2.6.6 毒性試験の概要文

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 1
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.1.1 レボドパ / カルビドパの毒性：公開情報及び公表論文 7
2.6.6.1.2 新規に実施した消化管における局所刺激性試験及び DHPA 及び DHPPA の分解不純物の毒性試験 7
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.2.1 レボドパ / カルビドパ 8
2.6.6.2.2 レボドパ 9
2.6.6.2.3 カルビドパ 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1 ラット 10
2.6.6.3.1.1 レボドパ / カルビドパ 10
2.6.6.3.1.2 レボドパ 12
2.6.6.3.1.3 カルビドパ 12
2.6.6.3.2 イヌ 13
2.6.6.3.2.1 レボドパ / カルビドパ 13
2.6.6.3.2.2 レボドパ 13
2.6.6.3.2.3 カルビドパ 14
2.6.6.3.3 サル 14
2.6.6.3.3.1 レボドパ / カルビドパ 14
2.6.6.3.3.2 レボドパ 15
2.6.6.3.3.3 カルビドパ 15
2.6.6.4 遺伝毒性試験 15
2.6.6.4.1 レボドパ / カルビドパ 15
2.6.6.4.2 レボドパ 16
2.6.6.4.3 カルビドパ 16
2.6.6.5 がん原性試験 16
2.6.6.5.1 レボドパ / カルビドパ 16
2.6.6.5.2 カルビドパ 17
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 17
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 17
2.6.6.6.1.1 レボドパ / カルビドパ 17
2.6.6.6.1.2 レボドパ 17

2.6.6.6.1.3 カルビドパ 17
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 18
2.6.6.6.2.1 レボドパ / カルビドパ 18
2.6.6.6.2.2 レボドパ 18
2.6.6.6.2.3 カルビドパ 18
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 18
2.6.6.6.3.1 レボドパ / カルビドパ 18
2.6.6.6.3.2 レボドパ 18
2.6.6.6.3.3 カルビドパ 18
2.6.6.7 局所刺激性試験 18
2.6.6.7.1 消化管の局所刺激性試験 19
2.6.6.7.1.1 十二指腸投与方法の確立と用量設定試験 19
2.6.6.7.1.2 ミニブタを用いた 4 週間反復十二指腸持続投与試験 27
2.6.6.8 その他の毒性試験 30
2.6.6.8.1 DHPA 及び DHPPA の遺伝毒性試験 30
2.6.6.8.1.1 DHPA の復帰突然変異試験 30
2.6.6.8.1.2 DHPA の *in vitro* 染色体異常試験 31
2.6.6.8.1.3 DHPPA の復帰突然変異試験 32
2.6.6.8.1.4 DHPPA の *in vitro* 染色体異常試験 33
2.6.6.8.2 DHPA 及び DHPPA の 4 週間反復投与毒性試験 34
2.6.6.8.3 ヒドラジン 35
2.6.6.8.4 溶出物のリスク評価 39
2.6.6.9 考察及び結論 39
2.6.6.9.1 ミニブタを用いた消化管への刺激性 39
2.6.6.9.2 DHPA 及び DHPPA の規格設定 41
2.6.6.9.3 ヒドラジン 46
2.6.6.10 結論 47
2.6.6.11 図表 47
2.6.6.12 参考文献 47

表一覧

表 2.6.6-1. 毒性試験一覧：LCIG の消化管における局所刺激性試験並びに DHPA 及び DHPPA の分解不純物の毒性試験 6
表 2.6.6-2. マウスを用いたレボドパ / カルビドパの単回投与毒性試験 8
表 2.6.6-3. マウスを用いたレボドパの単回投与毒性試験 9
表 2.6.6-4. マウス，ラット及びウサギを用いたカルビドパの単回投与毒性試験 10
表 2.6.6-5. レボドパ / カルビドパを最大 30 日投与したラットの反復投与毒性試験における死亡発現 11
表 2.6.6-6. レボドパ / カルビドパを最大 30 日投与したラットの反復投与毒性試験における病理組織学的検査 11
表 2.6.6-7. カルビドパの Wistar ラットを用いた 13 週間混餌投与毒性試験における器官重量（相対重量） 13
表 2.6.6-8. 雌ミニブタにおける十二指腸投与による予備試験 20
表 2.6.6-9. レボドパ，3-O-Methyldopa 及びカルビドパ のトキシコキネティクスパラメータ（最大 7 日間投与） 22
表 2.6.6-10. LCIG 投与後の雄のミニブタにおけるレボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータ 23
表 2.6.6-11. LCIG を 7 日間投与後の雄のミニブタにおけるレボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータ 24
表 2.6.6-12. カルビドパを単回投与したときの雄ミニブタにおけるカルビドパ，DHPPA 及び DHPA のトキシコキネティクスパラメータ 25
表 2.6.6-13. Sinemet® CR を単回経口投与したときの雄ミニブタにおけるレボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータ 26
表 2.6.6-14. LCIG 投与後のヒドラジンの血中濃度 27
表 2.6.6-15. LCIG を雌のミニブタに投与した後のレボドパ，3-O-Methyldopa 及びカルビドパ のトキシコキネティクスパラメータ（28 日間投与） 28
表 2.6.6-16. LCIG を雄のミニブタに投与した後のレボドパ及びカルビドパのトキシコキネティクスパラメータ（28 日間投与の投与 2 日のデータ） 30
表 2.6.6-17. DHPA のヒト末梢リンパ球を用いた In Vitro 染色体異常試験 32
表 2.6.6-18. DHPPA ヒト末梢リンパ球を用いた In Vitro 染色体異常試験 34
表 2.6.6-19. ヒドラジンの規格設定の理由 36
表 2.6.6-20. がん原性試験における安全域 38
表 2.6.6-21. 溶出物の最大 1 日摂取量 39

表 2.6.6-22. 雄ミニブタにおけるカルビドパの単回十二指腸及び単回静脈内投与又は Sinemet® CR の単回経口投与時のカルビドパ，DHPPA 及び DHPA の C_{max} 43
表 2.6.6-23. LCIG をミニブタに十二指腸投与した際のカルビドパ及び DHPPA の C_{max} 45

図一覧

図 2.6.6-1. LCIG を雄のミニブタに十二指腸投与した際の DHPPA の Cmax 46

2.6.6.1 まとめ

レボドパ / カルビドパ水和物配合経腸用液（以下「LCIG」）は，レボドパの濃度を 20 mg/mL，カルビドパ一水和物の濃度を 5 mg/mL 含む，他のパーキンソン病治療薬で十分にコントロールできなかった進行期パーキンソン病患者に対する運動症状の日内変動の長期治療を目的としたゲル剤である。LCIG は近位小腸に，注入システムである周辺機器及び腸内注入チューブ製品のそれぞれを付属したソフトウエア駆動式携帯型インフュージョンポンプを用いて，直接投与する。レボドパとカルビドパの質量比は 4 : 1 であり，この比はパーキンソン病治療薬として 40 年以上使用されている，一日当たりのレボドパの最大推奨投与量が 2000 mg である Sinemet®と同じである。

レボドパ単剤，カルビドパ単剤及びレボドパ / カルビドパの併用による新規の一般毒性試験は実施しなかった。2015 年の 5 月をカットオフにした公表論文を参考に，LCIG の毒性を評価した（4.3.4-1， 4.3.4-2，4.3.4-3，4.3.4-4）

LCIG の投与方法について毒性を評価するため，毒性試験を実施した。すなわち，ミニブタを用いて LCIG 投与後の消化管に対する刺激性を評価するための毒性試験を実施し，レボドパ，カルビドパ及び 3-オルソ-メチルドパ（3-OMD，レボドパの代謝物）の血中曝露量を測定した（2.6.6.7 項，2.6.4.3 項）。

その他，カルビドパの代謝物である 3,4-dihydroxyphenylacetone（以下「DHPA」）及びカルビドパの分解物である 2-methyl-3-(3,4-dihyroxyphenyl)-propanoic acid（以下「DHPPA」）の毒性試験を実施した。すなわち，DHPA 及び DHPPA の *in vitro* 遺伝毒性試験（GLP）及びラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（GLP）を実施した。DHPA 及び DHPPA のトキシコキネティクスの評価には，ラット，ミニブタ及びヒトのデータを用いた（R&D/12/997，4.3.4-5 項及び 2.6.6.8 項）。トキシコキネティクスに関連したデータは 2.6.4.3 項に記載する
カルビドパの分解不純物であるヒドラジンのリスク評価も実施した（R&D/12/714，4.3.4-10 項及び 2.6.6.8.3 項）。

