of P-3051 was revealed in terms of mycological cure (composite endpoint including both conversion to negative of the KOH and conversion to negative of culture) in 60.7% of the restricted population analysed. Mycological cure is a strong independent endpoint for evaluating topical anti-fungal treatment and is superior to the evaluation of culture only, as positivity to KOH overcomes the false negative results of culture. Moreover, a clear clinical improvement of the target nail has been shown for P-3051 after a 24-week treatment, compared to baseline.

In conclusion, this study gives hints that a second line course of treatment with P-3051 in amorolfine failures could be of benefit. This would represent an advantage for patients both in terms of cost to benefit and risk to benefit ratio.

Applicant (marketing authorization holder)

Polichem S.A.



Jordi Galván
Global Medical Lead

Додаток 30
до Порядку проведення експертизи
реєстраційних матеріалів на лікарські
засоби, що подаються на державну
реєстрацію (перереєстрацію), а також
експертизи матеріалів про внесення змін
до реєстраційних матеріалів протягом дії
реєстраційного посвідчення
(пункт 4 розділу IV)

**ЗВІТ
про клінічне випробування "PM0921"**

| | | | |
|--|---|-----------------------------|-----------------------|
| 1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення) | ОНІТЕК®, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г Синоніми, використані під час розробки лікарського засобу: P-3051, Циклополі | | |
| 2. Заявник | Полікем С.А., Люксембург | | |
| 3. Виробник | АЛЬФАСІГМА С.П.А., Італія; АЛМІРАЛЛІ ХЕРМАЛІ ГмбХ, Німеччина | | |
| 4. Проведені дослідження: | <input checked="" type="checkbox"/> так | <input type="checkbox"/> ні | Якщо ні, обґрунтувати |
| 1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація | Лікарський засіб за повним досьє (автономне досьє), відома діюча речовина | | |
| 5. Повна назва клінічного випробування, кодовий номер клінічного випробування | Назва: <i>Застосування Циклопіроксу ГПХ, лак для нігтів, після неефективності місцевого лікування аморолфіном</i> Код дослідження: PM 0921 | | |
| 6. Фаза клінічного випробування | Фаза IV | | |
| 7. Період проведення клінічного випробування | з 7 червня 2011 року по 8 січня 2013 року | | |
| 8. Країни, де проводилося клінічне випробування | Німеччина | | |
| 9. Кількість досліджуваних | запланована: 70 фактична: 70 | | |

Леремая
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For M.B. J...



