

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 :	2.6.1 緒言
文書作成日 :	3 July 2015
Page 1 of 4	
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	

1. 緒言

本申請製剤はチオトロピウム（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）の配合剤である。チオトロピウムは、既に日本を含む世界各国で COPD 治療薬として承認されており、オロダテロールは本邦未承認であるが、世界各国で COPD 治療薬として承認されている。チオトロピウム及びオロダテロールそれぞれの薬理、薬物動態及び毒性に関する特性は、チオトロピウムについては承認申請資料及びオロダテロールについては本概要中に詳細に報告されている。

チオトロピウムは特異的で非常に強力かつ競合的（すなわち可逆的）なムスカリン受容体拮抗作用を示す長時間作用性抗コリン薬である。チオトロピウムはムスカリン受容体サブタイプ hM₁、hM₂ 及び hM₃ に高い親和性（ナノモル以下のオーダー）を示す。本薬は、気道平滑筋細胞のムスカリン受容体に内因性伝達物質のアセチルコリンが結合するのを阻害することにより、気管支拡張作用を発揮する。ヒトの気道にはムスカリン M₁、M₂ 及び M₃ 受容体が発現していることが確認されており、その M₃ 受容体が活性化することにより気管支平滑筋が収縮する。チオトロピウムの効力及び 1 日 1 回投与プロファイルは、多数の非臨床試験及び大規模臨床試験により確立されたものである。

チオトロピウム臭化物水和物の化学名（JAN）は、

(1 α ,2 β ,4 β ,5 α ,7 β)-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 C₁₉H₂₂BrNO₄S₂ · H₂O 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。したがって、1 μ g/mL は 2.55 μ M に相当する。チオトロピウム臭化物水和物はやや溶けにくい（本形態では、pH 2.7～3.1，温度範囲 ■■■℃ で ■■ mg/mL 以上）。■■■による本溶解度への明らかな影響は認められなかった。チオトロピウムはジチエニルグリコール酸とメチルスコ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、以下の構造を有する：

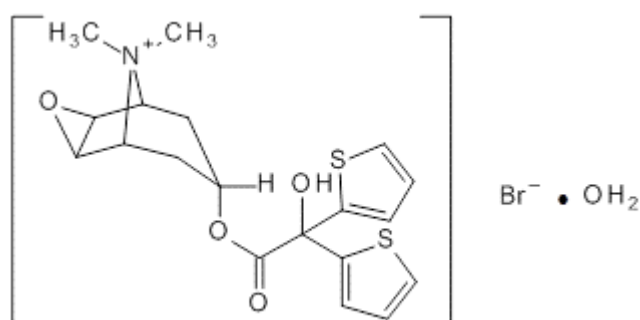


図 1: 1 チオトロピウム臭化物水和物の化学構造

オロダテロールはヒト β_2 アドレナリン受容体の選択的部分刺激薬である。オロダテロールは早い作用発現を示し、局所における肺選択性、高い β_2 選択性、 β_2 アドレナリン受容体に対するほぼ 100%の固有活性、及び β_1 アドレナリン受容体に対する低い固有活性といった最適な長時間作用性

2.6.1 緒言

チオトロピウム+オロダテロール

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

β_2 刺激薬のプロファイルを示す。オロダテロールの効力及び 1 日 1 回投与プロファイルは、多数の非臨床試験及び大規模臨床試験により確立されたものである。

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 $C_{21}H_{26}N_2O_5 \cdot HCl$ 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。したがって、1 $\mu\text{g/mL}$ は 2.59 μM に相当する。

オロダテロール塩酸塩はやや溶けにくい (本形態では、pH 2.7~3.1, 温度範囲 $\blacksquare^\circ\text{C}$ で $\blacksquare\text{ mg/mL}$ 以上)。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：

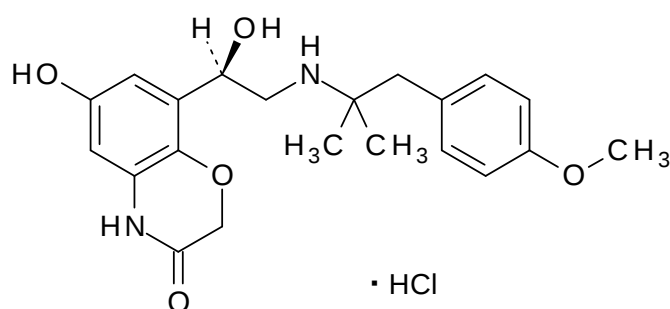


図 1: 2 オロダテロール塩酸塩の化学構造

チオトロピウム+オロダテロール配合剤はカートリッジにチオトロピウム及びオロダテロールの水溶液が充填されたものである。本薬はレスピマット吸入器を用いて投与する。本薬の pH は、安定性と生理的忍容性との兼ね合いが最良となる 2.7~3.1 に調整されている。吸入器ごとに 1 つのカートリッジを使用する。重要な臨床試験及び市販製剤については 2 吸入で投与する。2 吸入で投与される容量は $\blacksquare\ \mu\text{L}$ である。吸入液には $\blacksquare$ としてキレート剤のエデト酸二ナトリウムが含まれており、また複数回投与用デバイスを用いて投与することから $\blacksquare$ の塩化ベンザルコニウムが含まれている。

チオトロピウム+オロダテロールの非臨床試験には、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験、安全性薬理試験、薬物動態試験 (吸収、分布、代謝を含む) 並びにげっ歯類及び非げっ歯類を用いた毒性試験が含まれる。本申請では、 $\blacksquare$ 年 $\blacksquare$ 月 $\blacksquare$ 日までに実施したすべての非臨床試験を対象とした。

海外では、実施した非臨床試験及び臨床試験の結果に基づき、欧州、米国等にて承認済である (2015 年 7 月現在)。日本でも、以下の効能・効果及び用法・用量にて承認申請する。

【効能・効果】COPD (慢性閉塞性肺疾患：慢性気管支炎、肺気腫) の気道閉塞性障害に基づく諸症状の緩解 (申請時)

【用法・用量】通常、成人には 1 回 2 吸入 (チオトロピウムとして 5 μg 及びオロダテロールとして 5 μg) を 1 日 1 回吸入投与する。 (申請時)

2. 参考文献

- P07-11493 Standards for the diagnosis and management of patients with COPD (Version 1.2.). website.thoracic.org/go/copd; American Thoracic Society/European Respiratory Society. New York: American Thoracic Society 2004.
- P14-01052 Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (updated 2014). website.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2014.pdf (access date: 22 January 2014); Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2014.

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：	2.6.2 薬理試験の概要文	
文書作成日：	14 June 2015	Page 1 of 35
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		

目 次

目 次	2
略号及び用語の定義一覧	4
1. まとめ	6
2. 効力を裏付ける試験	8
2.1 チオトロピウム	8
2.2 オロダテロール	8
2.2.1 ヒト β_1 , β_2 及び β_3 アドレナリン受容体におけるオロダテロールの結合及び機能的特性評価	8
2.2.2 ヒト β_1 及び β_2 アドレナリン受容体におけるオロダテロール代謝物の結合及び機能的特性評価	9
2.2.3 オロダテロールの <i>in vivo</i> 薬力学的作用	10
2.2.3.1 モルモットの ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロールの作用	10
2.2.3.2 モルモットの ACh 誘発性気管支収縮に対する代謝物 CD 992 及び不純物分解生成物D* の作用	16
2.2.3.3 ビーグル犬の ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロールの作用	16
2.3 チオトロピウム+オロダテロール	18
2.3.1 ビーグル犬におけるチオトロピウム+オロダテロールの評価	18
2.3.2 モルモットにおけるチオトロピウム+オロダテロールの評価	21
3. 副次的薬理試験	24
3.1 チオトロピウム	24
3.2 オロダテロール	24
3.2.1 薬理学的受容体スクリーニング	24
3.2.1.1 <i>in vitro</i> 受容体スクリーニング	24
3.2.1.2 <i>in vitro</i> 受容体スクリーニング (α_1 -AR 及び 5HT _{2A} 受容体における作用)	24
3.2.2 中枢神経系に対する作用	24
3.2.2.1 マウス Irwin 変法	24
3.2.3 心血管系及び呼吸器系に対する作用	25
3.2.3.1 <i>ex vivo</i>	25
3.2.3.1.1 モルモット摘出心房	25
3.2.3.2 <i>in vivo</i>	25
3.2.3.2.1 覚醒ラットの心血管系及び呼吸器系に対する作用	25
3.2.3.2.2 ビーグル犬の心血管系に対する作用	25
3.2.3.2.3 ビーグル犬に十二指腸内投与したときの血行動態に対する作用	26
3.2.3.2.4 覚醒イヌの血行動態及び心電図に対する影響	27
3.2.4 腎機能及び血液生化学的検査パラメータに対する作用	27
3.2.5 消化器系に対する作用	28
3.3 チオトロピウム+オロダテロール	28

* : 新薬承認情報提供時に置き換えた

4.	安全性薬理試験.....	29
4.1	チオトロピウム.....	29
4.2	オロダテロール.....	29
4.2.1	中枢神経系に対する作用.....	29
4.2.1.1	ラットの行動、体温及び運動性に対するオロダテロールの作用.....	29
4.2.2	心血管系に対する作用.....	29
4.2.2.1	<i>in vitro</i> / <i>ex vivo</i>	29
4.2.2.1.1	hERG 媒介性カリウム電流及び活動電位波形に対する電気生理学的作用.....	29
4.2.2.2	<i>in vivo</i>	30
4.2.2.2.1	イヌにオロダテロールを単回投与したときの心血管系パラメータに対する作用.....	30
4.2.2.2.2	イヌにオロダテロールを単回経口投与したときの心血管系パラメータに対する作用.....	30
4.2.3	呼吸器系に対する作用.....	31
4.2.3.1	ラットの肺機能に対するオロダテロールの作用.....	31
4.3	チオトロピウム＋オロダテロール.....	31
4.3.1	hERG チャネルアッセイにおけるチオトロピウム＋オロダテロールの影響.....	31
4.3.2	ラットの行動、体温、運動性及び肺機能に対するチオトロピウム＋オロダテロールの影響.....	31
4.3.3	イヌの心血管系パラメータに対するチオトロピウム＋オロダテロールの影響.....	31
5.	薬力学的薬物相互作用試験.....	32
5.1	オロダテロールと開発コードE* の薬力学的相互作用.....	32
5.2	オロダテロールとチオトロピウム及び開発コードE* の薬力学的相互作用.....	32
6.	その他の薬理試験.....	33
7.	考察及び結論.....	34
8.	図表.....	35

*：新薬承認情報提供時に置き換えた

略号及び用語の定義一覧

ACh	=	acetylcholine	アセチルコリン
ATS	=	American Thoracic Society	米国胸部学会
ALP	=	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
APD	=	action potential duration	活動電位持続時間
AR	=	adrenergic receptor (adrenoceptor)	アドレナリン受容体
α_1 -AR	=	Alpha-1 adrenergic receptor	α_1 アドレナリン受容体
β_1 -AR	=	beta-1 adrenergic receptor	β_1 アドレナリン受容体
β_2 -AR	=	beta-2 adrenergic receptor	β_2 アドレナリン受容体
β_3 -AR	=	beta-3 adrenergic receptor	β_3 アドレナリン受容体
Ba 679	=	tiotropium (=active moiety of drug substance)	チオトロピウム (=原薬の活性部分)
Ba 679 BR	=	tiotropium bromide (=drug substance)	チオトロピウム臭化物水和物 (=原薬)
BI	=	Boehringer Ingelheim	ベーリンガーインゲルハイム
BI 1744	=	olodaterol (= active moiety of drug substance)	オロダテロール (=原薬の活性部分)
BI 1744 CL	=	olodaterol hydrochloride (= drug substance)	オロダテロール塩酸塩 (=原薬)
開発コードE*	=	ciclesonide	シクレソニド
CD8	=	cluster of differentiation 8	表面抗原分類 8
COPD	=	chronic obstructive pulmonary disease	慢性閉塞性肺疾患
dBp	=	diastolic blood pressure	拡張期血圧
EC ₅₀	=	concentration to induce 50% efficacy	50%有効濃度
ED ₅₀	=	dose to induce 50% efficacy	50%有効量
ECG	=	electrocardiogram	心電図
ERS	=	European Respiratory Society	欧州呼吸器学会
FDC	=	fixed dose combination	多剤混合薬
FOC	=	force of myocardial contraction	心筋収縮力
GGT	=	γ -glutamyltransferase	γ -グルタミルトランスフェラーゼ
GOLD	=	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease	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
h	=	hour	時間
h β_1 -AR	=	human beta-1 adrenergic receptor	ヒト β_1 アドレナリン受容体
h β_2 -AR	=	human beta-2 adrenergic receptor	ヒト β_2 アドレナリン受容体
h β_3 -AR	=	human beta-3 adrenergic receptor	ヒト β_3 アドレナリン受容体
hERG	=	human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
hM ₁	=	human muscarinic receptor subtype 1	ヒトムスカリン受容体サブタイプ 1
hM ₂	=	human muscarinic receptor subtype 2	ヒトムスカリン受容体サブタイプ 2
hM ₃	=	human muscarinic receptor subtype 3	ヒトムスカリン受容体サブタイプ 3
HR	=	heart rate	心拍数
5HT _{2A}	=	5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2A	セロトニン受容体 5HT _{2A}
ICH	=	International conference on harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
i.v.	=	intravenous	静脈内
kg	=	kilogram	キログラム
LABA	=	long acting β_2 -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
LVP	=	Left ventricular pressure	左室圧
M ₁	=	muscarinic receptor subtype 1	ムスカリン受容体サブタイプ 1
M ₂	=	muscarinic receptor subtype 2	ムスカリン受容体サブタイプ 2
M ₃	=	muscarinic receptor subtype 3	ムスカリン受容体サブタイプ 3
mBP	=	mean blood pressure	平均血圧
μ g	=	microgram	マイクログラム

*: 新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.2 薬理試験の概要文

チオトロピウム+オロダテロール

min	=	minute(s)	分
n	=	number of animals per group	1 群あたりの動物数
QTc	=	Q-T interval corrected	補正 QT 間隔
RR	=	respiratory rate	呼吸数
sBP	=	systolic blood pressure	収縮期血圧
SD	=	standard deviation	標準偏差
SEM	=	standard error of the mean	標準誤差
Tio+Olo FDC	=	fixed dose combination for tiotropium bromide and Olodaterol hydrochloride	チオトロピウム+オロダテロール混 合薬

1. まとめ

チオトロピウム（ベーリンガーインゲルハイム（BI）コード：Ba 679 BR）は、気道平滑筋細胞のムスカリン受容体に内因性伝達物質のアセチルコリン（ACh）が結合するのを阻害することにより、気管支拡張作用を発揮する長時間作用性抗コリン薬（LAMA）である。また一方で、ドイツを含む様々な国の COPD 治療ガイドラインにおいて、長時間作用性 β_2 刺激薬（LABA）は維持療法のための役割が確立されているが、オロダテロール（BI コード：BI 1744）は吸入投与薬として開発されたヒト β_2 アドレナリン受容体（AR）に選択的な LABA である。オロダテロールの作用の発現は速やかで、肺に対して局所選択的に作用し、 β_2 選択性が高く、 β_2 -AR においてほぼ完全な固有活性を示し（いわゆる部分刺激薬）、 β_1 -AR における固有活性が低いなど、最適な LABA プロファイルを有する。

本概要ではチオトロピウム+オロダテロール配合剤（Tio+Olo FDC）レスピマット吸入液の非臨床薬理プロファイルについて述べる。またオロダテロール単剤の非臨床薬理プロファイルについても概説する。なおチオトロピウム単剤の非臨床薬理プロファイルについては、本概要でも簡単に触れるが、詳細は承認申請資料を参照のこと。また、各種非臨床試験において、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。

本概要に記載する薬理試験では被験物質として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を使用した。得られたデータは特に記載しない限り活性本体（チオトロピウムカチオン、オロダテロール遊離塩基など）の当量として記載する。必要に応じて、各塩型（臭化物水和物／塩酸塩）の用量を括弧内に追記する。

効力を裏付ける試験において、モルモット及びイヌにオロダテロールを単回吸入投与したとき、ACh によって誘発された気管支収縮が濃度依存的に抑制された。両動物種において、速やかに効果が発現し、気管支収縮抑制作用は 24 時間持続した。

麻酔した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、オロダテロール及びチオトロピウム+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最長 24 時間にわたり検討した結果、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早く、オロダテロールを単独吸入したときと同様の効果が認められた。また、チオトロピウム及びオロダテロールをそれぞれ単独投与したときと同様に、チオトロピウム+オロダテロールでは 24 時間にわたり気管支収縮抑制作用が持続した。また、チオトロピウム+オロダテロールは少なくとも相加的な気管支収縮抑制作用を示した。

非臨床試験において、オロダテロールを単独投与したときに、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）が認められたが、対照薬として使ったホルモテロールと比較してそれらの所見はオロダテロールでは顕著ではなかった。また、安全性薬理試験において、予想外の有害所見は認められなかった。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。