LCIG の投与に関連したその他の毒性評価（4.3.4-24）を 2.6.6.8.4 項に記載する。

表 2.6.6-1. 毒性試験一覧：LCIG の消化管における局所刺激性試験並びに DHPA 及び DHPPA の分解不純物の毒性試験

動物種/系統	投与経路	投与量 (mg/kg/日)又は濃度	報告書番号	GLP 適用
局所刺激性 [a]				
ミニブタ/Göttigen	十二指腸	0, 50/12.5, 100/25, 150/37.5	R&D/11/1277	不適
ミニブタ/Göttigen	十二指腸	50/12.5 から 140/35	R&D/11/1278	不適
ミニブタ/Göttigen	十二指腸	フェーズ 1: 60/15 から 360/90 フェーズ 2: 90/22.5, 120/30	R&D/11/1279	不適
ミニブタ/Göttigen	十二指腸	フェーズ 1: 30/7.5 から 120/30 フェーズ 2: 60/15, 90/22.5 フェーズ 3: カルビドパ 1, 3 (ID, IV) Sinemet® CR: 100/25, 300/75 (経口)	R&D/11/1303	適
ミニブタ/Göttigen	十二指腸	0, 45/11.25, 90/22.5	R&D/11/1302	適
ミニブタ/Göttigen	十二指腸	0, 45/11.25[b], 90/22.5	R&D/11/1304	適
その他の毒性試験 (不純物)				
In vitro ネズミチフス菌，大腸菌 (復帰突然変異試験)				
DHPA	*in vitro*	1.5 から 5000 µg/プレート	R&D/11/884	適
DHPPA	*in vitro*	1.5 から 5000 µg/プレート	R&D/11/1023	適
ヒトリンパ球 (染色体異常試験)				
DHPA	*in vitro*	143, 285, 570 µg/mL (-S9; 4 時間) 285, 810, 1660 µg/mL (+S9; 4 時間) 36, 72, 162 µg/mL (-S9; 4 時間)	R&D/11/943	適
DHPA	*in vitro*	1000, 1500, 1960 µg/mL (±S9; 4 時間) 250, 500, 550 µg/mL (-S9; 20 時間)	R&D/11/942	適
In vivo				
ラット/Sprague-Dawley	経口	0 (溶媒), 6/4, 15/10 mg/kg/日 [c]	R&D/11/831	適

ID =十二指腸; IV = 静脈内; S9 = ラット肝臓ミクロソーム（Aroclor™ 1254 で誘導）

a. レボドパの投与量/カルビドパの投与量

b. Day 19 に 30/7.5 mg/kg/日へ減量

c. DHPA の投与量/DHPPA の投与量; 1 日 2 回投与

2.6.6.1.1 レボドパ / カルビドパの毒性：公開情報及び公表論文

レボドパ/ カルビドパはパーキンソン病治療薬として 1975 年米国で初めて承認された。Duodopa は，2015 年 1 月 9 日に米国で承認を受けた。その際に提出した Duodopa 申請用に新たに実施した毒性試験を表 2.6.6-1 に示す。その他の毒性試験は実施していないが，公開情報及び公表論文を参考にした。なお，Duodopa の FDA 申請には，公開情報により，次の情報を利用した。

マウスの単回投与毒性試験
ラット，イヌ及びサルの反復投与毒性試験
ラットのがん原性試験
遺伝毒性試験
生殖発生毒性試験

本申請には Duodopa 申請用に新たに実施した試験に加え，公表論文及び米国添付文書の情報を用いて毒性評価を行った。

2.6.6.1.2 新規に実施した消化管における局所刺激性試験及び DHPA 及び DHPPA の分解不純物の毒性試験

LCIG を小腸へ最大 4 週間持続注入することによる胃腸管への刺激性を，ヒトと同様の投与方法を用いてミニブタで検討した。投与量設定試験において忍容性を示す最大量（以下「MTD」）である 90/22.5 mg/kg/日（Duodopa®として投与）を設定した。本試験では 2 つの 4 週間反復投与試験を実施した。いずれも投与量として，MTD の⅓ / ½及び MTD を設定した。中等度から高度の飛び跳ね反応，繰り返し行動等の行動変化がみられた。これらの行動変化はジアゼパムの投与により抑制することが可能であった。雌においては剖検及び病理組織学的検査において十二指腸に著変はみられなかった。雄では対照群も含めて剖検において十二指腸粘膜周辺あるいはチューブの先端が当たる部分に赤色斑がみられ，病理組織学的検査においてこれらは軽微から軽度のうっ血及び炎症細胞の増加としてみられた。これらの病理組織学的検査所見の発現頻度と重症度は対照群と比較すると僅かに MTD 群で増加したが，うっ血の頻度は背景データの範囲であった。したがって，これらの所見を毒性とは判断しなかった。以上，LCIG をミニブタに 4 週間十二指腸投与した結果，毒性学的に意義のある刺激性はみられなかった。

LCIG の不純物又はカルビドパの *in vivo* における代謝物でもある DHPA 及び DHPPA の規格設定をサポートするための毒性試験を実施した。いずれも細菌において変異原性を示さなかったが，*in vitro* のヒトリンパ球を用いた染色体異常試験において，DHPA 及び DHPPA 群で構造異常の増加がみられた。

これらの結果は DHPA 及び DHPPA が有するカテコールの構造から予測されたものと一致していた。カテコール構造は，親化合物であるカルビドパにも含まれており，細菌及び *in vitro* 哺乳類細胞における変異原性と関連しているが，*in vivo* 遺伝毒性試験では陰性を示している。カルビドパにおける *in vitro* 遺伝毒性ポテンシャルは，カルビドパ単剤並びにレボドパ及びカルビドパ併用で実施されたがん原性試験で陰性を示したことから，がん原性ポテンシャルを予測するものではない。すなわち，DHPA 及び DHPPA は親化合物であるカルビドパに対して，特に LCIG 投与によって到達される曝露量においては，遺伝毒性の追加的ハザードになることはないと考えられる。DHPA の最大 15 mg/kg/日を DHPPA の最大 10 mg/kg/日と併用してラットに 4 週間反復投与した結果，著変はみられなかった。投与量換算では，これらの投与量は 100 mL の LCIG カセットを 2 カセット（総量としてレボドパを 4000 mg，カルビドパを 1000 mg），60 kg のヒトに投与した際に，DHPA 及び DHPPA の規格値をそれぞれ [redacted]%及び [redacted]%に設定した場合，DHPA では [redacted]倍，DHPPA では [redacted] 倍のである。ミニブタの十二指腸投与による局所刺激性試験におけるトキシコキネティクスデータからは，DHPA 及び DHPPA の曝露量は，それぞれカルビドパの 0.4%未満及び 8.8%以下であった。さらに，LCIG からの不純物の吸収は，カルビドパの代謝によって生成された DHPA 及び DHPPA の濃度に影響を及ぼさないと考えられた。したがって，カルビドパを含む非臨床及び臨床試験の結果もまた，これらの不純物の規格設定をサポートすると考えられる。

以上，規格設定のための毒性試験の結果，DHPA 及び DHPPA がカルビドパの代謝物として低濃度で体内に存在すること，及び LCIG においてこれらが不純物として含まれていても体内濃度に影響を及ぼすものではないことから，DHPA 及び DHPPA のそれぞれの規格値を [redacted]%及び [redacted]%として決定することは妥当と考えられる。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

注：レボドパ及びカルビドパの単回投与毒性について，公表論文を利用して評価した。新規のレボドパ及びカルビドパの単回投与毒性試験は実施していない。

2.6.6.2.1 レボドパ / カルビドパ

マウスにレボドパ / カルビドパを単回経口投与した際の LD_{50} を表 2.6.6-2 に示す。死亡は投与後 1 日から 4 日にみられた。一般状態として，中枢刺激作用（挙尾，自発運動の増加，痙攣）がみられた。

