第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名：	**チオトロピウム臭化物水和物+オロダテロール塩酸塩**
剤形・含量：	吸入剤（配合剤）・1 噴霧中チオトロピウム+オロダテロール 2.5 μg/ 2.5 μg
文書名：	2.4 非臨床試験の概括評価
文書作成日：	10 June 2015

Proprietary confidential information
© 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 2
略号及び用語の定義一覧 4
1. 非臨床試験計画概略 6
2. 薬理試験 9
2.1 効力を裏付ける試験 9
2.2 副次的薬理試験 9
2.3 安全性薬理試験 10
2.4 薬力学的薬物相互作用試験 10
3. 薬物動態 11
3.1 吸収 11
3.1.1 オロダテロールの吸収 11
3.1.1.1 *In vitro* 吸収 12
3.1.1.2 *In vivo* 吸収 12
3.1.2 チオトロピウム＋オロダテロール併用時の吸収 13
3.2 分布 13
3.2.1 血液及び組織分布 13
3.2.2 血漿蛋白結合 13
3.2.3 胎盤通過 14
3.3 代謝 14
3.3.1 *In vitro* 代謝 14
3.3.2 *In vivo* 代謝 14
3.3.3 酵素誘導及び阻害 16
3.4 排泄 17
3.5 薬物動態学的薬物相互作用 18
3.5.1 *In vitro* でのチオトロピウムとオロダテロールの代謝的相互作用 18
3.5.2 *In vivo* でのチオトロピウムとオロダテロールの薬物動態学的相互作用 19
3.6 その他の薬物動態試験 19
4. 毒性 20
4.1 単回投与毒性試験 20
4.2 反復投与毒性試験 21
4.2.1 マウス反復吸入投与毒性試験 21
4.2.2 ラット反復吸入投与毒性試験 22
4.2.3 イヌ反復吸入投与毒性試験 23
4.3 遺伝毒性試験 24
4.4 がん原性試験 25
4.5 生殖発生毒性試験 26
4.5.1 吸入投与によるラット受胎能及び初期胚発生毒性試験 26
4.5.2 吸入投与によるラット胚・胎児発生毒性試験 27

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.5.3 吸入投与によるウサギ胚・胎児発生毒性試験 27
4.5.4 吸入投与によるラット出生前・出生後発生及び母体機能毒性試験 28
4.6 局所刺激性試験 28
4.7 その他の毒性試験 29
4.7.1 抗原性試験 29
4.7.2 免疫毒性試験 29
4.7.3 依存性試験 29
4.7.4 代謝物の毒性試験 29
4.7.5 光毒性試験 29
4.7.6 幼若動物を用いた毒性試験 30
4.7.7 併用投与試験 30
4.7.8 不純物，分解生成物及び包装材料 31
4.7.8.1 原薬 31
4.7.8.2 製剤 31
4.7.8.2.1 有効成分分解生成物 31
4.7.8.2.2 添加物 31
4.7.8.2.3 異物 32
4.7.8.2.4 カートリッジ及びレスピマットの構成- 32
4.8 安全域 33
5. 総括及び結論 34

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

略号及び用語の定義一覧

略語	英語	日本語
[redacted]	[redacted]	[redacted]
ACh	Acetylcholine	アセチルコリン
ACTH	Adrenocorticotropic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
ADI	acceptable daily intake	1 日摂取許容量
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
API	Active pharmaceutical ingredient	医薬品有効成分
APTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AtoB	apical-to-basal	頂端膜側から基底膜側
AUC_{tm-tn}	Area under the plasma/blood/tissue concentration-time curve from time tm to time tn	時間 tm から時間 tn までの血漿中／血中／組織中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{tm-tn, ss}$	Area under the plasma/blood/tissue concentration-time curve from time tm to time tn at steady state	定常状態における時間 tm から時間 tn までの血漿中／血中／組織中濃度－時間曲線下面積
β_2	Beta-2	ベータ 2
分解生成物I*	Degradation product of tiotropium	チオトロピウムの分解生成物
BA 679	Company code of tiotropium (= active moiety of drug substance)	チオトロピウム（=原薬の活性部分）の開発コード
BAC	Benzalkonium chloride	塩化ベンザルコニウム
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BI	Boehringer Ingelheim	ベーリンガーインゲルハイム
分解生成物II*	Degradation product of tiotropium	チオトロピウムの分解生成物
BI 1744	Company code of olodaterol (= active moiety of drug substance)	オロダテロール（=原薬の活性部分）の開発コード
開発コードF*	Ciclesonide	シクレソニド
BtoA	basal-to-apical	基底膜側から頂端膜側
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
Caco-2	human colon carcinoma cell line	ヒト結腸癌由来細胞株
C_C/C_P	concentration ratio of drug-related radioactivity between blood cells (C_C) and plasma (C_P)	血球／血漿中放射能濃度比
CD 10915	metabolite M551(2) of olodaterol, isomer of SOM 1522-glucuronide (isomer 2)	オロダテロール代謝物 M551(2)，SOM1522 グルクロン酸抱合体（同位体 2）
CD 11249	metabolite M551(1) of olodaterol, isomer of SOM 1522-glucuronide (isomer 1)	オロダテロール代謝物 M551(1)，SOM1522 グルクロン酸抱合体（同位体 1）
CD 12656	metabolite M455(1) of olodaterol, metabolite of olodaterol formed by demethylation of the methoxy-moiety of olodaterol and phase II sulfation	オロダテロール代謝物 M455(1)，オロダテロールのメトキシ分子脱メチル化により生ずるオロダテロール代謝物（SOM1522）の硫酸抱合体（第 II 相代謝物）
CD 1857	Active metabolite of開発コードF*	開発コードF*　の活性代謝物
CD 992	metabolite M565(1) of olodaterol formed by phase II glucuronidation of the 6-hydroxy-benzoxazine-moiety of olodaterol	オロダテロール代謝物 M565(1)，オロダテロールの 6-hydroxy-Benzoxazine 基へのグルクロン酸抱合体
CK	Creatinkinase	クレアチンキナーゼ
CK-MB	Isoenzyme of creatinkinase released mainly from cardiac muscle	心筋由来のクレアチンキナーゼのアイソザイム
CL	Hydrochloride	塩酸塩
C_{max}	Maximum concentration of analyte in plasma/blood/tissue	分析対象物質の最高血漿中／血中／組織中濃度
$C_{max,ss}$	Maximum concentration of analyte in	定常状態における分析対象物質の最高血漿中

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

	plasma/blood/tissue at steady state	／血中／組織中濃度
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease	慢性閉塞性肺疾患
cTnI	Cardiac troponin I	心筋トロポニン I
EC_{50}	Concentration to induce 50% efficacy	50%有効濃度
ECG	Electrocardiogram	心電図
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
FDA	Food & Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease	慢性閉塞性肺疾患のためのグローバルイニシアティブ
h	Hour(s)	時間
HR	Heart rate	心拍数
ICH	International Conference of Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
i h.	Inhalation	吸入
INN	International non-proprietary name	国際一般名
LABA	Long acting β-agonist	長時間作用性 β_2 刺激薬
LAMA	Long-acting muscarinic antagonist	長時間作用性抗コリン薬
MAA	Marketing authorization application	医薬品販売承認申請
MAT	mean absorption time of the analyte molecules	平均吸収時間
MEC	Molar extinction coefficient	モル吸光係数
min	Minute(s)	分
MRT	mean residence time of the analyte molecules in the body	平均滞留時間
Na-EDTA	Sodium ethylenediaminetetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩
NALT	Nasal associated lymphoid tissue	鼻腔関連リンパ組織
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
P-gp	P-glycoprotein (synonymous to MDR1)	P-糖蛋白質（MDR1 と同義語）
pM	Given as [pmol/L] in reports	報告書には［pmol/L］と表示されている
pM·h	Given as [pmol/L·h] in reports	報告書には［pmol/L·h］と表示されている
pH	Measure of acidity or basicity of an aqueous solution	水溶液の酸性度又は塩基性度の指標
PQRI	Product Quality Research Institute	Product Quality Research Institute
PR	P-R interval	PR 間隔
QT	Time between the start of the Q wave and the end of the T wave (ECG)	心電図における Q 波開始から T 波終了までの時間
QTc	QT correction for heart rate	心拍数で補正した QT 間隔
RR	R-R interval	心電図の RR 間隔
SOM 1522	M375(1), metabolite of olodaterol	M375(1)，オロダテロールの代謝物
SULT	sulfotransferase	硫酸転移酵素
$t_{1/2}$	terminal half-life	終末半減期
t_{max}	time to reach C_{max}	最高血漿中濃度到達時間
TTC	Threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
V_{ss}	apparent volume of distribution at steady state after intravenous administration	静脈内投与後の定常状態における見かけの分布容積
WHO	World Health Organization	世界保健機関

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 非臨床試験計画概略

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は主として喫煙者にみられる疾患であり，喫煙者のうち臨床上問題となる気道閉塞を発症するのは約 10%のみであるが，全症例の 90%が喫煙によるものである。COPD は完全には回復しない進行性の気流制限及び呼吸困難を特徴とする疾患であり，長い年月をかけて発症し，最終的には日常生活活動が制限され，重大な障害及び健康に関する生活の質の低下に至る［CTD4.3-1_P95-3225］。気流制限は種々の細胞（特にマクロファージや好中球）が関与する慢性炎症反応と関連している。

COPD 治療には禁煙が有効であるが，薬物療法も重要な役割を果たす。国際的治療ガイドラインではいずれも基礎となる管理薬として気管支拡張薬を挙げている（Standards for the Diagnosis and Management of Patients with COPD［米国胸部学会／欧州呼吸器学会］［CTD4.3-2_P07-11493］及び慢性閉塞性肺疾患の診断，治療，予防に関するグローバルストラテジー［慢性閉塞性肺疾患のためのグローバルイニシアティブ：GOLD］［CTD4.3-3_P14-01052］）。現在使用されている吸入気管支拡張薬は β_2 刺激薬及び抗コリン薬の 2 種類である。治療ガイドラインによると，重症患者に対しては最良の効果を得るためにこれら 2 種類の薬物を併用する。

本医薬品販売承認申請（MAA）の対象であるチオトロピウム+オロダテロール配合剤レスピマット吸入液の医薬品有効成分（API）は，チオトロピウム（INN : tiotropium bromide，開発コード：BA 679）及びオロダテロール（INN：olodaterol，開発コード：BI 1744）である。

チオトロピウムは抗コリン薬として知られ，長時間にわたりムスカリン受容体拮抗作用を示す。チオトロピウムはムスカリン受容体の M_1～M_5 サブタイプに同程度の親和性を示す。本薬は，気道平滑筋においては特に M_3 受容体を阻害することにより薬理作用を発揮し，気管支を拡張する。ヒト及び動物由来の受容体，並びに摘出した臓器標本において，チオトロピウムの拮抗作用が競合的かつ可逆的であることが示された。非臨床 *in vitro* 及び *in vivo* 試験において，アセチルコリン（ACh）誘発気管支収縮抑制作用は用量依存的であり，24 時間を超えて持続した。

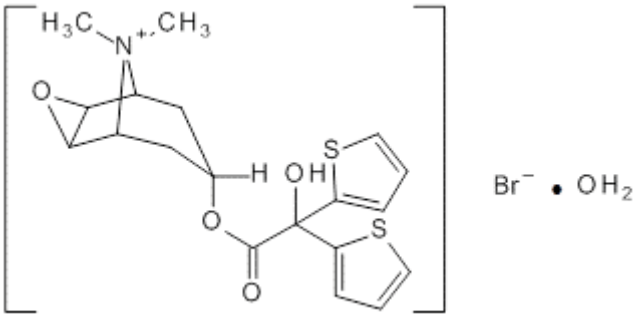


図 1: 1　　チオトロピウム臭化物水和物の化学構造

チオトロピウム臭化物水和物の化学名（JAN）は，(1α,2β,4β,5α,7β)-7-[(Hydroxydi-2-thienylacetyl) oxy]-9,9-dimethyl-3-oxa-9-azoniatricyclo [3.3.1.0 ^{2,4}] nonane bromide monohydrate である。分子式は $C_{19}H_{22}BrNO_4S_2 \cdot H_2O$ であり，分子量は 490.4 g/mol（一水和物），472.4 g/mol（無水物）又は 392.5 g/mol（チオトロピウムカチオン）である。チオトロピウムはジチエニルグリコール酸と *N*-メチルスコ

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ピンのエステルであることから，アトロピンに類似した第 4 級アンモニウム塩であり，図 1:1 にあるような構造を有する。

オロダテロールはヒト β_2 アドレナリン受容体に高い親和性及び高い選択性を示す。本薬を吸入投与すると，β_2 アドレナリン受容体への結合及びその活性化により薬理作用が発揮される。気道の β_2 アドレナリン受容体が活性化されると，細胞内アデニル酸シクラーゼが刺激され，この酵素により環状 3',5'アデノシン一リン酸（cAMP）が生成する。cAMP レベルの上昇により，気道平滑筋細胞が弛緩し，気管支拡張が誘発される。オロダテロールは，非臨床試験において，選択的な長時間作用性 β_2 刺激薬のプロファイルを示し，非臨床試験においては少なくとも 24 時間の作用の持続及び早い作用発現を示す。

オロダテロール塩酸塩の化学名（JAN）は，6-Hydroxy-8-((1*R*)-1-hydroxy-2-{[2-(4-methoxyphenyl)-1,1-dimethylethyl]amino}ethyl)-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-one monohydrochloride である。分子式は $C_{21}H_{26}N_2O_5$・HCl であり，分子量は 422.9 g/mol（塩酸塩）又は 386.5 g/mol（遊離塩基）である。