非臨床試験において、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。また、副次的薬理試験及び安全性薬

理試験において、予想外の有害所見は認められなかった。さらに、ECG については、QTc 及び ECG 波形に有害所見は認められなかった。

要約すると、本薬理試験概要に記載されている効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験はいずれも Tio+Olo FDC の COPD 治療薬としての承認申請を支持するものと考えられる。

2. 効力を裏付ける試験

2.1 チオトロピウム

チオトロピウムは、気道平滑筋細胞のムスカリン受容体に内因性伝達物質の ACh が結合することにより、気管支拡張作用を発揮する LAMA である。

ムスカリン受容体には M_1 から M_5 受容体が知られており、そのうち M_3 受容体が活性化することにより気管支平滑筋が収縮する。また、 M_1 及び M_3 受容体は分泌腺にも存在しており、ACh の分泌作用を媒介している。さらに、 M_1 受容体は自律神経節にも認められる。心臓では主に M_2 受容体が認められ、ACh の徐脈作用を媒介している。

チオトロピウムはムスカリン受容体サブタイプ hM_1 から hM_5 に高い親和性（ナノモルオーダー以下）を示す。

チオトロピウムは第 4 級アンモニウム化合物であり、胃腸での吸収性が低く、ほとんど血液脳関門を通過しない。薬理試験において、チオトロピウムは特にムスカリン M_3 受容体からの解離が緩徐であり、特異的で非常に強力かつ競合的（すなわち可逆的）なムスカリン受容体拮抗作用を有する（チオトロピウムの承認申請資料参照）。数種類の *in vitro* 及び *in vivo* モデルで認められたチオトロピウムの長い作用持続時間及び非常に安定した薬理作用は、ムスカリン受容体からの緩徐な解離によるものと考えられる。チオトロピウムの効力及び 1 日 1 回の投与回数は、多数の非臨床試験及び大規模臨床試験により確立されたものである。

2.2 オロダテロール

オロダテロールは、新規の長時間作用性の LABA であり、気道平滑筋細胞の β_2 アドレナリン受容体を活性化することにより気管支拡張作用を発揮する。

2.2.1 ヒト β_1 , β_2 及び β_3 アドレナリン受容体におけるオロダテロールの結合及び機能的特性評価

β アドレナリン受容体ファミリーには 3 種類のサブタイプ (β_1 , β_2 及び β_3 -AR) が含まれる。 β_2 -AR が活性化されると望ましい気管支拡張が起こる。 β_1 -AR は心筋に発現しており、活性化されると陽性変力作用が誘導される。 β_3 -AR は脂肪組織に発現している。したがって、 β_2 刺激薬が β_1 -AR と比較して β_2 -AR に選択的なプロファイルを有することは、望ましくない有害作用を避けるために重要である。

ヒト β_1 , β_2 及び β_3 -AR の相補的 DNA (cDNA) をそれぞれ発現するチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) -K1 細胞を用いて、オロダテロールの薬理学的作用の特徴を評価した。オロダテロールの結合親和性及び刺激作用強度は、基準となる完全作用薬としてイソプレナリンと比較評価した。

オロダテロールは $h\beta_2$ -AR に対して非常に高い親和性を示し ($pK_i=9.1$, $K_i=0.72$ nM), 他の β -AR サブタイプに対して良好な結合選択性を示した ($h\beta_1$ -及び $h\beta_3$ -AR でそれぞれ, $pK_i=7.3$, $K_i=50$ nM 及び $pK_i=5.3$, $K_i=5$ μ M)。これらの結合データと一致して、オロダテロールは $h\beta_2$ -AR において、ほぼ完全な刺激作用を示し (50%有効濃度 (EC_{50}) =0.1 nM, 固有活性 (IA) =イソプレナリンと

の比較で 88%)，有意な選択性を示した ($h\beta_1$ -及び $h\beta_3$ -AR との EC_{50} 値の比較でそれぞれ 241 倍及び 2299 倍の選択性が認められた) [CTD4.2.1.1-11_U-2584]。

2.2.2 ヒト β_1 及び β_2 アドレナリン受容体におけるオロダテロール代謝物の結合及び機能的特性評価

マウス，ラット，ウサギ，イヌ又はヒトに $[^{14}C]$ オロダテロールを気管内，静脈内又は経口投与したとき，以下のオロダテロール代謝物が特定されている [CTD4.2.2.4-1_U-1514, CTD4.2.2.4-2_U-1516, CTD4.2.2.4-4_U-1317, CTD4.2.2.4-3_U-1057, CTD5.3.2.2-9_U-1129]。

- ・ CD 992 : オロダテロールの 6-ヒドロキシベンゾオキサジン部分のグルクロン酸抱合化により生成する。
- ・ SOM 1522 : オロダテロールのメトキシフェニル部分の脱メチル化により生成する。
- ・ CD 11249 及び CD 10915 : SOM 1522 のグルクロン酸抱合化により生成する。
- ・ M565(2) : オロダテロールの 1-ヒドロキシアミノエチル部分のグルクロン酸抱合化により生成する。
- ・ CD 12656 : オロダテロールを経口及び静脈内投与した後のヒト血漿及び尿中に低濃度 (5 pM 以下) で検出された。SOM 1522 の芳香族水酸基の硫酸抱合化により生成する。
- ・ M583 : オロダテロールのベンゾオキサジン部分のエーテル結合開裂とグルクロン酸抱合化により生成する。

$h\beta_1$ -AR 又は $h\beta_2$ -AR の cDNA をそれぞれ発現する CHO-K1 細胞を用いて，オロダテロール代謝物の薬理学的作用を評価するため，各化合物の結合親和性及び刺激作用強度を測定した。

第 II 相代謝物である CD 992 (ヒトにおける主代謝物)，CD 10915 及び CD 11249 は $h\beta_2$ -AR において弱い活性を示したものの (それぞれ $K_i=69$ nM, 1.2 μ M 及び 440 nM)， $h\beta_1$ -AR における活性は無視できる程度 ($K_i<10$ μ M) であった [CTD4.2.1.1-9_U-1323]。SOM 1522 は未変化体と類似した薬理学的プロファイルを示し， $h\beta_2$ -AR において強い活性を示し ($pK_i=9.37$, $K_i=0.43$ nM, $pEC_{50}=9.03$, $EC_{50}=0.9$ nM)， $h\beta_2$ -AR に対して高い選択性を示した。しかし，治療用量を上回る 40 μ g のオロダテロールを単回吸入投与した健康被験者及び COPD 患者 [CTD5.3.5.1-2_U08-1263]，並びに 20 μ g のオロダテロールを反復吸入投与した COPD 患者 [CTD5.3.5.1-3_U09-3125] の血漿及び尿試料の大部分からは，SOM 1522 は検出されなかった。

CD 12656 は $h\beta_1$ -AR に対して弱い活性 ($K_i=1260$ nM) 及び刺激作用 ($EC_{50}=251$ nM 及び IA=25%) しか示さず， $h\beta_2$ -AR について得られた EC_{50} 値は 12.6 nM, IA は 72% (イソプレナリンとの比較) であり，活性は未変化体の 100 分の 1 未満であった。ヒトにオロダテロールを経口及び静脈内投与したときに血漿及び尿中に検出された CD 12656 濃度が 5 pM 以下であったことを考慮すると，薬理学的効果を発揮する可能性は低いと考えられる [CTD4.2.1.1-10_U-2582]。

上述のオロダテロール代謝物に加え 分解生成物^{D*} は臨床製剤において特定されたオロダテロールの特異的分解生成物である。分解生成物^{D*} は $h\beta_2$ -AR の弱い機能的刺激薬であり， EC_{50} 値は 730 nM, IA

* : 新薬承認情報提供時に置き換えた

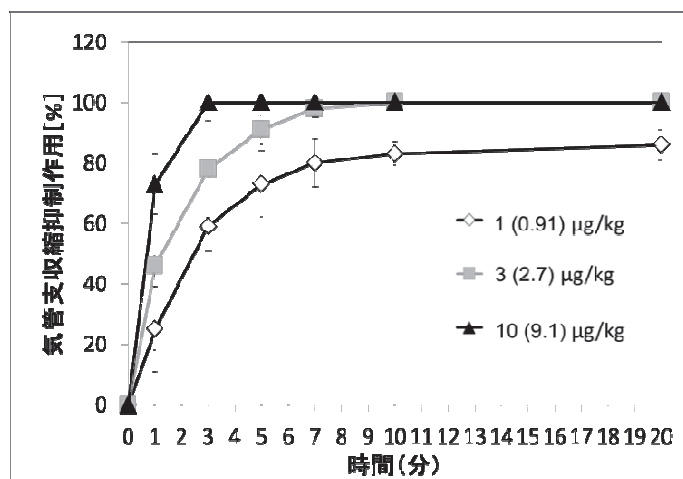
は 39% (イソプレナリンとの比較) であった。一方, $h\beta_1$ -AR における刺激作用は検出されなかった。さらに, この不純物がイソプレナリンの β_1 機能に対して干渉しなかったことから, この受容体サブタイプにおいても拮抗作用を示さないことが示唆された [CTD4.2.1.1-5_U-1680]。

2.2.3 オロダテロールの *in vivo* 薬力学的作用

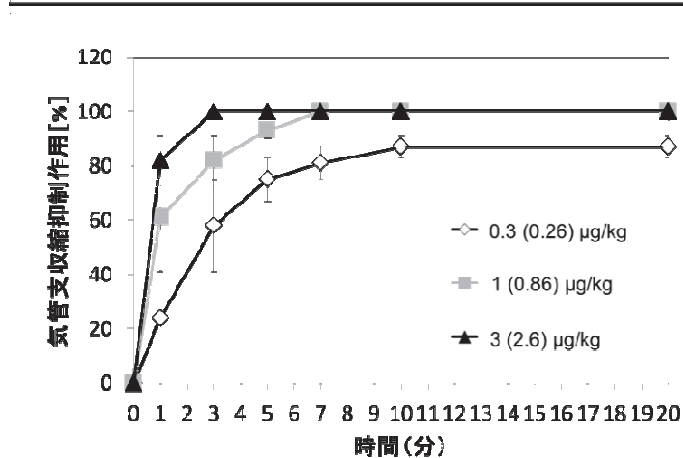
2.2.3.1 モルモットの ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロールの作用

モルモットの ACh 誘発性気管支収縮モデルを用いて *in vivo* 薬効試験を実施し, オロダテロールの作用発現, 有効性及び作用持続時間について検討した。

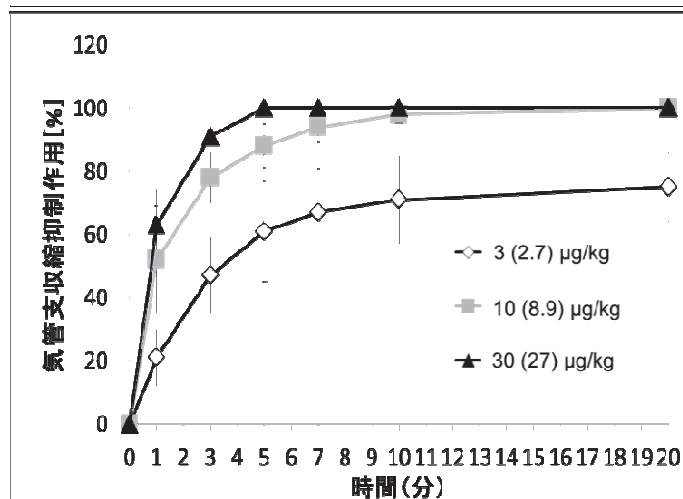
Konzett-Röbber 法に従って, 麻酔下のモルモットにオロダテロールを吸入投与したときの ACh 誘発性気管支収縮に対する作用発現を評価した。まず, ACh を反復静脈内投与することによりベースラインの気管支収縮を誘発した後, オロダテロールを吸入投与し, ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロールの抑制作用を 1 時間にわたり経時的に記録した。気管支収縮抑制作用については, ACh 投与前の定常状態の気道抵抗を 100%, ACh 投与後試験開始前の気道抵抗を 0%としたときの, 各測定時間における気道抵抗の値から気管支収縮抑制作用 (%) を算出した。用量 0.91 ~ 9.1 $\mu\text{g/kg}$ のオロダテロールで試験を行った場合, ACh 誘発性気管支収縮は用量依存的に抑制された (図 2.2.3.1: 1)。用量 0.91 $\mu\text{g/kg}$ においては, オロダテロールの吸入投与後 7 分の時点で既に約 80% の気管支収縮抑制作用が認められた。十分な効果が得られる最小用量 (最小十分有効量) である 2.7 $\mu\text{g/kg}$ を投与したときには, 10 分以内に完全な気管支収縮抑制作用 (100%) が達成され, 最小十分有効量の 3 倍量 (9.1 $\mu\text{g/kg}$) のオロダテロールを投与したときには, 3 分以内に気管支収縮抑制作用が達成された (図 2.2.3.1: 1 A)。オロダテロールの作用発現について, 2 種類の対照となる長時間作用性 β_2 刺激薬であるホルモテロール及びサルメテロールと比較した [CTD4.2.1.1-3_U-2386]。ホルモテロールはオロダテロールと類似した作用発現を示し, 最小十分有効量 (0.86 $\mu\text{g/kg}$) を投与したときには, 投与後 7 分以内に完全な気管支収縮抑制作用 (100%) が達成された (図 2.2.3.1: 1 B)。一方で, サルメテロールの作用発現は緩徐であり, 最小十分有効量 (8.9 $\mu\text{g/kg}$) を投与したとき, 投与後 20 分で完全な気管支収縮抑制作用 (100%) が達成された (図 2.2.3.1: 1 C)。この試験結果から, ホルモテロール同様, オロダテロールは速やかな作用発現を示す β_2 刺激薬であることが確認された。



A



B



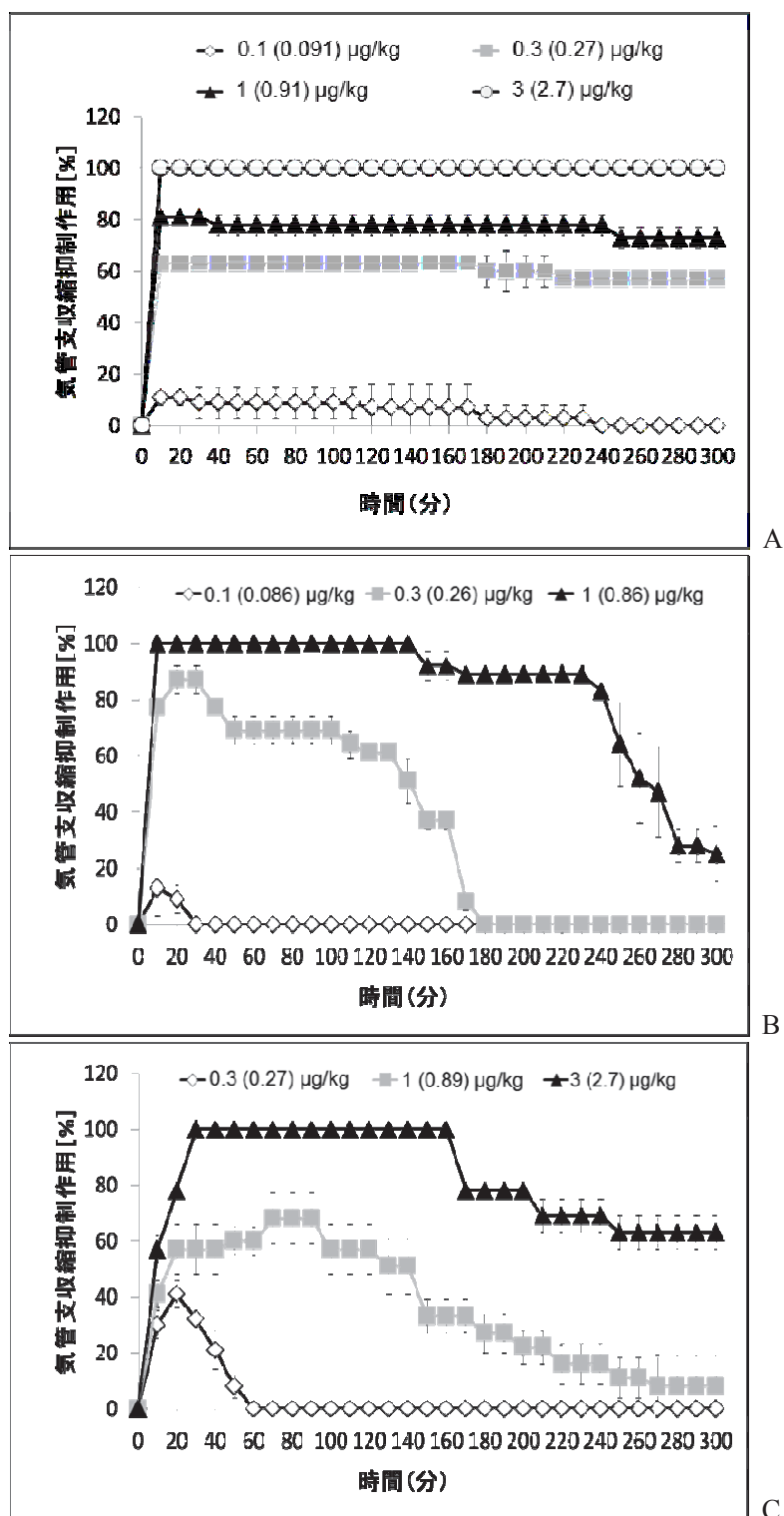
C

平均値±SD, n=4~6。括弧内に示す用量は有効成分の遊離塩基当量を意味する (CTD4.2.1.1-3_U-2386)。

図 2.2.3.1: 1 麻酔下モルモットにおける ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロール塩酸塩 (図 A), ホルメテロールフマル酸塩 (図 B) 及びサルメテロールヘミ硫酸塩 (図 C) の用量依存的な作用発現