表 2.6.6-2. マウスを用いたレボドパ / カルビドパの単回投与毒性試験

レボドパ：カルビドパの比	LD_{50} (mg/kg)	参考文献
10:1	3440	4.3.4-6

LD_{50} = 50%致死量
a. 2 試験それぞれの結果

2.6.6.2.2 レボドパ

マウスにおけるレボドパの単回投与毒性試験の結果を示す。LD_{50} を表 2.6.6-3 に示す。マウスの死亡時間は入手できなかった。

表 2.6.6-3. マウスを用いたレボドパの単回投与毒性試験

動物種	LD_{50} (mg/kg)	参考文献
マウス	1460	4.3.4-6

LD_{50} = 50%致死量

2.6.6.2.3 カルビドパ

雌マウス，雌雄ラット（成獣，離乳，新生児）及び雌雄ウサギを用いた経口及び非経口による単回投与毒性試験の結果を表 2.6.6-4 に示す。マウスでは経口投与時は投与後 2 時間から 7 日に，静脈内投与では投与後 1 分から 5 日，腹腔内投与では投与後 2 日から 7 日に死亡がみられた。成獣及び離乳ラットでは投与日の夜から投与後 7 日に，新生児ラットでは投与日の夜から投与後 12 日に死亡例がみられた。ウサギにおいては死亡がみられなかった。マウス及びラットでみられた一般状態は，すべての投与経路において眼瞼下垂，自発運動の減少，歩行失調，非経口投与においては振戦及び痙攣がみられた。緩徐呼吸はマウスの経口投与及び腹腔内投与においてみられた。緩徐呼吸，歩行失調，自発運動の減少及び血尿がウサギにおいてみられた。

表 2.6.6-4. マウス，ラット及びウサギを用いたカルビドパの単回投与毒性試験

動物種	性	投与経路	LD_{50} (mg/kg)	参考文献
マウス[a]	雌	経口	1750	4.3.4-6
マウス	雌	静脈内	634	4.3.4-6
マウス	雌	静脈内	519	4.3.4-6
マウス	雌	腹腔内	148	4.3.4-6
ラット	雄	経口	5610	4.3.4-6
ラット	雌	経口	4810	4.3.4-6
ラット	雄	腹腔内	352	4.3.4-6
ラット	雌	腹腔内	383	4.3.4-6
ラット (離乳)	雄	経口	5470	4.3.4-6
ラット (離乳)	雌	経口	5470	4.3.4-6
ラット (離乳)	雄	腹腔内	393	4.3.4-6
ラット (離乳)	雌	腹腔内	399	4.3.4-6
ラット (新生児)	雄, 雌	経口	2251	4.3.4-6
ウサギ	雄, 雌	静脈内	> 600	4.3.4-6

LD_{50} =50%致死量

2.6.6.3 反復投与毒性試験

注：レボドパ及びカルビドパの反復投与毒性試験について，公表論文を利用して評価した。新規のレボドパ及びカルビドパの反復投与毒性試験は実施していない。

2.6.6.3.1 ラット

2.6.6.3.1.1 レボドパ / カルビドパ

ラットを用いたレボドパ / カルビドパの 4 週間反復投与毒性試験は 2 試験実施され，いずれも 1 群当たり 10 例の雌雄ラットを用いて実施された（溶媒は 0.5%メチルセルロース［以下「MC」］）（4.3.4-6）。1 つ目の試験ではレボドパ：カルビドパの用量を 250：25，250：50，及び 250：100 mg/kg/日とし，1 群あたり雌雄各 10 匹の Sprague-Dawley ラットにレボドパとして 250 mg/kg/日の固定用量を 26 日間強制経口投与した。2 つ目の試験では，レボドパ：カルビドパの用量比を 500：25，500：50 及び 500：100 mg/kg/日とし，レボドパとして 500 mg/kg/日の固定用量を 33 日間強制経口投与した。レボドパの 500 mg/kg/日では全群で死亡例がみられた（表 2.6.6-5）。

表 2.6.6-5. レボドパ / カルビドパを最大 30 日投与したラットの反復投与毒性試験における死亡発現

	レボドパ / カルビドパ (mg/kg/日)					
	500:25		500:50		500:100	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	10	10	10	10	10	10
死亡数	3	1	1	10	4	10

参考文献 4.3.4-6

一般状態として，自発運動の増加，唾液過多，頻尿，異常呼吸が全群にみられた。腹部膨満，暗色鼻汁はレボドパの 500 mg/kg/日でみられた。投与終了時には体重増加量がレボドパの 500 mg/kg/日の雄で 27%–34%，500：25 mg/kg/日の雌で 14%減少した。レボドパの 250 mg/kg/日では体重に変化はみられなかった。血液検査は実施されていない。肝臓重量（絶対重量及び相対重量），心臓重量（相対重量）が 250：50，250：100 及び 500：25 mg/kg/日で増加した。500 mg/kg/日の雄でみられた肝臓及び心臓の相対重量の変化は，体重増加量の減少に起因すると考えられた。病理組織学的検査では，唾液腺，副腎，胃粘膜で変化がみられた。唾液腺の腺房細胞の肥大がレボドパの 500 mg/kg/日の 3/9 例でみられた。レボドパの 500 mg/kg/日でみられた病理組織学的検査結果を表 2.6.6-6 に示す。

表 2.6.6-6. レボドパ / カルビドパを最大 30 日投与したラットの反復投与毒性試験における病理組織学的検査

	レボドパ / カルビドパ (mg/kg/日)							
	対照群 [a]		500:25		500:50		500:100	
所見	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	20	20	10	10	10	10	10	10
唾液腺，腺房細胞の肥大	0	0	7	9	8	5	6	3
唾液腺，唾液管の化生	0	0	0	0	0	0	0	1
副腎，細胞質の希薄化	0	0	3	2	0	2	1	0
胃，粘膜壊死	0	0	1	0	0	0	0	2
硬膜出血	0	0	0	0	0	1	0	2

参考文献 4.3.4-6

a. 2 試験の対照群の合計：10 例/性/試験

レボドパ / カルビドパの長期反復投与による毒性は 2 年間がん原性試験の一部のデータを用いて評価した（4.3.4-6）。1 群あたり雌雄 70 例のラットに溶媒（0.5% MC）又はレボドパ / カルビドパを 20：10，50：10 及び 100：10 mg/kg/日の用量を 106 週間投与した。これらの動物の

うち，投与後 26 週及び 54 週に 1 群当たり雌雄 10 例を安楽死した。被験物質に起因した死亡はみられなかった。100：10 mg/kg/日の主な一般状態として，投与後 35 週までは唾液過多がみられた。体重増加量の減少は投与後 26 週の 100：10 mg/kg/日の雄（5%），投与後 54 週では 50：10 mg/kg/日の雄（5%），100：10 mg/kg/日の雄（12%）及び雌（8%）でみられた。100：10 mg/kg/日でのみ行われた眼科学的検査，血液学的検査及び器官重量では被験物質に起因した変化はみられなかった。病理組織学的検査においては，投与後 26 週の 100：10 mg/kg/日の 2 例で唾液腺の腺房細胞の肥大がみられた。

2.6.6.3.1.2 レボドパ

ラットにおいてレボドパの毒性試験情報は文献調査から得られなかった。

2.6.6.3.1.3 カルビドパ

1 群当たり雌雄 5 例の CD ラットにカルビドパを 0（0.5% MC），100，200 及び 400 mg/kg/日を 14 日間反復経口投与した毒性試験を評価した（4.3.4-6）。死亡例はみられず，被験物質に起因した一般状態所見はみられなかった。投与後 14 日において，400 mg/kg/日において体重減少がみられ，対照群と比較して雄で 33%，雌で 26%の減少がみられた。眼科学的検査，血液学的検査には被験物質に起因した変化はみられなかった。200 及び 400 mg/kg/日の雄で脾臓重量の減少がみられた。病理検査において被験物質に起因した変化はみられなかった。

Wistar ラットにカルビドパを 13 週間混餌投与した毒性試験の結果を評価した。投与量は 0，32，65，130 及び 260 mg/kg/日に設定した（4.3.4-1）。