オロダテロール塩酸塩はベンゾオキサジノンの置換誘導体であり，以下の構造を有する：

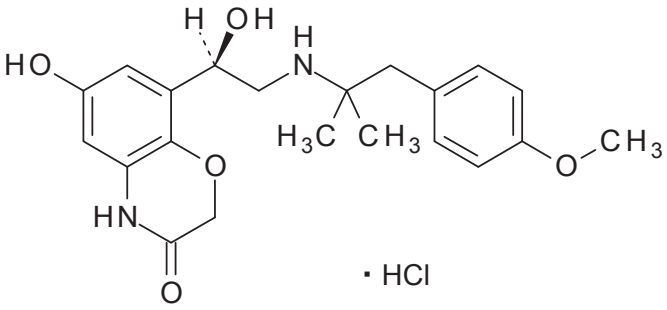


図 1: 2　　オロダテロール塩酸塩の化学構造

チオトロピウム単剤の薬理，薬物動態及び毒性に関する特性は，非臨床薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験の完全なプログラムで検討した（チオトロピウムの承認申請資料参照）。本非臨床試験の概括評価には，オロダテロール単剤及びチオトロピウム+オロダテロールを併用して実施した試験について記載する。なお，本資料中では，チオトロピウムとオロダテロールを併用した場合はチオトロピウム+オロダテロールと表記している。また，本資料中の用量又は濃度は，特に明記しない限り，有効成分であるチオトロピウム及びオロダテロールのそれぞれの値を表す。各々の薬物単剤に関する概要データは，薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験の各概要文に記載する。

麻酔イヌ及びモルモットの ACh 誘発気管支収縮モデルを用いて，チオトロピウム+オロダテロールの気管支収縮抑制作用の有効性及び持続性を検討した。チオトロピウム+オロダテロールの神経，肺及び心血管への影響の有無を検討する副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した。チオトロピウム+オロダテロールの非臨床安全性試験における全身曝露量の妥当性を確認し，チオトロピウムとオロダテロールの薬物動態学的相互作用の有無を検討するため，薬物動態試験，毒性試験及び *in vitro* 代謝試験を実施した。チオトロピウム+オロダテロールによる毒性作用の有無について，「Guidance for Industry: nonclinical safety evaluation of drug or biologic combinations」（FDA

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

CDER 2006）［CTD4.3-6_R12-5450］及び「Guideline on the non-clinical development of fixed combinations of medicinal products」（EMEA 2008）［CTD4.3-7_R11-2414］に従った非臨床安全性プログラムにおいて，ヒトで予定されている吸入投与経路を用いて詳細に検討した。本プログラムには，様々な用量比で実施されているげっ歯類を用いた単回投与毒性試験，並びにラット（4 週間）及びイヌ（最長 13 週間）を用いた反復投与毒性試験が含まれる。

本 MAA の対象製剤は 5 μg+5 μg のチオトロピウム+オロダテロールであるため，本資料には 1:1 の用量比を用いた非臨床安全性試験のみを記載する。その他の用量比（1:6，2:1，2.5:1 又は 1:2）を用いたチオトロピウム+オロダテロールの試験については，2.6 項の各概要文に記載する。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

オロダテロールの作用発現，並びに作用の有効性及び持続性を検討するため，モルモット及びイヌの ACh 誘発性気管支収縮モデルにオロダテロールを単回吸入投与した。両動物種において，ACh によって誘発された気管支収縮はオロダテロールにより速やかに抑制され，その気管支収縮抑制作用は 24 時間後も認められた［CTD4.2.1.1-3_U[redacted]-2386，CTD4.2.1.1-1_U[redacted]-1553，CTD4.2.1.1-6_U[redacted]-1786, CTD4.2.1.1-4_n00173717］。

チオトロピウム+オロダテロールの作用発現，並びに作用の有効性及び持続性を検討するため，麻酔モルモット及びイヌの ACh 誘発性気管支収縮モデルを用いて以下の試験を行った。

モルモットにチオトロピウム 0.8 及び 2.4 µg/kg を気管内滴下投与したとき，投与 24 時間後において，検討したいずれの投与量の ACh に対しても完全な気管支収縮抑制作用が認められた。しかし，チオトロピウム 0.08 µg/kg では，投与 24 時間後には作用が認められなかった。オロダテロール 0.91 及び 2.7 µg/kg を投与したとき，投与 24 時間後において，10 µg/kg までの投与量で静脈内投与した ACh に対して強い気管支収縮抑制作用が認められた［CTD4.2.1.1-1_U[redacted]-1553］。チオトロピウム+オロダテロールの気管支収縮抑制作用を検討するため，投与 24 時間後に薬理作用を示さない投与量（チオトロピウム 0.08 µg/kg）のチオトロピウムと低用量のオロダテロールを併用した。チオトロピウムとオロダテロールを併用すると，投与 24 時間後の有効性が明らかに増加した。特に，0.08+0.27 µg/kg のチオトロピウム+オロダテロールにより，各薬物の単独投与時よりも有効性が顕著に増加した［CTD4.2.1.1-14_U[redacted]-2153］。

麻酔ビーグル犬にチオトロピウム 0.8 µg/匹を吸入投与したときの気管支収縮抑制作用のピーク（56%）は吸入 60 分後に認められ，投与 3 時間後には 40%まで緩やかに低下した。オロダテロール 2.7 µg/匹を投与したとき，早い作用発現が認められ，気管支収縮抑制作用のピーク（60%）は吸入 10 分後に認められた。チオトロピウム+オロダテロールを投与したときにも，早い作用発現及びより強い気管支収縮抑制作用が認められた。気管支収縮抑制作用のピーク（約 80%）は吸入後 10 分以内に認められ，吸入 3 時間後まで 73%で維持された［CTD4.2.1.1-12_n00173793］。別の試験において，オロダテロール 2.7 µg/匹による気管支収縮抑制作用は，吸入 12 時間後にほとんど認められなかったが，チオトロピウム 0.8 µg/匹と併用したときには，吸入 24 時間後においても 30%を超える気管支収縮抑制作用が維持されていた［CTD4.2.1.1-13_U[redacted]-2588］。

2.2 副次的薬理試験

麻酔イヌの ACh 誘発性気管支収縮モデルにオロダテロールを投与したときに，長時間作用性 β_2 刺激薬に典型的な，主に心血管系パラメータに関する 2 種類の所見（心拍数及び収縮力の増加，血圧の低下）が明らかになったが，対照薬として使ったホルモテロールフマル酸塩ほどそれらの所見は顕著ではなかった［CTD4.2.1.1-2_n00173373］。

麻酔イヌにチオトロピウム+オロダテロールを吸入投与したとき，心拍数（HR），血漿カリウム，血漿乳酸及び血漿グルコースの明らかな変化は認められなかった［CTD4.2.1.1-12_n00173793, CTD4.2.1.1-13_U[redacted]-2588］。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2.3 安全性薬理試験

チオトロピウム及びオロダテロールの hERG 試験以外のすべての安全性薬理試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守し，ICH S7A ガイドラインに従って実施した［CTD4.3-5_R10-1561］。

安全性薬理試験において，オロダテロール単剤では，予想外の所見が認められることはなかった。さらに，心電図（ECG）に関する異常所見は認められず，QTc 間隔及び ECG 波形に変化はみられなかった［CTD4.2.1.3-1_U[redacted]-1115，CTD4.2.1.3-3_U[redacted]-2401，CTD4.2.1.3-4_U[redacted]-1058，CTD4.2.1.3-5_U[redacted]-2001，CTD4.2.1.3-2_U[redacted]-2398］。

チオトロピウム+オロダテロールをラットに 1 日 1 回 4 週間吸入投与したときの行動，体温，運動性及び肺機能への影響を検討した［CTD4.2.3.2-8_U[redacted]-1892，CTD4.2.3.2-7_U[redacted]-1893］。抗コリン作用に起因すると考えられる一般状態の変化（散瞳，瞳孔反射の消失）を除き，行動変化及び生理学的変化は認められなかった。肺機能については，呼吸数が 24 時間にわたり低下するとともに，最初，投与中に分時換気量及び一回換気量が増加した後，最長 24 時間にわたり分時換気量が低下した。

覚醒ビーグル犬にチオトロピウム+オロダテロールを単回吸入投与したときの忍容性は良好であった［CTD4.2.1.3-7_U[redacted]-1898］。用量依存的な心拍数の増加が認められ，これに伴い，平均動脈圧の低下が認められた。心拍数増加に伴う RR 間隔の顕著な短縮により，未補正 QT 間隔が短縮した。心拍数が高いときの QTc の軽度延長は問題にならないと考えられる。チオトロピウム+オロダテロールは検討したいずれの投与量においても ECG 波形に有害な影響を及ぼさなかった。これらのデータはテレメーター装着イヌにオロダテロールを単独投与したときのデータと非常に一致していることから，上記の評価項目について，チオトロピウム+オロダテロールの相加的又は相乗的な作用はないと考えられる。

2.4 薬力学的薬物相互作用試験

イヌの ACh 誘発気管支収縮モデルにおいて，チオトロピウム，オロダテロール及び開発コードE*（シクレソニド）の作用を検討した［CTD4.2.1.4-2_n00145337］。オロダテロールをチオトロピウム及び開発コードE*と併用したとき，強力かつ相乗的な気管支収縮抑制作用が認められた。Konzett-Rößler の方法（改変）に従って作成した麻酔モルモットの卵白アルブミン誘発気管支収縮モデルにおいて，チオトロピウム+オロダテロール+開発コードE*の作用を検討した［CTD4.2.1.4-3_U[redacted]-1148］。本条件下において，これらの併用により強力かつ相乗的な気管支収縮抑制作用が認められた。観察された作用は，各薬物を単独投与したときの作用を合わせたものと比較して明らかに強かった。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. 薬物動態

3.1 吸収

チオトロピウムについては既提出申請資料に記載済であることから，オロダテロール及びチオトロピウム+オロダテロール併用時の吸収について以下に記載する。

3.1.1 オロダテロールの吸収

表 3.1.1: 1 オロダテロールを単回吸入，気管内，静脈内及び経口投与したときの血漿中未変化体濃度から算出した用量補正後の薬物動態パラメータの種間比較

		動物種	マウス	ラット		ウサギ	イヌ	ヒト[e)]
投与経路	パラメータ	単位	雄	雄及び雌		雌	雄及び雌	男性
吸入（気管内）	名目用量	µg/kg	200	200	155 気管内	-	60	1[i)]
	吸入時間	min	35	35	NA	ND	10	≤2
	C_{max} 用量補正値	pM/(µg/kg)	109[i)]	70.5[i)]	312[i)]	ND	37.8[i)]	94.7[i)]
	t_{max}（中央値）	h	0.583	0.583	0.333[i)]	ND	0.333[i)]	0.233
	$AUC_{0-\infty}$用量補正値	pM•h/(µg/kg)	334[i)]	235[i)]	601[i)]	ND	136[i)]	999[i)]
	MRT	h	3.65	7.1[i)]	4.28	ND	10.8[i)]	32.3
	$t_{1/2}$	h	5.69	6.6[i)]	5.44	ND	9.43[i)]	25.4[f)]
	MAT	h	0[a)]	2.67[i)]	0.12	ND	0[a)]	ND
	F	%	54.4[b)]	23.1[i)]	58.6	ND	9.2[i)]	約 51
静脈内	名目用量	µg/kg	155	155		301	30	0.21[i)]
	$AUC_{0-\infty}$用量補正値	pM•h/(µg/kg)	665[i)]	1026[i)]		2206[i)]	1720[i)]	1972[i)]
	MRT	h	3.79	4.16		7.75	11.2	13.4
	$t_{1/2}$	h	13.2	5.81		14.5	17.5	16.4
	CL	mL/min/kg	64.5	43.3		19.7	26.2	22.3[i)]
	V_{ss}	L/kg	14.7	10.7		9.12	17.6	17.9[i)]
経口	名目用量	µg/kg	155	155		301	100	0.57[i)]
	C_{max} 用量補正値	pM/(µg/kg)	3.97[i)]	2.77[i)]		0.233[i),d)]	22.8[i)]	16.6[i)]
	t_{max}（中央値）	h	1.0	1.25		0.750[i),d)]	0.5[i)]	0.875
	$AUC_{0-\infty}$用量補正値	pM•h/(µg/kg)	26.5[i)]	17.9[i)]		0.543[i),h)]	230[i)]	39.7[g),i)]
	MRT	h	3.99	6.48		NC[d)]	19.8	ND
	$t_{1/2}$	h	1.84[c)]	4.41		NC[d)]	17.6	ND
	MAT	h	0.2	2.32		NC[d)]	ND	ND
	F	%	4.0	1.74		0.03[d)]	13.1	約 2