麻酔下のモルモットにおいて、ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロールの有効性及び作用持続時間について、5 時間の長時間にわたる記録を行い評価した (図 2.2.3.1: 2 A)。

用量 0.91 µg/kg のオロダテロールを吸入投与したとき、試験終了時（5 時間後）まで約 80%の気管支収縮抑制作用が認められ、2.7 µg/kg のオロダテロールを吸入したときには、5 時間にわたり ACh 誘発性気管支収縮が完全に（100%）抑制された。この試験においても、対照薬としてホルモテロール及びサルメテロールを使用して比較評価した。最小十分有効量（0.86 µg/kg）のホルモテロールは 140 分間にわたり完全な気管支収縮抑制作用（100%）を示し、その後さらに 100 分間にわたり 80%の気管支収縮抑制作用が認められたが 5 時間後には低下した（図 2.2.3.1: 2 B）。サルメテロールの場合、用量 2.7 µg/kg を吸入投与したとき、完全な気管支収縮抑制作用（100%）が達成され、160 分間にわたり持続した。その後、気管支収縮抑制作用は徐々に低下し、5 時間後には 60%となった（図 2.2.3.1: 2 C） [CTD4.2.1.1-1_U-1553, CTD4.2.1.1-7_U-2108]。

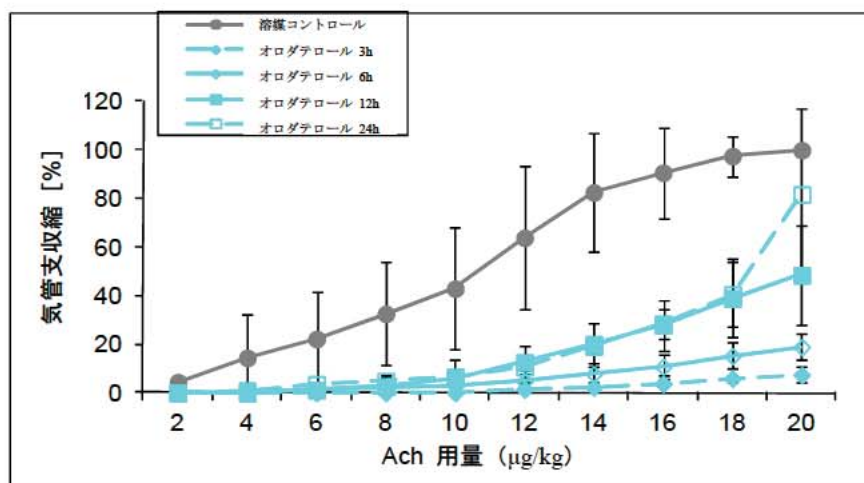


平均値 $\pm$ SD, n=2。括弧内に示す用量は有効成分の遊離塩基当量を意味する (CTD4.2.1.1-1_U-1553, CTD4.2.1.1-7_U-2108)。

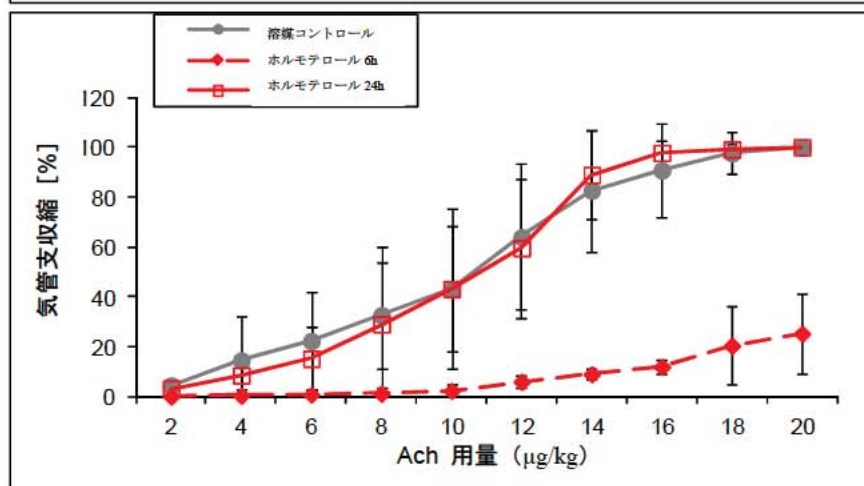
図 2.2.3.1: 2 麻酔下モルモットにおける ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロール塩酸塩 (図 A), ホルモテロールフマル酸塩 (図 B) 及びサルメテロールヘミ硫酸塩 (図 C) の用量依存的有効性及び作用持続時間

オロダテロールを1日1回投与したときの作用推移を評価する非臨床試験として、麻酔下のモルモットに最小十分有効量 ($2.7 \mu\text{g/kg}$) を気管内投与し、3, 6, 12 及び 24 時間後に気管支拡張作用を評価した (図 2.2.3.1:3 A)。ACh を静脈内投与することにより誘発した気管支収縮作用は、ACh の用量 $2 \sim 20 \mu\text{g/kg}$ の範囲で累積的に増大した。投与 3 時間後の時点で、オロダテロールは麻酔下のモルモットにおける全用量範囲の ACh 誘発性気管支収縮に対して完全な抑制作用を示した。さらに、オロダテロールは、6 時間後においても、用量 $12 \mu\text{g/kg}$ までの ACh 静脈内投与に対し、そして 12 時間後には、用量 $10 \mu\text{g/kg}$ までの ACh 静脈内投与に対して、完全な気管支収縮抑制作用を維持した。なおこの 12 時間後の時点で、 $20 \mu\text{g/kg}$ の ACh によって誘発された気管支収縮の程度も 49% に過ぎなかった。さらに、24 時間後の時点において、オロダテロールは用量 $10 \mu\text{g/kg}$ の ACh 静脈内投与まで 93% の気管支収縮抑制作用を維持し、これより高用量の $12 \sim 18 \mu\text{g/kg}$ の ACh 静脈内投与に対しても 50% 以上の気管支収縮抑制作用を示した。

オロダテロールの作用持続時間をホルモテロールと比較した。滴下後 6 時間におけるホルモテロールの気管支収縮抑制作用はオロダテロールと同程度であったが、24 時間後には、ホルモテロールの作用は完全に消失した (図 2.2.3.1:3 B) [CTD4.2.1.1-6_U-1786]。



A



B

平均値±SD, n=4~6。10 分間隔で漸増用量 2~20 μg/kg の ACh を静脈内投与した。気管支収縮は ACh 20 μg/kg 投与下で記録された最大オーバーフロー量に対する割合として示す (CTD4.2.1.1-6_U-1786)。

図 2.2.3.1: 3 麻酔下モルモットにおける ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロール (図 A) 及びホルモテロール (図 B) の作用

2.2.3.2 モルモットの ACh 誘発性気管支収縮に対する代謝物 CD 992 及び不純物^{分解生成物D*}の作用

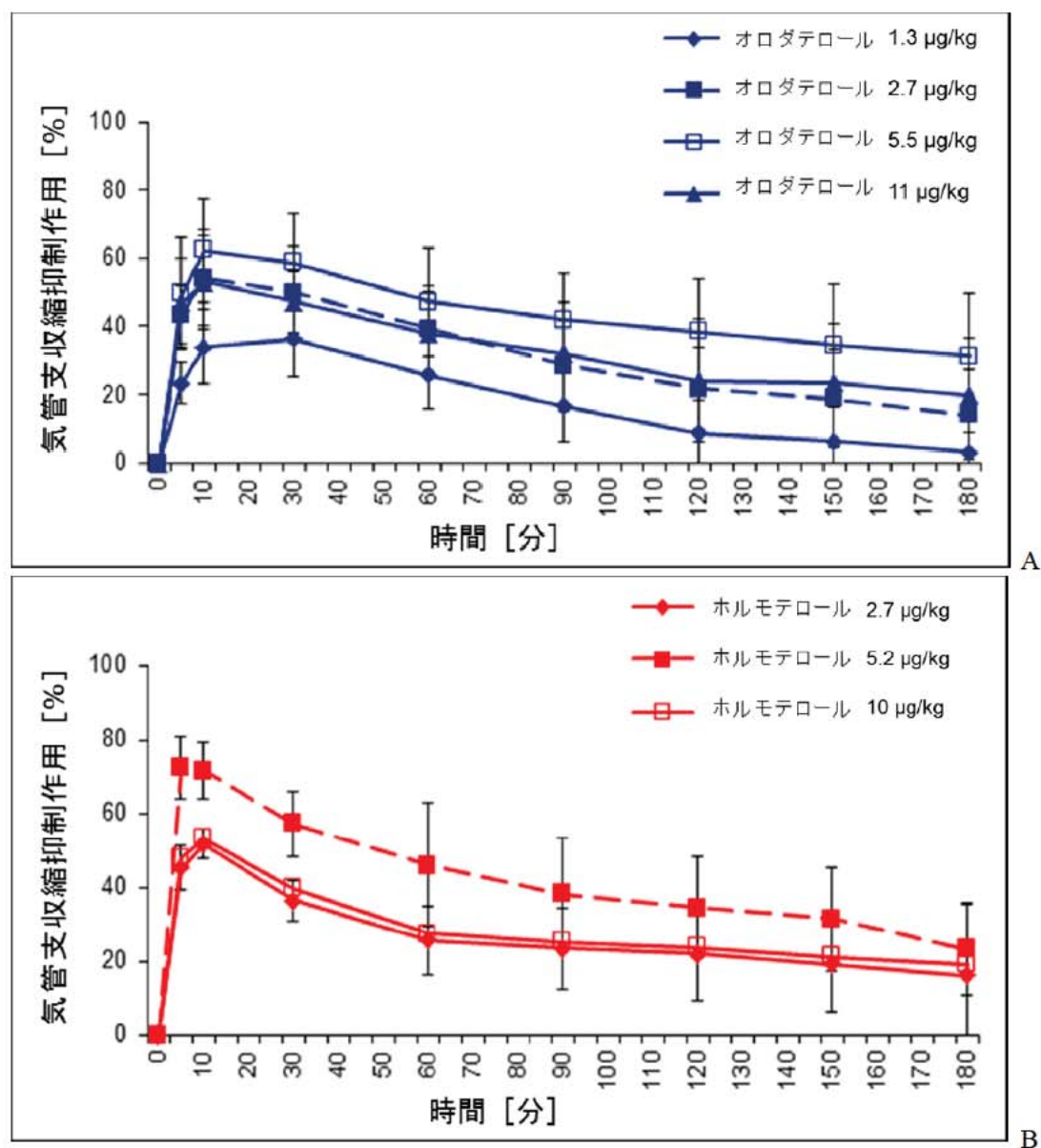
ヒトにおける主代謝物である CD 992 のモルモット ACh 誘発性気管支収縮に対する作用を 5 時間にわたり評価した (Konzett-Röbber 法) [CTD4.2.1.1-8_U-2475]。CD 992 の作用は用量依存的ではあるが、軽度であり、検討した最高用量 (酢酸塩として 30 µg/kg) における気管支収縮抑制作用は 46%であった。対照的に、用量 2.7 µg/kg のオロダテロールは気管支収縮を完全に抑制した。CD 992 の作用は 90 分後に発現し、オロダテロールに比べてはるかに長い時間を要した。

オロダテロールの特異的分解生成物である^{分解生成物D*}のモルモット ACh 誘発性気管支収縮に対する作用を 5 時間にわたり評価した (Konzett-Röbber 法) [CTD4.2.1.1-7_U-2108]。^{分解生成物D*}の用量範囲 3~300 µg/kg (塩酸塩として) における^{分解生成物D*}の気管支収縮抑制作用は用量依存的ではあるが、軽度であった。最高用量 300 µg/kg で最大効果が得られ、気管支収縮は 70%抑制された。

2.2.3.3 ビーグル犬の ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロールの作用

麻酔下ビーグル犬の ACh 誘発性 (10 µg/kg 静脈内投与) 気管支収縮モデルを用いて、オロダテロールの吸入投与後 5 分, 10 分, 30 分, 60 分, 90 分, 120 分, 150 分, 及び 180 分における気管支収縮抑制作用を評価した [CTD4.2.1.1-2_n00173373]。検討したすべての用量において、オロダテロールは速やかに ACh 誘発性気管支収縮を抑制し、最小十分有効量は 5.5 µg であった (図 2.2.3.3: 1 A)。この用量において、10 分以内に最大 62%の気管支収縮抑制作用が達成され、3 時間後の時点でも 31%の気管支収縮抑制作用が記録された。オロダテロールの作用挙動をホルモテロールと比較した結果、最小十分有効量 (5.2 µg) のホルモテロールは速やかに約 70%の気管支収縮抑制作用を示し、試験終了時点 (3 時間後) でも 23%の気管支収縮抑制作用が認められた (図 2.2.3.3: 1 B)。

* : 新薬承認情報提供時に置き換えた



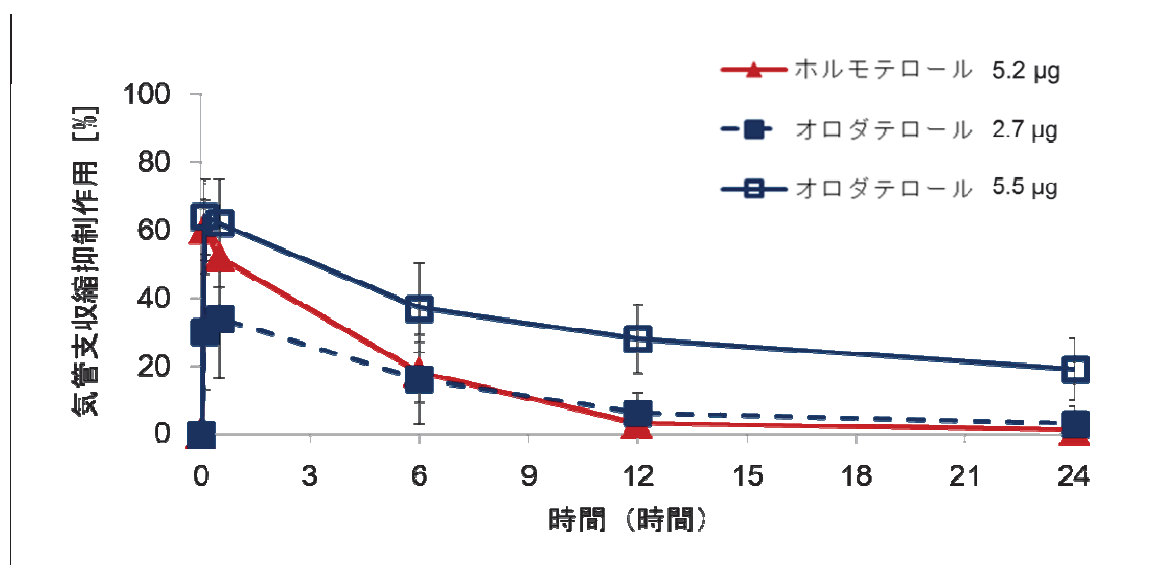
気管支収縮抑制作用は、薬物投与前に ACh によって誘発した肺抵抗上昇の抑制率として示す。図中に示す用量は有効成分の遊離塩基当量を意味する (CTD4.2.1.1-2_n00173373)。

図 2.2.3.3: 1 麻酔下ビーグル犬における ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロール (図 A) 及びホルモテロール (図 B) の作用

麻酔下ビーグル犬の ACh 誘発性気管支収縮モデルを用いて、オロダテロールの有効性及び作用持続時間について、さらに吸入投与 24 時間後まで評価した [CTD4.2.1.1-4_n00173717]。最小十分有効量 (5.5 µg) のオロダテロールは速やかに ACh 誘発性気管支収縮を抑制し、吸入投与後 10 分以内に 64%の最大気管支収縮抑制作用を達成した。オロダテロールの気管支収縮抑制作用は、6 時間後には 37%に低下したが、その後、12 時間後で 28%、24 時間後で 19%の活性が維持された。

