

アクレフ[®]口腔粘膜吸収剤 200 μ g

アクレフ[®]口腔粘膜吸収剤 400 μ g

アクレフ[®]口腔粘膜吸収剤 600 μ g

アクレフ[®]口腔粘膜吸収剤 800 μ g

(フェンタニルクエン酸塩製剤)

製造販売承認申請資料

第 2 部

2.4 非臨床試験の概括評価

田辺三菱製薬株式会社

目次

2.4 非臨床試験の概括評価	3
2.4.1 非臨床試験計画概略	3
2.4.1.1 薬理試験	3
2.4.1.2 薬物動態試験	5
2.4.1.3 毒性試験	8

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

TA-8317 は米国 Anesta 社（現 Cephalon 社の子会社）にて設計・開発された口腔粘膜吸収型フェンタニルクエン酸塩製剤であり、口腔内で溶解することにより、フェンタニルが口腔粘膜から速やかに吸収され、即効性かつ比較的短い持続の鎮痛作用が得られる。本剤は、1999 年に米国で発売されて以来、20 箇国で使用されている。一方、薬理活性本体であるフェンタニルはこれまで 40 年以上にわたり、欧米にて非経口の鎮静・鎮痛前投与薬、追加麻酔薬、単独の麻酔薬及び術後鎮痛薬として使用されてきた。本邦において、フェンタニルクエン酸塩は、注射用製剤であるフェンタネスト®（現：フェンタニル注射液）として 1972 年に発売され、日本薬局方に医薬品として収載されている。さらに、経皮吸収型フェンタニル製剤は慢性疼痛患者の治療薬として用いられており、本邦においてもがん疼痛治療薬として承認されている。

新投与経路製剤である本剤は、ヒトにおいては投与量の約 25%が口腔粘膜から、残りの約 75%は唾液と共に飲み込まれそのうちの約 1/3（約 25%）が消化管より吸収されることがすでに明らかになっている。このことから、口腔粘膜吸収後の薬物動態は静脈内投与時のものと類似、消化管吸収後のそれは経口投与時のものと同様と考えられる。また、口腔内粘膜に適用する特殊な投与経路で動物を用いた試験を行い毒性を検討することは実験技術の観点から困難である。そこで、本剤の毒性及び安全性薬理について、フェンタニルの静脈内投与、経口投与あるいは皮下投与等の他の投与経路による既存データを用いて評価することが妥当と考えた。さらに、本剤の薬物動態については、海外臨床試験において既にヒトでの検討がなされていることから、本邦での臨床試験を開始するにあたって、非臨床での薬物動態試験を実施する必要性は低いと考えた。従って、今回、TA-8317 の開発に際し、新たに動物を用いた試験を実施することなく、公知の研究成果のなかからの報告を中心に結果をまとめて示した。

2.4.1.1 薬理試験

TA-8317 は口腔粘膜吸収製剤であるが、本投与経路により動物を用いた試験を行うことは非常に困難である。従って、薬理作用については、本製剤の速やかな血中濃度の上昇を考慮して、静脈内、皮下あるいは腹腔内投与による試験について、新たに動物を用いた薬理試験を実施することなく、公知の研究成果のなかから、フェンタニルの作用メカニズムを検証した試験、鎮痛作用を検証した試験、耐性発現を検討した試験、さらに安全性薬理試験（非 GLP の一般薬理試験）の ICH ガイドライン S7A コアバッテリーに相当する中枢神経系、心血管系、呼吸器系ならびに消化器系に関連する情報について、その結果をまとめて示した。

1) 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験として、 μ オピオイド受容体リガンド結合実験において、ラット前脳膜標本を用いた $[^3\text{H}]$ 標識フェンタニルの結合を検討した結果、フェンタニルには K_D 値が 0.46 nmol/L の高親和性部分と、4.26 nmol/L の低親和性部分の結合部位が存在することが推定され

ている。モルモット全脳膜標本においては、フェンタニルのオピオイド μ , δ 及び κ 受容体選択的リガンドに対する K_i 値は、それぞれ 1.2 ± 0.2 , 180 ± 18 , 290 ± 24 nmol/L で、 μ 受容体に対して高い親和性を示した。これら受容体結合試験の結果、フェンタニルが μ 受容体に選択的に作用する化合物であることが明らかにされている。