| | |
|---|--|
| 10. Мета та вторинні цілі клінічного випробування | <p>Мета цього неінтервенційного дослідження (НІД) – задокументувати та оцінити дані безпеки та ефективності 6-місячного лікування лікарським засобом Циклополі, 8 % лак для нігтів, у щоденній практиці, що використовується у пацієнтів зі стійким оніхомікозом (підтверджено клінічними та рутинними лабораторними дослідженнями) [мікроскопічне дослідження КОН]) після неефективного місцевого лікування аморолфіном.</p> <p>Мета дослідження – оцінити ефективність та переносимість 6-місячного лікування лікарським засобом Циклополі, 8 % лак для нігтів, для лікування оніхомікозу у пацієнтів, у яких попереднє місцеве лікування аморолфіном 5 % виявилось неефективним.</p> |
| 11. Дизайн клінічного випробування | <p>Загалом 10 німецьких дослідницьких лабораторій було включено у це неінтервенційне дослідження (НІД), яке проводилося з червня 2011 року по січень 2013 року. Дослідження проводили під виключною терапевтичною відповідальністю лікаря. Дослідження повністю відповідало вимогам Належної лабораторної практики та Міжнародної конференції з гармонізації, а протокол був схвалений інституційним комітетом з етики Мюнхена відповідно до місцевих правил. Усі включені пацієнти надали свою письмову інформовану згоду перед початком будь-якої протокольної процедури. Відповідно до затвердженого маркування, усі учасники дослідження отримували лікування дистального латерального піднігтьового оніхомікозу. Неефективність лікування при клінічних або мікологічних дослідженнях визначали згідно з Шер та співавт. [Onychomycosis: diagnosis and definition of cure. J Am Acad Dermatol. 2007; 56: 939-944.]; позитивний результат дослідження КОН з оніхомікотичною дистрофією, що залишає більше ніж 10 % нігтьової пластини, принаймні в одному нігті на носі або руці, обраного в якості цільового нігтя. Пацієнти, які відповідали вимогам, мали пройти попереднє неефективне місцеве протигрибкове лікування на основі аморолфіну 5 %, яке тривало щонайменше 6 місяців та було припинено не пізніше ніж за місяць до включення до НІД. Включення пацієнта до НІД розглядалося після прийняття рішення дослідника про лікування Р-3051. Супутнє пероральне лікування оніхомікозу було протипоказане. Кожен пацієнт пройшов візит у три різні моменти часу, обрані відповідно до звичайних клінічних умов за цим показанням. Для дослідження були відібрані пацієнти, у яких вищезазначене лікування аморолфіном було неефективним. Оцінка включення вважалася вихідним моментом часу (Візит 1). Неефективність попереднього лікування було доведено клінічними та рутинними лабораторними дослідженнями, включаючи зішкрябання піднігтьового вмісту для мікологічної оцінки, розміщення зразків у краплю барвника Калкофлуор, нанесену на покривне скло та досліджене під флуоресцентним мікроскопом з кратністю об'єктиву у 40 разів (мікроскопічне дослідження КОН) та – за необхідності – дослідження культури шляхом висіву на загальні та інгібуючі середовища з піднігтьовим вмістом. Після 4-тижневого інкубаційного періоду ідентифікація міцеліальних грибів базується на оцінці характеристик їхньої колонії та мікроскопічної морфології. Пацієнтам, які відповідають критеріям включення, було запропоновано щодня наносити лак для нігтів Р-3051 протягом 24 тижнів. Оцінка КОН (первинна кінцева точка) цільового нігтя була повторена дослідником під час візиту 3 (кінець лікування).</p> |

Терешак
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор М.В.



| | |
|--|---|
| <p>12. Основні критерії включення</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Письмова інформована згода. • Дорослі амбулаторні пацієнти будь-якої статі у віці від 18 років. • Показання до місцевого лікування оніхомікозів лікарським засобом Циклополі, 8 % лак для нігтів. • Позитивні результати лабораторного дослідження на гриби (мікроскопічне дослідження КОН). • Площа ураження становить мінімум 10 % принаймні одного нігтя на нозі або руці. • Неефективне місцеве лікування аморолфіном тривало щонайменше 6 місяців та завершилося не пізніше ніж за місяць до включення • Відсутність супутнього перорального лікування оніхомікозу |
| <p>13. Досліджуваний лікарський засіб, спосіб застосування, сила дії</p> | <p>P-3051 (Онітек, лак для нігтів лікувальний, 80 мг/г (розчинний у воді)) наносити пензликом щодня на ніч на заражені нігті на ногах та/або руках та щотижня змивати водою. Тривалість лікування: 6 місяців</p> |
| <p>14. Препарат порівняння, доза, спосіб застосування, сила дії</p> | <p>Не застосовується</p> |
| <p>15. Супутня терапія</p> | <p>Супутнє пероральне лікування оніхомікозу було протипоказане.</p> |
| <p>16. Критерії оцінки ефективності</p> | <p>Первинна кінцева точка ефективності: Частка пацієнтів із конверсією результатів прямого мікроскопічного дослідження (КОН) на негативні на цільовому нігті після 6 місяців лікування.</p> <p>Вторинні кінцеві точки ефективності:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Клінічне покращення цільового нігтя (зміна ураженої ділянки порівняно з вихідним рівнем, оціненим лікарем) через 3 та 6 місяців лікування. • Клінічна оцінка кількості уражених нігтів на початку та наприкінці 6-місячної терапії. • Задоволеність пацієнта лікуванням оцінюється за шкалою загального клінічного враження (ШЗКВ) через 3 та 6 місяців. • Задоволеність дослідника лікуванням за ШЗКВ попереднім лікуванням аморолфіном під час скринінгу. • Задоволеність дослідника лікуванням за ШЗКВ через 6 місяців. |
| <p>17. Критерії оцінки безпеки</p> | <p>Реєстрація небажаних явищ/небажаних лікарських реакцій</p> |
| <p>18. Статистичні методи</p> | <p><u>Проміжний аналіз</u></p> <p>Попередньо запланований проміжний аналіз первинної кінцевої точки ефективності (пацієнти з негативним результатом дослідження КОН a1, візит 3) проводився для моніторингу прогресу неінтервенційного дослідження. Жодних адаптацій до дизайну дослідження, розміру вибірки або будь-яких інших особливостей цього неінтервенційного дослідження не планувалося. За результатами зустрічі щодо огляду даних 7 травня 2012 року, 37 пацієнтів, які відповідали вказаним нижче критеріям, були включені до популяції повного аналізу для проміжного аналізу (ППА-ПА):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Принаймні одне нанесення лікарського засобу Циклополі, 8 % лак для нігтів та |