これと比較して、最小十分有効量 (5.2 µg) のホルモテロールの評価を行った結果、10 分以内に最大 60%の気管支収縮抑制作用が達成された。その後、気管支収縮抑制作用は速やかに低下し、

6 時間後には 18%, 12 時間後にはわずか 3% となった。ホルモテロール吸入投与 24 時間後には, ACh 誘発性気管支収縮に対する抑制作用は全く認められなかった (図 2.2.3.3: 2)。



平均値±SD, n=2~6。図中に示す用量は有効成分の遊離塩基当量を意味する。(CTD4.2.1.1-4_n00173717)。

図 2.2.3.3: 2 麻酔下ビーグル犬における ACh 誘発性気管支収縮に対するオロダテロール及びホルモテロールの 24 時間にわたる作用

2.3 チオトロピウム+オロダテロール

麻酔下の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, オロダテロール及びチオトロピウム+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。検討時間はイヌで 3 時間及び 24 時間, モルモットで 24 時間とした。

2.3.1 ビーグル犬におけるチオトロピウム+オロダテロールの評価

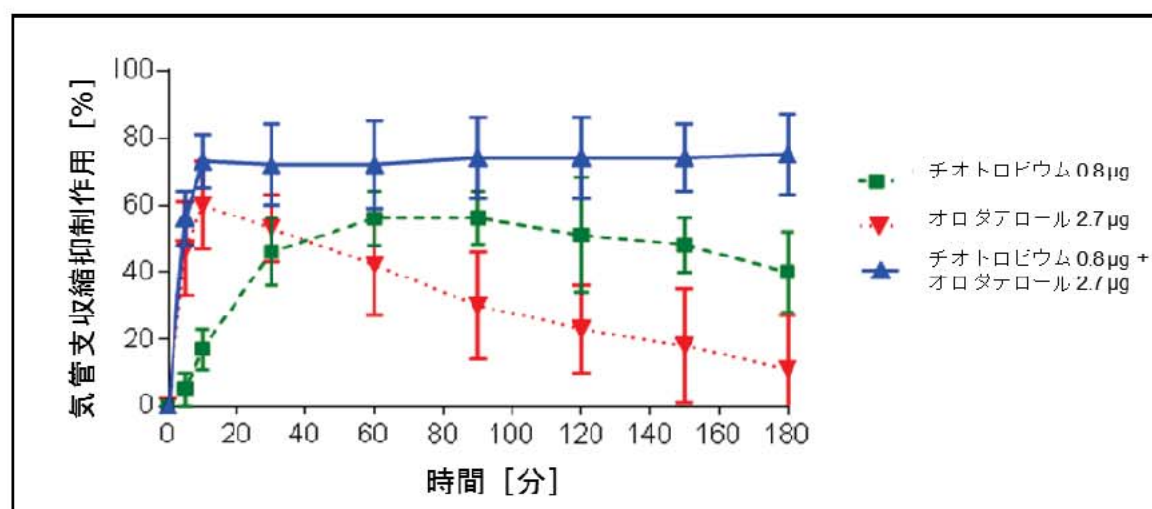
人工呼吸下の麻酔ビーグル犬に, 気管チューブに直接接続したレスピマット吸入器を用いて薬物を吸入投与した。薬物吸入前後の所定の時点に ACh を 10.0 µg/kg で静脈内投与することにより, 気管支収縮を誘発した。本モデルでは, 薬物の有効性を ACh 誘発気管支収縮に対する抑制率で評価するため, 気管支収縮抑制作用は ACh 投与前の気道抵抗値を示すときが最も高く, 100%を超えることはない。両薬物の併用時に相加作用を示すかどうかを検討するため, それぞれの薬物の投与量は, 単独投与時に気管支収縮抑制作用が 40~60%を示す投与量とした。

最初の一連の実験では, 薬物吸入 5, 10, 30, 60, 90, 120, 150 及び 180 分後に気管支収縮を誘発し, 早期の時点における両薬物の併用効果を検討した。

図 2.3.1: 1 に示すように, オロダテロール 2.7 µg (オロダテロール塩酸塩 3.0 µg に相当) を投与したとき, 早い作用発現が認められた。抑制作用のピーク (60%) は早くも吸入 10 分後に認められ, 180 分間で約 11%に低下した。チオトロピウム 0.8 µg (チオトロピウム臭化物水和物 1 µg に相当) を投与したときの抑制作用の発現はより遅かった。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、試験終了時 (180 分) に 40%まで緩やかに低下した。チオトロピウム+オロダテロールを投与したときには、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 75%) は吸入後 10 分以内に認められ、残りの試験時間中 (180 分まで) も約 73%で維持された。

本試験において、心拍数、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]。



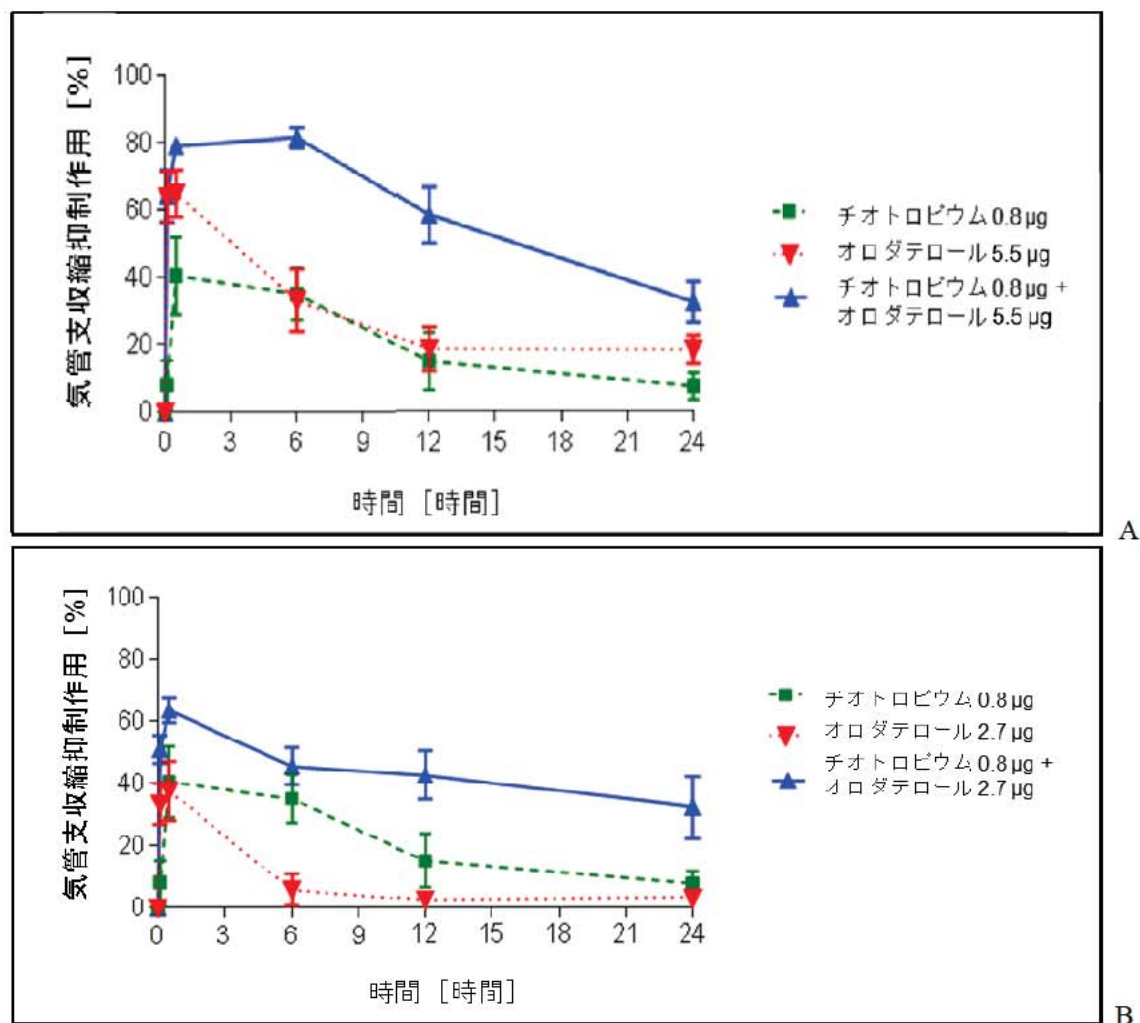
薬物吸入 5, 10, 30, 60, 90, 120, 150 及び 180 分後に気管支収縮を誘発した。気管支収縮抑制作用は、薬物吸入前に ACh で誘発された肺抵抗上昇に対する阻害率で表す (平均値 $\pm$ SD, 1 群あたり n=4) (CTD4.2.1.1-12_n00173793)。

図 2.3.1.1 麻酔下イヌの ACh 誘発気管支収縮モデルにチオトロピウム 0.8 µg (チオトロピウム臭化物水和物 1 µg に相当), オロダテロール 2.7 µg (オロダテロール塩酸塩 3 µg に相当) 及びチオトロピウム+オロダテロールを吸入投与したときの吸入後 180 分までの気管支収縮抑制作用

チオトロピウム+オロダテロールの作用をより長時間にわたり検討するため、薬物吸入 10 分, 30 分, 6 時間, 12 時間及び 24 時間後に気管支収縮抑制作用を評価した (図 2.3.1.2 A 及び 2B)。薬物の投与量は 1 匹あたりの重量 (µg) で示す。

図 2.3.1.2 A に示すように、オロダテロール 5.5 µg (オロダテロール塩酸塩 6 µg に相当) を投与したとき、上記試験と同様に早い作用発現が認められた。抑制作用のピーク (65%) は早くも最初の測定時点 (吸入 10 分後) で認められ、吸入 24 時間後に 19%の気管支収縮抑制作用が維持されていた。チオトロピウム 0.8 µg (チオトロピウム臭化物水和物 1 µg に相当) を投与したとき、気管支収縮抑制作用のピーク (40%) は吸入 30 分後に認められ、吸入 24 時間後には 8%であった。チオトロピウム+オロダテロールを投与したときには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 (吸入 30 分後及び 6 時間後に 80%), 吸入 24 時間後に 33%の気管支収縮抑制作用が維持されていた。

低用量のオロダテロール (2.7 μg : オロダテロール塩酸塩 3 μg に相当) とチオトロピウム 0.8 μg (チオトロピウム臭化物水和物 1 μg に相当) (いずれも 1 例あたりの投与量) を併用したときの気管支収縮抑制作用についても 24 時間にわたり検討した (図 2.3.1: 2 B)。オロダテロール 2.7 μg 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 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。本試験において, 心血管系及び代謝系に明らかな作用は認められなかった [CTD4.2.1.1-13_U-2588]。



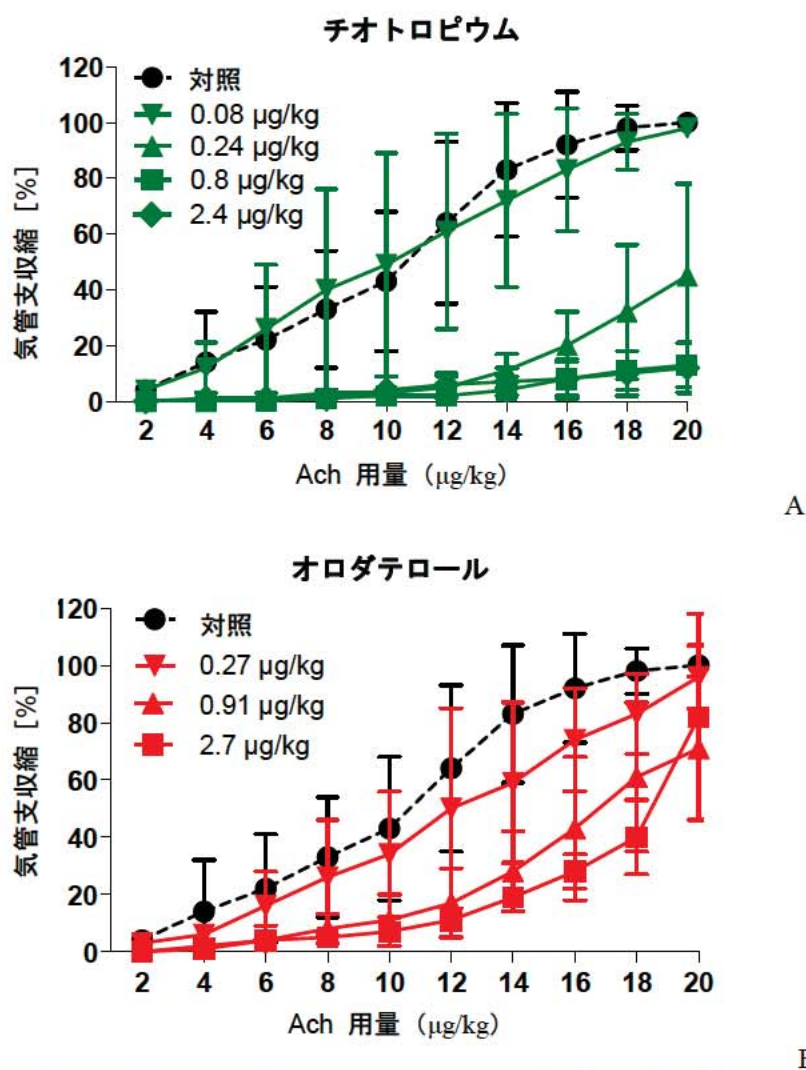
チオトロピウムの吸入投与量は 1 匹あたり 0.8 μg (チオトロピウム臭化物水和物 1 μg に相当) とした。A では 1 匹あたりオロダテロール 5.5 μg (オロダテロール塩酸塩 6 μg に相当) を単独又はチオトロピウム臭化物水和物との併用で吸入投与した。B では 1 匹あたりオロダテロール 2.7 μg (オロダテロール塩酸塩 3 μg に相当) を単独又はチオトロピウムとの併用で吸入投与した。薬物吸入 10 及び 30 分後, 並びに 6, 12 及び 24 時間後に気管支収縮を誘発した。気管支収縮抑制作用は, 薬物吸入前に ACh で誘発された肺抵抗上昇に対する阻害率で表す (平均値 $\pm$ SEM, 1 群あたり $n=3\sim4$) (CTD4.2.1.1-13_U-2588)。

図 2.3.1: 2 麻酔下のイヌの ACh 誘発気管支収縮モデルにおけるチオトロピウム, オロダテロール及びチオトロピウム+オロダテロールの吸入後 24 時間までの気管支収縮抑制作用

2.3.2 モルモットにおけるチオトロピウム+オロダテロールの評価

モルモットモデルでは、溶媒対照及び薬物はいずれも回復可能な軽度麻酔下のモルモット気管内に直接滴下投与した。24 時間後に再度麻酔し、2~20 $\mu\text{g/kg}$ の ACh を漸増投与 (2 $\mu\text{g/kg}$ ずつ 10 分おきに投与) することにより気管支収縮を誘発した。

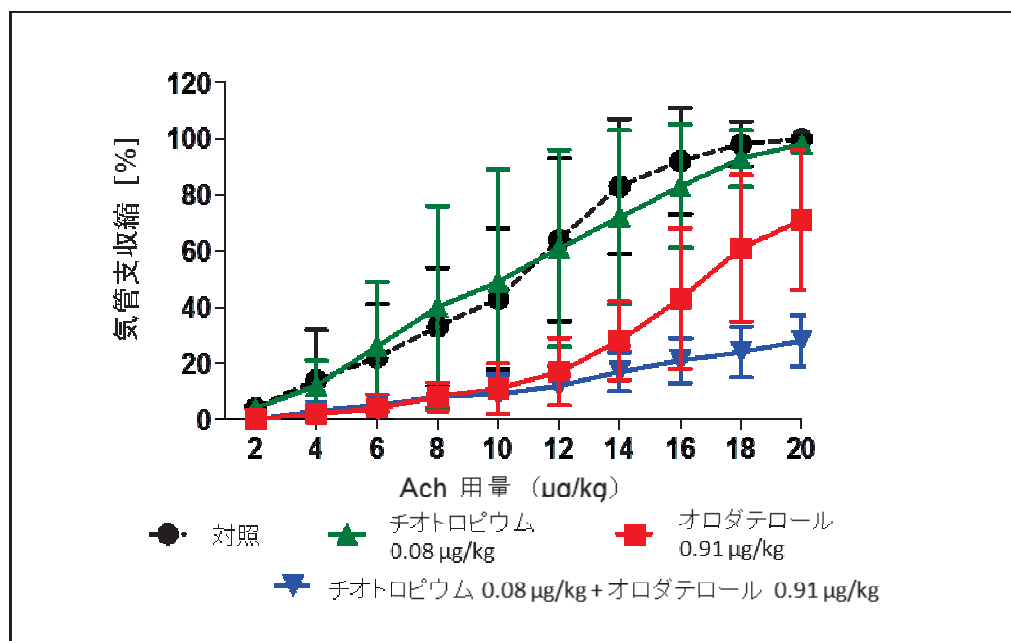
図 2.3.2: 1 (●) に示すように、溶媒 (対照) 群では ACh 誘発気管支収縮が ACh 投与用量依存的に認められ、その ED_{50} 値は $10 \pm 2 \mu\text{g/kg i.v.}$ であった。チオトロピウム 0.8 又は 2.4 $\mu\text{g/kg}$ (それぞれチオトロピウム臭化物水和物 1 及び 3 $\mu\text{g/kg}$ に相当) を投与したとき、投与 24 時間後において、検討したいずれの投与量の ACh に対しても完全な気管支収縮抑制作用が認められた (図 2.3.2: 1 A)。チオトロピウム 0.24 $\mu\text{g/kg}$ (チオトロピウム臭化物水和物 0.3 $\mu\text{g/kg}$ に相当) では、投与 24 時間後において、12 $\mu\text{g/kg i.v.}$ までの ACh に対して完全な気管支収縮抑制作用が認められたが、チオトロピウム 0.08 $\mu\text{g/kg}$ (チオトロピウム臭化物水和物 0.1 $\mu\text{g/kg}$ に相当) では、投与 24 時間後に作用が認められなかった。オロダテロール 0.91 及び 2.7 $\mu\text{g/kg}$ (それぞれオロダテロール塩酸塩 1 及び 3 $\mu\text{g/kg}$ に相当) を投与したとき、投与 24 時間後において、10 $\mu\text{g/kg i.v.}$ までの ACh に対して強い気管支収縮抑制作用が認められた。それより高い投与量の ACh では気管支収縮が漸増的に誘発され、ACh の最高投与量に対するオロダテロールによる抑制作用は認められなかった (図 2.3.2: 1 B)。



