ビラノア錠 20 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

大鵬薬品工業株式会社

目次

目次 2
略号一覧表 4
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.1.1 薬理試験計画の概略 5
2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略 5
2.4.1.3 毒性試験計画の概略 5
2.4.1.4 結晶多形の違いについて 6
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 11
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 16
2.4.3 薬物動態試験 16
2.4.3.1 吸収 17
2.4.3.2 分布 18
2.4.3.3 代謝 18
2.4.3.4 排泄 18
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 19
2.4.4 毒性試験 19
2.4.4.1 トキシコキネティクス 22
2.4.4.2 単回投与毒性試験 22
2.4.4.3 反復投与毒性試験 22
2.4.4.4 遺伝毒性 24
2.4.4.5 がん原性 24
2.4.4.6 生殖及び発生毒性 24
2.4.4.7 不純物の評価 25
2.4.5 総括及び結論 26
2.4.6 参考文献 27

表一覧

表 2.4.2.1-1 効力を裏付ける試験一覧 7
表 2.4.2.2-1 副次的薬理試験一覧 10
表 2.4.2.3-1 安全性薬理試験一覧 12
表 2.4.2.4-1 薬力学的薬物相互作用試験一覧 16
表 2.4.3-1 薬物動態試験一覧表 17
表 2.4.4-1 毒性試験一覧 20

表 2.4.4.7-1　毒性試験に使用した原薬と臨床試験用原薬及び安定性試験用原薬中の不純物含量 25

略号一覧表

略号	内容
ACA	active cutaneous anaphylaxis：能動感作皮膚アナフィラキシー
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度-時間曲線下面積
BA	bioavailability：バイオアベイラビリティ
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣（細胞株）
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
ED_{30}	30% effective dose：30%有効用量
ED_{50}	50% effective dose：50%有効用量
GLP	good laboratory practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK293	human embryonic kidney 293：ヒト胎児由来腎（細胞株）
hERG	human ether-a-go-go-related gene：ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
hKv1.5	human Kv1.5 potassium channel：ヒト Kv1.5 カリウムチャネル
IC_{50}	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
Ki	inhibition constant：阻害定数
Kv4.3	Kv4.3 potassium channel：Kv4.3 カリウムチャネル
KvLQT1	KvLQT1 potassium channel：KvLQT1 カリウムチャネル
LD_{50}	50% lethal dose：50%致死用量
LTK	thymidine kinase defective L cell：マウス L 細胞由来のチミジンキナーゼ欠損細胞株
minK	minimal potassium ion channel：minK カリウムチャネル
NOAEL	no observed adverse effect level：最大無毒性量
pA_2	negative log of the concentration of antagonist which would produce a 2-fold shift in the concentration-response curve for an agonist：アゴニストの濃度反応曲線を 2 倍高濃度側に平行移動させるのに必要なアンタゴニストのモル濃度の負対数
PCA	passive cutaneous anaphylaxis：受動感作皮膚アナフィラキシー
pD'_2	negative logarithm of the molar EC_{50} value of an agonist：アゴニストによる最大反応を 50%低下させるアンタゴニストのモル濃度の負対数
P-gp	p-glycoprotein：P 糖タンパク
PR	P-R interval：PR 間隔
QTc	corrected QT：補正 QT（間隔）
t_{max}	time to reach the maximum drug concentration：最高血漿中濃度到達時間

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

ビラスチンは FAES FARMA 社が創製した新規ヒスタミン H_1 受容体拮抗薬である．ビラスチンの非臨床的特徴を，*in vitro* 及び *in vivo* 薬効薬理，安全性薬理，薬物動態，毒性及びトキシコキネティクスの試験を含む総合的な試験によって確認した．また，非臨床試験で用いたビラスチン原薬には 3 種類の結晶多形が存在し，試験によって用いた結晶形が異なることから，試験結果に及ぼす影響についての考察を本項に記載した．

2.4.1.1　薬理試験計画の概略

In vitro のヒスタミン H_1 受容体に対する結合親和性，摘出組織でのヒスタミン拮抗作用及び Schultz-Dale 反応については，主にセチリジン塩酸塩（以下，セチリジン）とフェキソフェナジン塩酸塩（以下，フェキソフェナジン）を比較対照として，試験を実施した．

In vivo の抗ヒスタミン作用は，ラットを用いて，ヒスタミン及び肥満細胞脱顆粒因子である compound 48/80 によって惹起される反応に対する抑制を評価した．抗アレルギー作用は，感作したラットを用いて，抗原誘発の皮膚血管透過性亢進に対する抑制を評価した．その他，マウスを用いて III 型と IV 型のアレルギー反応に対する作用も評価した．セチリジンとフェキソフェナジンを対照として，試験を実施した．

副次的薬理試験では，各種受容体及びイオンチャネルに対する結合親和性と摘出組織を用いた各種ケミカルメディエーターに対する作用に加えて，ラットを用いたヒスタミン及びカルバコール誘発の胃酸分泌とセロトニン及びブラジキニン誘発の皮膚血管透過性亢進に対する作用を評価した．

安全性薬理試験では，主要な器官系として，心血管系，中枢神経系及び呼吸器系に加え消化器系及び赤血球膜に対してもビラスチンの影響を検討した．

薬力学的薬物相互作用については，マウスを用いたアロキサン誘発高血糖に対するインスリンとの相互作用とラットを用いた血液凝固パラメータに対するワルファリンとの相互作用について検討した．