鎮痛作用について検討した各報告によると、フェンタニルの化学刺激、熱刺激、機械刺激、電気刺激などによる各種侵害受容性疼痛に対する作用について、マウス、ウサギ、イヌ及びサルを用いて検討されている。フェンタニルの作用を皮下投与で検討したマウス酢酸 writhing 試験において、フェンタニルは $11.5 \mu\text{g/kg}$ の ED_{50} 値を示した。この評価系におけるモルヒネの ED_{50} 値は $724 \mu\text{g/kg}$ であった。マウス tail-immersion 試験において、皮下投与したフェンタニルは $94 \mu\text{g/kg}$ 、モルヒネは $3860 \mu\text{g/kg}$ の ED_{50} 値を示した。静脈内投与で検討したマウス hot-plate 試験において、フェンタニルは 0.016 mg/kg 、モルヒネは 7.3 mg/kg の ED_{50} 値を示した。ウサギ歯髄刺激試験においては、フェンタニルは $7.4 \mu\text{g/kg}$ 、モルヒネは $1100 \mu\text{g/kg}$ の ED_{50} 値を示した。イヌ tail-clamp 試験においても、フェンタニルは、5 分間隔の漸増静脈内投与(投与総量：20 分で $167.5 \mu\text{g/kg}$)で、心拍数の増加が有意に抑制し、体性痛を示す行動も消失させている。サルを用いた tail-flick 試験においても、静脈内投与したフェンタニルは $4 \mu\text{g/kg}$ 以上の用量で熱刺激に対する回避反応潜時を延長させた。以上の結果から、フェンタニルは化学刺激、熱刺激、電気刺激及び機械刺激による侵害受容性疼痛に対して鎮痛効果を示すことが確認されている。

フェンタニルの耐性の発現については、ラットを用いた検討が報告されている。腹腔内投与で検討したラット尾浸水試験ではフェンタニル初回投与後には対照群の 360%にまで逃避反応時間を延長させたが、この効果は投与回数を重ねると減弱していき 10 日後にはその反応に有意差が見られなくなった。皮下投与で検討したラット tail-flick 試験においても、モルヒネを 0.8 mg/kg/hr で 7 日間投与した後にフェンタニルを投与した際に耐性の発現が認められている。これら結果から、フェンタニルの大量反復投与により鎮痛効果に耐性が発現する可能性を示唆する試験結果が得られている。

これらの試験結果から、フェンタニルの薬理作用は、ほとんどがモルヒネと同様の作用であり、オピオイド μ 受容体刺激作用に基づくと考えられる。

2) 安全性薬理試験（非 GLP の一般薬理試験）

安全性薬理については、フェンタニルの中枢神経系、心血管系、呼吸器系及び消化器系に対する影響をマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサル等を用いて検討している。

中枢神経系に対しては、マウスへのフェンタニルクエン酸塩の皮下投与により自発運動量亢進、旋回、挙尾及び筋緊張亢進、接触に対する反応性亢進、呼吸抑制、間代性痙攣等みられ、概ねモルヒネと同様の症状変化を示している。

心血管系に対しては、フェンタニルクエン酸塩は、 $0.0946 \mu\text{mol/L}$ 以上の濃度でイヌプルキンエ線維の活動電位持続時間を延長し、 IC_{50} 値： $1.8 \mu\text{mol/L}$ で hERG 電流を抑制した。また、麻酔下のイヌにおいては、フェンタニル又はフェンタニルクエン酸塩の 0.0025 mg/kg 以上の静

脈内投与により、降圧及び心拍数減少を示し、0.01 mg/kg 以上で心電図 PQ/PR 間隔の延長を示した。さらに、心機能に対して 0.0025～0.01 mg/kg の用量で左心室内圧最大変化率 (LVdp/dt_{max}) 及び冠静脈洞血流量を用量依存的に増加させたが、0.01 又は 0.02 mg/kg 以上の用量では心筋酸素消費量、冠静脈洞血流量等を減少させた。なお、フェンタニル（フェンタニルクエン酸塩）の降圧、心拍数減少、PR 間隔延長作用及び心機能に対する作用はオピオイド拮抗薬ナロキソンにより拮抗、あるいはアトロピン又は迷走神経切断により消失又は減弱を示した。