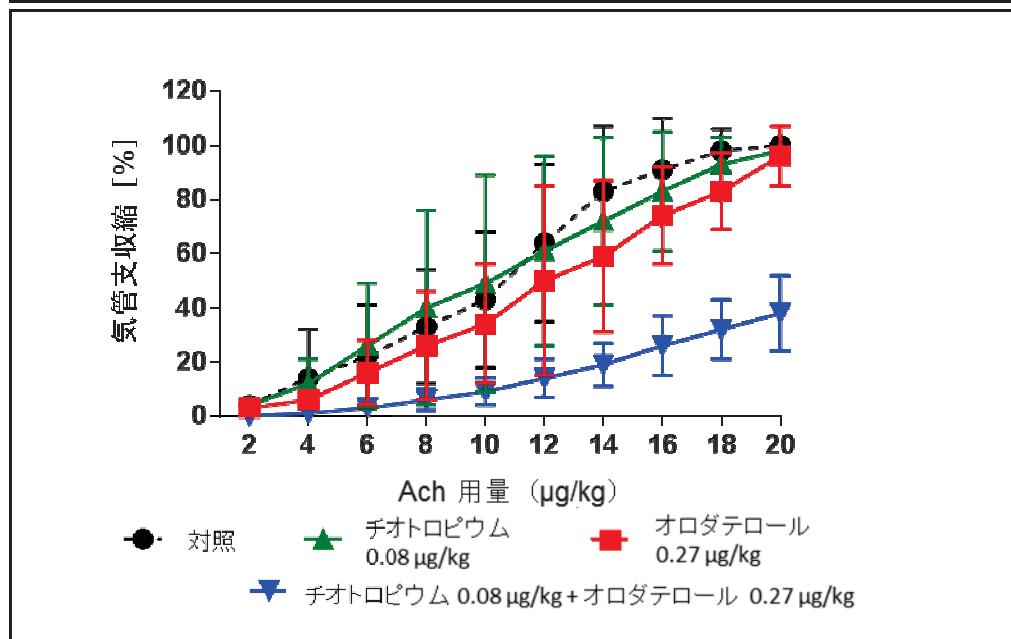
(A) チオトロピウム 0.08, 0.24, 0.8 及び 2.4 $\mu\text{g/kg}$ (チオトロピウム臭化物水和物 0.1, 0.3, 1 及び 3 $\mu\text{g/kg}$ に相当) を検討した。(B) オロダテロール 0.27, 0.91 及び 2.7 $\mu\text{g/kg}$ (オロダテロール塩酸塩 0.3, 1 及び 3 $\mu\text{g/kg}$ に相当) を検討した。気管支収縮は 20 $\mu\text{g/kg}$ の ACh 投与後に測定された最大肺抵抗値に対する比率で示す (平均値 $\pm$ SD, $n=4\sim 6$) (CTD4.2.1.1-14_U-2153)。

図 2.3.2: 1 麻酔下モルモットの ACh 誘発気管支収縮に対するチオトロピウム、オロダテロールの気管内滴下投与 24 時間後の気管支収縮抑制作用

次に、チオトロピウム+オロダテロールの投与 24 時間後の気管支収縮抑制作用を検討する一連の試験を実施した。上記条件下において、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 $\mu\text{g/kg}$) のチオトロピウム臭化物水和物と低用量のオロダテロール塩酸塩を併用投与した。図 2.3.2: 2 に示すように、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、チオトロピウム 0.08 $\mu\text{g/kg}$ とオロダテロール 0.27 $\mu\text{g/kg}$ の併用投与により、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-2153]。



A



B

チオトロピウム及びオロダテロールをそれぞれ単独投与するか、又は (A) チオトロピウム 0.08 μg/kg とオロダテロール 0.91 μg/kg を併用投与、若しくは (B) チオトロピウム 0.08 μg/kg とオロダテロール 0.27 μg/kg を併用投与した (Tio+Olo)。気管支収縮は 20 μg/kg の ACh 投与後に測定された最大肺抵抗値に対する比率で示す。各値は平均値 ± SD を表す (n=5~11) (CTD4.2.1.1-14_U-2153)。

図 2.3.2: 2 麻酔下モルモットの ACh 誘発気管支収縮モデルにおけるチオトロピウム、オロダテロール及び Tio+Olo の投与後 24 時間の気管支収縮抑制作用

3. 副次的薬理試験

3.1 チオトロピウム

チオトロピウムを一連の副次的薬理試験で評価した（チオトロピウムの承認申請資料参照，なおチオトロピウムの承認申請資料では「一般薬理試験」で評価している）。これらの試験において，抗コリン薬でよく知られている末梢自律神経系への影響が認められた。観察された影響は，抗コリン薬を全身投与したときに生じる腺組織及び平滑筋組織への作用を介するものであった。それ以外の薬理作用は認められなかった。

3.2 オロダテロール

種々の一般薬理試験モデル（非 GLP 試験）を用いて，オロダテロールを主に単回投与したときの評価を行った。投与経路が原因で動物ごとの用量測定ができなかった場合，認められた影響を既に市販されている等力価のアドレナリン受容体刺激薬と比較した。なお特に記載のない場合は，オロダテロール及び対照薬として用いたホルモテロールの用量は遊離塩基当量で表している。

3.2.1 薬理学的受容体スクリーニング

3.2.1.1 *in vitro* 受容体スクリーニング

オロダテロールの受容体選択性を評価するため，75 種類の受容体について *in vitro* のモデルを用いた検討を行った [CTD4.2.1.2-1_U-1760]。濃度 1 μ M (β_2 -AR の K_i の 1389 倍) のオロダテロールは，以下の受容体（阻害率を括弧内に示す），すなわち， α_1 -AR (87%)， β_1 -AR (96%)， β_2 -AR (97%)，セロトニン受容体 5HT_{2A} (59%) において，特異的結合を阻害した。

3.2.1.2 *in vitro* 受容体スクリーニング (α_1 -AR 及び 5HT_{2A} 受容体における作用)

α_1 -AR 及び 5HT_{2A} 受容体におけるオロダテロールの作用について，*in vitro* モデル（ウサギ胸部大動脈リング標本における等尺性張力記録）を用いてさらに評価した [CTD4.2.1.2-2_U-1852]。拮抗剤として作用する可能性をモニターするため，様々な濃度において，オロダテロールのフェニレフリン (α_1 -AR の場合) 又は 5HT (5HT_{2A} 受容体の場合) 誘発性収縮抑制作用を評価した。濃度 1 μ M のオロダテロールは α_1 -AR 及び 5HT_{2A} 受容体において，それぞれ 48%及び 85%の抑制作用を示した。これらの結果を総合すると，オロダテロールは α_1 -AR 及び 5HT_{2A} 受容体においては刺激作用を示さず，弱い拮抗作用のみを示すことが明らかになった（それぞれ IC₅₀=約 1 μ M 及び IC₅₀>10 μ M）。

3.2.2 中枢神経系に対する作用

3.2.2.1 マウス Irwin 変法

夜間自発運動及び体温を含む Irwin 変法を用いて，マウスの中枢神経系 (CNS) 機能に対するオロダテロールの作用を評価した [CTD4.2.1.2-9_U-1815]。オロダテロールを 1, 3, 10 μ g/kg, ホルモテロールフマル酸塩（対照薬）は遊離塩基当量として 0.86, 2.6, 8.6 μ g/kg の用量で皮下投

与した。本評価には溶媒投与群も組み込み、それぞれの群については投与 24 時間後まで評価を行った。

用量 1 及び 3 µg/kg のオロダテロールを皮下投与しても、顕在的又は内潜在的行動に対する影響はなく、夜間自発運動に対する影響も認められなかった。最高用量である 10 µg/kg のオロダテロールを皮下投与したとき、マウスの運動性が一過性（投与後 1 時間まで）に低下するとともに（58%, $p=0.015$ ），協調運動障害が認められた。マウスに用量 8.6 µg/kg のホルモテロールを皮下投与したときにも、同様の運動抑制傾向（33%，統計的有意差なし）が認められた。

3.2.3 心血管系及び呼吸器系に対する作用

3.2.3.1 *ex vivo*

3.2.3.1.1 モルモット摘出心房

モルモット摘出右心房を用いるバイオアッセイを実施し、 β_1 -AR におけるオロダテロールの作用を評価した [CTD4.2.1.2-7_U-1602]。刺激作用について検討したとき、濃度範囲 10 nM～1 µM のオロダテロールは濃度依存的に陽性変時作用を誘発した。また、イソプレナリン（30 nM）で前処理を行った組織を用いて拮抗作用について検討したとき、オロダテロールは 10 µM の高濃度まで拮抗作用を示さなかった。

3.2.3.2 *in vivo*

3.2.3.2.1 覚醒ラットの心血管系及び呼吸器系に対する作用

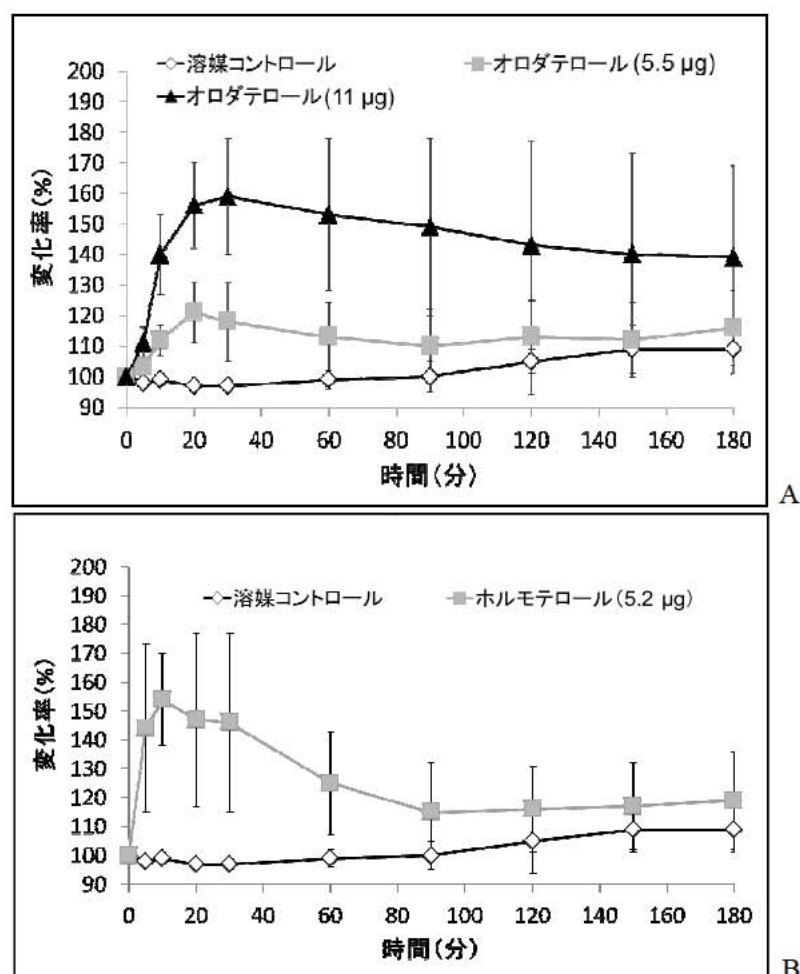
覚醒無拘束下のラットにオロダテロールを吸入投与したときの収縮期血圧（sBP），拡張期血圧（dBP），心拍数（HR），体温，呼吸数（RR）及び換気量（1 回換気量及び分時換気量）に対する影響について、対照薬であるホルモテロールと比較評価した [CTD4.2.1.2-10_U-1819]。プレチスモグラフチャンバーを用いて、遊離塩基当量として 0.27，0.91 及び 2.7 mg/mL のオロダテロールを 1 分間にわたり噴霧して検討した。ホルモテロールについても、等濃度（0.26，0.86 及び 2.6 mg/mL）で試験を行った。

オロダテロール及びホルモテロールのいずれについても、7 時間の測定期間全体を通して、用量依存的に血圧低下が認められた（両化合物について、検討した最高用量で約 20 mmHg の sBP 低下）。投与後 0～2 時間にオロダテロール及びホルモテロールで用量依存的な心拍数の増加も認められ（両化合物について、検討した最高用量で 150 bpm まで増加），最高用量では 7 時間にわたりこの作用が持続した。RR 及び分時換気量は初期に増加し、オロダテロール 2.7 mg/mL 投与後 2 時間にわたる平均増加量（対照との比較）はそれぞれ 20%及び 48%であった。ホルモテロール（2.6 mg/mL）では、それぞれ約 20%及び 33%の増加が認められたが、作用持続時間はオロダテロールに比べて若干長かった。

3.2.3.2.2 ビーグル犬の心血管系に対する作用

ACh 誘発性気管支収縮モデルと同じ麻酔下のビーグル犬を用いて、オロダテロールの全身性作用をモニターした [CTD4.2.1.1-2_n00173373]。検討した最高濃度のオロダテロール（ACh モデ

ルにおける最小十分有効量の 2 倍、遊離塩基当量として 11 μg 吸入投与) のみで有意な頻脈が誘発され、投与後最初の 30 分間における HR の最大増加は 59%であった (図 3.2.3.2.2: 1A)。ホルモテロールでは、最小十分有効量 5.2 μg で頻脈が誘発され、最初の 10 分間において 54%の最大増加が認められた (図 3.2.3.2.2: 1B)。いずれの用量のオロダテロール群においても、溶媒投与群と比較して、血漿中のカリウム、乳酸及びグルコース濃度に変化はなかった。対照的に、最小十分有効量のホルモテロールは血漿中カリウム濃度を低下させ (8%)、乳酸濃度は増加した (39%)。



心拍数の増加は、薬物吸入投与前に記録した投与前 HR (bpm) に対する割合として示す (n=4~6)。括弧内に示す用量は有効成分の遊離塩基当量を意味する (CTD4.2.1.1-2_n00173373)。

図 3.2.3.2.2: 1 麻酔下ビーグル犬におけるオロダテロール (図 A) 及びホルモテロール (図 B) の心拍数に対する影響

3.2.3.2.3 ビーグル犬に十二指腸内投与したときの血行動態に対する作用

臨床で使用する場合、吸入器を用いて投与した薬物の一部は嚥下される。全身性作用に対する経口吸収の寄与をモニターするため、麻酔下のビーグル犬にオロダテロールを十二指腸内投与したときの血行動態作用をホルモテロールと比較評価した [CTD4.2.1.2-8_U-1712]。ビーグル犬の ACh 誘発性気管支収縮モデルを用いて、最小十分有効量の 2 倍のオロダテロール及びホルモテロールを吸入投与して検討した。

オロダテロールは dBP, HR, 心臓収縮性 ($LVdP/dt_{max}$) 及び心拍出量に対して問題となる影響を及ぼさなかった。ホルモテロール投与後 30 分で, dBP は 22%低下し, HR は 38%, $LVdP/dt_{max}$ は 27%, 心拍出量は 136%増加した。