1 群当たり対照群は雌雄 15 例，カルビドパ群は雌雄 10 例を割り当てた。被験物質に起因した死亡はみられなかった。一般状態において 130 mg/kg/日以上において攻撃性がみられた。投与後 4 週以降にみられた体重増加量の減少は，65 mg/kg/日以上の雌及び 260 mg/kg/日の雄でみられ，130 mg/kg/日の雄では投与後 8 週からみられた。試験を通じて 130 mg/kg/日以上の雌において 9%から 34%の摂餌量の減少がみられた。雄では投与後 6 週から 20%から 32%の摂餌量の減少がみられた。130 mg/kg/日の雌及び 260 mg/kg/日の雌雄では赤血球数は増加したが，ヘモグロビン量及びヘマトクリットは減少した。260 mg/kg/日では雌で好酸球，雌雄で好中球の増加がみられた。血液生化学的検査では毒性変化はみられなかった。投与後 4 週の 260 mg/kg/日で尿ケトンの増加がみられ，投与後 12 週では全群で投与量依存的な尿ケトンの増加がみられた。130 mg/kg/日以上の尿沈渣においてシュウ酸カルシウムの増加がみられた。器官重量の結果を表 2.6.6-7 に示す。130 mg/kg/日以上で脳，腎臓及び精巣の相対重量の増加がみられたが，関連した病理組織学的所見がみられなかったことから，体重増加量の減少に起因すると考えられた。260 mg/kg/日でみられた胸腺の相対重量の減少は雄 4 例及び雌 1 例でみられた胸腺皮質の萎縮と関連があると考えられた。260 mg/kg/日でみられた子宮の相対重量の減少は関連する病理組織学的所見はみられなかった。被験物質に起因したと考えられる唯一の病理組織学的所見は 260 mg/kg/日でみられた血管周囲への好酸球の細胞浸潤であった。

表 2.6.6-7. カルビドパの Wistar ラットを用いた 13 週間混餌投与毒性試験における器官重量（相対重量）

	カルビドパ (mg/kg/日)									
	0 (溶媒)		32		65		130		260	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	15	15	10	10	9	10	10	10	10	10
心臓	0.263	0.304	0.279*	0.323*	0.287*	0.318	0.300**	0.328	0.339*	0.327*
脳	0.552	0.823	0.601*	0.854	0.633†	0.881	0.734†	0.988†	0.978†	1.158†
腎臓	0.605	0.665	0.623	0.717*	0.732†	0.760	0.803†	0.845†	0.977†	0.960†
胸腺	0.110	0.138	0.099	0.134	0.098	0.130	0.078**	0.119	0.048†	0.059†
肺	0.396	0.514	0.416	0.514	0.427*	0.507	0.426†	0.527	0.558**	0.548*
副腎	0.013	0.021	0.013	0.020	0.015	0.023	0.016*	0.021	0.018*	0.020
精巣	0.790	NA	0.827	NA	0.868*	NA	1.036†	NA	1.309**	NA
子宮	NA	0.169	NA	0.138*	NA	0.155	NA	0.151	NA	0.133**

参考文献 4.3.4-1

NA = 適用外

*$P < 0.05$

**$P < 0.01$

†$P < 0.001$

96 週間カルビドパを投与したがん原性試験のデータを用いてカルビドパの慢性毒性を評価した（4.3.4-6）。1 群当たり雌雄 70 例の CD ラットに 0（0.5% MC），25，45 及び 135 mg/kg/日を反復経口投与し，投与後 28 週及び 54 週の検査項目を評価した。被験物質に起因した死亡はみられなかった。25 mg/kg/日の雌及び 45 mg/kg/日以上の雌雄で軽微な筋弛緩がみられた。体重，器官重量，血液学的検査及び眼科学的検査には被験物質に起因した変化はみられなかった。被験物質に起因した病理所見はみられなかった。

2.6.6.3.2 イヌ

2.6.6.3.2.1 レボドパ / カルビドパ

レボドパ / カルビドパの併用投与によるイヌの毒性試験は公表されていない。

2.6.6.3.2.2 レボドパ

レボドパによるイヌの毒性試験は公表されていない。

2.6.6.3.2.3 カルビドパ

1 群当たり雌雄 2 例のイヌにカルビドパの 0，5，15，45 及び 135 mg/kg/日の用量で 35 週間反復経口投与した毒性試験のデータを用いた毒性を評価した（4.3.4-6）。135 mg/kg/日の動物は投与後 4 週に，45 mg/kg/日の動物は投与後 6 週に安楽死した。5 及び 15 mg/kg/日の動物において，死亡例はみられなかった。振戦，摂餌量減少，軟便，下痢が，15 mg/kg/日以上でみられた。15 mg/kg/日において，体重減少がみられた。15 mg/kg/日以上では白血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少がみられた。赤血球不同，軽微の変形赤血球症及び軽微の血色素減少がみられた。投与後 4 週には 135 mg/kg/日の尿素窒素が対照群の 2 倍の値を示した。軽微な粘膜胃炎及び胃の表層上皮細胞の変性，小葉中心性幹細胞の軽微な空胞化が 5 mg/kg/日の 1 例でみられた。15 mg/kg/日以上でみられたその他の病理組織学的所見は，神経線維の空胞化，上腕神経及び坐骨神経におけるシュワン細胞の増加，十二指腸粘膜の限局性壊死，炎症性細胞浸潤を伴う結腸の粘膜腺の拡張，骨髄及び胸腺の萎縮並びに骨粗しょう症であった。

1 群当たり雌雄各 2 例のイヌにカルビドパを 45 mg/kg/日，ピリドキシンを 10 mg/kg/日，又はカルビドパ及びピリドキシンを併用した 7 週間反復投与試験のデータを評価した（4.3.4-6）。みられた所見は先立って実施された試験と同様であった。しかし，ピシドキシンの併用投与により，カルビドパに関連する変化の程度は軽減し，神経系変化はみられなかった。

カルビドパ及びピリドキシン併用群でみられた病理組織学的所見は，1 例でみられた肝細胞の軽微な空胞化及び軽微な粘膜性胃炎及び十二指腸の粘膜腺のごく軽微な拡張であった。これらの結果から，イヌにおいてはピリドキシンの併用によって，カルビドパの影響を予防又は軽度に軽減できることが示唆された。

2.6.6.3.3 サル

2.6.6.3.3.1 レボドパ / カルビドパ

1 群当たり雌雄各 2 例のアカゲザルにレボドパ / カルビドパを 0：0（0.5% MC），30：30，60：30 及び 120：30 mg/kg/日で，85 日間反復経口投与した毒性試験では（4.3.4-6），投与後 2 週又は 3 週に 120：30 mg/kg/日で瀕死状態を呈したため，全動物を安楽死した。。60：30 mg/kg/日以上から自発運動の増加がみられたが，30：30 mg/kg/日ではほとんどみられなかった。120：30 mg/kg/日では歩行失調及び自発運動の減少がみられた。体重及び眼科学的検査では被験物質に起因した変化はみられなかった。120：30 mg/kg/日ではヘモグロビン及びヘマトクリット値の減少がみられた。血液生化学的検査では被験物質に起因した変化はみられなかった。120：30 mg/kg/日では肝臓及び腎臓重量の増加がみられたが，関連した病理組織学的所見はみられなかった。

1 群当たり雌雄各 6 例のアカゲザルにレボドパ / カルビドパを 0：0，20：10，50：10 及び 100：10 mg/kg/日で，54 週間反復経口投与した毒性試験のデータを評価した（4.3.4-6）。このう

ち，各群雌雄 3 例を投与後 26 週に剖検したが，この中間評価の結果は明らかではない。死亡例はみられなかった。自発運動の増加が，50：10 mg/kg/日では投与後 14 週まで，100：10 mg/kg/日では投与後 32 週までみられた。100：10 mg/kg/日では一過性の筋協調不能及び自発運動の減少がみられた。体重，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査には被験物質に起因した変化はみられなかった。

2.6.6.3.3.2 レボドパ

レボドパ単剤をサルに投与した試験は公表されていない。

2.6.6.3.3.3 カルビドパ

カルビドパのアカゲザルを用いた亜急性毒性試験は 2 試験実施されている。1 群当たり雌雄 2 例又は 4 例をアカゲザルにカルビドパの 0（0.5% MC），100，200 及び 400 mg/kg/日を 14 日間，5，15 及び 45 mg/kg/日を 86 日間反復投与した試験のデータを用いて毒性を評価した。死亡例はみられず，一般状態，体重，眼科学的検査及び病理学的検査において被験物質に起因した変化はみられなかった。

カルビドパの慢性毒性試験では，1 群当たり雌雄 6 例のアカゲザルにカルビドパの 0，15/25，45 及び 135 mg/kg/日を 54 週間反復経口投与した（4.3.4-6）。低用量群は投与後 5 週に 15 mg/kg/日から 25 mg/kg/日に増量した。1 群当たり雌雄 3 例の動物は投与後 26 週に安楽死したが，その際の詳細な結果は公表されていない。死亡例はみられず，一般状態，体重，眼科学的検査及び病理組織学的検査において被験物質に起因した変化はみられなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