呼吸器系に対しては、フェンタニル又はフェンタニルクエン酸塩は、イヌ、ウサギ、ラット及びサルへの 0.002 mg/kg 以上静脈内投与で呼吸抑制作用がみられ、その作用はイヌでフェンタニルの血漿中濃度及び脳脊髄液中濃度と高い相関性を示すとともに、オピオイド拮抗薬のナロルフィンにより拮抗された。

消化器系に対しては、フェンタニル又はフェンタニルクエン酸塩は、モルヒネと同様にラットの小腸輸送能を抑制し、マウスで排便抑制作用を、イヌでは胃弛緩作用を示した。

以上、フェンタニルには中枢神経系、心血管系、呼吸器系ならびに消化器系に対してモルヒネに類似した作用が認められ、これらの作用は主にオピオイド μ 受容体刺激作用によると考えられた。

2.4.1.2 薬物動態試験

TA-8317 はフェンタニルクエン酸塩の口腔粘膜吸収型製剤であり、動物での本投与経路による薬物動態試験の報告は非常に少ないが、ヒトにおいては投与量の約 25% が口腔粘膜から、残りの約 75% は唾液と共に飲み込まれそのうちの約 1/3 (約 25%) が消化管より吸収されることがすでに明らかになっている。また、麻酔イヌを用いた実験からフェンタニルの口腔粘膜からの吸収は速やかであり、その後の消失速度は静脈内投与と差はみられず、口腔粘膜組織での滞留、吸着、代謝はほとんどないことが報告されている。したがって、口腔粘膜吸収後の薬物動態は静脈内投与による試験結果を外挿できると判断し、公知の研究成果の中から、その結果を中心にまとめて示した。

1) 吸収

麻酔イヌに pH6.6～7.7 のフェンタニルクエン酸溶液を口腔粘膜投与した時、いずれの pH においても血漿中フェンタニル濃度は投与後 10 分以内に T_{max} に達し、その後速やかに低下した。終末相の t_{1/2} は、いずれの pH においても 196～205 分で、静脈内投与時 (244 分) と差がなかった。C_{max}、バイオアベイラビリティ及び粘膜透過係数は、フェンタニル投与溶液の pH の上昇に伴い増加した。

雄性及び雌性ラットにフェンタニルを単回静脈内投与した時、t_{1/2} はそれぞれ 0.84 及び 0.93 時間で、いずれにおいても速やかに消失した。V_d はそれぞれ 2.98 及び 3.98 L/kg であり、広く組織に分布していることが示唆された。また、AUC_{0-∞}、CL 及び V_d などの薬物動態パラメータの性差はなかった。ラットに ³H-フェンタニルを単回静脈内投与した時、血漿中におい

て代謝物は投与後すぐに検出された。雄性イヌにフェンタニルを単回静脈内投与した時、終末相の $t_{1/2}$ は 3.925 時間、 $AUC_{0-\infty}$ は 47.5 ng·hr/mL であった。CL 及び Vd はそれぞれ 2.155 L/hr/kg 及び 12.281 L/kg であり、ラットと同様に広く組織に分布していることが示唆された。また、イヌに ^3H -フェンタニルを 6.4~640 $\mu\text{g/kg}$ の投与量範囲で単回静脈内投与した時、フェンタニルの血漿中濃度は用量依存的に上昇し、Vd 及び CL に変化はみられなかった。また、ラットと同様に血漿中において代謝物は投与後速やかに検出された。