Перишад
ЗГІДНО З ОРІГІНАЛОМ
Тор. Н.В.



- один візит з документуванням даних про відповідь
- Після завершення візиту 3 до кінця лютого 2012 року
- Включення до центру принаймні 5 пацієнтів

Остаточний аналіз

Безперервні дані були представлені за розміром вибірки (N), середнім арифметичним, стандартним відхиленням, мінімумом, медіаною та максимумом. Категоріальні дані представлені за частотою та відсотками. Усі випробування на ефективність проводилися «двосторонньо» з використанням рівня значущості 5 %. Коригування рівня значущості не було потрібне через дослідницький характер аналізів. Аналіз кінцевих точок ефективності проводили у популяції повного аналізу (ППА). Первинну кінцеву точку (пацієнти з негативним результатом дослідження КОН під час візиту 3) розраховували з використанням відсутніх даних та без них за такими правилами:

- Якщо документація дослідження КОН була відсутня під час візиту 3 (місяць 6), була визначена негативна мікотична культура в цей момент часу.
- Для пацієнтів, які передчасно припинили лікування, та за відсутності документації під час візиту 3 первинна кінцева точка була досягнута, якщо уражена ділянка цільового нігтя становила 0 % під час візиту 2 (місяць 3). Частота відповіді у якомога більшої кількості пацієнтів (з підстановкою недостатніх даних, за необхідності) була основним аналізом, тоді як частота відповіді для підгрупи пацієнтів із повними даними (без підстановки недостатніх даних) слугувала аналізом стійкості. Відносну частоту первинної кінцевої точки разом із двостороннім 95 % довірчим інтервалом (ДІ) розраховували за допомогою біноміального розподілу. Припущенням для розрахунку розміру вибірки була частота відповіді 63 % з двостороннім 95 % ДІ, який повністю перевищував 50 %, щоб зробити висновок, що принаймні кожен другий пацієнт (тобто 50 % частота відповіді) отримав користь від подальшого лікування лікарським засобом Циклополі, 8 % лак для нігтів, після неефективного лікування місцевим аморолфіном.

Описова статистика для безперервних даних відображалася за другою кінцевою точкою ефективності:

- Клінічне покращення (зміна ураженої ділянки порівняно з вихідним рівнем) цільового нігтя через 3 та 6 місяців
Описова статистика для категоріальних даних відображалася за другою кінцевою точкою ефективності:
- Клінічне покращення кількості уражених нігтів через 6 місяців
- Зміни в задоволеності пацієнтів за ШЗКВ з місяця 3 по місяць 6
- Різниця в задоволеності дослідників між досліджуваним лікарським засобом та попереднім лікуванням аморолфіном (ШЗКВ). Крім того, різницю в задоволеності дослідників між досліджуваним лікуванням та попереднім лікуванням аморолфіном аналізували за допомогою критерію знакових рангів сум Вілкоксона. Нульова гіпотеза цієї вторинної кінцевої точки була визначена як відсутність різниці в задоволеності дослідника між двома методами лікування.