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

この表に要約したデータは以下の報告書から引用した。
マウス（CTD 4.2.2.2-3_U[redacted]-1105，CTD 4.2.3.2-2_U[redacted]-1975），ラット（CTD 4.2.2.2-1_U[redacted]-2124，CTD 4.2.2.2-5_U[redacted]-1351），ウサギ（CTD 4.2.2.5-3_U[redacted]-1337），イヌ（CTD 4.2.2.5-2_U[redacted]-1739，CTD 4.2.2.2-6_U[redacted]-1592），ヒト（CTD 5.3.3.1-1_U06-1418，CTD 5.3.3.1-4_U08-1081，CTD 5.3.3.1-6_U08-1060）。
NA：該当せず，NC：計算せず，ND：測定せず
a）計算値が 0 未満の場合 0 とした（マウスは-0.14 h，イヌは-0.53 h）。
b）(66700 $AUC_{0-\infty i\,h}$ / 103000 $AUC_{0-\infty i\,v}$) × (400 nmol/kg / 476 nmol/kg) × 100 (%)
c）血漿中濃度が速やかに 25.0 pM 未満に低下したため，過小評価されている可能性がある。
d）誤投与があったため，経口投与群の動物 3 例中 1 例を除外した。
e）1 pg/mL=2.59 pM，体重 70 kg として，報告された算術平均データから計算した。
f）吸入投与後の限られた時間しか血漿中にオロダテロールが検出されなかったことから，終末相半減期を正確に表していない。定常状態条件からより正確な推定値が得られる。
g）$AUC_{0-\infty}$を算出することができなかったため，値は AUC_{0-tz} を示す。
h）誤投与動物 1 例を除外して算出した用量補正後の AUC_{0-24h} を示す。
i）報告されたデータから計算した。

3.1.1.1 *In vitro* 吸収

ヒト結腸がん由来細胞株 Caco-2［CTD 5.3.2.3-1_U[redacted]-3378］及びヒト多剤耐性蛋白質（MDR1）発現細胞株 LLC-PK1［CTD 5.3.2.3-2_U[redacted]-3424］を用いた *in vitro* 試験を実施し，オロダテロールの受動的膜透過性及び排出トランスポーターである P-糖蛋白質（P-gp）及び BCRP との相互作用の可能性について検討した。オロダテロールは中等度の受動的透過性を示し，P-gp 阻害剤を使用した試験において，オロダテロールが低親和性の P-gp 基質であることが明らかになった。BCRP を発現する MDCKII 細胞において，オロダテロール（20 μM）の両方向（基底膜側から頂端膜側（BtoA）及び頂端膜側から基底膜側（AtoB））の輸送は低くかつ差もないことから，オロダテロールは BCRP の基質ではないことが明らかになった［CTD 5.3.2.3-5_U[redacted]-1586］。

3.1.1.2 *In vivo* 吸収

オロダテロールを吸入，気管内，静脈内及び経口経路により単回及び反復投与したとき，すべての動物種で十分な全身曝露が認められた。単回投与後の薬物動態パラメータを表 3.1.1: 1t31 に要約して示す。オロダテロールの吸収及びバイオアベイラビリティは投与経路に大きく左右され，また種差が認められた。ラットに気管内投与したときの放射能でみた吸収率は高かった（64.8～70.4%）。経口投与後の吸収率は低く，わずか 7%であったことから，ラットに経口投与したときの吸収は不完全であることが示唆された。また，ウサギでの経口投与後の吸収率は低かった（13.5%）が，イヌでは中等度であった（40.5%）。吸入投与後のバイオアベイラビリティは，マウスで中等度～高く（54.4%），ラットでやや低く（23.1%），イヌで低かった（9.2%）。しかし，ラットに気管内投与を介して投与量全体を肺に直接投与したときには，中等度～高いバイオアベイラビリティが認められた（58.6%）。このように，気管内投与後に比べて吸入投与後の絶対的バイオアベイラビリティが低かった理由は，相当量が嚥下されて消化管吸収を受けずに排出，又は呼気中より消失するためであると考えられた。経口投与後のバイオアベイラビリティは，マウス（4%），ラット（1.74%）及びウサギ（0.03%）で低かったが，イヌではやや高かった（13.1%）。全体として，経口投与後の低い吸収率は，消化管からの吸収が不完全なことと初回通過効果が大きいことから予測される。したがって，吸入投与後に嚥下した薬物が全身循環に到達して，全身性の作

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

用を及ぼす可能性は無視し得る程度であると考えられた。検討したすべての動物種において，経口投与したときのバイオアベイラビリティは低かった。

3.1.2 チオトロピウム+オロダテロール併用時の吸収

チオトロピウム及びオロダテロールの全身曝露量を，チオトロピウム+オロダテロール併用投与のラットを用いた 4 週間反復吸入投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-7_U[redacted]-1893］及びイヌを用いた最長 13 週間の（1 日 1 回）反復吸入投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-16_U[redacted]-1894, CTD 4.2.3.2-18_U[redacted]-2249］の一環として評価した。

ラットにおけるトキシコキネティクスパラメータのバラツキは小さかった。いずれの薬物においても，曝露量の雌雄差は認められなかった。顕著又は一貫した用量比例性からの逸脱及び反復投与の影響はみられなかった。高用量における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は，28 日目よりも 1 日目の方が高かった。これは動物における分時換気量が 1 日目により高かったこと及び／又は 1 日目と 28 日目で到達用量に差があったことに起因する可能性がある。イヌにおけるトキシコキネティクスパラメータのバラツキは中等度であった。チオトロピウム及びオロダテロールへの曝露量には大きな雌雄差はなく，用量比例性からの顕著又は一貫した逸脱及び反復投与の影響は認められなかった。

3.2 分布

チオトロピウム+オロダテロール併用時についての検討は実施しなかった。個々の薬物についての試験は，チオトロピウムについては既提出申請資料に記載済であることから，オロダテロールの概要について以下に記載する。

3.2.1 血液及び組織分布

検討したすべての動物種において，オロダテロールの定常状態における分布容積（V_{ss}）は大きく，静脈内投与後の V_{ss} は 9.12～17.9 L/kg であった。このようにヒトを含めて，すべての動物種で V_{ss} が大きかったことから，未変化体が血漿から組織へと広範に分布することが示された［CTD 4.2.2.3-1_U[redacted]-1974，CTD 4.2.2.3-4_U[redacted]-1602，CTD 4.2.2.3-3_U[redacted]-1723］。このようなオロダテロールの分布特性は，主に物理化学的特性として，pH 7.4 における log D が 1.2 であるという脂溶性薬物であることに起因すると考えられる［CTD 3.2.S.3.1-3_U[redacted]-2011，CTD 4.3-9_R00-0033］。様々な動物種及び種々の投与経路を用いて，[^{14}C]オロダテロールの血球／血漿分配（C_C/C_P）を *in vitro* 及び *ex vivo* 試験で評価した［CTD 5.3.2.1-1_U[redacted]-1983，CTD 4.2.2.5-1_U[redacted]-1007，CTD 4.2.2.5-3_U[redacted]-1337，CTD 4.2.2.5-2_U[redacted]-1739］。得られた比から，薬物関連放射能の血球への分配が示唆され，放射能の多くが血漿から血球に移行することが示された。イヌとヒトで C_C/C_P 比は類似していたが，ラットではこれより高い値を示した。

3.2.2 血漿蛋白結合

マウス，ラット，ウサギ，イヌ及びヒト血漿中でのオロダテロールの *in vitro* 蛋白結合率を測定した［CTD 4.2.2.3-2_U[redacted]-1533，CTD 5.3.2.1-1_U[redacted]-1983，CTD 5.3.2.1-2_U[redacted]-2233］。検討したすべての動物種において，オロダテロールの血漿蛋白結合率は中等度であり，マウスでやや高い結合率が認められた。検討したすべての濃度及び動物種において，血漿蛋白結合率は 47.4～78.1%の

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

範囲であった。ヒトにおいて，オロダテロールの血漿蛋白結合率が腎機能又は肝機能障害によって大きく変化することはなかった［CTD 5.3.2.1-3_U[redacted]-1883］。

3.2.3 胎盤通過

妊娠ラット（妊娠 12 日目又は 17 日目）に[^{14}C]オロダテロールを 884 µg/kg（2 µmol/kg に相当）の用量で単回気管内投与し，母体，胚及び胎児中の放射能分布を投与 8，48 及び 72 時間後に検討した。すなわち，胚段階の妊娠 12，14，15 日目及び胎児段階の妊娠 17，19，20 日目における評価を行った［CTD 4.2.2.3-5_U[redacted]-4128］。母体組織中での放射能分布パターンは，雄性ラットの分布パターンと同等であった［CTD 4.2.2.3-1_U[redacted]-1974］。得られたデータから，オロダテロール及び代謝物はラットの血液-胎盤関門を通過し，オロダテロール及び代謝物の毒性試験において，胚／胎児が全身曝露を受けたことが立証された。

3.3 代謝

チオトロピウム+オロダテロール併用時についての検討は実施しなかった。個々の薬物についての試験は，チオトロピウムについては既提出申請資料に記載済であることから，オロダテロールの概要について以下に記載する。

3.3.1 *In vitro* 代謝

ラット及びヒト肝細胞，ヒト肺及び肝ミクロソーム，並びにヒトチトクロム P450，UDP グルクロン酸転移酵素（UGT）及び硫酸転移酵素（SULT）発現系を用いて，オロダテロールの *in vitro* 代謝について検討した［CTD 5.3.2.2-2_U[redacted]-1439，CTD 5.3.2.2-6_U[redacted]-1659，CTD 5.3.2.2-12_U[redacted]1331］。ラット及びヒト肝細胞における主な代謝反応はほぼ同等であった。オロダテロールが直接グルクロン酸抱合化された代謝物である CD 992 は，試料中放射能の 12.1%（ラット）及び 10.1%（ヒト）を占めていた。さらに，オロダテロールが直接的グルクロン酸抱合を受けた別の代謝物 M565(2)の試料中放射能に占める割合は 1.0%（ラット）及び極微量（ヒト）であった。また，SOM 1522 が試料中放射能に占める割合は 1.1%（ラット）及び 5.8%（ヒト）であった。SOM 1522 のグルクロン酸抱合により，CD 11249 又は CD 10915 が生成し，CD 11249 は主にラット肝細胞（15.1%）によって生成したのに対して，CD 10915 はヒト肝細胞（12.3%）によって生成した。SOM 1522 の硫酸抱合によって生成する CD 12656 は，ヒト肝細胞の試料中放射能の 5.4%を占めていたが，ラット肝細胞では極微量検出されただけであった。

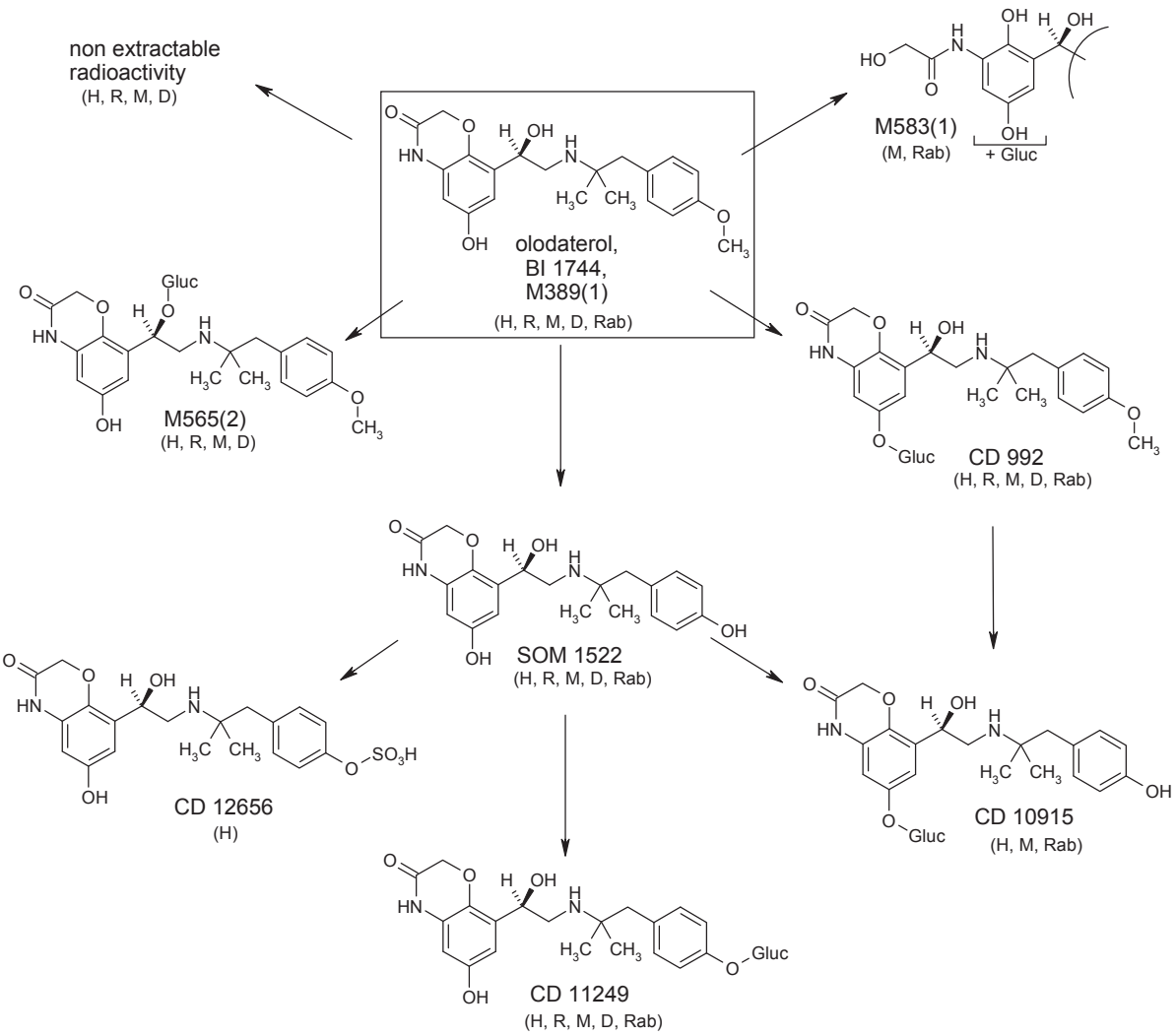
3.3.2 *In vivo* 代謝

マウス，ラット，ウサギ（雌），イヌ及びヒトに[^{14}C]オロダテロールを気管内，吸入，十二指腸内，経口及び静脈内投与経路で投与したときの *in vivo* 代謝について検討した［CTD 5.3.2.2-3_U[redacted]-1515，CTD 4.2.2.4-2_U[redacted]-1516，CTD 4.2.2.4-1_U[redacted]-1514，CTD 4.2.2.4-4_U[redacted]-1317，CTD 4.2.2.4-3_U[redacted]-1057，CTD 5.3.2.2-9_U[redacted]-1129］。排泄物中に主な代謝物として CD 992 及び SOM 1522 が同定された。ヒト血漿中では，SOM 1522 は極微量しか認められなかった。次に SOM 1522 のグルクロン酸抱合により，CD 11249 及び CD 10915 が生成した。さらに，オロダテロールのグルクロン酸抱合によって M565(2)が生成し，SOM 1522 の硫酸抱合によって CD 12656 が生成した。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