雄性ラット及び雄性イヌにフェンタニルを 0.01~0.2 mg/kg 又は 0.01~0.3 mg/kg の投与量範囲で単回皮下投与した時、いずれの動物種においても血漿中フェンタニル濃度は投与後 1 時間までに T_{max} に達した。 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は、ラットにおいては用量に依存して増加し、イヌにおいては用量比以上に増加する傾向が認められた。バイオアベイラビリティは 74.2% 及び 77.4% であった。雌性ラットにフェンタニルを単回皮下投与した時、投与後 1 及び 2 時間の血漿中フェンタニル濃度、 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は雄性ラットに比べて有意に低く、消失は遅延する傾向が認められた。

ラットに ^3H -フェンタニルを単回経口投与した時のバイオアベイラビリティは約 1.5% であった。

2) 分布

雄性ラットに ^3H -フェンタニルを単回静脈内投与したときの各組織内フェンタニル濃度について検討したところ、脳、心臓及び肺では投与後 1.5 分で血漿と平衡に達し、その後は血漿中濃度と同じ速度で低下した。一方、筋肉と脂肪への分布速度は遅く、血漿と平衡に達したのは投与後 120 分であり、平衡に達した後の組織中濃度／血漿中濃度比は筋肉で 2~4、脂肪では約 35 であった。

雄性ラットに ^3H -フェンタニルを単回皮下投与した時、フェンタニルの全身循環から組織への移行は速やかであった。投与後 1 時間における放射能濃度はハーパー腺、肝臓、腎臓、顎下腺、膵臓、下垂体、胃、副腎、肺、小腸、骨髄、脾臓の順に高く、これらの組織はいずれも同時点における血漿中放射能濃度の 5 倍以上の高値を示した。一方、血液、眼球、大脳、小脳、筋肉及び延髄では血漿と同程度の放射能濃度を示した。各組織中の放射能濃度は血漿中放射能濃度と同程度かより速やかに低下した。

イヌに ^3H -フェンタニルを単回静脈内投与した時の脳脊髄液 (CSF) 中のフェンタニル濃度は速やかに上昇し、投与後 2.5~10 分に C_{max} に達した。その後は血漿中と同じ速度で消失した。CSF 中のフェンタニル濃度は血漿中の約 46% であった。

野生型マウス及び P-gp 欠損 [*mdr1a* (-/-)]マウスの *in situ* 脳灌流モデルを用いて、フェンタニルの脳移行性について検討したところ、フェンタニルの脳への移行が P-gp 欠損マウスでは野生型マウスより 24% 上昇した。このことから、脳への移行には P-gp が関与している可能性が考えられた。

妊娠ヒツジにフェンタニルを単回静脈内投与した時、胎児の血漿中フェンタニル濃度は投与後 5 分に T_{max} に達し、速やかに胎児血漿中に移行することが明らかとなった。また、投与後

5～60 分での母体／胎児血漿中濃度比は約 2.5 であった。

フェンタニルの血漿蛋白結合率は、ラットで 83.4%，イヌで 78.2%，ヒトで 84.4%，また、血球移行率はラットで 30.6%，イヌで 44.8%，ヒトで 39.5%であり、いずれも種差はないと考えられた。

3) 代謝

ラット、イヌ及びヒトにおける代謝物として、M1～M10 が報告されており、フェンタニルの推定代謝経路を薬物動態試験概要表 2.6.5.13 に示す。

雄性ラット及び雄性イヌに、³H-フェンタニルを単回皮下投与した時、血漿中には雄性ラットでは未変化体、代謝物 M4、M2 及び M5 が確認され、雄性イヌでは未変化体、代謝物 M4、M2 及び M3 が確認された。一方、尿中には、雄性ラットでは未変化体、代謝物 M4 及び M5 と、代謝物 M4 及び M3 のグルクロン酸あるいは硫酸抱合された代謝物の存在も確認された。雄性イヌの尿中には未変化体、代謝物 M4、M5 及び M3 が認められ、代謝物 M4、M3 及び M2 の抱合代謝物の存在も確認された。また、雄性ラットの糞中には未変化体、代謝物 M4 及び M3 が認められたが、いずれも投与量の 2%以下であった。糞中には代謝物 M5、M3、M4 及び未変化体の抱合代謝物の存在も確認された。雄性イヌの糞中には未変化体、代謝物 M5、M4、M1 及び M2 が認められ、未変化体及び代謝物 M4 の抱合代謝物の存在も確認された。胆汁中には、雄性ラットにおいて代謝物 M4、M3 及び M6 が認められ、代謝物 M4、M3、M5、M2 及び未変化体の抱合代謝物の存在も確認された。