2.4.1.2　薬物動態試験計画の概略

ビラスチンをラット及びイヌに単回経口投与及び静脈内投与し，吸収及びバイオアベイラビリティ（BA）を検討した．目的に応じ，^{14}C で標識したビラスチン（[^{14}C]-ビラスチン）を用いて，ラットでの組織分布，胆汁排泄，乳汁移行，ラット及びイヌでの代謝物の検索・同定，マスバランス試験を実施した．動物の肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験を行い，ビラスチンの代謝プロファイルを明らかにするとともに，肝臓及び肺での代謝について *in vivo* で検討した．血漿蛋白結合は，種々の動物種及びヒトの血漿を用い *in vitro* で検討した．また，ラットを用いてビラスチンの薬物動態に及ぼす P 糖タンパク（P-gp）の影響について検討した．

2.4.1.3　毒性試験計画の概略

ビラスチンの毒性を検討するために，単回投与及び反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験及び不純物の遺伝毒性試験を行った．

ビラスチンの毒性試験として，ラット及びマウスに経口及び静脈内投与による単回投与毒性試験を実施した．また，マウス，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験を実施した．

ラット及びイヌを用いて経口及び静脈内投与による 4 週間反復投与毒性試験を実施した．マウス（混餌投与），ラット（混餌及び経口投与）及びイヌ（経口投与）を用いて 13 週間反復投与毒性試験を実施した．更に，ラット及びイヌを用いてそれぞれ 26 週間及び 52 週間反復投与毒性試験を実施した．一部の反復投与毒性試験でトキシコキネティクスを評価した．

ビラスチンの復帰突然変異誘発能について，ネズミチフス菌 5 菌株を用いた復帰突然変異試験で検討した．ビラスチンの染色体異常誘発能について，ヒトリンパ球を用いた *in vitro* の染色体異常試験で検討した．また, *in vivo* でビラスチンの染色体異常誘発能をマウス小核試験で検討した．

マウス及びラットを用いて，がん原性試験（104 週間混餌投与）を実施し，ビラスチンのがん原性について評価した．

ラットで受胎能，早期胚発生，胚胎児発生及び出生前後の発生の生殖発生毒性試験を実施し，ビラスチンの影響を評価した．また，胚胎児発生に対する影響をウサギの試験でも評価した．

11 種類の既知の不純物（ *C , *B , *D , *A , *E , *F , *G , *K , *H , *I 及び *J ）の復帰突然変異誘発能を評価した．

2.4.1.4　結晶多形の違いについて

本剤の開発過程で 3 種類の結晶多形（[redacted]）が得られ，それぞれの結晶形について評価した結果，他の結晶形と比較して分離が容易で純粋な結晶形が得やすく，化学的にも熱にも安定な[redacted]結晶を選択し，原薬とした．[redacted]以降に製造した原薬はすべて[redacted]結晶であり，これ以降の非臨床試験及びすべての臨床試験は[redacted]結晶を使用した（第 3.2.S.1.3 項）．[redacted]結晶を選択する以前の非臨床試験では，[redacted]結晶[redacted]，[redacted]結晶[redacted]の原薬も使用した．各試験で使用した原薬の結晶形については，本項の各単元に記載した（第 2.4.2 項．第 2.4.3 項，第 2.4.4 項）．

臨床試験に使用した[redacted]結晶とは異なる[redacted]結晶を用いた非臨床試験の結果が，[redacted]結晶を用いた試験結果と同等に評価可能であることを，各結晶形での溶解度，吸収性及び毒性変化を指標に比較検討した．

(1) 溶解度

異なる生理的 pH 条件下（pH 3，pH 4.5，pH 6，pH 8）で各結晶形の溶解度を確認したが，結晶間で明らかな差はなかった（第 3.2.S.1.3 項）．

(2) 吸収性（吸収に関する薬物速度論的パラメータ）

- ラットに[redacted]又は[redacted]結晶のビラスチン 10 mg/kg を経口投与したときの薬物速度論的パラメータ［投与 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$），最高血漿中濃度（C_{max}）及び最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）］を比較したところ，各パラメータに有意な差を認めなかった（第 2.6.4.3.3 項）．
- [redacted]結晶を使用したラット 13 週間反復投与毒性試験と同用量で実施された[redacted]結晶を使用した 26 週間反復投与毒性試験のトキシコキネティクスを比較した場合，血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）及び C_{max} に明らかな差を認めなかった（第 2.6.6.8.3 項）．

(3) 毒性変化（第 2.6.6.8.3 項）

- [redacted]結晶又は[redacted]結晶を用いて実施したマウス単回経口投与毒性試験結果では明らかな差を認めなかった．

＊ 新薬承認情報提供時に置き換えた

- [redacted]結晶，[redacted]結晶又は[redacted]結晶を用いたラット 2，4，13 及び 26 週間反復経口投与毒性試験で，結晶多形に起因する毒性変化の相違を認めなかった．
- [redacted]結晶又は[redacted]結晶を用いたイヌ 4 及び 13 週間反復経口投与毒性試験でも，結晶多形に起因する毒性変化を認めなかった．
- [redacted]結晶又は[redacted]結晶のいずれも，遺伝毒性（復帰突然変異誘発能）を示さなかった．

結晶形は異なるものの溶解度，吸収及び毒性変化に大きな違いはなかったことから，[redacted]結晶とは異なる結晶[redacted]を用いた非臨床試験の結果は，[redacted]結晶を用いた試験結果と同等に評価可能と考えた．