3.2.3.2.4 覚醒イヌの血行動態及び心電図に対する影響

テレメトリー装置を装着した覚醒下のイヌを用いて, HR, 動脈 sBP, dBP, 左心室圧 (LVP), 及び ECG に関するデータを収集する試験を実施した [CTD4.2.1.2-3_U-1052]。イヌに最小十分有効量の 1, 2, 4 倍のオロダテロール (0.55, 1.1 及び 2.2 $\mu\text{g/kg}$ 吸入) 及び比較対照薬としてホルモテロール (0.52, 1.0 及び 2.1 $\mu\text{g/kg}$ 吸入) を投与し, 24 時間にわたり血行動態データを収集した。

sBP については, ホルモテロールによる影響は認められなかったが, オロダテロール 2.2 $\mu\text{g/kg}$ では, 軽微ではあるが, 有意な低下 (投与前値の 20%) が認められた。dBP については, ホルモテロール投与群で用量依存的に低下したのに対して (0.52, 1.0 及び 2.1 $\mu\text{g/kg}$ 吸入時, それぞれ 14%, 23%及び 27%), オロダテロール投与群では 2.2 $\mu\text{g/kg}$ で 25%の低下が認められただけであった。

HR については, ホルモテロール投与群で用量依存的に増加したのに対して (1.0 $\mu\text{g/kg}$ で 50%, 2.1 $\mu\text{g/kg}$ で 130%, $p=0.03$), オロダテロール投与群では, 2.2 $\mu\text{g/kg}$ のみで 88%の増加が認められた。心臓収縮性 ($LVPdP/dt_{max}$) については, ホルモテロール投与群で用量依存的に増加したのに対して (0.52, 1.0 及び 2.1 $\mu\text{g/kg}$ 吸入時, それぞれ 27%, 39%及び 57%), オロダテロール投与群では 2.2 $\mu\text{g/kg}$ のみで変化 (33%) が誘発された。

補正 QT 間隔 (SARMA 補正式) については, 最高用量のホルモテロール投与群 (2.1 $\mu\text{g/kg}$) で投与後前期 (10 分後~14 時間後) に有意に延長し ($p=0.05$), 投与後後期 (14 時間後~24 時間後) にはわずかに延長した。対照的に, 同じ解析において, オロダテロール投与群では QT 間隔延長は認められなかった。QRS 間隔はホルモテロール投与群 (2.1 $\mu\text{g/kg}$) で 40%延長したのに対して, オロダテロール投与群 (2.2 $\mu\text{g/kg}$) では 6%の延長が認められただけであった。これらの影響は投与後初期 (10 分後~14 時間後) のみに認められ, 14 時間後には消失した。

結論として, ホルモテロール及びオロダテロールは, 長時間作用性 β_2 刺激薬で予想される全身性副作用を示したが, 作用の程度はオロダテロールの方が軽微であった (高用量のみ)。QTc データに関して, 最高用量のホルモテロールで QT 間隔延長が認められたが, オロダテロールではみられなかった。

3.2.4 腎機能及び血液生化学的検査パラメータに対する作用

覚醒ラットにオロダテロールを 1 分間, 2 バールの気圧下にて吸入箱内で曝露したときの腎機能に対する作用をホルモテロールと比較評価した [CTD4.2.1.2-6_U-1436]。オロダテロール (0.27, 0.91, 2.7 mg/mL) 及びホルモテロール (0.26, 0.86, 2.6 mg/mL) は抗利尿作用を有し, 一過性に尿量が減少し, 電解質排泄が低下した (すなわち, オロダテロール 0.27 mg/mL 群で投与後 0~4 時間における Na^+ 排泄が 50%, K^+ 排泄が約 60%, Cl^- 排泄が約 70%低下)。オロダテロールとは対

照的に、ホルモテロールの場合、0.86 mg/mL で既に γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) 及びアルカリフォスファターゼ (ALP) の尿中排泄が増加した (対照群との比較で、投与後 0~4 時間における ALP 排泄が 4.4 倍、GGT 排泄が 3.4 倍増加)。オロダテロール及びホルモテロールはいずれも、検討したラットの血清及びクリアランスパラメータを変化させなかった。

結論として、オロダテロールは β 刺激薬に典型的な抗利尿作用を誘発し [CTD4.3-4_R11-4350]、その強度はホルモテロールと同程度であったが、持続時間はわずかに長かった。オロダテロールを投与したときの腎機能に対する有害な影響は、ホルモテロール投与後ほど顕著ではなかった。

3.2.5 消化器系に対する作用

ラットにオロダテロール (0.27, 0.91 及び 2.7 mg/mL) を吸入投与したときの胃液分泌 [CTD4.2.1.2-4_U-1430]、又は胃内容物排出及び腸管内輸送 [CTD4.2.1.2-5_U-1432] に対する影響をホルモテロール (0.086, 0.26, 0.86, 2.6 及び 8.6 mg/mL) と比較評価した。オロダテロールは用量依存的に胃液分泌を低下させ、pH を上昇させる一方、ホルモテロールは胃液分泌に対して同様の影響を及ぼしたが、pH 値には影響しなかった。胃内容物排出はオロダテロール投与群で用量依存的に最大 27%までの低下を示した。同程度の気管支拡張作用を示す濃度のホルモテロールを投与したときにも、胃内容物排出が同様に最大 30%まで低下した。腸管内輸送は、オロダテロール投与群で用量依存的に最大 35%まで、ホルモテロール群で最大 46%まで低下した。

3.3 チオトロピウム+オロダテロール

チオトロピウム+オロダテロールの心拍数、血漿カリウム、血漿乳酸及び血漿グルコースへの影響について、麻酔イヌ (効力を裏付ける試験のデータを取得するのに使用したのと同じ動物) を用いて検討した。上記試験において、心拍数、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-2588]。

4. 安全性薬理試験

4.1 チオトロピウム

チオトロピウムについては、ICH S7A に準拠した GLP 適用の安全性薬理試験は実施していない。チオトロピウムは、ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 (hERG) チャネルアッセイにおいて 0.1~100 μM の濃度で影響を示さず、またモルモット乳頭筋の活動電位波形に対しても 10 μM までの濃度で影響を示さなかった [CTD4.2.1.3-6_U-1720]。ICH S7A に記載されているその他の評価項目については、チオトロピウムの承認申請資料を参照のこと。

4.2 オロダテロール

hERG 試験 [CTD4.2.1.3-1_U-1115] を除き、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]。本パートに示すオロダテロール用量はすべて遊離塩基当量であり、吸入試験の場合、達成用量を意味する。

4.2.1 中枢神経系に対する作用

4.2.1.1 ラットの行動、体温及び運動性に対するオロダテロールの作用

ラット (雄 4 例/用量) にオロダテロールを 17.1, 63.4 又は 483 $\mu\text{g/kg}$ の用量で単回吸入投与し、一般行動、体温及び自発運動に対する影響を投与前及び投与後 30, 90, 150, 300 分後に評価した [CTD4.2.1.3-3_U-2401]。さらに、投与 7 日後まで、死亡及び遅発性の毒性作用の発現がないか動物を毎日観察した。対照群には、等容量の溶媒を投与した。用量依存的な全身曝露が明らかになった。本試験において、オロダテロールは行動変化及び生理学的変化を誘発しなかった。

4.2.2 心血管系に対する作用

4.2.2.1 *in vitro* / *ex vivo*

4.2.2.1.1 hERG 媒介性カリウム電流及び活動電位波形に対する電気生理学的作用

hERG を介するカリウム電流及び活動電位波形に対するオロダテロールの影響を評価するため、摘出モルモット乳頭筋を用いた試験を実施した [CTD4.2.1.3-1_U-1115]。また、*in vitro* の試験としては、hERG 媒介性カリウム電流を安定的に発現する HEK293 細胞 (ヒト胚性腎細胞) を用いて実施した。ホールセル試験はパッチクランプ法により実施した。各試験濃度 (0.1~30 μM) で 5 分間にわたり、hERG 媒介性電流振幅に対するオロダテロールの影響を測定した。HEK293 細胞における hERG 媒介性カリウム電流に対して、オロダテロールは濃度 30 μM まで、問題となる影響を及ぼさなかった。モルモット乳頭筋を用いた試験において濃度 10 μM まで検討した結果、オロダテロールは濃度 1 μM 以上で 90%再分極時の活動電位持続時間 (APD90) を濃度依存的に有意に短縮させ、濃度 0.3 μM 以上で心筋収縮力 (FOC) を濃度依存的に有意に増大させた。両作用は、オロダテロールの作用機序と一致している。これと比較して、ホルモテロールは質的に同様の作用を誘発した (0.3 μM 以上で APD90 を短縮させ、0.3 μM 以上で FOC を増大させた)。これらの影響はオロダテロールに比べて大きかった。

4.2.2.2 *in vivo*

4.2.2.2.1 イヌにオロダテロールを単回吸入投与したときの心血管系パラメータに対する作用

覚醒イヌ（雌雄各 2 例／用量，投与期の間にウォッシュアウト期間を設けてクロスオーバー形式により個体内で群比較）にオロダテロールを 0.91, 2.7 又は 9.1 µg/kg の用量で単回吸入投与し，投与前及び投与後 24 時間まで，BP（sBP, dBP, mBP），HR，第 II 誘導 ECG に対する影響を評価した [CTD4.2.1.3-4_U-1058]。対照群の動物には，等容量の溶媒を投与した。用量依存的な低い全身曝露が明らかになった。

イヌの忍容性は良好であり，0.91 及び 2.7 µg/kg 投与時に有害な行動徴候は誘発されなかった。9.1 µg/kg 投与時の動物 4 例すべてにおいて，投与後 4 時間まで，血管系に末梢血流量増加を示す徴候が認められた。0.91 µg/kg 投与時には，直接的な心血管系作用及び ECG に対する影響は確認されなかった。HR は，2.7 及び 9.1 µg/kg 投与時に迅速かつ有意に増加し（両用量で約 100 bpm 増加），9.1 µg/kg 投与時には，投与後 24 時間まで作用が持続した（～20 bpm）。この HR 増加に伴って，mBP が低下し（2.7 又は 9.1 µg/kg でそれぞれ，～20 及び～25 mmHg の減少），2.7 µg/kg 投与時で投与後 4 時間まで，9.1 µg/kg 投与時で投与後 24 時間まで有意な低下が認められた。2.7 及び 9.1 µg/kg 投与で HR の増加に対応して，RR 間隔が有意に短縮した結果，非補正 QT 間隔が短縮した。検討したいずれの用量においても，回帰補正後における QTcR に影響は認められず，オロダテロールは ECG 形状に対して有害な影響を及ぼさなかった。

4.2.2.2.2 イヌにオロダテロールを単回経口投与したときの心血管系パラメータに対する作用

イヌ（雌雄各 3 例／用量，投与期の間にウォッシュアウト期間を設けて漸増投与し，個体内で群比較）にオロダテロールを 1.6, 5, 16 又は 50 µg/kg の用量で単回経口投与し，投与前及び投与後 24 時間まで，BP（sBP, dBP, mBP），HR，第 II 誘導 ECG に対する影響を評価した [CTD4.2.1.3-5_U-2001]。対照群の動物には，等容量の溶媒を投与した。用量依存的な低い全身曝露が明らかになった。

オロダテロール投与によって，振戦，行動低下，強い脈や頻脈（特に 16 及び 50 µg/kg の高用量において）など，投与に関連した軽度の一般状態変化／行動徴候が誘発された。用量増加に伴って，これらの徴候の発現率，重症度及び持続時間は概して増加した。用量依存的に BP が低下し，50 µg/kg 投与後 2 時間において，約 30～40%の最大作用が認められた。HR は用量依存的に増加し，16 及び 50 µg/kg 投与時に頻脈（HR 約 200 bpm）が認められた。5, 16 又は 50 µg/kg 投与により，HR 増加と一致して，体温が上昇した。オロダテロールは第 II 誘導 ECG の QRS 間隔に影響を及ぼさなかったが，HR 増加と一致して，PR 間隔及び QT 間隔が用量依存的に短縮した。16 及び 50 µg/kg のオロダテロール投与後 0.5～6 時間の間のみ，QTcR 間隔（HR で補正した QT 間隔）の短縮が認められ，投与後 3 時間の時点で群平均値として約 10%の短縮が認められた。

4.2.3 呼吸器系に対する作用

4.2.3.1 ラットの肺機能に対するオロダテロールの作用

ラット(雄 8 例/用量)にオロダテロールを 17.2, 64.3 又は 485 µg/kg の用量で単回吸入投与し、投与前並びに投与後 0～30 分及び 360 分に、呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に対する影響を評価した [CTD4.2.1.3-2_U-2398]。対照群には、等容量の溶媒を投与した。すべての時点において、いずれの用量のオロダテロールについても、対照群と比較してこれら 3 種類のパラメータに統計的に有意な変化は認められなかった。

4.3 チオトロピウム+オロダテロール

4.3.1 hERG チャネルアッセイにおけるチオトロピウム+オロダテロールの影響

チオトロピウム及びオロダテロールはいずれも単独で hERG チャネルアッセイへの影響を示さなかったことから、本アッセイにおけるチオトロピウム+オロダテロールの検討は実施していない [CTD4.2.1.3-6_U-1720, CTD4.2.1.3-1_U-1115]。

4.3.2 ラットの行動、体温、運動性及び肺機能に対するチオトロピウム+オロダテロールの影響

ラットにチオトロピウム+オロダテロールを 3 種類の投与量比 (1/1, 1/6 及び 2/1) で 1 日 1 回 4 週間吸入投与した [CTD4.2.3.2-7_U-1893, CTD4.2.3.2-8_U-1892]。いずれの試験においても、十分かつ用量依存的な全身曝露が認められた。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、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。

4.3.3 イヌの心血管系パラメータに対するチオトロピウム+オロダテロールの影響

覚醒ビーグル犬にチオトロピウム+オロダテロールを以下の投与量比で単回吸入投与した : 1/1 (3/3, 8.86/8.54, 26.6/26.2 µg/kg), 1/6 (4.21/26.5 µg/kg) 及び 2/1 (18.7/10.8, 50.2/27.4 µg/kg) [CTD4.2.1.3-7_U-1898]。チオトロピウム+オロダテロールの忍容性は良好で、十分かつ用量依存的な全身曝露量が認められた。検討したいずれの投与量比においても、用量依存的な心拍数の増加が認められ、投与約 60～120 分後に増加が最大となった。溶媒対照値は約 100～130 回/分 (bpm) の範囲であったが、高用量における最大値はそれぞれ約 230 bpm (投与量比 1/1), 約 210 bpm (投与量比 1/6) 及び約 230 bpm (投与量比 2/1) であった。同じ投与量における投与 24 時間後の心拍数は約 140～160 bpm であり、溶媒対照の約 115 bpm と比較すると依然として高かった。この心拍数の増加に伴い、平均動脈圧の低下 (約 20～30 mmHg) 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。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

オロダテロール及び吸入コルチコステロイドのシクレソニド（開発コードE*）の併用投与試験，及びオロダテロール，チオトロピウム及び開発コードE* の併用投与試験を，オロダテロール又はオロダテロール＋チオトロピウム配合剤の非臨床データを裏付ける試験として示す。

5.1 オロダテロールと開発コードE* の薬力学的相互作用

モルモットの卵白アルブミン誘発性気管支収縮モデルを用いて，オロダテロールと開発コードE* を併用投与したときの気管支収縮抑制作用を評価した。併用投与時の気管支収縮抑制作用は，オロダテロール単独投与時に比べて優れていた [CTD4.2.1.4-3_U■■-1148]。

麻酔下イヌの ACh 誘発性気管支収縮モデルを用いて，オロダテロール及び吸入コルチコステロイド剤開発コードE* の単独投与時，並びに両剤の併用投与時の気管支収縮抑制作用及び作用持続時間を 24 時間にわたり評価した [CTD4.2.1.4-1_n00063082]。これら 2 種類の化合物は 100%エタノールに溶解し，上述したように試験を行った。オロダテロールと開発コードE* の併用投与によって，24 時間にわたり相加効果を大きく超える気管支収縮抑制作用が得られた。気管支収縮抑制作用の点で併用投与の方が優れていると考えられる一方，これらの試験において，単独投与との比較で，心拍数，並びに血漿中のカリウム，乳酸及びグルコース濃度に問題となる変化は認められなかった [CTD4.2.1.4-1_n00063082]。

5.2 オロダテロールとチオトロピウム及び開発コードE* の薬力学的相互作用

麻酔下モルモットの卵白アルブミン誘発性気管支収縮モデルを用いて，上述（5.1 項）したように，オロダテロール，チオトロピウム，開発コードE* の単独投与時，並びにこれら 3 剤の併用投与時の気管支収縮抑制作用を評価した [CTD4.2.1.4-3_U■■-1148]。これら 3 種類の化合物を併用投与することで強力な相乗的気管支収縮抑制作用が得られ，その効果は，それぞれを単独投与したときの加算値に比べて有意に高かった。

ビーグル犬の ACh 誘発性気管支収縮モデルを用いた場合にも，オロダテロール，チオトロピウム及び開発コードE* の併用投与で強力な相乗的気管支収縮抑制作用が認められた [CTD4.2.1.4-2_n00145337]。これらの効果は，たとえば，投与後 24 時間といった特に投与後長時間経過した時点において，それぞれを単独投与したときの加算値に比べて有意に高かった。これらの被験化合物の単独投与及び併用投与後に，心拍数，並びに血漿中のカリウム，乳酸及びグルコース濃度に問題となる副作用は認められなかった。