安全性試験に使用した動物種で認められたオロダテロール及び代謝物 CD 992，M565(2)，SOM 1522，CD 11249 の濃度は，ヒトでの治療用量である 5 μg を投与したときの濃度に比べて明らかに高かった。したがって，毒性評価においてオロダテロール及び上述の代謝物の曝露が十分であったと考えられる。2 種類のヒト特異的代謝物（CD 10915 及び CD 12656）が認められた。ヒトにおいて，グルクロン酸抱合体 CD 10915 の血漿中総薬物関連放射能成分に占める割合は，すべての試料採取時点で 10%以上，25%未満であった［CTD 5.3.2.2-9_U[redacted]-1129］。CD 10915 は雌ウサギの血漿中でも認められたが，マウス，ラット及びイヌ血漿中には認められなかった。薬理活性の検討において，CD 10915 は標的受容体で薬理活性を示さないことが明らかになった。もうひとつのヒト特異的代謝物 CD 12656 に関しては，ヒトに静脈内及び経口投与したときに非常に低い濃度で認められたが，検討した動物種では検出されなかった。*In vitro* 試験において，CD 12656 は主にヒト肝細胞とともにインキュベーションしたときに認められたが，ラット肝細胞とともにインキュベーションしたときにも極微量が検出された。CD 12656 のヒト血漿中濃度は低濃度（5 pM 未満）であり，総薬物関連放射能成分に占める割合は 5.5%未満であった。薬理活性の検討において CD 12656 の生物活性を測定した結果，hβ_1-及び hβ_2-AR における EC_{50} はそれぞれ 250 及び 13 nM であった。このように，SOM 1522 の第 II 相抱合体（CD 10915，CD 11249，CD 12656）及びグルクロン酸抱合体 CD 992 すべてが hβ_1-及び hβ_2-AR において実質的に活性を示さないと判定された。ヒト特異的な不均衡代謝物である CD 12656（SOM 1522 の硫酸抱合体）の生成に関して，硫酸転移酵素 SULT1A1 及び SULT1A3 が主に寄与している可能性が高いことが *in vitro* 試験から明らかになった。SULT1A3 分子種は霊長類以外の動物種には存在せず，SULT1A1 はラットの腸管組織には発現しないことから，代謝物 CD 12656 の生成に種差が認められたことは，これらの酵素発現の差によって説明できると考えられた。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies



H：ヒト，R：ラット，M：マウス，D：イヌ，Rab：ウサギ

図 3.3.2: 1　　ヒト及び毒性試験に用いた動物種におけるオロダテロール（四角で囲んで示す）の *in vivo* 代謝経路

3.3.3　　酵素誘導及び阻害

オロダテロールは CYP2D6 が触媒する代謝反応を K_i=1.92 μM で阻害した。不可逆的 CYP3A4 阻害を示す徴候も認められなかった。また，他の CYP 分子種についても，オロダテロールは濃度 100 μM まで問題となる阻害を示さなかったことから，これらが阻害される可能性も低いと考えられる［CTD 5.3.2.2-1_U[redacted]-1043］。さらに，CYP が触媒する試験反応の代謝物 CD 992 による阻害の可能性について検討した。ヒト肝ミクロソームにおいて，濃度 100 μM まで，CD 992 による CYP 酵素の可逆的阻害は認められなかった［CTD 5.3.2.2-10_U[redacted]-2417］。オロダテロールによる酵素誘導の可能性について評価するため，ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験を実施し，P450 酵素活性及び mRNA 発現量を測定した［CTD 5.3.2.2-11_U[redacted]-1076］。最高濃度 1 nM のオロダテロールを肝細胞に 48 時間曝露しても， CYP 1A2，2B6，2C8，2C9，2C19 及び 3A4 の活性に意味のある誘導は認められなかった。これらの結果から判断して，オロダテロール及びそのグルクロン酸抱合

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

体 CD 992 に関して，チトクロム P450 の誘導による薬物相互作用が生じることはないと予想される。

3.4 排泄

チオトロピウム+オロダテロール併用についての排泄の検討は実施しなかった。個々の薬物についての排泄試験は，チオトロピウムについては既提出申請資料に記載済であることから，オロダテロールの排泄の概要について以下に記載する。

[^{14}C]オロダテロールを用いて，様々な投与経路（気管内，静脈内，経口及び十二指腸内投与）により，マウス，ラット，ウサギ及びイヌの排泄及びマスバランス試験を実施した。排泄データを表 3.4:1 に要約して示す。

表 3.4:1 [^{14}C]オロダテロール又は非標識オロダテロールを投与した後の累積排泄データ（対投与量%）の種間比較（算術平均値）

資料番号			CTD4.2.2.5-5 _U[redacted]-2458, CTD4.2.2.4-2 _U[redacted]-1516	CTD4.2.2.5-1 _U[redacted]-1007, CTD4.2.2.4-1 _U[redacted]-1514	CTD4.2.2.5-3 _U[redacted]-1337. CTD4.2.2.4-4 _U[redacted]-1317	CTD4.2.2.5-2 _U[redacted]-1739, CTD4.2.2.4-3 _U[redacted]-1057	CTD 5.3.2.2-9 _U[redacted]-1129, CTD 5.3.3.1-1 _U06-1418 CTD 5.3.3.1-6 _U08-1060, CTD 5.3.3.1-4 _U08-1081
投与経路	試料	定量対象物質	マウス（雄及び雌）	ラット（雄）／（雄及び雌）	ウサギ（雌）	イヌ（雄及び雌）	ヒト[e)]（男性）
吸入	尿	未変化体	ND	ND	ND	ND	5.63[b)]
気管内	尿	未変化体	6.5[c)]	15.6[d)]	ND	ND	-
	尿	放射能	13.6	15.3	ND	ND	-
	胆汁	未変化体	ND	9.3[d)]	ND	ND	-
	胆汁	放射能	ND	25.6	ND	ND	-
	糞	未変化体	63.1[c)]	53.2[d)]	ND	ND	-
	糞	放射能	70.0	79.2	ND	ND	-
静脈内	尿	未変化体	14.0[c)]	20.7[d)]	12.6[f)]	8.4[g)] -10.2	8.09[b)]
	尿	放射能	25.8	23.6	54.8	16.7	38.4[h)]
	胆汁	未変化体	ND	9.3[d)]	0.4[f)]	3.1[g)]	-
	胆汁	放射能	ND	39.5	16.1	27.0[a)]	-
	糞	未変化体	51.4[c)]	35.3[d)]	21.1[f)]	26.9[g)]	-
	糞	放射能	68.4	69.1	42.1	66.3	52.9[h)]
経口	尿	未変化体	3.0[c)]	0.6[d)]	5.6[f)]	2.0[g)] -2.1	0.388[b)]
	尿	放射能	5.4	1.72	23.1	5.7	9.1[h)]
	胆汁	未変化体	ND	2.6[d)]	-	0.4[g)]	-
	胆汁	放射能	ND	25.6	2.1	2.5[a)]	-
	糞	未変化体	82.8[c)]	92.7[d)]	38.6[f)]	76.6[g)]	-
	糞	放射能	89.2	98.5	56.9	87.2	84.3[h)]

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

a）投与後 4 時間の定時試料。
b）40 µg 単回吸入投与，40 µg 単回経口投与又は 25 µg 単回静脈内投与後，それぞれ 96 時間，48 時間又は 24 時間以内（CTD 5.3.3.1-1_U06-1418，CTD 5.3.3.1-6_U08-1060，CTD 5.3.3.1-4_U08-1081）。 c）代謝試験（CTD4.2.2.4-2_U[redacted]-1516）のデータ。
d）代謝試験（CTD4.2.2.4-1_U06-1514）のデータ。雄及び雌動物を使用した。雌雄の平均
e）幾何平均値。 f）代謝試験（CTD4.2.2.4-4_U[redacted]-1317）のデータ。 g）代謝試験（CTD4.2.2.4-3_U[redacted]-1057）のデータ。
h） 代謝試験（CTD 5.3.2.2-9_U[redacted]-1129）のデータ。静脈内投与の場合，投与後 0～72 時間の尿及び 0～216 時間の糞を採取し，経口投与の場合，投与後 0～72 時間の尿及び 0～168 時間の糞を採取した。
ND：測定せず。

オロダテロールの消失速度は，全動物種で中等度から速やかであった。静脈内投与後の血漿クリアランス（CL）は，マウス，ラット，イヌ，ウサギの順で低下した。しかし，検討したすべての動物種において，放射能の消失半減期は未変化体に比べて有意に長かったことから，少なくとも 1 種類の代謝物の消失は未変化体に比べて緩徐であると考えられた。ラットの全身オートラジオグラフィーデータでも，すべての組織から放射能が徐々に消失するが，その速度は緩徐であることが明らかになり，投与後 3 日でも測定可能な濃度が検出された。これらの所見は，マウス，ラット及びヒトの副次的代謝経路に関する検討とも一致し，血漿中に非抽出性放射能が認められた。ヒトで予定されているオロダテロールの安全かつ有効な治療用量は 5 µg/ 日であり，ヒトで生成する可能性のある反応性代謝物の絶対量は極微量であることから，タイプ B の副作用（特異的副作用）が発現するリスクは非常に低いと考えられる。さらに，ヒトで認められた共有結合の程度は，非臨床安全性試験に使用した動物種に比べてはるかに低かった。

雌 Wistar ラットに[^{14}C]オロダテロールを授乳 12 日目に単回静脈内投与したときの乳汁排泄について検討した［CTD 4.2.2.5-4_U[redacted]-1214］。授乳中のラットにおいて，投与した放射能の 2.8～4.7%が 24 時間以内に乳汁中に分泌された。

3.5 薬物動態学的薬物相互作用

3.5.1 *In vitro* でのチオトロピウムとオロダテロールの代謝的相互作用

In vitro でのチオトロピウムの代謝に及ぼすオロダテロールの影響を，プールしたヒト肝ミクロソーム及びヒト肺ホモジネートで検討した［CTD 5.3.2.2-13_U[redacted]-1057］。チオトロピウムの場合，主要な非酵素的開裂（ジチエニルグリコール酸の生成）に加えて，ごく少量の画分が「その他の代謝物」として生成する。オロダテロールの 10 µM を上回る濃度では，オロダテロール非添加群と比較して，「その他の代謝物」画分の生成に対する弱い阻害作用が認められた。オロダテロールの添加によるジチエニルグリコール酸の生成への影響はみられなかった。*In vitro* でのオロダテロールの代謝に及ぼすチオトロピウムの影響を，プールしたヒト肝ミクロソームを用いて検討した［CTD 5.3.2.2-5_U[redacted]-1541］。オロダテロールをプールしたヒト肝ミクロソームとともにインキュベートしたところ，主要代謝物としてオロダテロールの *O*-脱メチル代謝物である SOM 1522 が生成した。チオトロピウムは SOM 1522 の生成を阻害せず，代謝によるオロダテロールの枯渇も誘発しなかった。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3.5.2 *In vivo* でのチオトロピウムとオロダテロールの薬物動態学的相互作用

チオトロピウムとオロダテロールの *in vivo* 薬物動態学的相互作用の有無を，ラット［CTD 4.2.2.6-2_U[redacted]-2470］及びイヌ［CTD 4.2.2.6-1_U[redacted]-2446］を用いて，チオトロピウム若しくはオロダテロールの単剤又はチオトロピウム+オロダテロールの併用（用量比 1：1）による単回吸入投与により検討した。単剤投与群と併用投与群の間で，チオトロピウム及びオロダテロールへの曝露量に有意差は認められなかった。

チオトロピウムとオロダテロールの間の薬物動態学的相互作用は，イヌを用いたチオトロピウム+オロダテロール併用の 13 週間反復投与毒性試験の一環としても検討した［CTD 4.2.3.2-18_U[redacted]-2249］。それぞれのチオトロピウムあるいはオロダテロールの単剤投与群とチオトロピウム+オロダテロール併用投与群における単回吸入投与後又は最長 13 週間の反復吸入投与後のチオトロピウム又はオロダテロールの全身曝露量に，顕著又は一貫した差は認められなかった。