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

ビラスチンを用いて実施された効力を裏付ける試験の一覧を表 2.4.2.1-1 に示した．ビラスチンは，他のヒスタミン H_1 受容体拮抗薬と同様に，抗ヒスタミン作用と抗アレルギー作用を示した [1,2]．

表 2.4.2.1-1　効力を裏付ける試験一覧

Type of Study	Test System	Route of dosing	Batch	Polymorph	Study No.	Location in CTD
Histamine H_1 receptor binding	Guinea pig cerebellum	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BM. B08	4 2 1 1.1
Histamine H_1 receptor binding	Human recombinant HEK293 cells	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	6517	4 2 1 1 2
Anti-histamine activity	Guinea pig ileum	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A01	4 2 1 1 3
Anti-histamine activity	Guinea pig trachea	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A07	4 2 1 1.4
Schultz-Dale reaction	Guinea pig ileum	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A16	4 2 1 1 5
Anti-histamine activity	Rat / Wistar	Oral and Intravenous	[redacted]	[redacted]	F96221BM. A50	4 2 1 1.6
Anti-histamine activity	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BM. A57	4 2 1 1.7
Anti-histamine activity	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Intravenous	[redacted]	[redacted]	F96221BM. A30	4 2 1 1.8
Anti-histamine activity	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A34	4 2 1 1 9
Anti-histamine activity	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A66	4.2.1.1.10
Type III hypersensitivity	Mouse / CD1	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A73	4.2.1.1.11
Type IV hypersensitivity	Mouse / CD1	Oral and Topical	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A61	4.2.1.1.12
Active cutaneous anaphylaxis	Mouse / CD1	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A71	4.2.1.1.13
Active cutaneous anaphylaxis	Mouse / CD1	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A72	4.2.1.1.14
Passive cutaneous anaphylaxis	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BM. A52	4.2.1.1 15
Passive cutaneous anaphylaxis	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A74	4.2.1.1.16
Lethal shock induced by the compound 48/80	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A58	4.2.1.1.17
Cutaneous capillary permeability induced by the compound 48/80	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BM. A69	4.2.1.1 18

2.4.2.1.1　*In vitro*試験

モルモット小脳の細胞膜標品を用いたヒスタミン H_1 受容体への結合試験において，ビラスチンの親和性は阻害定数（Ki）を指標とした場合，平均値と標準誤差は 44.15±6.08 nmol/L であり，セチリジン（Ki = 143.12±16.35 nmol/L）やフェキソフェナジン（Ki = 246±40.7 nmol/L）より高かった（第 2.6.2.2.1.1 項）．また，ヒトヒスタミン H_1 受容体発現細胞の細胞膜標品を用いた結合試験においても，同程度の結合親和性を示した（Ki = 64 nmol/L，第 2.6.2.2.1.2 項）．

モルモット摘出回腸標本を用いたヒスタミン誘発収縮反応に対して，ビラスチンは，低濃度では拮抗型阻害を示し，100 nmol/L 以上の濃度ではヒスタミンの最大反応を抑制した．得られたアゴニストの濃度反応曲線を 2 倍高濃度側に平行移動させるのに必要なアンタゴニストのモル濃度の負対数（pA_2）値とアゴニストによる最大反応を 50%低下させるアンタゴニストのモル濃度の負対数（pD'_2）値はそれぞれ 8.05 と 6.18 であった．セチリジンも低濃度では拮抗型阻害を示し，1000 nmol/L 以上の濃度では最大反応を抑制した（pA_2 = 7.31，pD'_2 = 5.19）．一方，フェキソフェナジンは，100 nmol/L 以上の濃度より最大反応のみを抑制した（pD'_2 = 6.23，第 2.6.2.2.1.3 項）．

モルモット摘出気管標本を用いたヒスタミン誘発収縮反応に対して，ビラスチンは，30 nmol/L 以上の濃度より最大反応を抑制した（pD'_2 = 7.08）．セチリジンとフェキソフェナジンも 100 nmol/L 以上の濃度より最大反応を抑制し，得られた pD'_2 値はそれぞれ 6.33 と 6.89 であった（第 2.6.2.2.1.4 項）．

卵白アルブミンにて感作したモルモットの摘出回腸標本を用いた抗原誘発収縮反応に対して，ビラスチンは，濃度依存的に抑制し，その 50%阻害濃度（IC_{50}）は 95.5 nmol/L であった．セチリジンとフェキソフェナジンも濃度依存的に抑制し，IC_{50} 値はそれぞれ 759 と 282 nmol/L であった（第 2.6.2.2.1.5 項）．

2.4.2.1.2　*In vivo*試験

ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進に対する作用を経口投与と静脈内投与の 2 経路で実施した．経口投与では，ビラスチンは 1 mg/kg より有意に抑制し，50%有効用量（ED_{50}）は 2.45 mg/kg であった．一方，セチリジンは 2 mg/kg より有意に抑制し，ED_{50} 値は 2.25 mg/kg であった．静脈内投与では，ビラスチンは 0.1 mg/kg より有意に抑制し，30%有効用量（ED_{30}）は 82.9 μg/kg であった．一方，セチリジンは 0.2 mg/kg より有意に抑制し，ED_{30} 値は 281.4 μg/kg であった（第 2.6.2.2.2.1 項）．

ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進の抑制を指標とした作用の持続性評価では，ビラスチン（5 mg/kg）は経口投与後 16 時間まで有意な抑制作用を示した（第 2.6.2.2.2.2 項）．