Лереклар
Згідно з

ОРИГІНАЛОМ

Тор У.В.



| | Оцінку змінної безпеки (небажаних явищ) проводили у вибірці пацієнтів, що підлягали оцінці безпеки (ВПОБ). Непов'язані НЯ (причинно-наслідковий зв'язок = малоймовірно) мають бути перераховані для кожного пацієнта. ПЛР (НЯ, пов'язані з лікуванням) планувалося звести в таблицю з урахуванням змінних, інтенсивності частоти, оцінки причинно-наслідкового зв'язку дослідником, вжитих заходів та результату. Залежно від кількості явищ серйозні ПЛР будуть зведені в таблицю так само, як ПЛР, або перераховані пацієнтом. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---|---------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|--|--|-------------------------------|-------|-----------|-----------|-------|---------|--------------|--|--|----------|-------|-----------|-------|-------|-----------|--------------------|---------------------------|-----------------|-----------|-----------|
| 19. Демографічні показники досліджуваної популяції (стать, вік, раса, тощо) | <p>Загалом до цього неінтервенційного дослідження було включено 70 пацієнтів. Чотири пацієнти передчасно припинили лікування через 12 тижнів: з них 3 були втрачені для подальшого спостереження, а останній був виключений через небажане явище, не пов'язане з досліджуваним засобом (перелом ноги). Жоден із зареєстрованих пацієнтів не був виключений з аналізу ефективності. На початку дослідження середній вік пацієнта становив $59,2 \pm 13,2$ років. Пацієнтами були представники європеїдної раси (98,6 %) або африканці (1,4 %), серед них було більше жінок (58,6 %), ніж чоловіків (41,4 %) (Таблиця 1). Усі 70 пацієнтів у ППА відповідали критеріям прийнятності. Більшість цільових нігтів (94,3 %) були на пальцях ніг, а 85,7 % – на великому пальці. Лише 5,7 % (4 із 70 нігтів) були нігтями з порівнянним розподілом на великому, указівному та середньому пальці та переважно на правій нозі. Розподіл нігтів між лівою та правою ногою був порівнянним (48,6 % зліва та 45,7 % справа). Підмізинний палець та мізинець на нозі або руці ніколи не вибиралися як цільовий ніготь. Посів був доступний на вихідному рівні у 48 пацієнтів: в усіх пацієнтів були позитивні результати випробування на дерматофіти, з них 64,6 % на <i>Trichophyton spp.</i> (<i>T.rubrum/T.mentagrophytes</i>), 20,8 % для дерматофітів неясної етіології та 8,3 % для змішаних грибів. Позитивний результат випробування на <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>, пліснявих або дріжджових грибів неясної етіології повідомлявся у одного (2,1 %) пацієнта. Середня уражена площа цільового нігтя на вихідному рівні становила 38,1 % зі стандартним відхиленням (СВ) 20,2 %.</p> <p>Демографічні дані наведено у Таблиці 1.</p> <p>Таблиця 1: Демографічні дані.</p> <table border="1" data-bbox="416 1397 1426 1794"> <thead> <tr> <th>Змінна</th> <th>Статистичний параметр</th> <th>Лікування Р-3051 (N = 70)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="3">Етнічне походження</td> </tr> <tr> <td>Представники європеїдної раси</td> <td>N (%)</td> <td>69 (98,6)</td> </tr> <tr> <td>Африканці</td> <td>N (%)</td> <td>1 (1,4)</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Стать</td> </tr> <tr> <td>Чоловіки</td> <td>N (%)</td> <td>29 (41,4)</td> </tr> <tr> <td>Жінки</td> <td>N (%)</td> <td>41 (58,6)</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Вік [років]</td> <td>Середнє значення \pm СВ</td> <td>$59,2 \pm 13,2$</td> </tr> <tr> <td>Мін.-Макс</td> <td>26,0-83,0</td> </tr> </tbody> </table> | Змінна | Статистичний параметр | Лікування Р-3051 (N = 70) | Етнічне походження | | | Представники європеїдної раси | N (%) | 69 (98,6) | Африканці | N (%) | 1 (1,4) | Стать | | | Чоловіки | N (%) | 29 (41,4) | Жінки | N (%) | 41 (58,6) | Вік [років] | Середнє значення \pm СВ | $59,2 \pm 13,2$ | Мін.-Макс | 26,0-83,0 |
| Змінна | Статистичний параметр | Лікування Р-3051 (N = 70) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Етнічне походження | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Представники європеїдної раси | N (%) | 69 (98,6) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Африканці | N (%) | 1 (1,4) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Стать | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Чоловіки | N (%) | 29 (41,4) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Жінки | N (%) | 41 (58,6) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Вік [років] | Середнє значення \pm СВ | $59,2 \pm 13,2$ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Мін.-Макс | 26,0-83,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Теренас
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

For UB.