3.6 その他の薬物動態試験

チオトロピウム，オロダテロール，開発コードE* （シクレソニド）及び CD 1857（開発コードE* の活性代謝物）への曝露量を，ラット［CTD 4.2.3.7.7-3_U[redacted]-1530］及びイヌ［CTD 4.2.3.7.7-4_U[redacted]-2354］を用いたチオトロピウム+オロダテロール+開発コードE* の毒性試験の一環として，1 日 1 回，4 週間吸入投与により評価した。ラット及びイヌにおけるトキシコキネティクスパラメータのバラツキは中等度であった。いずれの分析対象物への曝露量にも，雌雄間で明らかな違いは認められなかった。用量比例性からの顕著又は一貫した逸脱及び反復投与の影響はみられなかった。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4. 毒性

チオトロピウムについては既提出申請資料に記載済である（SRA HH の概要を参照：SRA HH 承認時申請資料ニ）ことから，オロダテロール及びチオトロピウム+オロダテロールの毒性試験について以下に記載する。

オロダテロールについては，ヒトで予定されている投与経路である吸入投与法により一連の非臨床安全性試験を実施した。さらに，静脈内投与及び経口投与経路を用いた試験も実施した。すなわち，マウス，ラット，ウサギ及びイヌに投与可能な最高用量又は最大耐用量までのオロダテロールを吸入投与し，単回投与試験（マウス，ラット），用量設定試験（ラット，イヌ），4 週間毒性試験（ラット，イヌ），13 週間毒性試験（マウス，ラット，イヌ），慢性毒性試験（ラット 26 週間，イヌ 52 週間），がん原性試験（マウス及びラット），遺伝毒性試験（*in vitro* 及び *in vivo*），受胎能及び初期胚発生に関する試験（ラット），出生前及び出生後の発生に関する試験（ラット），胚・胎児発生に関する試験（ラット，ウサギ）などを実施し，さらに，静脈内及び経口投与試験として，ラット及びイヌにおける 2 週間毒性試験を実施した。局所刺激性については経皮投与及び点眼投与により評価した。チオトロピウム+オロダテロールについては，ヒトで予定されている投与経路である吸入投与法を用いて安全性の検討を行った。すなわち，マウス，ラット及びイヌに投与可能な最高用量又は最大耐用量までのチオトロピウム+オロダテロールを様々な用量比で吸入投与し，単回投与（マウス，ラット），4 週間（ラット，イヌ）及び 13 週間（イヌ）反復投与毒性試験を実施した。

本項ではヒトで予定されている投与経路である吸入投与法を用いた試験のみ概説し，静脈内及び経口投与試験については，第 2.6.6 項「毒性試験の概要文」［CTD2.6.6］で概説・考察する。チオトロピウム+オロダテロールの試験については，用量比 1:1 の試験の成績のみ本項で概説する。実施したすべての試験については，第 2.6.6 項「毒性試験の概要文」［CTD2.6.6］で詳しく記載する。

オロダテロールの吸入投与毒性試験においては，[redacted]% BAC，[redacted]% Na-EDTA 及び[redacted]%クエン酸を含有する溶媒に溶解したオロダテロール水溶液を用いてエロゾルを調製した。チオトロピウム+オロダテロールの吸入毒性試験においては，[redacted]% BAC，[redacted]% Na-EDTA 及び 1 M 塩酸（pH 2.9）を含有するチオトロピウム水溶液あるいはオロダテロール水溶液を用いてエロゾルを調製した。マウス，ラット及びウサギでは鼻経路により，またイヌでは口腔咽頭経路により吸入投与を行った。すべての吸入投与試験において，エロゾル粒子の平均粒子径を分析し，各動物種において，調製したエロゾル粒子が吸入可能であることを確認した。吸入投与試験における投与用量は，すべて到達用量として示した。

4.1 単回投与毒性試験

オロダテロールの単回吸入投与毒性試験における概略の致死量は，マウス及びラットでそれぞれ>49.7 mg/kg 及び>24.7 mg/kg であった［CTD4.2.3.1-1_U[redacted]-1101，CTD4.2.3.1-7_U[redacted]-1100］。また，チオトロピウム+オロダテロール（用量比 1：1）の単回吸入投与毒性試験における概略の致死量は，マウスでは雄で<33.8+ <35.5 mg/kg，雌で>35.8+ >37.6 mg/kg，ラットでは雌雄平均値が

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

>17.9+>18.8 mg/kg であった［CTD4.2.3.1-2_U[redacted]-1184, CTD4.2.3.1-8_U[redacted]-1182］。イヌを用いた単回投与毒性試験は実施せず，反復投与毒性試験においてその急性毒性を評価した。イヌのオロダテロールの反復吸入投与毒性試験では，330 µg/kg/日まで死亡は認められず［CTD4.2.3.2-14_U[redacted]-1740］，チオトロピウム+オロダテロール（用量比 1：1）の反復吸入投与毒性試験では，290+310 µg/kg/日まで死亡は認められなかった［CTD4.2.3.2-18_U[redacted]-2249］。したがって，オロダテロール及びチオトロピウム+オロダテロールとも急性毒性は低いと考えられた。

4.2 反復投与毒性試験

オロダテロールでは，マウス（13 週間），ラット（最長 26 週間）及びイヌ（最長 52 週間）を用いて反復吸入投与毒性試験を実施した。チオトロピウム+オロダテロールではラット（4 週間）及びイヌ（最長 13 週間）を用いて反復吸入投与毒性試験を実施した。すべての試験において，トキシコキネティクスにより，十分なチオトロピウム及びオロダテロールの全身曝露が確認された。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では，より長期間の試験においてより高い曝露用量を設定したので，本項では投与期間が最も長い試験のみについて概説する。その他のすべての試験については，第 2.6.6 項「毒性試験の概要文」で概説・考察する。ラット及びイヌを用いたより短期間の反復投与試験において，長期間の反復投与試験で認められなかった所見は確認されていない。

4.2.1 マウス反復吸入投与毒性試験

マウスにオロダテロールを 63，211，900 又は 3258 µg/kg/日（投与可能な最高用量）の用量で 1 日 35 分間，13 週間にわたり吸入投与した［CTD4.2.3.2-1_U[redacted]-1341，CTD 4.2.3.2-2_U[redacted]-1975］。その結果，オロダテロール投与によって，900 及び 3258 µg/kg/日投与群で軽度の骨格筋量増加，また，すべての投与群で摂餌量の増加を伴う体重増加など，β_2 刺激薬に特徴的な作用が誘発された。さらに，用量依存性のない血清中カリウムの上昇，及びトリグリセリドの明らかな低下が認められた。溶媒投与に関連した病理組織学的変化として喉頭の移行上皮過形成が認められたが，オロダテロール 211 µg/kg/日以上の投与群では用量依存的により顕著となり，扁平上皮化生も認められた。卵巣では，3258 µg/kg/日投与群で黄体数の増加傾向がみられた。また，子宮では，3258 µg/kg/日投与群のすべての雌において，子宮筋層の肥厚及び嚢胞状子宮内膜腺の増加が認められた。これらの変化は，卵巣及び子宮重量の増加を伴い，げっ歯類の雌生殖器官に対する β_2 刺激薬の既知の報告に一致するものであった。その他に，オロダテロール投与に関連した標的器官毒性を示す病理組織学的所見は認められなかった。

以上より，マウス 13 週間吸入投与毒性試験における NOAEL は 63 µg/kg/日と判断され，この用量での $C_{max,ss}$ 平均値（雄／雌）は 5110／4320 pM，$AUC_{0\text{-}24,ss}$ 平均値（雄／雌）は 12100／15400 pM·h であった。検討した用量で薬理作用が生じない用量はなかった。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.2.2 ラット反復吸入投与毒性試験

オロダテロールのラットにおける反復吸入投与毒性試験は 2 週間用量設定試験［CTD4.2.3.2-3_U[redacted]-2143］における低用量 0.422 µg/kg/ 日から，26 週間試験［CTD4.2.3.2-6_U[redacted]-1691］における高用量 3400 µg/kg/日（1 日 35 分間吸入投与）までの用量範囲で実施した。チオトロピウム+オロダテロールのラットにおける反復吸入投与毒性試験は，用量比 1：1，1：6 あるいは 2：1 で 4 週間試験を実施した。トキシコキネティクスにより，すべての試験において，チオトロピウム及びオロダテロールの十分な全身曝露が確認された。

オロダテロールの 26 週間試験において死亡例は認められなかった。投与によって誘発された主な変化は，体重増加，骨格筋の肥大及び壊死，白色脂肪組織の減少によって代表される同化作用，及び肝臓におけるグリコーゲン蓄積の変化，雌生殖器官に対する影響（3400 µg/kg/日投与群：子宮拡張，黄体嚢胞及び黄体出血の発現率及び重症度のわずかな上昇など，過度の薬理作用に起因するものであった。これらの変化はすべて，β_2 刺激薬で既知の特徴的なものであり，クラス効果であると考えられた［CTD4.3-17_P89-3120，CTD4.3-19_P92-68423，CTD4.3-22_P04-08784］。

オロダテロール投与群のほぼすべての動物の両眼球突出が認められた。これらの変化は，オロダテロールの顕著な同化作用による二次的なものであり（下記参照），ヒトにおいて毒性学的に意味のあるものではないと考えられた。オロダテロール投与群において，ALT，AST 及び ALP に軽度で可逆的な上昇が認められ，3400 µg/kg/日投与群の雄では AST が 2.1 倍増加した。肝臓にこれと関連した病理組織学的変化が認められなかったことから，これらの活性上昇は，血漿中オロダテロール濃度が高くなったことによる肝臓の代謝的適応に関連するものと考えられた。

病理組織学的に 3400 µg/kg/日投与群では骨格筋線維の壊死が散在性に認められ，毒性所見とみなされた。しかし，この変化は，骨格筋肥大が毛細血管の分布に影響し，骨格筋への酸素供給量が低下した結果と考えられた［CTD4.3-21_P04-01456, CTD4.3-24_P07-14956, CTD4.3-20_P98-2777］。すべての用量で角膜上皮の可逆的萎縮が認められたが，これは同化作用に関連した変化及び物理的刺激による変化（眼球突出により眼瞼の閉鎖不全が誘発され，角膜表面の乾燥を招くとともに，吸入投与チューブに眼球が押し付けられた）であると考えられた。鼻腔，喉頭及び気管分岐部に扁平上皮化生などの病理組織学的変化が認められたが，これらは長期間にわたる吸入投与を受けたげっ歯類で認められる特徴的所見である。これらの変化は用量依存的であり，多くは可逆的なもので，ヒトで問題となるものではないと考えられた。

このラット 26 週間吸入投与毒性試験［CTD4.2.3.2-6_U[redacted]-1691］における NOAEL は 200 µg/kg/日と判断され，この用量での $C_{max,ss}$ 平均値（雄／雌）は 13500／12000 pM，$AUC_{0-24,ss}$ 平均値（雄／雌）は 43000／32400 pM·h であった。

用量比 1：1 のチオトロピウム+オロダテロールのラットにおける 4 週間反復吸入投与毒性試験では，チオトロピウム+オロダテロールを 0（溶媒対照），85.2+78.6，577+555 又は 2266+2174 µg/kg/日の用量で，吸入投与した［CTD4.2.3.2-7_U[redacted]-1893］。観察された毒性学的影響はチオトロピウム及びオロダテロールの薬理作用，特にチオトロピウムの抗コリン作用に関連するものであった。投薬期間中 3 例が途中死亡したが，そのうち 2 例は食道上部又は喉頭に滞留していた餌による窒息が死亡原因である可能性が高いと考えられた。唾液分泌抑制により乾燥飼料の咀嚼及び嚥下が

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

困難となったことが考えられた。その他の影響として，散瞳，摂餌量及び体重増加量の減少がみられた。白血球数の増加が認められ，PT がわずかに延長したが，APTT は短縮した。血中グルコース及びトリグリセリドは減少した。尿量の増加及びそれに伴う電解質の減少がみられた。肺重量の増加及び唾液腺，胸腺及び腎重量の減少が被験物質投与群で認められた。病理組織学的検査では，鼻腔あるいは喉頭の粘膜上皮における萎縮，壊死及び扁平上皮化生が認められ，チオトロピウムの抗コリン作用及び溶媒中の BAC の長期投与による影響の両方が関係していると考えられた。これらの所見は用量依存性を示し，本質的に回復性であった。

軽度の抗コリン作用に起因する変化を除外すれば，本試験における NOAEL は 85.2+78.6 µg/kg/日と判断され，この用量群での 28 日目における $C_{max,ss}$ 雌雄平均値は 17300+17800 pM，$AUC_{0-24,ss}$ 雌雄平均値は 23600+39800 pM·h であった。2 剤投与による相乗あるいは相加効果的な毒性所見は認められなかった。

4.2.3 イヌ反復吸入投与毒性試験

オロダテロールのイヌにおける反復吸入投与毒性試験は 2 週間用量設定試験［CTD4.2.3.2-11_U[redacted]-2134］における低用量 1.3 µg/kg/日から，52 週間試験［CTD4.2.3.2-14_U[redacted]-1740］における高用量 330 µg/kg/日までの用量範囲で実施した。チオトロピウム+オロダテロールのイヌにおける反復吸入投与毒性試験は，1：1，1：6，2：1，2.5：1 又は 1：2 の用量比で，漸増投与毒性試験及び 4 及び 13 週間試験を実施した。すべての試験において，トキシコキネティクスによりチオトロピウム及びオロダテロールの十分な全身曝露が確認された。

イヌにオロダテロールを 52 週間にわたり吸入投与したとき死亡例は認められなかった。心血管系作用（心収縮力の増大及び心拍数の増加），同化作用（体重増加の亢進，CK 及びクレアチニンの増加）及び肝臓におけるグリコーゲン蓄積の変化が誘発され，β_2 刺激薬に特徴的なクラス効果であると考えられた。