麻酔下モルモットのヒスタミン誘発気道収縮に対する作用では，ビラスチン静脈内投与（2.5～20 μg/kg）の 2 分後から，有意な抑制作用を示し，抑制作用は 60 分後まで持続した．したがって，血中濃度の上昇に伴い，速やかに受容体拮抗作用が発現するものと推察された．各時間での ED_{50} 値は 3.67～6.15 μg/kg であった．一方，セチリジン静脈内投与（20～160 μg/kg）では，40 μg/kg より有意に抑制し，その作用は時間経過に伴い増強する傾向を示した．各時間での ED_{50} 値は投与後 60 分が 33.63 μg/kg と最も低かった（第 2.6.2.2.2.3 項）．

モルモットのヒスタミン誘発気道血管透過性亢進に対する作用では，ビラスチンの経口投与は，0.1 mg/kg より有意な抑制作用を示し，ED_{50} 値は 0.185 mg/kg であった．一方，セチリジンとフェキソフェナジンの ED_{50} 値はそれぞれ 0.168 及び 0.773 mg/kg であった（第 2.6.2.2.2.4 項）．

モルモットのヒスタミン誘発致死に対する作用では，ビラスチンは用量依存的に致死を防御し，ED_{50}値は 0.232 mg/kg であった. 一方, セチリジンとフェキソフェナジンの ED_{50}値はそれぞれ 0.199 及び 1.68 mg/kg であった（第 2.6.2.2.2.5 項）.

ビラスチンは, マウスのアルサス反応（III 型アレルギーモデル）やマウスの遅延型皮膚反応（IV 型アレルギーモデル）に対して，100 mg/kg の用量ではほとんど影響しなかった．同様に，セチリジン及びフェキソフェナジンも影響しなかった（第 2.6.2.2.2.6 項）．一方，I 型アレルギーモデルであるマウス能動感作皮膚アナフィラキシー（ACA）に対しては，ビラスチンは，免疫グロブリン G 依存性 ACA と免疫グロブリン E 依存性 ACA を共に抑制し，ED_{30}値はそれぞれ 4.15 及び 3.82 mg/kg であった．セチリジンとフェキソフェナジンも抑制作用を示した（第 2.6.2.2.2.7 項）.

また，別の I 型アレルギーモデルであるラット受動感作皮膚アナフィラキシー（PCA）に対しては，ビラスチンは，抗卵白アルブミン血漿と抗ジニトロフェニル-免疫グロブリン E による PCA を共に抑制し，ED_{50}値はそれぞれ 7.61 及び 5.96 mg/kg であった．セチリジンとフェキソフェナジンも抑制作用を示した（第 2.6.2.2.2.8 項）.

肥満細胞脱顆粒因子である compound 48/80 誘発ラット致死に対する作用では，ビラスチンは用量依存的に致死を防御し，ED_{50}値は 2.29 mg/kg であった．一方，セチリジンとフェキソフェナジンの ED_{50}値はそれぞれ 1.23 及び 6.81 mg/kg であった（第 2.6.2.2.2.9 項）．また，compound 48/80 誘発ラット皮膚血管透過性亢進に対する作用では，ビラスチンは 1 mg/kg より有意に抑制し，ED_{50}値は 3.47 mg/kg であった．一方，セチリジンとフェキソフェナジンの ED_{50}値はそれぞれ 5.32 及び 17.19 mg/kg であった（第 2.6.2.2.2.10 項）.

2.4.2.2　副次的薬理試験

ビラスチンを用いて実施された副次的薬理試験の一覧を表 2.4.2.2-1 に示した. *In vitro* 試験において，ビラスチンは，ヒスタミン H_1受容体以外にはほとんど作用を示さず，高い H_1受容体選択性を示した [1,2]．一方，*in vivo* 試験では，セチリジンやフェキソフェナジンと同様に，ビラスチンはラットのセロトニン及びブラジキニン誘発の皮膚血管透過性亢進を抑制した（第 2.6.2.3.2.1 項, 第 2.6.2.3.2.2 項）.

表 2.4.2.2-1　副次的薬理試験一覧

Type of Study	Test System	Route of dosing	Batch	Polymorph	Study No.	Location in CTD
Profiling Screen Data Report	Tissues of different species	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	132041	4.2.1.2.1
H_2 antihistamine activity	Guinea pig heart	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. V00	4.2.1.2.2
H_3 antihistamine activity	Guinea pig jejunum	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. N05	4.2.1.2.3
Histamine H_4 receptor binding	Human recombinant HEK293 cells	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	11279	4.2.1.2.4
Muscarinic acetylcholine receptor binding	CHO cells, C6 rat glioma cells	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	[redacted]01	4.2.1.2.5
Contractions induced by serotonin	Rat caudal artery	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. V12	4.2.1.2.6
Contractions induced by noradrenaline	Rabbit thoracic aorta	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. V03	4.2.1.2.7
Contractions induced by acetylcholine	Guinea pig ileum	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A03	4.2.1.2.8
Contractions induced by calcium	Guinea pig ileum	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A04	4.2.1.2.9
Contractions induced by bradykinin	Guinea pig ileum	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A05	4.2.1.2.10
Antagonism of β_2 receptors	Guinea pig trachea	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A11	4.2.1.2.11
Contractions induced by leukotriene D_4	Guinea pig trachea	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. A14	4.2.1.2.12
Cutaneous capillary permeability induced by serotonin	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BM. A51	4.2.1.2.13
Cutaneous capillary permeability induced by bradykinin	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BM. A53	4.2.1.2.14
Gastric hypersecretion induced by histamine	Rat / Wistar	Intravenous	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. D30	4.2.1.2.15
Gastric hypersecretion induced by carbachol	Rat / Wistar	Intravenous	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. D31	4.2.1.2.16