20.
Результати
ефективності

Значення частоти відповіді на лікування Р-3051 представлені у Таблиці 2: 41 пацієнт успішно відповів на лікування, тоді як 25 пацієнтів не відповіли. Ще у 4 пацієнтів були відсутні значення дослідження КОН під час візиту 3.

Таблиця 2: Частота відповіді на лікування Р-3051 під час візиту 3.

| Результат дослідження КОН під час візиту З/частота відповіді на лікування цільового нігтя після обробки | Пацієнти | |
|---|-----------|--------------|
| | N | % |
| Усього | 70 | 100,0 |
| Успіх | 41 | 58,6 |
| Неефективність | 25 | 35,7 |
| Відсутні значення | 4 | 5,7 |
| ППА | 70 | 100,0 |
| Успіх | 41 | 58,6 |
| Неефективність | 29 | 41,4 |
| ПП | 66 | 100,0 |
| Успіх | 41 | 62,1 |
| Неефективність | 25 | 37,9 |

В аналізі ППА оцінка частоти відповіді для первинної кінцевої точки становила 58,6 % із двостороннім 95 % довірчим інтервалом у діапазоні від 46,17 % до 70,23 % (точний метод Клоппера-Пірсона). Оскільки гіпотетична мінімальна частота відповіді у 15,7 % виходить за межі довірчих інтервалів, цей результат є високостатистично значущим ($P < 0,0001$). Аналіз ПП підтвердив, що за ППА: первинна кінцева точка була досягнута у 62,1 % пацієнтів (95 % ДІ: 44,34-73,78 %, точний метод Клоппера-Пірсона). Знову ж таки, гіпотетична мінімальна частота відповіді у 15,7 % виходить за межі довірчого інтервалу ($P < 0,0001$). В якості вторинних кінцевих точок культуральне дослідження до та після лікування було проведене у 28 пацієнтів. З них мікологічна культура виявилася негативною у 25 пацієнтів (89 %), а позитивною лише у 3 (10,7 %). Крім того, у 17 із цих пацієнтів були негативні результати при прямому мікроскопічному дослідженні КОН. Ці пацієнти, які досягли «мікологічного вилікування» (тобто як негативні результати мікроскопічного дослідження та негативні результати посіву), становили 60,7 % від усіх пацієнтів із наявними пре- та постмікотичними культурами (95 % ДІ: 40,58-78,50 %, $P < 0,0001$, точний метод Клоппера-Пірсона). Наприкінці лікування відсоток пацієнтів, які відповіли на лікування, визначений як негативний результат мікроскопічного дослідження КОН та посіву та < 10 % залишкового ураження цільового нігтя, становив 21,4 %, що відповідало тим пацієнтам, у яких зменшення залишкового ураження цільової ділянки нігтя було ≤ 5 %. Рівень повного вилікування (визначається як сукупність негативних результатів мікроскопічного дослідження КОН та посіву та відсутності залишкового клінічного ураження цільового нігтя на нозі) було досягнуто у 10,7 % пацієнтів (95 % ДІ: 2,27-28,23 %; $P < 0,0001$, точний метод Клоппера-Пірсона). Під час лікування спостерігалось поступове, чітке зменшення площі ураженого цільового нігтя (Таблиця 3).

Лермад
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.



Таблиця 3: Відсоток ураженої цільової поверхні нігтя (ППА).

| | Вихідний рівень N = 70 | Місяць 3 (візит 2) N = 67 | Місяць 6 (візит 3) N = 66 |
|--|-------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Середнє значення ± СВ | 38,11 ± 20,2 | 293 ± 19,4 | 22,8 ± 20,4 |
| Мін.-Макс | 10-100 | 5-100 | 0-90 |
| Різниця порівняно з вихідним рівнем | - | -9,0 ± 11,1 | -15,6 ± 17,9 |
| Мін.-Макс | - | -50,0 – 5,0 | -90,0 – 20,0 |

21. Результати безпеки

Протягом періоду спостереження цього НІД не повідомлялося про небажані лікарські реакції (НЛР). Лише один пацієнт передчасно припинив спостереження через НЯ (перелом ноги), яке було класифіковане як не пов'язане з лікуванням.