注：レボドパ及びカルビドパの遺伝毒性について，公表論文を利用して評価した。新規のレボドパ及びカルビドパの遺伝毒性試験は実施していない。

評価に用いたレボドパ及びカルビドパの遺伝毒性試験は ICH S2(R1)に従って実施されていない。レボドパ単剤及びカルビドパ単剤並びに他の化合物と併用して実施された遺伝毒性試験に関する情報は限定的であった。

2.6.6.4.1 レボドパ / カルビドパ

レボドパ / カルビドパの併用投与による遺伝毒性試験は実施されておらず，文献調査でも報告はみつからなかった。

2.6.6.4.2 レボドパ

レボドパのネズミチフス菌（TA1535，TA1537，TA1538，TA98 及び TA100）を用いた代謝活性化系の存在下 / 非存在下で実施された復帰突然変異試験（4.3.4-2）では，代謝活性化系の非存在下では 10–1500 μg/プレート，存在下では 25–3000 μg/プレートの濃度範囲で実施したが，突然変異誘発能を示さなかった。

レボドパの DNA 障害への影響を評価するために，Rec アッセイが実施された（4.3.4-2）。レボドパの 150 μg/ディスクでは，DNA 修復機構を持つ野生株と持たない欠損株ともに生育阻害はみられなかった。500 μg/ディスクでは野生株では生育阻害がみられなかったが，欠損株では生育阻害がみられた。以上の結果から，本試験の著者は，DNA 障害のポテンシャルが示唆されたと結論付けている。一方，EPA が Rec アッセイを実施したところ，既知のがん原性物質 56 化合物のうち，57%が正しく判定されなかった（4.3.4-3）ことから，Rec アッセイは通常用いられる試験方法ではない。

2.6.6.4.3 カルビドパ

カルビドパの 50，500 及び 1000 μg/プレートでネズミチフス菌（TA100）を用いた代謝活性化系の存在下 / 非存在下で実施された復帰突然変異試験では（4.3.4-4），50 及び 500 μg/プレートでは復帰突然変異頻度の増加はみられなかったが，1000 μg/プレートでは，対照群と比較して代謝活性化の存在下では 2.1 倍，非存在下では 2.5 倍の復帰突然変異頻度の増加がみられた。一方，カルビドパの 5–50 μM では，ラットの肝細胞（*in vitro*）では DNA 不定期合成能を示さなかった（4.3.4-4）。

カルビドパ単剤を in vivo 小核試験において陰性を示した（4.3.4-10）。

2.6.6.5 がん原性試験

注：レボドパ及びカルビドパのがん原性について，公表論文を利用して評価した。新規のレボドパ及びカルビドパのがん原性試験は実施していない。

2.6.6.5.1 レボドパ / カルビドパ

レボドパ / カルビドパのがん原性を評価するためにラットの 2 年間がん原性試験のデータ（4.3.4-6）を評価した。

1 群当たり雌雄各 70 例の CD ラットにレボドパ / カルビドパの 0 : 0（0.5% MC），25 : 10，50 : 10 及び 100 : 10 mg/kg/日を 106 週間反復経口投与した。このうち，1 群当たり雌雄各 10 例を投与後 26 週及び 54 週に安楽死した。途中安楽死の結果を 2.6.6.3.1.1 項に記載する。被験物質に起因した死亡例はみられなかった。100 : 10 mg/kg/日における一般状態は投与後 35 週までは主に唾液過多であった。投与終了時に体重増加量の減少が 50 : 10 mg/kg/日の雄（8%）及び

100：10 mg/kg/日の雄（14%）でみられた。雌においては体重に変化はみられなかった。器官重量，眼科学的検査及び血液学的検査においては，被験物質に起因した変化はみられなかった。

病理組織学的検査において被験物質に起因した変化はみられなかった。

2.6.6.5.2 カルビドパ

カルビドパのがん原性を評価するためにラットの 2 年間がん原性試験のデータ（4.3.4-6）を評価した。1 群当たり雌雄各 70 例の CD ラットにカルビドパの 0（0.5% MC），25，45 及び 135 mg/kg/日を反復経口投与した。このうち，1 群当たり雌雄各 10 例を投与後 26 週及び 54 週に安楽死した。被験物質に起因した死亡例はみられなかった。投与後 96 週には試験を終了した。25 mg/kg/日の雌及び 45 mg/kg/日以上の雌雄で筋弛緩がみられた。最終投与時の体重、血液学的検査，眼科学的検査に被験物質に起因した変化はみられなかった。

被験物質に起因した非腫瘍性病理所見はみられなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

注：レボドパ及びカルビドパの生殖発生毒性について，公表論文を利用して評価した。新規のレボドパ及びカルビドパの生殖発生毒性試験は実施していない。

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 レボドパ / カルビドパ

レボドパ/カルビドパを，カルビドパはヒトの臨床投与量の 2 倍量相当及びレボドパは 4 倍量相当投与した際，受胎能に影響はみられなかった（4.3.4-30）。

2.6.6.6.1.2 レボドパ

レボドパ投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施されておらず，文献調査でも報告はみつからなかった。

2.6.6.6.1.3 カルビドパ

カルビドパ投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施されておらず，文献調査でも報告はみつからなかった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 レボドパ / カルビドパ

レボドパ / カルビドパの胚・胎児発生毒性は，ヒトの臨床投与量の 20 倍量相当をマウスに投与した結果，催奇形性はみられなかった（4.3.4-30）。レボドパ / カルビドパをヒトの臨床投与量のそれぞれ 10 から 20 倍及び 5 から 10 倍量相当をウサギに投与した結果，内臓異常及び骨格異常がみられた（4.3.4-30）。

2.6.6.6.2.2 レボドパ

レボドパ投与による胚・胎児発生に関する試験は実施されておらず，文献調査でも報告はみつからなかった。

2.6.6.6.2.3 カルビドパ

カルビドパ投与による胚・胎児発生に関する試験は実施されておらず，文献調査でも報告はみつからなかった

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1 レボドパ / カルビドパ

レボドパ / カルビドパをヒトの臨床投与量のそれぞれ 5 倍及び 2 倍量相当をラットに投与した結果，同腹あたりの生存児数の減少がみられた（4.3.4-30）。

2.6.6.6.3.2 レボドパ

レボドパ投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施されておらず，文献調査でも報告はみつからなかった。

2.6.6.6.3.3 カルビドパ

カルビボドパ投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施されておらず，文献調査でも報告はみつからなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

LCIG の局所刺激性を評価する試験を実施した。米国 FDA との相談の基，LCIG（Duodopa®）を十二指腸へ持続投与した際の消化管の局所刺激性を評価するために，ミニブタ（Göttingen）を用いた局所刺激性試験を実施した。ミニブタは消化管の構造がヒトと類似していること（4.3.4-7），また，外科的処置が施しやすいこと，及びヒトで利用する Duodopa®ポンプを格納

したジャケットを利用できることから，本試験の動物種として選択した。ジャケット，ポンプ及びチューブの装着後も動物はケージ内を自由に行動できた。初めの 3 試験（予備及び用量設定のための非 GLP 試験）では雌を用いたが，外科的処置の際，生殖器が尾側に位置しているため，生殖器を傷つけることなく手術が可能であったことから，雌を用いて実施した。続いて実施した用量設定試験（GLP）では十二指腸投与への雄の利用可能性を検討した。本試験として雌雄のミニブタを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.16 項）。

レボドパ，その代謝物である 3-OMD 及びカルビドパのトキシコキネティクスパラメータをこれらの試験において検討した。さらに，カルビドパの *in vivo* 代謝物であり，Duodopa®ゲルの不純物でもある DHPPA 及び DHPA の曝露量も検討した。別の不純物であるヒドラジンの曝露量も測定したが，ヒドラジンの測定方法は十分にバリデートされたものではなかったため，値は暫定的なものであり，トキシコキネティクスパラメータは算出しなかった。分析方法については 2.6.4.2 項に記載する。トキシコキネティクスのデータは 2.6.4.3 項に記載する。