*：新薬承認情報提供時に置き換えた

6. その他の薬理試験

本項に要約する試験はない。

7. 考察及び結論

国内及び国際ガイドラインでは、慢性閉塞性肺疾患の治療に気管支拡張薬を用いることが推奨されている。一般に推奨される気管支拡張薬として、長時間作用性抗コリン薬（LAMA）及び長時間作用性 β_2 刺激薬（LABA）の 2 種類が使用されている。

チオトロピウムは広く認められている LAMA であり、COPD の標準治療薬として使用されている。チオトロピウムの有効性及び安全性は、非臨床試験（チオトロピウムの承認申請資料参照）、多数の大規模臨床試験及び実際の診療で立証されている。チオトロピウムはムスカリン受容体に高い親和性を示し、気道平滑筋細胞の収縮に関与する hM_3 受容体サブタイプを長時間にわたり占有する。実際に、モルモット及びイヌを用いた様々な試験において、作用の持続性が認められた。非臨床薬理プロファイルが良好であることから、臨床において明らかに 1 日 1 回の投与方法が可能である。副次的薬理試験において、チオトロピウムは抗コリン薬に典型的な作用を示した。

オロダテロールについても、様々な臨床及び非臨床試験が実施され、その効果と安全性が明らかにされてきた。オロダテロールは β_2 受容体に高い親和性を示す LABA であり、 β_1 及び β_3 受容体と比較して良好な選択性プロファイルを示す。本薬はモルモット及びイヌにおいて長時間にわたり気管支拡張を誘発することが示されている。さらに閉塞性気道疾患を有する患者で最適な気管支拡張作用が得られるように、チオトロピウム及びオロダテロールを Tio + Olo FDC として開発しており、チオトロピウム+オロダテロールの薬理プロファイルをイヌ及びモルモットで検討した。

イヌ及びモルモットの気管支収縮モデルにおいてチオトロピウム+オロダテロールの薬理試験を実施したところ、明らかな相加作用が認められ、作用発現も早かった。またチオトロピウム+オロダテロールの気管支収縮に対する有効性及び 24 時間にわたる作用持続時間は、各薬剤の単独投与時よりも明らかに優れていた。これらの試験において明らかな有害作用は認められなかった。以上のデータから、これら 2 種類の長時間作用性薬物を組み合わせて、COPD の治療に用いる 1 日 1 回投与の固定用量配合剤とする強い理論的根拠が得られる。

安全性薬理試験（ラット及びイヌ）において、チオトロピウム+オロダテロールは抗コリン薬及び長時間作用性 β_2 刺激薬のそれぞれに典型的な副作用をいずれも示し、予想外の所見は認められなかった。イヌにおいて、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でも、ECG 波形に有害な影響を及ぼさず、QTc を変化させなかった。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。以上の試験において、安全性に関する新たな懸念は生じなかった。

結論として、非臨床試験においてチオトロピウムとオロダテロールを併用したとき、明らかな有害作用が発現することなく、相加的な気管支収縮抑制作用が認められた。

非臨床試験は「Guidance for Industry: nonclinical safety evaluation of drug or biologic combinations」（米国食品医薬品局、医薬品評価研究センター 2006）[CTD4.3-6_R12-5450] 及び「Guideline on the non-clinical development of fixed combinations of medicinal products」（EMA 2008）[CTD4.3-7_R11-2414] に従って実施した。動物で得られた薬理試験データは、いずれも Tio+Olo FDC の COPD 治療薬としての承認申請を支持するものである。

8. 図表

図表は本文中に挿入した。

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： 2.6.3 薬理試験概要表		
文書作成日： 8 June 2015		Page 1 of 22
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		

目 次

目 次.....	2
1. 薬理試験一覧表.....	3
2. 効力を裏付ける試験	9
3. 副次的薬理試験.....	16
4. 安全性薬理試験.....	19
5. 薬力学的薬物相互作用試験	22

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

1. 薬理試験一覧表

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744 (Olodaterol)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Doc. Number
Primary Pharmacodynamics				
Binding and functional characterization of BI 1744 CL for the human beta 1, beta 2 and beta 3 adrenoceptors	<i>in vitro</i> (CHO-K1 cells)	-	BI	CTD 4.2.1.1-11 _U-2584
Metabolism of BI 1744 CL	Rat	intratracheal, intravenous, oral	BI	CTD 4.2.2.4-1 _U-1514
Metabolism of BI 1744 CL	Mouse	intratracheal, intravenous, oral	BI	CTD 4.2.2.4-2 _U-1516
Metabolism of BI 1744 CL	Rabbit	intravenous, oral	BI	CTD 4.2.2.4-4 _U-1317
Metabolism of BI 1744 CL	Dog	intravenous, oral	BI	CTD 4.2.2.4-3 _U-1057
Metabolism of BI 1744 CL	Human	intravenous, oral	BI	CTD 5.3.2.2-9 _U-1129
Binding and functional characterization of不純物F*, CD 992 XX, CD 10915 SE, CD 11249 BS, SOM 1522 BS, BI 1003973 CL for the human beta 1 and beta 2 adrenoceptors	<i>in vitro</i> (CHO-K1 cells)	-	BI	CTD 4.2.1.1-9 _U-1323
The pharmacokinetics of two metabolites of BI 1744 CL (i.e. SOM 1522 BS and BI 1744 BS - glucuronide) following BI 1744 CL treatment	Human	Inhalation	BI	CTD 5.3.5.1-2 _U08-1263
The efficacy and safety of BI 1744 CL	Human	Inhalation	BI	CTD 5.3.5.1-3 _U09-3125

* : 新薬承認情報提供時に置き換えた

BI: Boehringer Ingelheim
CL: 塩酸塩
CD 992 XX: CD 992 酢酸塩
SE: 塩基未決定 (酸性傾向)
BS: 遊離塩基

2.6.3 薬理試験概要表

チオトロピウム+オロダテロール

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

1. 薬理試験一覧表 (続き)

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Doc. Number
Primary Pharmacodynamics –cont’-				
Binding and functional characterization of CD 12656 ZW for the human beta 1 and beta 2 adrenoceptors	<i>in vitro</i> (CHO-K1 cells)	-	BI	CTD 4.2.1.1-10 U-2582
Potency and efficacy of ^{分解生成物*} for the human beta 1 and beta 2 adrenoceptors with the cAMP assay	<i>in vitro</i> (CHO-K1 cells)	-	BI	CTD 4.2.1.1-5 U-1680
Onset of action of BI 1744 CL against acetylcholine-induced bronchospasm over 1 h	Guinea pig	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-3 U-2386
Antagonistic effects of BI 1744 CL against acetylcholine-induced bronchospasm over 5 h	Guinea pig	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-1 U-1553
Antagonistic effects of BI 1744 CL and ^{分解生成物*} against acetylcholine-induced bronchospasm over 5 h	Guinea pig	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-7 U-2108
Investigation of BI 1744 CL, at 0.3, 1 and 3 µg/kg, for antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Guinea pig	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-6 U-1786
Antagonistic effects of BI 1744 CL and CD 992 AC against acetylcholine-induced bronchospasm over 5 h	Guinea pig	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-8 U-2475
Antagonistic effects of BI 1744 CL against acetylcholine-induced bronchospasm over 3 h	Beagle dog	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-2 n00173373

BI: Boehringer Ingelheim

ZW: 塩形未決定 (両性イオン)

CL: 塩酸塩

AC: 酢酸塩

*: 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

1. 薬理試験一覧表（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Doc. Number
Primary Pharmacodynamics –cont’-				
Investigation of BI 1744 CL, at 3 and 6 µg, for antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Beagle dog	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-4_n00173717
BI 1744 CL and tiotropium antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchoconstriction for 3 h	Beagle dog	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-12_n00173793
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL and tiotropium: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchoconstriction over 24 h	Beagle dog	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.1-13_U-2588
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL and tiotropium: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Guinea pig	Intratracheal	BI	CTD 4.2.1.1-14_U-2153

BI : Boehringer Ingelheim
CL: 塩酸塩

2.6.3 薬理試験概要表

チオトロピウム+オロダテロール

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

1. 薬理試験一覧表（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Doc. Number
Secondary Pharmacodynamics				
BI 1744 CL pharmacology: receptor screen	<i>in vitro</i>	-		CTD 4.2.1.2-1 _U-1760
BI 1744 CL pharmacology at alpha 1 and 5HT _{2A} receptors	<i>in vitro</i>	-		CTD 4.2.1.2-2 _U-1852
Effects of BI 1744 BS on behaviour (modified IRWIN-test and on nocturnal activity)	NMRI - Harlan mouse	Subcutaneous	BI	CTD 4.2.1.2-9 _U-1815
Evaluation of BI 1744 CL and BI 11329 in a beta1-adrenoceptor Bioassay	<i>in vitro</i> (Guinea pig right atrium)	-		CTD 4.2.1.2-7 _U-1602
Effects of BI 1744 CL on vital physiological functions using a telemetry / plethysmography system	Wistar rat	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.2-10 _U-1819
Effects of BI 1744 BS on hemodynamic parameters	Beagle dog	Intraduodenal	BI	CTD 4.2.1.2-8 _U-1712
Influence of BI 1744 CL on hemodynamic and electrocardiographic parameters	Dog	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.2-3 _U-1052
Effects of BI 1744 CL on renal function	Wistar rat	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.2-6 _U-1436
Effects of BI 1744 CL on gastric secretion	Wistar rat	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.2-4 _U-1430
Effects of BI 1744 CL on gastric emptying and gastrointestinal transit	Wistar rat	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.2-5 _U-1432

BI: Boehringer Ingelheim,

CL: 塩酸塩

BS: 遊離塩基

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

1. 薬理試験一覧表（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Doc. Number
Safety Pharmacology				
Effects of tiotropium on HERG-mediated potassium current and on action potential configuration in papillary muscle	<i>in vitro</i> (HEK293 cells)	-	BI	CTD 4.2.1.3-6 _U-1720
Influence of BI 1744 BS on HERG-mediated potassium current and on action potential configuration in isolated guinea pig papillary muscle	<i>in vitro</i> (HEK293 cells) and <i>ex vivo</i> (isolated guinea pig papillary muscle)	-	BI	CTD 4.2.1.3-1 _U-1115
Modified irwin study including body temperature assessment with BI 1744 CL	Wistar rat	Inhalation	BI/	CTD 4.2.1.3-3 _U-2401
Telemetric evaluation of cardiovascular effects for BI 1744 CL	Beagle dog	Inhalation	BI/	CTD 4.2.1.3-4 _U-1058
Telemetric evaluation of cardiovascular effects for BI 1744 CL	Beagle dog	Oral (gavage)	BI/	CTD 4.2.1.3-5 _U-2001
Evaluation of respiratory parameters for BI 1744 CL	Wistar rat	Inhalation		CTD 4.2.1.3-2 _U-2398

BI: Boehringer Ingelheim

UK

CL: 塩酸塩

BS: 遊離塩基

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

1. 薬理試験一覧表（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Doc. Number
Safety Pharmacology –cont’-				
Evaluation of behavioural and respiratory safety over 4-week with tiotropium and BI 1744 CL (1:6 and 2:1 combination)	Rat	Inhalation	■	CTD 4.2.3.2-8 U■-1892
Evaluation of behavioural and respiratory safety over 4-week with tiotropium and BI 1744 CL (1:1 combination)	Rat	Inhalation	■	CTD 4.2.3.2-7 U■-1893
Evaluation of Cardiovascular safety	Beagle dog	Inhalation	■	CTD 4.2.1.3-7 U■-1898
Pharmacodynamic Drug Interactions				
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL, tiotropium and 開発コードE* XX: antagonistic effects against ovalbumin-induced bronchospasm	Guinea pig	Intratracheal	BI	CTD 4.2.1.4-3 U■-1148
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL and 開発コードE* XX: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchoconstriction over 24 h	Beagle dog	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.4-1 _n00063082
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL, tiotropium and 開発コードE* XX: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Beagle dog	Inhalation	BI	CTD 4.2.1.4-2 _n00145337

BI: Boehringer Ingelheim
CL: 塩酸塩
開発コードE* XX: 開発コードE* 塩酸塩

* : 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

2. 効力を裏付ける試験

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Binding and functional characterization of BI 1744 CL for the human beta 1, beta 2 and beta 3 adrenoceptors	CHO-K1 cells	In vitro	1 pM - 100 µM	n=3 / conc.	hβ ₂ -AR: Ki= 0.72 nM, EC ₅₀ = 0.1 nM, I.A. = 88% hβ ₁ -AR: Ki= 47 nM, EC ₅₀ =28 nM, I.A. = 52%; hβ ₃ -AR: Ki= 5 µM, EC ₅₀ = 270 nM, I.A. = 81%.	CTD 4.2.1.1-11 U-2584
Metabolism of BI 1744 CL	Rat	intratracheal, intravenous, oral	[¹⁴ C]BI 1744 CL: 0.1 - 0.4 µmol/kg (=0.04 - 0.16 mg/kg)	male (n=5) / female (n=5): urine and feces sampling, male (n=5 - 8) / female (n=6 - 8): plasma sampling, male (n=5) / female (n=3 - 5): bile sampling.	Several metabolites were identified such as CD 992, SOM 1522 and M565(2).	CTD 4.2.2.4-1 U-1514
Metabolism of BI 1744 CL	Mouse	intratracheal, intravenous, oral	[¹⁴ C]BI 1744 CL: 1 mg/kg	male (n=4) / female (n=4): urine and feces sampling, male (n=5 - 6) / female (n=5 - 6): plasma sampling.	Several metabolites were identified such as CD 992, SOM 1522, M551(1), CD 10915 SE, M565(2) and M583.	CTD 4.2.2.4-2 U-1516

CL: 塩酸塩

AR: アドレナリン受容体

I.A.: intrinsic activity (イソブレンナリンにより惹起される最大の反応に対する割合 (%)) で表される)

2.6.3 薬理試験概要表

チオトロピウム+オロダテロール

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

2. 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Metabolism of BI 1744 CL	Rabbit	intravenous, oral	[¹⁴ C]BI 1744 BS: 0.3 mg/kg (0.77 µmol/kg)	female (n=3): urine, feces and bile sampling, female (n=1): plasma sampling.	Metabolites such as CD 992, SOM 1522, M551(1), CD 10915 and M583 were observed.	CTD 4.2.2.4-4 U-1317
Metabolism of BI 1744 CL	Dog	intravenous, oral	intravenous dosing: [¹⁴ C]BI 1744 BS:0.08 µmol/kg (30 µg/kg) oral administration: [¹⁴ C]BI 1744 BS:0.26 µmol/kg (100 µg/kg)	male (n=2) / female (n=2): urine, feces and bile sampling, male (n=2) / female (n=2): plasma sampling.	Metabolites such as CD 992, SOM 1522, M551(1) and M565(2) were observed.	CTD 4.2.2.4-3 U-1057
Metabolism of BI 1744 CL	Human	intravenous, oral	20 µg for intravenous, 40 µg for oral, with [¹⁴ C] BI 1744 CL	male (n =5: intravenous and n=6: oral)	Metabolites such as CD 992, CD 10915 and CD 11249 were observed.	CTD 5.3.2.2-9 U-1129

CL: 塩酸塩

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

2. 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Binding and functional characterization of不純物F*, CD 992 XX, CD 10915 SE, CD 11249 BS, SOM 1522 BS, BI 1003973 CL for the human beta 1 and beta 2 adrenoceptors	CHO-K1 cell	<i>in vitro</i>	0.001 pM - 100 μM	n=2 - 3 / conc.	hβ ₂ -AR: - CD 992, CD 10915, CD 11249: EC ₅₀ >100 nM; - 不純物F* : EC ₅₀ =15.5 nM; I.A. = 88%; - SOM 1522: EC ₅₀ =0.9 nM; I.A. = 87%; - BI 1003973 EC ₅₀ =0.9 nM; I.A. = 91%; At hβ ₁ -AR: - CD 992, CD 10915, CD 11249, 不純物F* : EC ₅₀ > 1 μM; - SOM 1522: EC ₅₀ =46 nM; I.A. = 48%; - BI 1003973 EC ₅₀ =50 nM; I.A. = 49%;	CTD 4.2.1.1-9_U-1323
	The pharmacokinetics of two metabolites of BI 1744 CL (i.e. SOM 1522 BS and BI 1744 BS - glucuronide) following BI 1744 CL treatment	Human	Inhalation (single dosage)	BI 1744 CL: 40 μg	male and female (14 COPD patients)	A final conclusion on the pharmacokinetics of SOM 1522 BS was not possible due to the limited data available.