NA: not available

2.4.2.2.1　*In vitro*試験

30 種類の受容体及びイオンチャネルへの結合親和性に対して，ビラスチン 10 μmol/L は作用がないか弱い阻害作用しか示さなかった（第 2.6.2.3.1.1 項）．ヒスタミン H_2, H_3, H_4 受容体及びムスカリン M_1, M_2, M_3, M_4, M_5 受容体には作用しなかった（第 2.6.2.3.1.2 項，第 2.6.2.3.1.3 項）．

摘出組織を用いた 7 種のケミカルメディエーターに対する作用に対しては，アセチルコリンとブラジキニンによるモルモット回腸収縮反応を 100 μmol/L で抑制したが，その作用はセチリジンと比較して同等以下であった．

一方，セロトニン，ノルアドレナリン，カルシウム，イソプロテレノール及びロイコトリエン D_4 には作用しなかった（第 2.6.2.3.1.4 項）．

2.4.2.2.2　*In vivo*試験

ラットのセロトニン誘発皮膚血管透過性亢進に対する作用では，ビラスチンの経口投与は，2 mg/kg より有意な抑制作用を示し，セチリジンやフェキソフェナジンも抑制した（第 2.6.2.3.2.1 項）．また，ラットのブラジキニン誘発皮膚血管透過性亢進に対する作用も，ビラスチンの経口投与は，2 mg/kg より有意な抑制作用を示し，セチリジンやフェキソフェナジンも抑制した（第 2.6.2.3.2.2 項）．

一方，ビラスチンの持続注入（50 mg/kg/hr）は，ラットのヒスタミン及びカルバコール誘発胃酸分泌に対しては作用しなかった（第 2.6.2.3.2.3 項）.

2.4.2.3 安全性薬理試験

ビラスチンを用いて実施された安全性薬理試験を表 2.4.2.3-1 に示した．心血管系，中枢神経系及び呼吸器系の主要な器官に加え，消化管への影響及び赤血球膜安定化作用についても検討した．また，イヌの循環器系並びにラットの呼吸器系及び中枢神経系への影響を評価した主要な試験（安全性薬理コアバッテリー試験に相当）は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）条件下で実施した.

表 2.4.2.3-1　安全性薬理試験一覧

System tested	In vitro/ In vivo	GLP application	Study number	Species / Tissue	Type of Study	Batch	Polymorph	Location in CTD
Cardio-vascular System	*In vitro*	No	F96221BMC V01	Guinea pig atrium	Atrial inotropism	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 1
		No	F96221BMC V11	Guinea pig atrium	Atrial chronotropism	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 2
		No	F96221BM	Ltk cells / CHO cells	Effect on K^+ currents	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 3
		Yes	A0781	HEK-293 cells	Effect on HERG currents	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 4
		No	FAES 02/[redacted]	HEK-293 cells	Effect on HERG currents	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 5
	In vivo	No	F96221BM V39	Guinea pigs	Effect on ECG	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 6
		Yes	[redacted] #5121	Beagle dogs	Effect on ECG	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 7
		Yes	[redacted] 5822	Beagle dogs	Effect on ECG	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 1 8
Central Nervous System	*In vivo*	Yes	[redacted] 667071	Sprague-Dawley rats	Modified Irwin screen test	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 1
		No	F96221BM C37	Swiss male CD1 mice	Effect on exploratory activity	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 2
		No	F96221BM C54	Swiss CD1 mice	Effect on motor coordination (Rota-rod test)	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 3
		No	F96221BM C52	Swiss CD1 mice	Effect on spontaneous motor activity	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 4
		No	F96221BM C50	Male Wister rats	Effect on spontaneous motor activity	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 5
		No	F96221BM C77	Male Swiss CD1 mice	Convulsions induced by pentamethylen-tetrazole	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 6
		No	F96221BM C80	Male Swiss CD1 mice	Convulsions induced by maximal electric shock	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 7
		No	F96221BM C93	Swiss CD1 mice	Potentiation of narcosis induced by diazepam	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 8
		No	F96221BM C56	Swiss CD1 mice	Potentiation of narcosis induced by ethanol	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 9
		No	F96221BM C57	Swiss CD1 mice	Potentiation of narcosis induced by pentobarbital	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 10
		No	F96221BM C83	Male Wistar rats	Effect on rectal temperature	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 2 11
Respiratory System	*In vivo*	Yes	[redacted] 666125	Male Sprague-Dawley rats	Effect on respiratory parameters	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 3 1
Gastro-intestinal tract	*In vivo*	No	F96221BMC D57	Male Wistar rats	Effect on gastric secretion	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 4 1
		No	F96221BM D62	Male Swiss CD1 mice	Effect on intestinal motility	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 4 2
Effect on erythrocyte membranes	*In vitro*	No	F96221BM A13	Wistar rat erythrocytes	Stabilization of membranes	[redacted]	[redacted]	4 2 1 3 5 1

NA: not available

2.4.2.3.1　　心血管系

初期の抗ヒスタミン薬（アステミゾール，テルフェナジン等）は心筋の遅延整流性カリウム電流（Ik）を阻害し，補正 QT（QTc）の延長が生じることで，心室性不整脈，特に生命を脅かすトルサード・ド・ポアンツを誘発するリスクが高くなることが知られている[3]．そこで，ビラスチンの心血管系に及ぼす影響について，*in vitro* 及び *in vivo* で評価した．