2.6.6.7.1 消化管の局所刺激性試験

2.6.6.7.1.1 十二指腸投与方法の確立と用量設定試験

雌ミニブタを用いた十二指腸投与方法の確立と用量設定検討の探索試験

（R&D/11/1277［4.2.3.6-1］，参考資料，非 GLP 試験）

初期検討試験として，雌のミニブタ（Göttingen）に PEG チューブを外科的装着した。J チューブは PEG チューブ内を通し，ヒトのトライツ靭帯に相当する箇所に装着させた。正しく設置できたことを X 線で確認した。ミニブタを Duodopa®ポンプを装着したジャケットに順化した。チューブ装着の検討については，生理食塩液を 1 ヵ月間持続注入し確認した。引き続いて 2 例のミニブタに PEG チューブ，J-チューブを外科的に装着後 2 週間に，LCIG を持続投与した（表 2.6.6-8）。摂餌量の減少及び自発運動の減少が投与後 2 日に 40：10 mg/kg/日で，歩行失調が 60：15，80：20 及び 100：25 mg/kg/日で，60：15 mg/kg/日では自発運動の減少もみられた。80：20 mg/kg/日では軽微な振戦び自発運動の減少がみられた。120：30 mg/kg/日では著変がみられなかった。しかし，X 線で確認したところ，投与後 16 日に J-チューブの切端が十二指腸ではなく胃に留置されていたことが確認されたことから，120：30 mg/kg/日で著変がみられなかったことは，J-チューブが正しく十二指腸に留置されていなかったことに起因すると考えられた。体重，摂餌量，器官重量及び剖検に著変はみられなかった。

表 2.6.6-8. 雌ミニブタにおける十二指腸投与による予備試験

	持続投与量 (mg/kg/日)[a]				
動物数	投与 1–3 日	投与 4–6 日	投与 7–9 日	投与 10–13 日	投与 14–16 日
92	40:10	投与せず	80:20	投与せず	120:30
94	投与せず	60:15	投与せず	100:25	投与せず

参考文献 4.2.3.6-1

a. レボドパ / カルビドパの投与量。各投与期間の第 1 日目には持続投与量の 25%量を 1 分間でボーラス投与後，持続投与に移行した。.

雌ミニブタを用いた十二指腸投与による用量設定試験

（R&D/11/1278［4.2.3.6-2］，参考資料，非 GLP 試験）

雌のミニブタ（Göttingen）に外科処置によりチューブを装着し，LCIG を十二指腸い持続注入するための用量設定試験を実施した。第 1 段階として，2 例のミニブタにレボドパ / カルビドパ を 40：10 mg/kg/日から 120：30 mg/kg/日へ 10 日間漸増持続注入した。2 日間ごとに投与量を増量した。各用量の 1 日目の投与時は総投与量の 25%量を 1 分間でボーラス投与し（120/30 mg/kg/日に時は 17%），その後 48 時間の持続投与を行った。1 例の動物では一般状態に著変はみられなかった。この動物では J-チューブの先端が十二指腸ではなく，胃に留置していたことが X 線によって確認された。もう 1 例では一般状態において自発運動の増加，発声頻度の増加，興奮，不穏がみられた。これらの一般状態はボーラスによる投与量を減量した際に減少した。

第 2 段階として，2 例のミニブタにレボドパ / カルビドパの 120：30 mg/kg/日を 14 日間反復持続投与した。投与 1 日のみに 1 日量の 17%量を 1 分間でボーラス投与し，その後持続注入を継続した。1 例の動物では一般状態に著変はみられなかった。もう 1 例では投与初日に自発運動の減少，投与初日及び投与後 5 日に不穏，断続的興奮，不穏，発声頻度の増加，繰り返し行動及び流涎は投与後 12 日までみられた。一般状態の重症度は投与期間の延長に伴って増加することはなく，投与後 13 日及び 14 日には一般状態に著変はみられなかった。体重，摂餌量，器官重量，剖検に著変はみられず，十二指腸周辺の上皮に刺激性を示唆する変化はみられなかった。

雌ミニブタを用いた十二指腸投与による探索試験

（R&D/11/1279［4.2.3.6-3］，参考資料，非 GLP 試験）

外科処置によりチューブを装着した雌のミニブタ（Göttingen）を用いて LCIG の最大耐量（MTD）を探索するために LCIG を十二指腸に持続注入した。レボドパ，その代謝物である 3-OMD 及びカルビドパのトキシコキネティクス測定用サンプルを採取した。第 1 段階として 2 例

の動物にレボドパ / カルビドパを 60：15 mg/kg/日から 360：90 mg/kg/日へ 8 日間漸増持続注入した。2 日間ごとに投与量を増量した。各日の投与は 1 日量のうちの 5%から 10%量を 1 から 5 分でボーラス投与し，残量を 24 時間かけて持続注入した。60：15 mg/kg/日では一般状態に著変はみられなかった。120：30 mg/kg/日では発声頻度の増加，処置時の飛び跳ね行動，易刺激性がみられたが，毒性の範囲ではない程度であった。240：60 mg/kg/日では，易刺激性，自発運動の増加，処置時の飛び跳ね行動，繰り返し行動，頭部の揺動，発声頻度の増加がみられ，鼻部をケージの柵や床に擦り付ける行動がみられた。これらの動物では繰り返し行動に起因すると考えられた鼻部や蹄に出血や擦り傷がみられた。360：90 mg/kg/日を 2 日間投与した 1 例では鼻部からの出血，繰り返し行動，消耗，歩行困難などの重篤な一般状態がみられたため，安楽死した。これらの結果から，LCIG の 7 日間持続投与における MTD は 120：30 mg/kg/日と考えられた。

第 2 段階として，3 例のミニブタに 120：30 mg/kg/日を 7 日間持続投与した。各日の投与は 1 日量のうちの 10%量をボーラス投与し，残量を 24 時間かけて持続注入した。60：15 mg/kg/日による導入投与の 2 日間で 1/2 例で忍容性が示された。しかし，120：30 mg/kg/日の投与後，興奮，高度の飛び跳ね行動，ケージ内の旋回，ケージ壁への衝突，これらの行動に起因する蹄に傷がみられことから投与を中止した。休薬後 7 日に，30：7.5 mg/kg/日を 2 日間投与後，60：15 mg/kg/日を 2 日間投与し，その後，90：22.5 mg/kg/日を 7 日間持続投与した。この際の投与開始時のボーラス投与量は 6：1.5 mg/kg に設定し，5 分間でボーラス投与した。3 例目の動物には 4 日間の導入投与後，120：30 mg/kg/日を 7 日間持続投与した。この際の投与開始時のボーラス投与量は 6：1.5 mg/kg に設定し，5 分間でボーラス投与した。90：22.5 mg/kg/日では興奮，飛び跳ね行動，発声頻度の増加が，120：30 mg/kg/日では興奮，自発運動の増加，発声頻度の増加，繰り返し行動がみられた。体重，摂餌量，器官重量及び剖検に著変はみられず，十二指腸周辺の上皮に刺激性を示唆する変化はみられなかった。

レボドパ，3-OMD 及びカルビドパの曝露量は投与量の増加に伴って増加した（表 2.6.6-9）。

表 2.6.6-9. レボドパ，3-O-Methyldopa 及びカルビドパ のトキシコキネティクスパラメータ（最大 7 日間投与）

フェーズ	投与量 (mg/kg/日)[a]	C_{max} (ng/mL)	C_{max}/投与量 [b]	T_{max} (hour)	AUC (ng•hr/mL)	AUC/投与量 [c]
			レボドパ			
1	60:15	13300 ± 2260	222 ± 37.5	11.8 ± 15.9	237000 ± 15600	3960 ± 262
2[d]	90:22.5	26900 ± 7140	298 ± 79.2	1.3 ± 1.1	437000 ± 69300	4860 ± 771
2[d]	90:22.5	23100 ± 849	257 ± 9.2	0.8 ± 0.4	411000 ± 19800	4570 ± 219
1	120:30	44800 ± 11800	373 ± 99	1 ± 0.7	660000 ± 303000	5500 ± 2520
1	240:60	108000 ± 15300	451 ± 64.3	0.8 ± 0.4	1630000 ± 382000	6790 ± 1580
1[e]	360:90	180000	500	1.5	算出せず	算出せず
			3-Ortho-Methyldopa			
1	60:15	27700 ± 10400	461 ± 173	23 ± 0	486000 ± 95500	8100 ± 1590
2[d]	90:22.5	56300 ± 10800	625 ± 120	1.3 ± 1.1	1150000 ± 184000	12800 ± 1980
2[d]	90:22.5	72500 ± 1200	805 ± 12.7	2 ± 2.8	147000 ± 7070	16300 ± 141
1	120:30	94600 ± 64300	790 ± 538	12.3 ± 15.2	1970000 ± 1430000	16400 ± 11900
1	240:60	161000 ± 98100	669 ± 409	1.3 ± 0.4	3170000 ± 1930000	13200 ± 8080
1[e]	360:90	224000	622	1.5	算出せず	算出せず
			カルビドパ			
1	60:15	636 ± 409	42.4 ± 27	1.5 ± 0	5130 ± 2420	342 ± 161
2[d]	90:22.5	626 ± 95.5	27.8 ± 4.2	2.5 ± 2	7850 ± 1990	349 ± 88
2[d]	90:22.5	419 ± 146	18.6 ± 6.5	1.5 ± 0	5110 ± 1930	227 ± 86
1	120:30	1340 ± 91.9	44.5 ± 3.1	1.5 ± 1	12300 ± 2690	410 ± 88
1	240:60	2180 ± 700	36.3 ± 11.7	1.8 ± 0	26200 ± 9900	437 ± 164
1[e]	360:90	2960	32.9	0.5	算出せず	算出せず