心収縮力の増大は，低用量群に比べて高用量群ほどより早期かつ高頻度に認められた。心拍数増加は試験開始後初期に高頻度に認められ，その後，投与の継続に伴って頻度は低下し，持続時間も短くなった。これらの所見は投与中及び投与終了直後に認められた。60 及び 330 µg/kg/日投与群の雌において，2 日目に心室性期外収縮及び心室性頻拍が認められた。これらの異常は，病理組織学的検査で心筋に変化が認められた用量のみで確認され，薬理作用に関連した変化と考えられた［CTD 4.3-32 _R03-2623］。本試験における不整脈の発現率は低く，高用量で散発的に認められただけであったことから，推奨臨床用量のオロダテロールを投与したときに催不整脈リスクが上昇する可能性は低いと考えられた。QTc 間隔において，毒性学的に問題となるような，一貫した用量依存性の変動は検出されなかった。病理組織学的検査では， 60 及び 330 µg/kg/日投与群において，左心室乳頭筋の線維化が認められたが，過度の薬理作用に関連するものと考えられた。さらに，60 及び 330 µg/kg/日投与群において，前立腺の多発性萎縮が認められ，これと関連して，絶対及び相対重量が用量依存的に低下した。前立腺間質にはアドレナリン作動性神経支配が存在することから，前立腺の変化はオロダテロールの薬理活性によるものと考えられ，この所見は，ヒトにとって毒性学的に意味のあるものではないと考えられた。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

イヌ 52 週間試験における NOAEL は 15 µg/kg/日と判断された［CTD4.2.3.2-14_U[redacted]-1740］。NOAEL での $C_{max,ss}$ 平均値（雄／雌）は 381／423 pM, $AUC_{0-24,ss}$ 平均値（雄／雌）は 2160／3560 pM·h であった。検討した用量で薬理作用が生じない用量はなかった。また，局所毒性に関する NOAEL は 330 µg/kg/ 日と判断された。

用量比 1：1 の 13 週間試験では［CTD4.2.3.2-18_U[redacted]-2249］，チオトロピウム+オロダテロールを 0（溶媒対照），14+16，57+62 又は 290+310 µg/kg/日の用量で吸入投与した。さらに 310 µg/kg/日の用量のチオトロピウム単独投与群及び 290 µg/kg/日の用量のオロダテロール単独投与群も設けた。死亡は生じなかった。認められた毒性はチオトロピウム及びオロダテロールの薬理学的作用に基づくものであった。チオトロピウムに関連した影響として，散瞳，眼球の変化，口腔粘膜及び鼻部の乾燥及び体重増加量の減少がみられた。オロダテロール単独投与群では体重増加量がわずかに高かった。単独あるいは併用にかかわらずオロダテロールを投与した動物では，心収縮力の増大及び PR 及び QT 間隔の短縮を伴う心拍数増加がみられた。

左心室乳頭筋における心筋線維化がチオトロピウム+オロダテロールの 57+62 µg/kg/日以上の群及びオロダテロール単独 290 µg/kg/日群で認められた。cTnI の増加を伴う CK-MB の増加はチオトロピウム+オロダテロールの 290+310 µg/kg/日群及び オロダテロール単独 290 µg/kg/日群で投与 3 日目のみに認められたため，心障害作用は投与の初期に発現すると考えられた。cTnI の一過性の増加はチオトロピウム+オロダテロール 57+62 及び 290+310 µg/kg/日群及びオロダテロール単独 290 µg/kg/日群のほぼ全例の動物で観察された。これらの病理組織学的所見は β_2 受容体刺激薬で既知の特徴的なクラス効果である。

CK の軽度の増加はチオトロピウム+オロダテロール 14+16 µg/kg/日群の雄及びオロダテロール単独 290 µg/kg/日群の雌雄動物で投与 32 と 88 日目にみられた。これらの増加はオロダテロールの同化作用に関連するもので，骨格筋由来と考えられた。これは血中尿素及びクレアチニンのわずかな増加とも関連し，蛋白及び骨格筋のターンオーバー亢進及びそれに伴う体重増加における変化を示唆するものと考えられた。血中グルコース及びアルブミンは低値を示した。

肝臓（グリコーゲンの分布変化）でも病理組織学的変化がみられたが，毒性学的な意義はないと考えられた。臨床的及び形態学的にみられたすべての変化は用量依存的で，心筋線維化（すなわち部分的な回復）以外の投薬に関連するすべての形態学的変化は回復性であった。

軽度の薬理作用に起因する変化を除外すれば，本試験の NOAEL は 14+16 µg/kg/日と判断された。86 日目における NOAEL での $C_{max,ss}$ は 2210+320 pM，$AUC_{0-24,ss}$ は 3170+2380 pM·h であった。2 剤投与による相乗あるいは相加効果的な毒性所見は認められなかった。また，投与局所における毒性はみられず，局所毒性に関する NOAEL は 290+310 µg/kg/ 日と判断された。

4.3 遺伝毒性試験

細菌及び哺乳類細胞を用いた試験系でオロダテロールの遺伝毒性を評価した。代謝活性化系存在下又は非存在下，様々なネズミチフス菌（*S. typhimurium*）株において，オロダテロールは細菌毒性を示す濃度まで突然変異を誘発しなかったことから［CTD4.2.3.3.1-1_U[redacted]-1046］，「Ames 陰性」に分類された。また，代謝活性化系存在下及び非存在下のいずれについても，オロダテロー

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ルは，細胞毒性を示す濃度まで，マウスリンパ腫細胞株 L5178Y $tk^{+/-}$の tk 遺伝子座において遺伝子又は染色体突然変異を誘発しなかった［CTD4.2.3.3.1-2_U[redacted]-2188］。4 週間吸入投与毒性試験で実施したラット骨髄小核試験でも，陰性結果が得られた［CTD4.2.3.2-4_U[redacted]-2133］。高用量のオロダテロールを静脈内投与（10 及び 40 mg/kg）したときの骨髄小核試験においては，小核を有する PCE が軽度で用量相関性はないものの，統計学的有意に増加した［CTD4.2.3.3.2-1_U[redacted]-1834］。この所見は，既知の報告から，オロダテロールの薬理作用が過剰に発現した結果生じる二次的な低酸素症，そして，引き続いて生じるエリスロポエチン遊離及び赤血球造血亢進に起因するものと考えられた［CTD4.3-39_R08-2329，CTD4.3-40_R08-2330，CTD4.3-41_R08-2331，CTD4.3-42_R08-2388，CTD4.3-44_R08-2390，CTD4.3-43_R08-2389，CTD4.3-53_R10-2698，CTD4.3-54_R10-2699］。そこで，機序解明試験を追加し，オロダテロール投与によりこの一連の現象が起こることを検証した［CTD 4.2.3.3.2-2_U[redacted]-1845］。これらのデータ，及び *in vitro* 遺伝毒性試験で陰性結果が得られたことから総合的に判断して，認められた小核出現頻度の上昇は，オロダテロールの遺伝毒性作用によるものではなく，非常に高い用量で薬理作用が過剰に発現したためと考えられた。

以上のように，*in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果から，オロダテロールには遺伝毒性はないと判断された。

チオトロピウム+オロダテロールについては，*in vitro* 遺伝毒性試験は実施していない。*In vivo* 試験として，チオトロピウム+オロダテロール（用量比 1 : 1）を 0（溶媒対照），85.2+78.6，577+555 あるいは 2266+2174 µg/kg/日をラットに 4 週間投与した反復吸入投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-7_U[redacted]-1893］の組み込み試験として，骨髄小核試験を実施した。チオトロピウム+オロダテロール投与により骨髄小核あるいは骨髄毒性は誘発されなかった。

4.4 がん原性試験

マウスを用いた 104 週間吸入投与がん原性試験［CTD4.2.3.4.1-1_U[redacted]-1065］（26.1，76.9 又は 255 µg/kg/日），及びラットを用いた 104 週間吸入投与がん原性試験［CTD4.2.3.4.1-2_U[redacted]-2661］（25.8，75.9 又は 270 µg/kg/日）において，死亡率に対するオロダテロールの影響は認められなかった。

両試験で認められた非腫瘍性所見（体重増加，摂餌量増加及び骨格筋量増加）のほとんどは，β_2 刺激薬で既知の同化作用に関連するものであった［CTD4.3-19_P92-68423, CTD4.3-71_R12-1291］。マウスでは，このほかにクラス効果として，卵巣の性索／間質過形成の発現率上昇，限局性黄体過形成の発現率上昇，及び加齢性膣萎縮の発現率低下が認められた。雌の生殖器で認められたこれらの非腫瘍性所見は，オロダテロールを含む β_2 刺激薬によるげっ歯類に特異的な反応であり，ヒトにおける毒性学的意義はないと考えられた［CTD4.3-62_R12-0102，CTD4.3-61_R12-0099，CTD4.3-64_R12-0188］。さらに，心筋線維化及び空胞化の発現率が上昇し，心外膜線維化の発現率も上昇したが，過剰な薬理作用に起因する二次的変化と考えられた［CTD4.3-62_R12-0102，CTD4.3-70_R12-0364］。マウス試験では，溶媒のみ，又はオロダテロールと併用して溶媒を投与したすべての群において，同程度の発現率で喉頭の U 字型軟骨壊死が発現した。この所見は，ラ

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ットの反復吸入投与毒性試験でも認められた変化であり，溶媒処方の主成分のひとつである BAC 投与に関連していると考えられた。マウス及びラットで認められた喉頭の扁平上皮化生は，刺激物を吸入したときに起こる典型的な粘膜の適応反応であり，げっ歯類で感受性が高いことがよく知られている［CTD4.3-50_R09-6371］。ラットにおいては，他の β_2 刺激薬でも認められているように，オロダテロール投与によって卵巣嚢胞の発現率が上昇し，卵巣間膜平滑筋過形成が誘発された［CTD4.3-62_R12-0102，CTD4.3-56_R12-0087，CTD4.3-61_R12-0099，CTD4.3-64_R12-0188，CTD4.3-49_R09-6151，CTD4.3-74_R13-2001］。生殖器系及び呼吸器系におけるこれらの非腫瘍性所見はすべて，げっ歯類に特異的な反応であり，ヒトにおいて毒性学的意義はないと考えられた。

クラス効果及びげっ歯類に特異的な腫瘍として，マウスでは子宮平滑筋腫及び平滑筋肉腫，ラットでは卵巣間膜平滑筋腫の発現率上昇及び卵巣間膜平滑筋の過形成が誘発された。げっ歯類及びヒトにおける幅広い文献に基づいて，げっ歯類で認められたこれらの腫瘍はヒトにとって毒性学的意義はなく，オロダテロールに伴うヒト発がん性リスクを意味するものではないと考えられた［CTD4.3-28_R96-3645，CTD4.3-51_R10-1209，CTD4.3-74_R13-2001，CTD4.3-57_R12-0088，CTD4.3-58_R12-0089，CTD4.3-16_P78-1531，CTD4.3-49_R09-6151，CTD4.3-18_P90-0579，CTD4.3-60_R12-0092，CTD4.3-29_R96-3647，CTD4.3-26_P12-00303，CTD4.3-27_P12-00453］。これらを除けば，投与に関連したその他の腫瘍発生は認められなかった。

チオトロピウム+オロダテロールについては，がん原性試験は実施していない。

4.5 生殖発生毒性試験

オロダテロールについては，吸入投与経路により，ラットを用いて受胎能及び初期胚発生に関する試験，出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験を実施し，ラット及びウサギを用いて胚・胎児発生に関する試験を実施した。

4.5.1 吸入投与によるラット受胎能及び初期胚発生毒性試験

ラットにオロダテロールを 58，193 又は 3068 µg/kg/日の用量で吸入投与した［CTD4.2.3.5.1-1_U[redacted]-2297］。雄には，交配前 4 週間，交配期間中及び交配後の屠殺時まで，雌には，交配前 2 週間，交配期間中及び妊娠 7 日（妊娠 0 日=交尾検出日）までオロダテロールを投与した。

一般状態の観察において，すべての群の雄，並びに 193 及び 3068 µg/kg/日投与群の雌で四肢の皮膚の発赤及び流涎が認められた。また，3068 µg/kg/日投与群の動物で自発運動低下が認められた。雌雄において，β_2 刺激薬の既知同化作用として，摂餌量の増加を伴う体重増加が認められた。発情周期の各ステージ及びその平均持続期間はすべての群で同様であった。本試験において，雌の生殖能，すなわち交配，受胎能及び妊娠成績に対する影響は認められなかった。また，雄の生殖能も対照群と同様であった。剖検及び病理組織学的検査において，オロダテロール投与に関連した所見は認められなかった。

親動物毒性に関する NOAEL は 58 µg/kg/日と判断され，この用量での雄の投与 26 日あるいは雌の投与 12 日における $C_{0\,583}$ 平均値は雄及び雌でそれぞれ 1130 及び 1720 pM であった。また，初

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

期胚発生及び交配，受胎能，着床後胚生存に関する NOAEL は 3068 µg/kg/日と判断され，この用量での雄の投与 26 日あるいは雌の投与 12 日における $C_{0\,583}$ 平均値はそれぞれ 167000 及び 191000 pM であった。

4.5.2 吸入投与によるラット胚・胎児発生毒性試験

雌ラットにオロダテロールを 0，64，222 又は 1054 µg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 17 日まで吸入投与した［CTD 4.2.3.5.2-1_U[redacted]-2534］。