心再分極に関与するヒトクローンカリウムチャネルに及ぼすビラスチンの影響を評価した（第 2.6.2.4.1.1.3 項）．ビラスチンはヒト Kv1.5 カリウムチャネル（hKv1.5），ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子（hERG），KvLQT1 カリウムチャネル（KvLQT1）＋minK カリウムチャネル（minK）及び Kv4.3 カリウムチャネル（Kv4.3）の電流（それぞれヒト心筋細胞の IKur，IKr，IKs 及び Ito1 電流に相当）に対して影響を示した．hERG チャネルは濃度 0.1～50 µmol/L で抑制された．得られた解離定数（K_d）を比較すると，各種ヒトクローン心臓チャネルに及ぼすビラスチンの阻害作用は，高い順に hERG > Kv4.3 > KvLQT1+minK >>> hKv1.5 であった．また，hERG チャネルを発現した HEK293 細胞を用い，ビラスチンの hERG チャネル抑制作用を検討した．非 GLP 下で実施した試験では，ビラスチンは hERG 電流を濃度依存的に抑制し，IC_{50} は 6.5 µmol/L であった（第 2.6.2.4.1.1.5 項）．更に GLP 試験として再度実施した試験では，ビラスチンは 1 µmol/L 以上で hERG 電流を有意に抑制し，IC_{50} は 17.17 µmol/L であった（第 2.6.2.4.1.1.4 項）．

摘出モルモット心臓の心房の拍動強度に及ぼすビラスチンの影響を評価した（第 2.6.2.4.1.1.1 項）．摘出モルモット心臓の左心房に電気刺激によって等尺性伸縮を誘発し，ビラスチンを添加して 30 分間インキュベートした．その結果，ビラスチンは濃度 100 µmol/L で変力作用を示さなかった．

摘出モルモット心臓の拍動数へのビラスチンの影響も評価した（第 2.6.2.4.1.1.2 項）．自発拍動している右心房に張力を負荷し，安定化させた後，ビラスチンを添加した．ビラスチンは濃度 100 µmol/L まで拍動数に変化はなかった．

In vivo 試験として麻酔モルモットにビラスチンを静脈内投与し，心電図に対する影響を評価し，テルフェナジン及びキニジンと比較した（第 2.6.2.4.1.2.1 項）．心拍数，QTc，PR 間隔（PR）及び QRS 波を心電図で記録した．ビラスチンの 60 mg/kg を静脈内投与し，投与後 30 秒，1，5，10，15，20，25 及び 30 分に心電図を記録した結果，ビラスチンの影響は認めなかった．一方，テルフェナジンの 5 及び 10 mg/kg 群では心拍数の低下，QTc 及び PR が延長し，10 mg/kg 群では半数の動物が死亡した．キニジンの 20 mg/kg 群では投与後 5～10 分に心拍数が低下し，QTc 及び PR が延長した．

テレメトリー装置を適用した覚醒ビーグル犬で，動脈血圧及び心電図へのビラスチンの *in vivo* での影響を評価した（第 2.6.2.4.1.2.2 項）．ビラスチンの 10，30 及び 100 mg/kg を経口投与した結果，100 mg/kg 群では中等度の収縮期及び拡張期血圧の低下を認めたが有意な変化ではなかった．10 及び 30 mg/kg 群では PR，QT 及び QTc に著変を認めなかった．100 mg/kg では QT の軽度の延長が発現し，心拍数の軽度な減少を伴った．

上記の試験とは別に，テレメトリー装置を適用したビーグル犬で心電図，心拍数及び動脈血圧へのビラスチンの影響を評価した（第 2.6.2.4.1.2.3 項）．ビラスチンの 10，30 及び 100 mg/kg を経口投与した結果，一般状態に変化はなく，ビラスチン投与に関連のある心電図，心拍数及び血圧の変化は認めなかった．

また，イヌの 52 週間反復投与試験では 800 mg/kg/day 投与群の雄で QT 及び QTc の延長を認めた（第 2.6.6.3.3.4 項）．

以上の結果から，ビラスチンは *in vitro* において hERG 電流を 0.1μmol/L から抑制し，IC_{50} は 6.5 又は 17.17 μmol/L であった．また，イヌにおいて 100 mg/kg 以上の高用量のビラスチン投与は心電図又は収縮期及び拡張期血圧に影響した．このため，高用量のビラスチン投与は循環器に影響する可能性があると考えた．しかし，非臨床試験の 100 mg/kg を体重換算（ヒトの体重を 50 kg と仮定）した場合，5000 mg/body と見積もられ，臨床の推奨投与量である 20 mg/body とは 250 倍の乖離がある．更に，国内臨床試験における 14 日間反復投与時の最大の C_{max} は 608 ng/mL であった（第 2.7.6.5.5.2.2 項）．hERG 試験の IC_{50} は 6.5 μmol/L（3013.5 ng/mL）以上であり（第 2.6.2.4.1.1.5 項），臨床試験における C_{max} ［非結合型濃度 109.44 ng/mL：ヒトにおける最小血漿蛋白結合率を 82%として換算（第 2.6.4.4.2 項)］とは約 28 倍の乖離幅があった．更にイヌに 125 mg/kg 投与したときの平均 C_{max} は 37.52 μg/mL であるため（第 2.6.7.3 項）, 100 mg/kg 投与時の C_{max} は 30.02 μg/mL と見積もられる．これは，国内臨床試験における C_{max} とは約 60 倍の乖離幅があるため，ビラスチンの臨床使用に関して心血管系に問題が起こる可能性は低いと考えた．