22. Висновок (заключення)

Це дослідження, навіть з урахуванням невеликої кількості пацієнтів та дизайну НІД (мікроскопічне дослідження КОН як первинна мікологічна оцінка та відсутність еталонного засобу порівняння), показало клінічну користь P-3051 у пацієнтів, які не відповідали на лікування оніхомікозу аморолфіном. Неінтервенційний дизайн дослідження відображає нормальну клінічну практику країни, в якій було проведено дослідження: зокрема, німецькі ради з етики схвалили дослідження з рекомендацією проводити посів та КОН на вихідному рівні для підтвердження діагнозу оніхомікозу та стежити за результатами прямого мікроскопічного дослідження КОН. Таким чином, бактеріологічний посів не вважався обов'язковим під час кожного візиту, а оцінка посіву використовувалася як вторинна кінцева точка, оскільки не завжди проводилася. У клінічній практиці мікроскопічне дослідження КОН є легшим, швидшим та дешевшим, та відомо, що культуральна оцінка дає багато хибнонегативних результатів через суб'єктивність у зборі зразків нігтів. Натомість КОН дає набагато менше хибнонегативних результатів, а «відсутність доказу не є доказом відсутності». Недоліком цього дослідження була відсутність еталонного засобу порівняння. З іншого боку, оскільки у відібраних пацієнтів спостерігалась стійкість до аморолфіну, не було доступного іншого терапевтичного варіанту, окрім циклопіроксу, а рандомізація частини пацієнтів у групу плацебо не була б належною з етичної точки зору. Аморолфін вважається ефективним засобом для лікування оніхомікозу, але наукові дані є суперечливими. Навіть комбінація місцевого аморолфіну та перорального тербінафіну дала суперечливі результати щодо користі для пацієнта. Незважаючи на те, що аморолфін є потужним протигрибковим засобом у дослідженнях *in vitro*, він демонструє дуже слабе проникнення у нігтьову пластину як у моделях *in vitro*, так і в дослідженнях *in vivo* на здорових добровольцях, а також повідомлялося про високий відсоток неефективності (навіть якщо він недооцінений) у єдиному доступному плацебо-контрольованому рандомізованому дослідженні. Згідно з терапевтичними діапазонами та загальною клінічною практикою, ці пацієнти після неефективного лікування повинні пройти інтенсивне лікування пероральним тербінафіном або ітраконазолом, незважаючи на перехресну резистентність між аморолфіном, тербінафіном та ітраконазолом, через подібні механізми дії, нещодавно описані в дослідженні *in vitro* (див. Додаток 29). Навпаки, циклопірокс не має потенціалу стійкості та не виявляє перехресної резистентності з мембранними інгібіторами біосинтезу ергостеролу, і вже продемонстрував статистично значущу клінічну ефективність при розробці за технологією гідроксипропілхітозану (P-3051). Це дослідження показало, що неефективне лікування аморолфіном 5%, а подальшим

Згідно з оригіналом
 Теремар
 For M.B. [Signature]



лікуванням Р-3051 протягом 24 тижнів, призвело до статистично та клінічно значущого високого рівня успіху. Ефект Р-3051 було виявлено з точки зору мікологічного вилікування (сукупна кінцева точка, що включає як конверсію результатів дослідження КОН на негативні, так і конверсію результатів посіву на негативні) у 60,7 % обмеженої проаналізованої популяції. Мікологічне вилікування є потужною незалежною кінцевою точкою для оцінки місцевого протигрибкового лікування та є більш ефективним, ніж оцінка лише посіву, оскільки позитивний результат дослідження КОН перевищує хибнонегативні результати посіву. Крім того, для Р-3051 після 24-тижневого лікування спостерігалось явне клінічне покращення стану цільового нігтя порівняно з вихідним рівнем.

Це дослідження натякає на те, що другий курс лікування Р-3051 при неефективності аморолфіну може бути корисним. Це буде перевагою для пацієнтів як з точки зору співвідношення витрати/користь, так і співвідношення користь/ризик.

Заявник (власник
реєстраційного
посвідчення)

Полікем С.А.

/Підпис/

Йорді Гальван [Gordi Galvan]

Керівник міжнародного рівня з питань медицини

Леренлад
ЗГІДНО З ОРИГІНАЛОМ

Тор Н.В.