一般状態の観察において，投与に関連した異常所見は認められなかった。妊娠 6～13 日の期間中，オロダテロール投与群の動物で体重増加の亢進が認められた。剖検時に成熟雌動物でオロダテロール投与に関連した所見は認められず，胚・胎児生存及び成長に対する有害な影響も認められなかった。胎児検査で，内臓異常の発現率にオロダテロール投与に関連した変化は認められなかった。222 及び 1054 µg/kg/日投与群において，胸骨分節の不完全骨化が認められる胎児がわずかに増加した。この変化が発達遅延を示唆するものである可能性は否定できないものの，発現が散発的であったことから，投与に関連した変化とは考えられなかった。

妊娠ラットにオロダテロールを投与したときの発生及び母動物毒性に関する NOAEL は，1054 µg/kg/日と判断された。この用量におけるオロダテロールの C_1 平均値は 37800 pM であった。

4.5.3 吸入投与によるウサギ胚・胎児発生毒性試験

適時交配させた雌ウサギにオロダテロールを 0，289，974 又は 2489 µg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 19 日まで吸入投与した［CTD4.2.3.5.2-3_U[redacted]-1019］。これらの用量は，用量設定試験に基づいて選択した［CTD4.2.3.5.2-2_U[redacted]-2535］。

一般状態の観察において，オロダテロール投与に関連した異常所見は認められなかった。妊娠 6～7 日には，対照群では体重減少が認められたのに対し，オロダテロール投与群の雌では体重に変化はないか又は増加が認められ，妊娠 9～16 日には，対照群に比べて体重増加が亢進した。2489 µg/kg/日投与群における妊娠 6～7 日の摂餌量は有意に低かった。母動物の剖検でオロダテロール投与に関連した所見は認められず，胚・胎児生存及び成長に対する毒性影響も認められなかった。2489 µg/kg/日投与群において，対照群と比較して，重大な異常を有する胎児／同腹児数が増加し，影響が認められた胎児数は背景対照値の範囲を超えていた。異常を有する胎児の大部分は一腹に集中し，この系統／繁殖施設のウサギでこれまでにみられていない特徴的な異常として認められた。また，これらの異常はこの群のほかの胎児で認められた異常と共通するものではなかった。さらに，一腹に集中した胎児 8 例においては，頭蓋骨／肋骨／長骨の不均一な骨化などの異常も認められた。重大な異常（口蓋裂及び心血管系異常）を有する胎児がこの群に集中し，一部の胎児の頭蓋骨／肋骨／長骨に骨化異常が認められたことは，胚・胎児発生に対する投与の影響を示唆するものであった。平均血漿中濃度に約 10 倍のばらつきがあったことから，これらの異常を有する母動物で血漿中濃度が非常に高かった可能性を否定することはできない。しかしながら，他の β_2 刺激薬でも催奇形性作用が認められている（そのため妊娠カテゴリーC に分類され

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ている）が，β_2 刺激薬が長年臨床で汎用されているにもかかわらず，動物でみられた胎児毒性作用でヒトにおいて問題となるものは確認されていない。

妊娠ウサギにオロダテロールを投与したときの母動物毒性に関する NOAEL は 2489 µg/kg/日と判断され，この用量における $AUC_{0\text{-}24}$ 平均値は 959000 pM·h，C_{max} 平均値は 161000 pM と算出された。また，発生毒性に関する NOAEL は 974 µg/kg/日であり，この用量における $AUC_{0\text{-}24}$ 平均値は 182000 pM·h，C_{max} 平均値は 30400 pM と算出された。

4.5.4 吸入投与によるラット出生前・出生後発生及び母体機能毒性試験

ラットにオロダテロールを 0，59，297 又は 3665 µg/kg/日の用量で，妊娠 6～20 日及び授乳 2～21 日（授乳 0 日=同腹児出生日）に吸入投与した［CTD4.2.3.5.3-1_U[redacted]-1971］。

妊娠ラットに最高 3665 µg/kg/日のオロダテロールを投与したときの忍容性は良好であった。投与期間中の検査で認められた所見はクラス効果に関連し，同化作用（体重増加亢進）及び一過性の摂餌量減少のみであった。3665 µg/kg/日投与群のすべての動物において，行動の変化（自発運動低下あるいは増加）並びに部分閉眼などの所見がおおむね最初の 2～3 日間に認められた。すべてのオロダテロール投与群で流涎及び被毛の汚れが認められた。

授乳 21 日目までに認められた同腹児数のわずかな差，及び 59 及び 3665 µg/kg/日投与群で認められた生存率低下は，背景対照値の範囲内でありオロダテロール投与に関連するものではないと考えられた。3665 µg/kg/日投与群の一腹総体重及び出生児体重は，授乳 21 日目まで，対照群に比べてわずかに低値を示した。すべての投与群において，眼瞼開裂に要した日数に用量依存的な短縮傾向が認められた。F1 世代動物において，妊娠 14，15 又は 16 日まで，交配，受胎能及び着床後胚生存率に対する影響は認められなかった。

母動物毒性に関する NOAEL，並びに F1 世代の発生・生存及び F1 世代の交配，受胎能，着床後胚生存に関する NOAEL は，3665 µg/kg/日と判断された。

チオトロピウム+オロダテロールについては，生殖発生毒性試験は実施していない。チオトロピウムはオロダテロールとともに妊娠カテゴリーC に分類されている。

4.6 局所刺激性試験

ウサギを用いて，皮膚刺激性試験［CTD4.2.3.6-1_U[redacted]-1116］及び眼刺激性試験［CTD4.2.3.6-2_U[redacted]-2189］を実施した。オロダテロール約 0.5 g を脱塩水に混和し，皮膚に局所塗布したときの忍容性は良好であった。したがって，オロダテロールは非刺激性及び非腐食性物質に分類された。また，ウサギの眼にオロダテロールを 2 及び 10 mg の用量で適用したとき，用量依存的な軽度又は中等度の刺激作用が誘発された。

濃度 0.004 又は 0.010 mg/mL のオロダテロール溶液を用いて，ウサギ静脈内，筋肉内及び動脈内投与刺激性試験［CTD4.2.3.6-3_U[redacted]-2144，CTD4.2.3.6-4_U[redacted]-2164］及びラット傍静脈投与刺激性試験［CTD4.2.3.6-5_U[redacted]-2178］を実施した。オロダテロール 0.004 mg/mL 溶液を単回静脈内投与したときの忍容性は良好であったが， 0.010 mg/mL 溶液を投与したときには，病理組織学的検査で検出可能な軽微な局所刺激が誘発された。0.010 mg/mL 溶液を単回動脈内，筋肉内及び傍静

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

脈投与したときの忍容性は良好であったが，動脈内投与したとき動物の苦悶がみられたことから，0.010 mg/mL 溶液のヒトへの静脈内投与及び動脈内投与は避けるべきであると考えられた。

チオトロピウム+オロダテロールについては，局所刺激性試験は実施していない。

4.7 その他の毒性試験

4.7.1 抗原性試験

抗原性に関する試験は実施していない。非げっ歯類及びげっ歯類を用いたいずれの反復投与試験においても，抗原性を示唆する血液学的及び病理組織学的検査所見は認められなかった。

4.7.2 免疫毒性試験

免疫原性に関する試験は実施していない。非げっ歯類及びげっ歯類を用いたいずれの反復投与試験においても，免疫毒性を示唆する血液学的検査及び病理組織学的検査所見は認められなかった。

4.7.3 依存性試験

In vitro 受容体スクリーニングにおいて，チオトロピウム，オロダテロールとも依存性に関連する各受容体に対する結合が認められなかったことから，依存性に関する試験は実施していない。

4.7.4 代謝物の毒性試験

ガイドラインに従って［CTD4.3-46_R08-2457］，代謝物の安全性を確認する試験は実施していない。

4.7.5 光毒性試験

ICH ガイダンス（S10）「ICH harmonised tripartite guideline: photosafety evaluation of pharmaceuticals, S10」[CTD4.3-77_R14-2116］に従い，光毒性に関して以下のように考察した。

チオトロピウムの吸収スペクトラムは 290 nm 未満でのみ認められる（SRA HH の概要を参照：SRA HH 承認時申請資料ロ-4）ため，さらなる検討は不要と考えられた。オロダテロールの吸収スペクトラムは 350 nm 以下のみで認められ，319 nm でのモル吸光係数（Molar Extinction Coefficient, MEC）は 4267 L/mol/cm を示した（エタノール／水酸化ナトリウム溶媒中）［CTD2.3.S.3.1］。しかしながら，ラットを用いて実施した全身オートラジオグラフィー試験で，高用量投与した有色ラットとアルビノラットで組織分布に差は認められなかった（薬物動態試験の概要文［CTD 2.6.4］）。さらに，臨床用量（5 μg/日）でのオロダテロールの全身曝露量は極めて低いことを合わせ考えると，オロダテロールによる光毒性のリスクは極めて低いと考えられた。以上，チオトロピウムの光毒性リスクはなく，オロダテロールの光毒性リスクも極めては低いことから，さらなる光安全性評価は必要ないと判断した。チオトロピウム+オロダテロール配合剤の第 III 相試験プログラムデータを評価し，光線過敏性反応及び光線性皮膚症状態を示唆する有害事象の発現割合は低く，投与群間で同程度の発現であり，本結論は妥当であると考えられた。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.7.6 幼若動物を用いた毒性試験

幼若ビーグル犬（投与開始時点において 15～19 日齢）にオロダテロールを 0，120，324 又は 1046 μg/kg/日の用量で 1 日 1 回，13 週間にわたり吸入投与した［CTD4.2.3.7.7-2_U[redacted]-1257］。これらの用量は，用量設定試験に基づいて選択した［CTD4.2.3.7.7-1_U[redacted]-1442］。

一般状態の観察において，投与中及び投与直後に，1046 μg/kg/日投与群で一過性の心拍数増加及び心収縮力の増大が認められた。120 及び 324 μg/kg/日投与群における体重増加量は，溶媒対照群に比べて大きかった。一方，1046 μg/kg/日投与群における体重増加量は，雌雄とも溶媒対照群に比べて少なかった。動物の成長に伴い，対照群を含むすべての動物で，心拍数は徐々に減少し，PR 間隔，QT 間隔及び RR 間隔も徐々に延長した。その他に ECG に投与に関連した影響は認められなかった。投与に関連した血圧に対する影響も認められなかった。剖検において，オロダテロール投与に関連した異常所見は認められなかった。1 例を除くすべてのオロダテロール投与動物の肝臓において，小葉辺縁性肝細胞に空胞化（あるいは希薄化）を特徴とする小葉周辺性グリコーゲン蓄積が認められた。また，一部の動物において，小葉周辺性にグリコーゲン蓄積を伴う軽微～軽度の細胞密度増加が認められた。これらの病変は，4 週間の回復期間後には完全に回復していた。これらの所見は毒性を示すものではなく，β_2 刺激薬にみられる適応反応であると考えられた［CTD4.3-72_R12-1633，CTD4.3-23_P06-09474］。

幼若イヌにおける NOAEL は 324 μg/kg/日と判断され，この用量での $C_{max,ss}$ 平均値（雄／雌）は 6470／5290 pM，$AUC_{0-24,ss}$ 平均値（雄／雌）は 24100／24700 pM·h であった。

4.7.7 併用投与試験

チオトロピウム，オロダテロール及びコルチコステロイドであるシクレソニド（開発コードE* ）を 1:1:29 の用量比でラット及びイヌに吸入投与し，毒性を評価した［CTD4.2.3.7.7-3_U[redacted]-1530，CTD4.2.3.7.7-4_U[redacted]-2354］。ラットでは，チオトロピウム+オロダテロール+開発コードE* を 0（溶媒対照群），1.0+1.0+30，3.1+3.0+89 又は 9.9+9.8+280 μg/kg/日，イヌでは 0（溶媒対照群），2.1+2.0+59，5.1+5.1+150 又は 16+16+460 μg/kg/日の用量をそれぞれ反復吸入投与した。ラットでは，標的器官は喉頭，肺，胸腺，NALT，脾臓，腸間膜リンパ節，副腎及び膝関節であった。呼吸器系における所見は吸入手技に関連したものと考えられたが，それを除くと，他のすべての組織変化は開発コードE* 及びその活性代謝物の薬理作用に直接的あるいは二次的に関連するものと考えられた［CTD4.3-34_R07-2327］。イヌにおいては，チオトロピウム+オロダテロール+開発コードE* の併用投与により，抗コリン薬，β_2 刺激薬及びコルチコステロイドに典型的なクラス効果が誘発された。この配合中のチオトロピウム及びオロダテロールの用量は低いため，抗コリン作用はあまり明らかでなく，β_2 刺激薬による心血管系への影響も非常に軽度であった。コルチゾールレベルの変化（基準値及び ACTH 刺激後の変動）及び副腎皮質への変化が認められ，開発コードE* の薬理学的影響と考えられた。いずれの試験でも，これら 3 種の被験物質による薬物動態学的な相互作用は観察されなかった。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.7.8 不純物，分解生成物及び包装材料

4.7.8.1 原薬

チオトロピウム臭化物水和物及びオロダテロール塩酸塩の不純物に関する規格及びICHガイドラインQ3A（R2）に基づき［CTD4.3-75_R13-5384］，いずれの不純物についても安全性を確認する必要はないと考えられた（詳細は第2.6.6項「毒性試験の概要文」に記載）。

チオトロピウム臭化物水和物及びオロダテロール塩酸塩の合成に関連する，出発物質，存在する不純物及び存在する可能性のある不純物，並びに出発物質の反応副生成物などの化学構造評価を実施した。この結果，TTC［CTD4.3-48_R09-1530，CTD4.3-73_R13-1273］である1.5 μg/日未満に制限する必要がある既知遺伝毒性物質／毒性物質が生成される可能性はないと結論された。