2.4.2.3.2　　中枢神経系

ヒスタミンは中枢神経系の覚醒維持に重要な役割を果たしており，H_1 受容体は自発運動の増加，覚醒レベルの維持，記憶・学習機能の亢進，食欲抑制，痙攣抑制などの機能を持つことが知られている [4]．したがって，血液脳関門を通過し，脳内 H_1 受容体を阻害する抗ヒスタミン薬はこれらの機能に障害を起こすことが考えられる．第一世代抗ヒスタミン薬を用いた研究から，これらの薬物の中枢神経抑制作用の結果として鎮静，認知能力低下及び眠気などが発現することが知られている [4]．また，第二世代抗ヒスタミン薬は第一世代抗ヒスタミン薬と比較して中枢神経系に及ぼしにくいこと，特に鎮静作用が少ないことが示されている [4,5]．そこで，中枢神経系に対するビラスチンの作用を評価するため，一般行動（Irwin 変法試験），探索行動，協調運動，自発運動，痙攣，薬物誘発性睡眠及び直腸温に対する作用について検討した．

Irwin の変法のスクリーニング試験法を用い，ラットの一般行動に及ぼすビラスチンの薬理学的影響を評価した．ビラスチンの 0，75，275 及び 1000 mg/kg を経口投与した（第 2.6.2.4.2.1 項）．その結果，オープンフィールドでの自発運動，疼痛反応及び体温に変化はなかったものの，1000 mg/kg 群で覚醒水準及び探索行動の増強を認めた．

ホールボード試験では，マウスの探索行動へのビラスチンの影響をアステミゾール，クロルフェニラミン, ロラタジン及びセチリジンと比較した（第 2.6.2.4.2.2 項）．ビラスチン 200～800 mg/kg を単回経口投与した結果，探索行動に有意な減少を認めなかった．一方，アステミゾール，クロルフェニラミン及びロラタジンの 200 mg/kg では探索行動が有意に減少し，セチリジンの 200 mg/kg では減少傾向にあった．

ラットの水平方向運動，総距離，移動回数，垂直方向運動及び常同行動を指標とし，自発運動に及ぼすビラスチン及び他の薬物の影響を評価した（第 2.6.2.4.2.4.2 項）．ビラスチンの 200，400 及び 800 mg/kg の単回経口投与では自発運動に影響せず，セチリジン及びアステミゾールの 200 mg/kg でも同様であった．ロラタジンの 200 mg/kg では顕著な抑制を認めた．抗ヒスタミン薬の基準物質であるロラタジンの 200 mg/kg とビラスチンの 200 mg/kg を比較した結果, いずれのパラメータにおいてもロラタジンで有意な差を認めた．アンフェタミン及びジアゼパムの 10 mg/kg ではそれぞれ典型的な刺激及び抑制作用を示した．

また，マウスの自発運動量に及ぼすビラスチンの影響をセチリジン，ロラタジン，ジアゼパム及びアンフェタミンと比較した（第 2.6.2.4.2.4.1 項）．ビラスチン，セチリジン及びロラタジンの

100, 200 及び 400 mg/kg を経口投与した結果, 自発運動に影響しなかった. ビラスチンの 800 mg/kg では中等度の運動抑制が認めたが，ジアゼパムの 10 mg/kg の変化と比較すると極めて軽度であった．アンフェタミンの 10 mg/kg では典型的な運動量の増加が生じた.

ビラスチンの協調運動に及ぼす影響を検討するため，マウスの回転棒試験でビラスチンとエタノール，ロラタジン，セチリジン，アステミゾール，クロルフェニラミン及びジアゼパムを比較した（第 2.6.2.4.2.3 項）．ビラスチン（50～400 mg/kg p.o.），他の抗ヒスタミン剤（100，200 mg/kg p.o.）及びエタノール（30%）は協調運動に影響せず，ジアゼパム（10 mg/kg p.o.）のみが協調運動に対し抑制作用を示した.

マウスのペンチレンテトラゾール誘発痙攣に及ぼすビラスチンの抗痙攣作用を評価した（第 2.6.2.4.2.5.1 項）. ビラスチンは 50, 100 及び 200 mg/kg の用量でペンチレンテトラゾール 120 mg/kg の腹腔内投与による誘発痙攣に対して抗痙攣作用を示さなかった．セチリジン及びロラタジンの 100 mg/kg でも同様の結果であった. 一方, ジアゼパムの 5 mg/kg は特徴的な抗痙攣作用を示した.

更に，マウス最大電撃痙攣に及ぼすビラスチンの抗痙攣作用を検討した（第 2.6.2.4.2.5.2 項）. ビラスチンの 50～200 mg/kg を経口投与した結果，最大電撃により誘発される痙攣及び死亡に対する抑制作用はなかった．一方，ジアゼパム（20 mg/kg）及びジフェンヒドラミン（30 mg/kg）は痙攣及び死亡の発現を低下させた.

マウスのジアゼパム誘発睡眠に及ぼすビラスチンの影響を評価した（第 2.6.2.4.2.6.1 項）．ビラスチンの 200 mg/kg を経口投与した結果，ジアゼパム誘発睡眠を延長しなかった.

マウスのエタノール誘発睡眠に及ぼす影響を評価した（第 2.6.2.4.2.6.2 項）．ビラスチンの 200 mg/kg を経口投与した結果, エタノール誘発睡眠時間を延長したものの，有意な変化ではなかった．一方，50 及び 100 mg/kg では影響を認めなかった.