* : 新薬承認情報提供時に置き換えた

CL: 塩酸塩
CD 992 XX: CD 992 酢酸塩
SE: 塩基未決定（酸性傾向）
BS: 遊離塩基
I.A.: intrinsic activity （イソプロレナリンにより惹起される最大の反応に対する割合（%）で表される）

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

2. 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
The efficacy and safety of BI 1744 CL: To determine the optimum dose of BI 1744 CL inhalation solution delivered by the orally inhaled once daily for four weeks in patients with COPD	Human	Inhalation: once daily treatment for four weeks	BI 1744 CL: 2 µg, 5 µg, 10 µg and 20 µg	COPD patients: 2 µg: male (n=42) / female (n=39), 5 µg: male (n=56) / female (n=24), 10 µg: male (n=51) / female (n=35), 20 µg: male (n=46) / female (n=33) and placebo: male (n=39) / female (n=40).	SOM 1522 BS could not be quantified in the majority of plasma and urine samples.	CTD 5.3.5.1-3 _U-3125
Binding and functional characterization of CD 12656 ZW for the human beta 1 and beta 2 adrenoceptors	CHO-K1 cell	<i>in vitro</i>	1 pM - 100 µM	n=2 - 3 / conc.	hβ ₂ -AR: EC ₅₀ = 13 nM, I.A. = 72%; hβ ₁ -AR: EC ₅₀ = 251 nM, I.A. = 25%.	CTD 4.2.1.1-10 _U-2582
Potency and efficacy of 分解生成物 for the human beta 1 and beta 2 adrenoceptors with the cAMP assay	CHO-K1 cell	<i>in vitro</i>	1 pM - 10 µM	n=2 / conc.	hβ ₂ -AR: EC ₅₀ = 730 nM, I.A. = 39 %; hβ ₁ -AR: no activity.	CTD 4.2.1.1-5 _U-1680

CL: 塩酸塩
ZW: 塩形未決定（両性イオン）
BS: 遊離塩基
I.A.: intrinsic activity（イソプロレナリンにより惹起される最大の反応に対する割合（%）で表される）

*：新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.3 薬理試験概要表

チオトロピウム+オロダテロール

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

2. 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Onset of action of BI 1744 CL against acetylcholine-induced bronchospasm over 1 h	Guinea pig	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 1 (0.91), 3 (2.7) and 10 (9.1) µg/kg	n=6 / dose	86% bronchoprotection achieved within 20 minutes at 0.91 µg/kg. Full bronchoprotection (100%) achieved within 10 minutes at the fully effective dose (2.7 µg/kg); within 3 minutes at 9.1 µg/kg.	CTD 4.2.1.1-3 _U-2386
Antagonistic effects of BI 1744 CL against acetylcholine-induced bronchospasm over 5 h	Guinea pig	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 1 (0.91) and 3 (2.7) µg/kg	n=2 / dose	80% bronchoprotection achieved at 0.91 µg/kg; 100% bronchoprotection at 2.7 µg/kg. Effects lasting over 5 h.	CTD 4.2.1.1-1 _U-1553
Antagonistic effects of 分解生成物 compared to BI 1744 CL against acetylcholine-induced bronchospasm over 5 h	Guinea pig	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0.1 (0.091), 0.3 (0.27), 1 (0.91) and 3 (2.7) µg/kg; 分解生成物* ; 3, 10, 30, 100 and 300 µg/kg	n=2 / dose	分解生成物*-induced bronchoprotection: 3 and 10 µg/kg nearly ineffective; approx. 28% bronchoprotection achieved at 30 µg/kg; 50% bronchoprotection achieved at 100 µg/kg; 70% bronchoprotection at 300µg/kg.	CTD 4.2.1.1-7 _U-2108
Investigation of BI 1744 CL, at 0.3, 1 and 3 µg/kg, for antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Guinea pig	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0.3 (0.27), 1 (0.91) and 3 (2.7) µg/kg	n=4 - 6 / group	Dose-dependent inhibition of Ach-induced bronchoconstriction over 24 h.	CTD 4.2.1.1-6 _U-1786

CL: 塩酸塩

BS: 遊離塩基

Ach: アセチルコリン

*: 新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.3 薬理試験概要表

チオトロピウム+オロダテロール

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

2. 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Antagonistic effects of BI 1744 CL and CD 992 AC against acetylcholine-induced bronchospasm over 5 h	Guinea pig	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0.1 (0.091), 0.3 (0.27), 1 (0.91) and 3 (2.7) µg/kg CD 992 AC: 3, 10 and 30 µg/kg	n=2 / dose of each drug	CD 992 AC effect on Ach-induced bronchoprotection: 3 µg/kg ineffective; approx. 29% bronchoprotection achieved at 10 µg/kg; 46% bronchoprotection achieved at 30 µg/kg.	CTD 4.2.1.1-8 U-2475
Antagonistic effects of BI 1744 CL against acetylcholine-induced bronchospasm over 3 h	Beagle dog	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 1.5 (1.4), 3 (2.7), 6 (5.5) and 12 (11) µg/dog	n=4 - 6 / group	Bell shape dose-response curve of BI 1744 BS with a fully effective dose of 5.5 µg/kg. At this dose a maximum bronchoprotection of 62% was achieved within 10 min and 31% bronchoprotection was still recorded after 3 h.	CTD 4.2.1.1-2 _n00173373
Investigation of BI 1744 CL for antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Beagle dog	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 3 (2.7) and 6 (5.5) µg/dog	n=6 / group	Dose-dependent duration of bronchoprotection: effect of 19 % at 24 h at fully effective dose (5.5- (BI 1744 BS) µg/dog).	CTD 4.2.1.1-4 _n00173717

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基
AC: 酢酸塩
Ach: アセチルコリン

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

2. 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
BI 1744 CL and tiotropium antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchoconstriction for 3 h	Beagle dog	inhalation	tiotropium (µg/kg) / BI 1744 BS (µg/kg): 0/0.27, 0.08/0, 0.08/0.27	male and female (n=4)	The combination showed a potent synergistic bronchoprotective activity.	CTD 4.2.1.1-12_n00173793
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL and tiotropium: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchoconstriction over 24 h	Beagle dog	Inhalation	tiotropium (µg/dog) / BI 1744 BS (µg/dog): 0/2.7, 0.8/0, 0.8/2.7 0/5.5, 0.8/0, 0.8/5.5	male and female (n=3 - 4)	The combination showed a potent synergistic bronchoprotective activity.	CTD 4.2.1.1-13_U-2588
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL and tiotropium: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Dunkin-Harley Guinea pig	Intratracheal	tiotropium (µg/kg) / BI 1744 BS (µg/kg): 0/0.27, 0/0.91, 0/2.7 0.08/0, 0.24/0, 0.8/0, 2.4/0 0.08/0.27, 0.08/0.91	male and female (n=4 - 11)	The pharmacological experiments performed with the combination of BI 1744 and tiotropium showed a potent synergism with respect to efficacy of bronchoprotection and duration of action over 24 hours.	CTD 4.2.1.1-14_U-2153

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基

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

3. 副次的薬理試験

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
BI 1744 CL pharmacology: receptor screen	Panel of cell lines harboring specific receptors; isolated organs	<i>in vitro</i>	1 μ M	n=2 / assay	Percentage inhibition of specific binding at 1 μ M (75 targets tested): -87% at α_1 -AR; -96% at β_1 -AR; -97% at β_2 -AR; -59% at 5HT _{2A} .	CTD 4.2.1.2-1 U-1760
BI 1744 CL pharmacology at alpha 1 and 5-HT _{2A} receptors	Rabbit thoracic aorta	<i>in vitro</i>	0.1, 1 and 10 μ M	n=2 / dose	IC ₅₀ α_1 -AR: ~ 1 μ M; IC ₅₀ 5HT _{2A} receptor: >10 μ M.	CTD 4.2.1.2-2 U-1852
Effects of BI 1744 BS on behaviour (modified IRWIN-test and on nocturnal activity)	NMRI-Harlan mouse	Subcutaneous	1, 3 and 10 μ g/kg	male (n=6) / dose for modified Irwin; female (n=8) /dose for nocturnal activity	The highest dose (10 μ g/kg) showed a slight and transient inhibitory effect on motor coordination and motility in conscious mice and reduction in nocturnal motility in the first hour after administration. No other effects observed.	CTD 4.2.1.2-9 U-1815
Evaluation of BI 1744 CL and BI 11329 in a beta1-adrenoceptor Bioassay	Guinea pig right atrium	<i>in vitro</i>	10 nM - 1 μ M	n=2 / conc.	Positive chronotropic effect: 10 nM= +34; 100 nM= +65; 1 μ M= +79.	CTD 4.2.1.2-7 U-1602

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基

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

3. 副次的薬理試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Effects of BI 1744 CL on vital physiological functions using a telemetry / plethysmography system	Wistar rat	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0.3 (0.27), 1 (0.91) and 3 (2.7) mg/mL nebulized over 1 min in plethysmography box	male (n=8) / dose	≥0.27 mg/mL (BI 1744 BS): decrease of systolic and diastolic arterial pressures over 7 h; ≥0.91 mg/mL (BI 1744 BS): reflex tachycardia over 7 h, increased respiration volume over 2 h.	CTD 4.2.1.2-10 U-1819
Effects of BI 1744 BS on hemodynamic parameters	Beagle dog	Intraduodenal	1.2 and 2.4 µg/kg	male and female (n=4) / dose	Moderate dose-dependent decrease of BP, increase of HR, LVdP/dt cardiac output within 1 h p.a. up to 3 h (whole period). Moderate dose-dependent increase of glucose, decrease of potassium within 30 min p.a.	CTD 4.2.1.2-8 U-1712
Influence of BI 1744 CL on hemodynamic and electrocardiographic parameters	Dog	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0(0), 0.6 (0.55), 1.2 (1.1) and 2.4 (2.2) µg/kg, 60% ethanolic solution	male (n=2) / female (n=2); crossover design	2.2 µg/kg (BI 1744 BS): decrease of systolic and diastolic blood pressure, increase in heart rate, LVPdP/dtmax and QRS-duration up to 14 h	CTD 4.2.1.2-3 U-1052

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基

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

3. 副次的薬理試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Effects of BI 1744 CL on renal function	Wistar rat	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0.3 (0.27), 1 (0.91) and 3 (2.7) mg/mL 60% ethanolic solution nebulized over 1 min in application box	male and female (n=20) / dose, 10 for urine and 10 for serum parameters	Urine: Transient (0-4 h) antidiuretic effect (reduction of volume and electrolyte excretion). At 2.7 mg/mL: transient increase in GGT and ALP excretion. Serum and clearance parameters: No relevant changes.	CTD 4.2.1.2-6_U-1436
Effects of BI 1744 CL on gastric secretion	Wistar rat	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0.3 (0.27), 1 (0.91) and 3 (2.7) mg/mL 60% ethanolic solution nebulized over 1 min in application box	male (n = 8)	≥0.91 mg/mL: reduction of gastric volume and acid output; at 2.7 mg/mL: reduction of total acidity, increase of pH.	CTD 4.2.1.2-4_U-1430
Effects of BI 1744 CL on gastric emptying and gastrointestinal transit	Wistar rat	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 0.3 (0.27), 1 (0.91) and 3 (2.7) mg/mL 60% ethanolic solution nebulized over 1 min in application box	male and female (n=8 - 10) / dose	≥0.91 mg/mL: decrease of gastric emptying, decrease of gastrointestinal transit.	CTD 4.2.1.2-5_U-1432

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基

2.6.3 薬理試験概要表

チオトロピウム+オロダテロール

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

4. 安全性薬理試験

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Effects of tiotropium on HERG-mediated potassium current and on action potential configuration in papillary muscle	Guinea pig	In vitro	0.1 - 10 µM	3 cells / 5 muscles per concentration	No effect.	CTD 4.2.1.3-6 U-1720
Influence of BI 1744 BS on hERG-mediated potassium current and on action potential configuration in isolated guinea pig papillary muscle	Guinea pig	In vitro	0.1 - 30 µM	3 cells / 5 muscles per concentration	Concentration-dependent shortening of action potential (1 µM and higher) and increase in force of contraction (0.3 µM and higher). No effect was observed in HERG-mediated potassium current by up to 30µM of BI 1744 BS.	CTD 4.2.1.3-1 U-1115
Modified irwin study including body temperature assessment: with BI 1744 CL	Wistar Rat / CrI/GlxBrl Han:WI	Inhalation	BI 1744 BS: 17.1, 63.4 and 483 µg/kg i.h. 30 min	male (n=4) / dose	None	CTD 4.2.1.3-3 U-2401
Telemetric evaluation of cardiovascular effects: with BI 1744 CL	Beagle dog	Inhalation	BI 1744 CL (BI 1744 BS): 1(0.91), 3 (2.7) and 10 (9.1) µg/kg	male (n=2) / female (n=2)	No adverse effects on ECG morphology. At 2.7 / 9.1 µg/kg: dose dependent increase in heart rate and decrease in mean arterial BP; decrease in RR interval and QT interval. QTcR not affected.	CTD 4.2.1.3-4 U-1058

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基

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

4. 安全性薬理試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Telemetric evaluation of cardiovascular effects for BI 1744 CL	Beagle dog	Oral	BI 1744 BS: 1.6, 5, 16 and 50 µg/kg	male (n=3) / female (n=3), escalating dose	all doses: mild adverse behavioral signs; ≥5 µg/kg: dose-dependent ↓BP (max ~40 mmHg), dose-dependent, ↑HR (max 140 bpm), ↑body temperature (~1°C). ≥ 16 µg/kg: ↑HR >24 h. ECG: PR interval↓ (with ↑HR), QT interval↓; QTcR not affected. No adverse effects on ECG morphology.	CTD 4.2.1.3-5 U-2001
Evaluation of respiratory parameters for BI 1744 CL	Wistar Rat / CrI GlxBrI Han:Wl	Inhalation	BI 1744 BS: 17.2, 64.3 and 485 µg/kg, i h. 30 min	male (n=8) / dose	None	CTD 4.2.1.3-2 U-2398

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基

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

4. 安全性薬理試験（続き）

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Evaluation of behavioural and respiratory safety over 4-week with tiotropium and BI 1744 CL (1:6 and 2:1 combination)	Rat	Inhalation	Behavioural safety: tiotropium / BI 1744 BS: 0/0, 13/68, 397/1905, 141/76 and 3046/1642 µg/kg/day (achieved dose level), Respiratory safety: tiotropium / BI 1744 BS: 0/0, 11/62, 418/1947, 155/83 and 2913/1587 µg/kg/day (achieved dose level).	male (n=5) / dose	Behavioural and respiratory effects were consistent with test items of these classes of compounds.	CTD 4.2.3.2-8 U-1892
Evaluation of behavioural and respiratory safety over 4-week with tiotropium and BI 1744 CL (1:1 combination)	Rat	Inhalation	Behavioural safety: tiotropium / BI 1744 BS: 0/0, 80.2/71.1, 636/592 and 2386/2246 µg/kg/day (achieved dose level), Respiratory safety: tiotropium / BI 1744 BS: 0/0, 95.4/87.7, 559/524 and 2022/1905µg/kg/day (achieved dose level).	male (n=5) / dose	Behavioural and respiratory effects were consistent with test items of these classes of compounds.	CTD 4.2.3.2-7 U-1893
Cardiovascular safety pharmacology in telemetered dogs with combination of BI 1744 CL and tiotropium	Beagle dog	inhalation	tiotropium bromide / BI 1744 CL: 3/3, 10/10, 30/30, 20/10, 60/30 and 5/30 µg/kg	male and female (n=4) / dose	Cardiovascular effects were consistent with exaggerated pharmacological responses to these classes of compounds.	CTD 4.2.1.3-7 U-1898

CL: 塩酸塩
BS: 遊離塩基

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

5. 薬力学的薬物相互作用試験

Test Article: Tiotropium 及び BI 1744

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Doc. Number
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL, tiotropium and 開発コードE*, XX: antagonistic effects against ovalbumin-induced bronchospasm	Guinea pig	Intratracheal	BI 1744 CL: 0.003, 0.01, 0.03, 0.1 and 0.3 µg/kg tiotropium bromide: 0.1 µg/kg 開発コードE* XX: 0.1 mg/kg	n=4 - 6 / group	Synergistic bronchoprotection in combination	CTD 4.2.1.4-3 U-1148
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL and 開発コードE*, XX: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchoconstriction over 24 h	Beagle dog	Inhalation	BI 1744 CL: 3 µg 開発コードE* XX: 1 mg	Male and female (n=4) / group	Synergistic bronchoprotection in combination	CTD 4.2.1.4-1 _n00063082
Pharmacodynamic drug interaction of BI 1744 CL, tiotropium and 開発コードE*, XX: antagonistic effects against acetylcholine-induced bronchospasm over 24 h	Beagle dog	Inhalation	BI 1744 CL: 3 µg tiotropium bromide: 0.6 µg 開発コードE* XX: 1 mg	n=4 / group	Synergistic bronchoprotection in combination	CTD 4.2.1.4-2 _n00145337

CL: 塩酸塩
開発コードE* XX: 開発コードE* 塩酸塩

* : 新薬承認情報提供時に置き換えた