参考文献 4.2.3.6-3

数値は平均値 ± 標準偏差（断りがない限り N = 3 ）

C_{max} = 最高血中濃度; T_{max} = 最高血中濃度到達時間; AUC = 濃度-時間曲線下面積

a. レボドパ / カルビドパの投与量

b. 単位：(ng/mL)/(mg/kg/日)

c. 単位：(ng hr/mL)/(mg/kg/日)

d. N = 2

e. N = 1

以上から，4 日間の導入投与後に，各投与日に 1 日量の 6%から 10%量をボーラス投与して 7 日間持続投与した結果，MTD は 90：22.5 mg/kg/日から 120：30 mg/kg/日と考えられた。

雄ミニブタを用いた十二指腸投与による探索試験

（R&D/11/1303［4.2.3.6-4］，評価資料，GLP 試験）

外科処置によりチューブを装着した雄のミニブタ（Göttingen）を用いて，本試験の試験方法の実用性，MTD 及び LCIG 投与後あるいはカルビドパ及び Sinemet® CR を単回投与（十二指腸投与，静脈内投与及び経口投与）した後のレボドパ，カルビドパ，DHPA，DHPPA 及びヒドラジンのトキシコキネティクスを検討した。

第 1 段階として，1 日量の 10%量を 5 分間でボーラス投与後，残りを 24 時間持続投与した。3 例の動物の投与量はレボドパ / カルビドパを投与 1 日及び 2 日は 30：7.5 mg/kg/日，投与 3 日及び 4 日は 60：15 mg/kg/日，投与 5 日は 120：30 mg/kg/日とした。投与 6 日は，自発運動の増加，飛び跳ね行動，発声頻度の増加及び流涎の重症度が高度にみられたため，投与を中止した。投与 8 日に 30：7.5 mg/kg/日，投与 9 日に 60：15 mg/kg/日を投与し，その後 2 日間は 90：22.5 mg/kg/日を投与した。90：22.5 mg/kg/日では発声頻度の増加，飛び跳ね行動がみられ，この用量が MTD と考えられた。レボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6-10 に示す。DHPA は検出限界(9.92 ng/mL）未満であった。.

表 2.6.6-10. LCIG 投与後の雄のミニブタにおけるレボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータ

投与量(mg/kg/日)[a]	検査日	C_{max} (ng/mL)	AUC (ng•hr/mL)[b]
			レボドパ
30:7.5	2	6230 ± 2090	97500 ± 16300
60:15	4	15200 ± 1800	247000 ± 36000
90:22.5	11	26400 ± 3000	482000[c]
			カルビドパ
30:7.5	2	243 ± 256	1990 ± 1460
60:15	4	599 ± 337	5580 ± 3210
90:22.5	11	609 ± 203	9720[c]
			DHPPA
30:7.5	2	13.2[d]	報告なし
60:15	4	24.0 ± 10.9	60.1 ± 23.5
90:22.5	11	20.5 ± 17.9	53.3 ± 46.3

参考文献 4.2.3.6-4

値は平均値± 標準偏差（特に断りがない場合は N = 3）

C_{max} = 最高血中濃度; AUC = 濃度-時間曲線下面積; DHPPA = 2-methyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoic acid.

a. レボドパ / カルビドパの投与量

b. レボドパ及びカルビドパのデータは 0 時間から測定可能な時点まで，DHPPA は 0 から 4 時間の値

c. N = 2

d. N = 1

第 2 段階として，3 例の雄のミニブタにレボドパ / カルビドパの 30 : 7.5 mg/kg/日を投与 1 日，60 : 15 mg/kg/日を投与 2 日に投与し，その後 90 : 22.5 mg/kg/日を 7 日間反復持続注入した。各投与日は，1 日量の 10%量を 5 分間でボーラス投与後，残りを 24 時間持続投与した。90 : 22.5 mg/kg/日において，1 例で攻撃性が散見され，3 例とも飛び跳ね行動がみられたが，これらの一般状態は 7 日間を通して忍容性はみられた。レボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータを（表 2.6.6-11）に示す。DHPA は検出限界（9.92 ng/mL）未満であった。

表 2.6.6-11. LCIG を 7 日間投与後の雄のミニブタにおけるレボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータ

投与量(mg/kg/日)[a]	検査日	C_{max} (ng/mL)	AUC (ng•hr/mL)[b]
			レボドパ
90:22.5	2	26400 ± 2300	455000 ± 80000
90:22.5	7	26600 ± 4400	410000 ± 93000
			カルビドパ
90:22.5	2	583 ± 46	6930 ± 2130
90:22.5	7	480 ± 18	5240 ± 1580
			DHPPA
90:22.5	2	31.6 ± 14.1	72.0 ± 20.2
90:22.5	7	23.3 ± 2.3	51.9 ± 10.4

参考文献 4.2.3.6-4

値は平均値 ± 標準偏差（特に断りがない場合は N = 4）

C_{max} = 最高血中濃度; AUC = 濃度-時間曲線下面積; DHPPA = 2-methyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoic acid.

a. レボドパ / カルビドパの投与量

b. レボドパ及びカルビドパのデータは 0 時間から測定可能な時点まで，DHPPA は 0 から 4 時間の値

第 3 段階として，カルビドパ及び Sinemet® CR を単回投与した後のカルビドパ及び不純物の薬物動態を検討した。10 日間の休薬期間後，3 例の雄のミニブタにカルビドパの 1.5 mg/kg を投与 1 日，3.0 mg/kg を投与 3 日に十二指腸投与した。投与 9 日に Sinemet® CR の 100 : 25 mg/kg（1 錠）を，投与 11 日には 300 : 75 mg/kg（3 錠）を経口投与した。最後にカルビドパの 1.5 mg/kg を投与 15 日，3.0 mg/kg を投与 17 日に静脈内投与した。血漿サンプルを特定の間隔で採取した。

十二指腸投与及び静脈内投与後のカルビドパ，DHPPA 及び DHPA のトキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6-12 に示す。十二指腸投与後のカルビドパの T_{max} は 0.5 時間であった。十二指腸投与及び静脈内投与後消失半減期（$t_{1/2}$）はそれぞれ，1.3 時間及び 1.4 時間であった。カルビドパの生物学的利用率は 5%であった。十二指腸投与後の DHPPA の消失半減期（$t_{1/2}$）は 1.5 mg/kg を投与した 1 例から得られたデータではあるが，0.7 時間だった。同様に，静脈内投

与後の消失半減期（$t_{1/2}$）は 1.5 mg/kg 又は 3.0 mg/kg を投与した 1 例ずつから得られたデータではあるが，いずれも 0.2 時間であった。

十分なデータがえられなかったことから DHPA のトキシコキネティクスパラメータを算出できなかった。

表 2.6.6-12. カルビドパを単回投与したときの雄ミニブタにおけるカルビドパ，DHPPA 及び DHPA のトキシコキネティクスパラメータ

	十二指腸投与			静脈内投与		
カルビドパ投与量 (mg/kg)	検査日	C_{max} (ng/mL)	AUC[a] (ng•hr/mL)	検査日	C_{max} (ng/mL)	AUC[a] (ng•hr/mL)
			カルビドパ			
1.5	1	194 ± 114	258 ± 124	15	6880 ± 1260	4590 ± 1070
3.0	3	269 ± 193	426 ± 306	17	11300 ± 4500	8140 ± 1820
			DHPPA			
1.5	1	24.1 ± 15.0	46.8[b]	15	91.8 ± 23.9	30.4 ± 6.3
3.0	3	15.4 ± 15.9	28.2[b]	17	126 ± 35	82.2 ± 74.1
			DHPA			
1.5	1	< LLOQ	< LLOQ	15	26.6 ± 6.0	< LLOQ
3.0	3	< LLOQ	< LLOQ	17	42.0 ± 9.9	40.4[b]

参考文献 4.2.3.6-4

値は平均値± 標準偏差（特に断りがない場合は N = 3）

C_{max} = 最高血中濃度; AUC = 濃度-時間曲線下面積;

DHPPA = 2-methyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoic acid; DHPA = 3,4-dihydroxyphenylacetone; LLOQ =検出限界 (9.92 ng/mL).

a. データは 0 時間から測定可能な時点までを利用した

b. N = 1.