雄性イヌに、³H-フェンタニルを単回静脈内投与した時、皮下投与時にみられなかった代謝物として、血漿中に M5、糞中に M3 の抱合代謝物が確認された。また、糞中に M2 及び M2 の抱合代謝物、尿中に M5 の抱合代謝物が検出されなかったが、皮下投与時とほぼ同等の代謝物が生成することが確認された。

ラットの肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝実験から、主代謝経路は、CYP3A1/2 による薬理活性のない M4 への経路であることが確認された。さらに、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝実験においても、主代謝経路は CYP3A4 による M4 への代謝であることが確認されており、主代謝経路に種差はないと考えられた。また、ヒト十二指腸ミクロソームにおいても CYP3A4 による M4 への代謝が確認されている。

4) 排泄

雄性ラット及び雄性イヌにフェンタニルを単回皮下投与後 168 時間までの尿及び糞中への累積排泄率は、雄性ラットでは 65.9 及び 33.7%，雄性イヌでは 40.9 及び 52.2%であった。雄性ラットにおいては投与後 48 時間まで、雄性イヌにおいては投与後 72 時間までに尿及び糞中排泄量のほとんどが排泄された。また、胆管カニューレションラットの十二指腸内に、皮下投与後にプールした胆汁を投与した時、投与後 48 時間までの尿、糞及び胆汁への累積排泄率は、21.0、17.9%及び 52.7%であり、皮下投与後の再吸収率は約 73%と見積もられ、腸肝循環の可能性が示唆された。

また、雄性イヌにフェンタニルを単回静脈内投与後 168 時間までの尿及び糞中への累積排泄率は、43.9 及び 53.2%であったことから、単回皮下投与時との差はみられなかった。

哺育中ラットに ^3H -フェンタニルを単回皮下投与した時の乳汁中放射能濃度／血漿中放射能濃度比は 1.38～4.27 であり、フェンタニルは乳汁中へ移行しやすいと考えられた。

2.4.1.3 毒性試験

本剤の投与経路により動物で毒性試験を行うことは非常に困難であるが、2.6.6.1 項に記載した通り、口腔粘膜投与は、静脈内投与時と類似した血中濃度の上昇がみられ、Tmax 及び Cmax は皮下投与時と同程度であり、 $t_{1/2}$ は静脈内及び経皮投与時の値に近似している。したがって、本剤の短時間高暴露での安全性は静脈内及び皮下投与のデータで、持続暴露での安全性は経皮投与などのデータで評価が可能であると判断し、新たな毒性試験は実施せずに、公表論文のデータから評価を行った。

1) 単回投与毒性：

マウスにおける LD₅₀ は、フェンタニルクエン酸塩が皮下投与で 62～165 mg/kg、静脈内投与で 10.1～11.2 mg/kg、経口投与で 368～394 mg/kg であり、フェンタニルが皮下投与で 70 mg/kg、静脈内投与で 13 mg/kg、経口投与で 120 mg/kg であった。また、ラットにおける LD₅₀ はフェンタニルクエン酸塩が皮下投与で 5.46～5.51 mg/kg、静脈内投与で 0.99～1.10 mg/kg、経口投与で 68.9～69.7 mg/kg であり、フェンタニルが皮下投与で 9.5～12 mg/kg、静脈内投与で 2.3～6 mg/kg、経口投与で 18 mg/kg であった。さらに、イヌにおけるフェンタニルの LD₅₀ は皮下投与で 1.2 mg/kg、静脈内投与で 14.9 mg/kg、筋肉内投与で 30～40 mg/kg であった。