チオトロピウム臭化物水和物及びオロダテロール塩酸塩の合成過程及びヒト推奨臨床用量が1日量5+5 μgと微量であることを考慮すると，TTCを超える量の不純物が混入する可能性はない。両原薬の合成過程におけるすべての不純物同様，存在する可能性のある遺伝毒性不純物はTTCをはるかに下回るレベルに管理されるので，患者に毒性学的懸念が生じることはないと考えられる。

4.7.8.2 製剤

チオトロピウム+オロダテロール配合剤において，有効成分は [redacted] としてBAC（[redacted] mg/mL），[redacted] としてNa-EDTA（[redacted] mg/mL）及び [redacted] [redacted] として塩酸を含有する水溶液で溶解する。これらの添加物の毒性学的懸念はないと考えられる。

4.7.8.2.1 有効成分分解生成物

チオトロピウム+オロダテロール配合剤中の分解生成物に関する規格及びICHガイドラインQ3B（R2）に従って［CTD4.3-76_R13-5385］，分解生成物II* 及び分解生成物I* （チオトロピウムの分解生成物）は毒性学的に安全性を確認すべきと判断した。分解生成物II* 及び分解生成物I* ともに遺伝毒性は認められず，ラットを用いた反復吸入投与試験において0.625 μg/kg/日の用量（チオトロピウムに添加）で安全性が確認された。分解生成物I* についてはラットにおける13週間吸入毒性試験で単体として1.58 μg/kg/日投与して検討し［CTD4.2.3.7.6-6_U[redacted]-2102］，安全性が確認された。

4.7.8.2.2 添加物

製剤に用いられている添加物（BAC，Na-EDTA）の毒性について社内で実施した試験結果及び文献に基づいて評価した。BAC及びNa-EDTAの安全性に関する研究論文［CTD4.3-30_R97-0079，CTD4.3-33_R03-2624］によると，チオトロピウム+オロダテロール配合剤で使用されている [redacted]% BAC を [redacted] μL 吸入したときと同等又は10倍の用量での BAC の安全性が確認されている。Na-EDTAの毒性は非常に低く，FDAの化粧品成分審査委員会は，エロゾル化化粧品製剤（1回の噴霧使用時に1回呼吸）において，用量 1.24×10^{-4} mg/kg（0.124 μg/kg）に相当する濃度を許容している。また，FDA及びWHOはいずれも，経口投与によるADIを2.5 mg/ヒトに設定している。チオトロピウム+オロダテロール配合剤は2回の噴霧で，1日量として約 [redacted] μg の BAC 及び

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

[redacted] μg の Na-EDTA が投与されるが，以上の検討より，これらの用量は毒性学的に問題とならないと考えられた。

4.7.8.2.3 異物

チオトロピウム+オロダテロール配合剤には少数の微粒子が含まれている可能性があり，チオトロピウム+オロダテロール配合剤の 2 回の噴霧で，これらの粒子が最大 1 日に 19 個患者に投与される可能性がある。これらの粒子は一次包装材料である[redacted]，[redacted]及び[redacted]から生じた可能性が高いことが示されているが，大気中から 1 日当たりに吸入される粒子数が何百万に達することを考慮すると，この吸入粒子数は非常に少なく，毒性学的に意味はないと考えられた。

4.7.8.2.4 カートリッジ及びレスピマットの構成-

カートリッジ

チオトロピウム+オロダテロール配合剤のカートリッジは吸入液が充填された容器である。このカートリッジは，[redacted]で密封された[redacted]製容器（一次包装），[redacted]及び[redacted]を覆う[redacted]（二次包装）から構成されている。供給業者の試験成績書によると，一次包装材料はすべて規制要件に適合しており，それ自体，一次包装材料としての使用に適していると考えられる［CTD3.2.P.2-2］。ガイドラインに従って，すべての一次包装材料について，容器構成成分の抽出試験を実施した。これらの試験から，許容されている[redacted]，添加剤に起因する[redacted]及び[redacted]の存在が明らかになった。これらの化合物について，PQRI の「Best practices for extractables and leachables in orally inhaled and nasal drug products」の概念と照らし合わせて評価した結果［CTD4.3-25_P08-08164］，カートリッジの一次包装材料に由来する浸出物は特定されなかった。以上より，カートリッジの一次包装材料から毒性学的に問題となる物質が放出することはないと考えられた。

レスピマットの構成

供給業者の試験成績書によると，構成成分はすべて，規制要件に適合しており，それ自体，構成成分としての使用に適していると考えられる［CTD3.2.P.2-3］。

FDA ガイドライン［CTD4.3-38_R05-0225］に従って，すべてのレスピマット構成成分及びマウスピース（ケース上部）について，抽出試験を実施した。すべての溶出物について，定量限界は 10 μg/g 構成成分と見込まれた。これらの定量限界値は十分に低く，定量限界未満の濃度で存在する材料は毒性学的に問題にならないと考えられる［CTD3.2.P.2-3］。さらに，使用期間中の吸入液とレスピマットの構成成分の適合性についても，3 カ月間使用を想定した安定性試験にて確認されている［CTD3.2.P.8.3］。

マウスピース（ケース上部）は灰色の[redacted]である。レスピマットの口腔接触部分から患者の喀痰中に移行する物質も「浸出物」と判断される。吸入時，レスピマットのケース上部（マウスピース）の一部は患者の口腔粘膜と数秒間にわたり

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

接触する。検討の結果，材料は規制要件を満たしており，検出可能な毒性学的リスクをもたらすことはないと考えられる。

これらのデータに基づいて，チオトロピウム+オロダテロール配合剤のレスピマットを所定の方法で使用したとき，マウスピースから毒性学的に問題となる濃度の物質が放出することはないと結論された［CTD3.2.P.2-3］。

4.8 安全域

表 4.8: 1 にイヌにおけるチオトロピウム+オロダテロールの 13 週間毒性試験（用量比 1：1）から得られた NOAEL 値と臨床用量で得られた $C_{max,ss}$ 及び $AUC_{0-24,ss}$ を併せて示した。イヌにおける 13 週間毒性試験（用量比 1：1）から得られた NOAEL 値における曝露量はヒトの臨床用量における全身曝露量を大幅に上回っていた。

表 4.8: 1 イヌ 13 週間毒性試験（用量比 1：1）における NOAEL とヒトの推奨臨床用量（チオトロピウム+オロダテロール：5+5 µg／日）投与時の $C_{max,ss}$ 及び $AUC_{0-24,ss}$ の比較とそれぞれの安全域

イヌ（CTD4.2.3.2-18_U[redacted]-2249）	13 週間 チオトロピウム +オロダテロール	安全域 チオトロピウム ／オロダテロール
NOAEL (µg/kg/日)	14 + 16	
$C_{max,ss}$ (pM)	2210 + 320	**62／28**
$AUC_{0-24,ss}$ (pM·h)	3170 + 2380	**18／28**
ヒト（CTD5.3.5.1-9_U09-1588, CTD5.3.5.1-15_U13-1917）	6 週間	
用量 (µg/日)	5 + 5	
$C_{max,ss}$ (pM)[a]	35.4 + 11.4	
$AUC_{0-24,ss}$ (pM·h)[a]	177 + 85.9	

a: 報告書では濃度は pg/mL で記載されている。この表ではチオトロピウム 392.5 g/mol, オロダテロール 386.5 g/mol の分子量を基に分子量濃度として示した。

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5. 総括及び結論

チオトロピウムは，抗コリン薬として知られる薬物クラスに属する特異的かつ長時間作用型の極めて強力な競合的（可逆的）長時間作用性抗コリン薬（LAMA）である。オロダテロールは長時間作用型の選択的 β_2 刺激薬（LABA）の非臨床プロファイルを有し，作用持続時間が 24 時間以上と長く，作用発現が速やかである。チオトロピウム+オロダテロールによる気管支収縮抑制作用の有効性及び持続時間を，麻酔下のイヌ及びモルモットのアセチルコリン誘発性気管支収縮のモデルを用いて，最長 24 時間にわたって検討した。いずれの動物種においてもチオトロピウム+オロダテロールの作用発現は速やかで，気管支収縮抑制作用は 24 時間を上回って持続した。本配合剤は少なくとも相加的な気管支収縮抑制作用を示した。非臨床薬理試験において，チオトロピウム+オロダテロールによる心拍数，血漿中カリウム，血漿中乳酸及び血漿中グルコースの明らかな変化は認められなかった。副次的薬理試験及び安全性薬理試験では，予想外の所見はみられなかった。心電図検査では，QTc 及び心電図波形のいずれにおいても，有害所見は認められなかった。観察された変化はいずれも抗コリン薬又は β_2 刺激薬のクラス効果と考えられ，安全性上の懸念を提起するものではない。

チオトロピウム+オロダテロール併用の 1 日 1 回吸入投与によるラットで 4 週間，イヌで最長 13 週間の反復投与毒性試験の一環として，チオトロピウム及びオロダテロールの曝露量を測定した。トキシコキネティクス試験により，チオトロピウム及びオロダテロールの高い全身曝露量が証明された。さらに，チオトロピウム及びオロダテロールのトキシコキネティクス試験により，検討した用量範囲では，用量線形性からの顕著又は一貫した逸脱，反復投与の影響及び性差は，ラット及びイヌにおいてチオトロピウム及びオロダテロールいずれの薬物についても示されなかった。

また，特異的な *in vitro* 薬物代謝試験により，治療用量での投与によって得られたチオトロピウム及びオロダテロールの濃度では，ヒト肝ミクロソーム及び／又は肺ホモジネートにおいて，それぞれの併用相手の薬物の酸化的代謝への影響はないことが示された。チオトロピウムとオロダテロールの *in vivo* 薬物動態学的相互作用を，ラット及びイヌを用いて単回及び反復投与（イヌの 13 週間反復投与毒性試験）により検討した。全体として，*in vivo* 試験においては，チオトロピウムとオロダテロールの間の薬物動態学的相互作用のエビデンスは示されなかった。

オロダテロール及びチオトロピウム+オロダテロールの急性吸入投与毒性は弱かった。オロダテロール及びチオトロピウム+オロダテロールの反復投与試験において，薬理作用を介した様々な作用（過度の薬理作用），すなわち，抗コリン薬あるいは β_2 刺激薬に特徴的なクラス効果が誘発された。これらの作用には，同化作用，心血管系作用，肝臓におけるグリコーゲン蓄積の変化，雌生殖器官に対する影響及び心臓の病理組織学的所見などが含まれる。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の結果，毒性又は限度濃度／用量まで，オロダテロールは遺伝毒性を示さないことが明らかになった。

マウス及びラットを用いたオロダテロールの吸入投与がん原性試験において，マウスでは，子宮で平滑筋腫瘍（平滑筋腫，平滑筋肉腫），卵巣で限局性性索／間質過形成及び限局性黄体過形成が認められた。また，ラットでは，卵巣間膜に平滑筋腫が認められた。これらの所見は，げっ

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

歯類を用いたがん原性試験でよく知られている β_2 刺激薬のクラス効果と関連し，ヒトでの発がんリスクを意味するものではないと考えられた［CTD4.3-28_R96-3645，CTD4.3-51_R10-1209］。これら以外に投与と関連した腫瘍性変化は認められなかった。

生殖発生毒性試験では，オロダテロールのウサギ胚・胎児発生試験において高用量（2489 μg/kg/日）群で異常所見（骨化異常，口蓋裂，心血管系異常などの発現率上昇）が認められたが，ほかの β_2 刺激薬でも催奇形性が報告されていることから，クラス効果であると考えられた。β_2 刺激薬は既に臨床で広く使用されているが，ラット及びウサギで認められた所見でヒトにおいて問題となるものは確認されていない。また，ラットを用いた吸入投与による受胎能及び初期胚発生試験，並びに出生前及び出生後発生試験においても，3000 μg/kg /日を超える用量まで，有害な影響は明らかにならなかった。

原薬に関して，個別に規格設定された不純物及び分解生成物の安全性を確認する必要はないと判断された。製剤については，チオトロピウムの 2 つの分解産物について検討し，安全性が確認された。いずれの装置成分も，毒性学上問題となる濃度では，物質（浸出物，微粒子）を遊離しないと考えられる。また，デバイス構成要素から，毒性学的に問題となる濃度の物質（浸出物及び微粒子）が遊離することはないと考えられた。

以上のように，非臨床安全性試験による検討の結果，推奨臨床 1 日量であるオロダテロール+チオトロピウムの 5 μg+5 μg を投与したときに予想される作用は，薬理作用に関連したもののみであった。イヌの反復吸入投与毒性試験で得られた NOAEL から算出した曝露量比（$AUC_{0\text{-}24,ss}$）は，ヒトにおける治療時の全身曝露量を十分に上回るものであり，チオトロピウムでは 18，オロダテロールでは 28 であった。また，オロダテロールによって誘発された有害作用は全般的に可逆的なものであった。例外として高用量における心筋線維化が認められたが，これは β_2 刺激薬への高い曝露量で予想されるクラス効果であった。2 剤併用投与による相加的及び相乗的毒性作用は認められなかった。これらのデータ並びに臨床試験で得られた安全性及び有効性データに基づくと，チオトロピウム+オロダテロールをヒトに 5 μg+5 μg の 1 日用量で投与したとき，明らかな毒性変化は発現しないと予想される。

以上より，提示したすべての非臨床試験の結果は，COPD の治療を目的としたチオトロピウム+オロダテロール配合剤（5 μg+5 μg）の承認申請の妥当性を裏付けるものと考えられた。