Sinemet® CR の経口投与後のレボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6-13 に示す。DHPA は全サンプルで検出限界（9.92 ng/mL）未満であった。レボドパ及びカルビドパの T_{max} はいずれも 3 時間であった。レボドパの平均消失半減期（$t_{1/2}$）は，100 : 25 mg/kg の時は 1.5 時間，300 : 100 mg/kg で 2.7 時間であった。カルビドパの平均消失半減期（$t_{1/2}$）は，それぞれの用量において 1 例のデータではあったが，100 : 25 mg/kg で 1.1 時間，300 : 75 mg/kg で 2.1 時間であった。Sinemet® CR を経口投与した際のカルビドパの生物学的利用率は，100 : 25 mg/kg で 3.3%，300 : 75 mg/kg で 2.0%であった。.

表 2.6.6-13. Sinemet® CR を単回経口投与したときの雄ミニブタにおけるレボドパ，カルビドパ及び DHPPA のトキシコキネティクスパラメータ

投与量 (mg/kg/日)[a]	検査日	C_{max} (ng/mL)	AUC (ng•hr/mL)[b]
			レボドパ
100:25	9	2300 ± 1040	9930 ± 3920
300:75	11	4540 ± 1900	32800 ± 9200
			カルビドパ
100:25	9	78.1 ± 76.7	161 ± 160
300:75	11	88.3 ± 76.5	299 ± 304
			DHPPA
100:25	9	14.1 ± 13.4	< LLOQ
300:75	11	18.2 ± 6.6	36.1[c]

参考文献 4.2.3.6-4

値は平均値± 標準偏差（特に断りがない場合は N = 3）

C_{max} = 最高血中濃度; AUC = 濃度-時間曲線下面積;

DHPPA = 2-methyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl) propanoic acid; LLOQ = Lower limit of quantitation (10.1 ng/mL).

a. レボドパ / カルビドパの投与量

b. レボドパ及びカルビドパのデータは 0 時間から測定可能な時点まで，DHPPA は 0 から 3 時間の値

c. N = 1.

ヒドラジンの濃度は DHPA 及び DHPPA の血漿中濃度測定用サンプルを利用して測定された。ヒドラジンの測定方法は十分にバリデートされた方法ではなかった。したがって，ヒドラジンの測定方法は十分にバリデートされたものではなく，値は暫定的なものであったため，トキシコキネティクスパラメータは算出しなかった。各段階におけるヒドラジンの濃度はマイクロソフトエクセルを用いて算出され，最終報告書に平均値及び標準偏差として表記された（表 2.6.6-14）。

表 2.6.6-14. LCIG 投与後のヒドラジンの血中濃度

フェーズ	被験物質	投与経路	検査日	投与量 (mg/kg/日)	ヒドラジン (ng/mL)[a]
1	LCIG	十二指腸持続投与[b]	2	30:7.5	7.14 ± 1.332
			4	60:15	12.2 ± 2.66
			11	90:22.5	12.7 ± 2.95
2	LCIG	十二指腸持続投与[b]	2	90:22.5	13.7 ± 4.35
			7	90:22.5	14.9 ± 3.66

参考文献 4.2.3.6-4

a. 数値は平均値 ± 標準偏差（断りがない限り N＝2 又は 3 ）

b. データは 2 又は 3 例から投与後 1，2 及び 4 時間に採取された。N＝7–9

本試験の結果，雄のミニブタに，2 日間の導入投与後，各投与日に 1 日量の 10%量をボーラス投与後 7 日間反復した際の MTD は 90：22.5 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.7.1.2 ミニブタを用いた 4 週間反復十二指腸持続投与試験

雌ミニブタを用いた 4 週間反復十二指腸持続投与試験

（R&D/11/1302［4.2.3.6-5］，評価資料，GLP 試験）

雌のミニブタ（Göttingen）を用いて LCIG の消化管に対する局所刺激性を評価するために，LCIG を十二指腸に持続投与した。動物にはあらかじめ外科的処置により，J-チューブの先端を十二指腸へ留置した。1 群当たり 3 例の雌のミニブタを割り当て，用量群として LCIG の 0（生理食塩水），0（溶媒），45：11.25 mg/kg/日（MTD の半量）及び 90：22.5 mg/kg/日（MTD）を設定した。2 日間の導入投与として，LCIG 群には 1 日目には両群とも 30：7.5 mg/kg，2 日目には 30：7.5 mg/kg（½ MTD 群）及び 45：11.25 mg/kg（MTD 群）を投与した。投与期間は 28 日間とした。各投与に際して，投与 1 日から 3 日までは，1 日投与量の 10%量，投与 4 日以降は 1 日投与量の 5%量を 5 分間でボーラス投与し，その後 24 時間持続投与した。

持続投与開始後 2 日から，LCIG 投与群で，不穏及び飛び跳ね行動，特に処置する際の飛び跳ね行動がみられた。45：11.25 mg/kg/日の 1 例に投与 23 日から，90：22.5 mg/kg/日では投与 7 日から，一般状態をコントロールし，28 日間投与を可能にするためにジアゼパムを投与した（筋肉内投与又は坐剤投与）。その他，一般状態が散見されたが，自発運動の増加，発声頻度の増加や無色尿等，毒性と考えられるものはみられなかった。体重及び摂餌量には変化はみられなかった。生理食塩水，溶媒，LCIG 群において十二指腸における刺激性を示唆する変化はみられなかった。

レボドパ，3-OMD 及びカルビドパの血漿中濃度は投与量の増加にともなって増加した(表 2.6.6-15）。レボドパ及びカルビドパの T_{max} はそれぞれ 0.5–1.5 時間及び 1–2 時間であった。3-OMD の T_{max} は 4–23 時間であった。レボドパ及びカルビドパには蓄積性はみられなかった。一方，3-OMD の投与 28 日の血漿中濃度は投与 2 日のものと比較して高く LCIG の反復投与による蓄積性が示唆された。DHPPA は全サンプルで検出可能であった。C_{max} 及び AUC_{1-4} の平均値を表 2.6.6-15 に示す。DHPPA の T_{max} は 1–2 時間であり，蓄積性は示唆されなかった。DHPA は全サンプルで検出限界未満(9.92 ng/mL）であった。探索的に測定されたボーラス投与後 1，2 及び 4 時間のヒドラジンの血漿中濃度は投与 2 日及び投与 28 日で同様の値であった。したがって，マイクロソフトエクセル 2010 で算出した 90：22.5 mg/kg/日投与後の 3 時点の平均濃度（±標準偏差）は投与 2 日で 17.8 ± 2.28 ng/mL，投与 28 日で 21.5 ± 6.47 ng/mL であった。

表 2.6.6-15. LCIG を雌のミニブタに投与した後のレボドパ，3-O-Methyldopa 及びカルビドパのトキシコキネティクスパラメータ（28 日間投与）

投与量 (mg/kg/日)[a]	C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-23} (ng•hr/mL)	
	Day 2	Day 28	Day 2	Day 28
		レボドパ		
45:11.25	10000	12200	165000	179000
90:22.5	22900 ± 1500	20500 ± 2600	438000 ± 32000	371000 ± 28000
		3-Ortho-Methyldopa		
45:11.25	13600	26600	306000	563000
90:22.5	41300 ± 6200	50800 ± 3300	873000 ± 121000	1070000 ± 60000
		カルビドパ		
45:11.25	273	217	2100	1780
90:22.5	407 ± 126	235 ± 99	3320 ± 600	2600 ± 770
		DHPPA[b]		
45:11.25	23.5	23.0	60.0	59.7
90:22.5	50 ± 6.9	36.3 ± 6.3	118 ± 25	87.4 ± 15.1

参考文献 4.2.3.6-5

数値は平均値 ± 標準偏差（断りがない限り N = 3 ）

C_{max} = 最高血中濃度; AUC_{0-23} = 投与 0 時間から 23 時間までの濃度-時間曲線下面積 DHPPA = 2-methyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl) propanoic acid.

a. レボドパ / カルビドパの投与量

b. 投与後 1 時間から 4 時間の AUC