2) 反復投与毒性：

ラットを用いた反復投与毒性試験として、フェンタニルの 14 日間反復混餌投与試験、30 日間反復静脈内投与試験及び 30 日間反復筋肉内投与試験が実施されている。14 日間反復混餌投与毒性試験（5～320 mg/kg/日）では 10 mg/kg 以上の群に死亡がみられ、40 mg/kg 以上の群の生存例に血尿及び下痢などの症状がみられた。また、30 日間反復静脈内投与毒性試験（0.01～0.1 mg/kg/日）では 0.02 mg/kg 以上の群に死亡がみられたが、生存例に外観異常はなかった。さらに、30 日間反復筋肉内投与毒性試験（0.1 及び 0.4 mg/kg/日）ではすべての投薬群で死亡がみられたが、器官重量、剖検及び病理組織学的検査で被験物質に起因した変化はなかった。したがって、ラットにおける 14 日間反復混餌投与毒性試験、30 日間反復静脈内投与毒性試験及び 30 日間反復筋肉内投与毒性試験における無毒性量は、それぞれ 5 mg/kg/日、0.01 mg/kg/日及び 0.1 mg/kg/日未満であった。

ウサギを用いた反復投与毒性試験として、フェンタニルの 28 日間反復経皮投与（0.7 mg/kg/日）及び 90 日間反復経皮投与（0.66 mg/kg/日）の各試験が実施されているが、被験物質に起因した毒性発現は認められなかったことから、無毒性量はそれぞれ 0.7 mg/kg/日及び 0.66 mg/kg/日であった。

イヌを用いた反復投与毒性試験として、フェンタニルの 30 日間反復筋肉内投与試験及び 30 日間反復静脈内投与試験が実施されている。30 日間反復筋肉内投与毒性試験（0.1 及び 0.4 mg/kg/日）ではすべての投薬群で体重増加抑制あるいは体重減少、ヘモグロビン濃度の増加及び白血球数の減少が認められた。また、30 日間反復静脈内投与毒性試験（0.1～1.0 mg/kg/日）ではすべての投薬群で鎮静及び痙攣の発現ならびに脾臓及び生殖器系臓器重量の減少が認められた。したがって、イヌにおける 30 日間反復筋肉内投与毒性試験及び 30 日間反復静脈内投与毒性試験における無毒性量は、ともに 0.1 mg/kg/日未満であった。

3) 遺伝毒性及びがん原性：

遺伝毒性試験として、フェンタニルクエン酸塩の細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験及びマウス骨髄小核試験が実施されており、結果はいずれも陰性であった。また、発がん性のリスクが示唆されるような構造活性相関がなく、反復投与毒性試験において前がん病変を疑わせる変化はみられなかった。したがって、本剤の臨床使用時のがん原性リスクは低いものと考えられ、本剤の対象患者やその適用形態を考えると、がん原性試験は不要であると考ええる。

4) 生殖発生毒性：

ラットを用いた生殖発生毒性試験として、フェンタニルクエン酸塩を雌ラットの交配前 2 週間及び妊娠期間中を通じて皮下持続投与した試験及び妊娠 7～21 日に皮下持続投与した試験ならびにフェンタニルを妊娠 6～18 日に静脈内投与した試験が実施されている。交配前・妊娠期間中の皮下持続投与試験（10～500 µg/kg/日）及び妊娠 7～21 日の皮下持続投与試験（500 µg/kg/日）では投薬の影響はなく、無毒性量は 500 µg/kg/日であった。一方、妊娠 6～18 日の静脈内投与試験（0.01 及び 0.03 mg/kg/日）では、0.03 mg/kg 群で吸収胚数や出生児死亡数の増加がみられたことから、胚・胎児発生に対する無毒性量は 0.01 mg/kg/日であった。

5) 局所刺激性：

本剤（製剤）のイヌを用いた製剤同等性評価試験で口腔粘膜への刺激性を評価しているが、明らかな刺激性はみられておらず、また、反復投与毒性試験でもフェンタニルの静脈内、筋肉内及び経皮の各投与で、投与局所に刺激性があるとの報告はみられないことから、本剤が投与部位に対して刺激性を示す可能性は低いと考えられる。

6) その他の毒性：

本剤に使用されている新添加物（デキストレイト、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム及び ABS 樹脂）については、個々成分の使用実績あるいは動物試験の結果から、臨床使用にあたって安全性に問題はないものと判断した。