また，マウスのペントバルビタール誘発睡眠に及ぼすビラスチンの影響を評価した（第 2.6.2.4.2.6.3 項）．ビラスチンの 200 mg/kg を経口投与した結果，ペントバルビタール誘発睡眠時間をわずかに増強したが，50 及び 100 mg/kg では影響しなかった.

ビラスチンのラット体温への影響を評価した（第 2.6.2.4.2.7 項）．ビラスチンの 200 mg/kg を経口投与 1 時間後に直腸温が軽度に低下したが，これ以外の評価時点では低下せず，また 100 mg/kg ではいずれの時点にも顕著な差を認めなかった.

以上のことから，ラットにおいて 1000 mg/kg 投与により覚醒水準及び探索行動の増強が，200 mg/kg 投与により直腸温の軽度な低下が認められ，マウスでは 800 mg/kg 投与により運動抑制が，200 mg/kg 投与によりエタノール及びペントバルビタール鎮静作用の延長を認めた．したがって，マウス及びラットのいずれにおいても 200 mg/kg 以上のビラスチン高用量投与では中枢神経に影響を及ぼす可能性があると考えた．しかし，非臨床試験の 200 mg/kg を体重換算（ヒトの体重を 50 kg と仮定）した場合，10000 mg/body と見積もられ，臨床の推奨投与量である 20 mg/body とは 500 倍の乖離がある．更に，国内臨床試験における 14 日間反復投与時の最大の C_{max} は 608 ng/mL であった（第 2.7.6.5.5.2.2 項）. ラットに 275 mg/kg を単回経口投与したときの平均 C_{max} は 12.99 μg/mL であった（第 2.6.6.3.2.4 項）ことから 200 mg/kg 投与時の C_{max} は 9.45 μg/mL と見積もられる．これは，国内臨床試験における C_{max} とは約 16 倍の乖離幅があった．更に，ビラスチンは臨床において脳内移行が低かった．これらのことより，ビラスチンの臨床使用に関して中枢神経に影響を与える可能性は低いと考えた.

2.4.2.3.3　呼吸器系

ラット呼吸系パラメータ（呼吸数，1 回換気量及び分時換気量）に対するビラスチンの作用を評価した（第 2.6.2.4.3.1 項）．ビラスチンの 75，275 及び 1000 mg/kg を単回経口投与した結果，ビラスチンは呼吸器系に対して影響しなかった．

2.4.2.3.4　消化管

幽門結紮ラットでの胃酸分泌に対するビラスチンの作用を評価した（第 2.6.2.4.4.1 項）．ビラスチンの 10，30 及び 100 mg/kg を十二指腸内に投与した結果，ビラスチンは総胃酸分泌量，pH 及び胃酸濃度に対して影響しなかった．

また，ビラスチンの腸管運動に及ぼす影響をマウス炭末輸送能試験で評価した（第 2.6.2.4.4.2 項）．ビラスチンの 3，30 及び 300 mg/kg を経口投与した結果，ビラスチンは腸管運動に影響しなかった．

2.4.2.3.5　膜安定化に及ぼす影響

ビラスチンの *in vitro* ラット赤血球膜安定化能を検討した（第 2.6.2.4.5.1 項）．その結果，ビラスチン（100 μM）は，低張性溶血に対する赤血球膜の安定化作用は認めなかった．

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験

ビラスチンを用いて実施された薬力学的薬物相互作用試験の一覧を表 2.4.2.4-1 に示した．

表 2.4.2.4-1　薬力学的薬物相互作用試験一覧

Type of Study	Test System	Route of dosing	Batch	Polymorph	Study No.	Location in CTD
Interaction study with insulin	Mouse / CD1	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. M51	4.2.1.4.1
Interaction study with warfarin	Rat / Wistar	Oral	[redacted]	[redacted]	F96221BMC. S53	4.2.1.4.2

2.4.2.4.1　*In vivo*試験

薬力学的薬物相互作用試験として，マウスを用いたアロキサン誘発高血糖に対するインスリンとの相互作用とラットを用いた血液凝固パラメータに対するワルファリンとの相互作用を評価したが，これらの薬剤との相互作用はなかった（第 2.6.2.5.1.1 項，第 2.6.2.5.1.2 項）．

2.4.3　薬物動態試験

ビラスチンをラット及びイヌに単回経口投与及び単回静脈内投与し薬物動態を検討した．目的に応じて，*in vitro* 系（肝ミクロソーム又は肝細胞）を用いた．血漿，尿及び糞中のビラスチン濃度はバリデーションされた高速液体クロマトグラフィー/蛍光検出法を用いて測定した．必要に応じて，［^{14}C］-ビラスチンを *in vitro* の代謝試験及び *in vivo* の分布，代謝及び排泄試験に用いた．試料中放射能は液体シンチレーションカウンターにて測定した．定量的全身オートラジオグラフィーを用いた組織分布試験では動物の切片像より放射能濃度を定量した．代謝物の検索・同定では，放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置を用いて分析した．実施した薬物動態試験を表 2.4.3-1 に示した．

表 2.4.3-1　薬物動態試験一覧表

Type of study	Species / Strains or *in vitro* study system	Method of administration	Study No.	Batch number	Polymorph	Location in CTD
Absorption	Rat / Wistar	Oral, Intravenous	[redacted]10	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.1
	Dog / Beagle	Oral	[redacted]06	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.2
	Dog / Beagle	Intravenous	[redacted]06	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.3
	Rat / Wistar	Oral	[redacted]16	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.4
Distribution	Rat / SD and Lister Hooded	Oral	186121	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.1
	Plasma protein binding (mouse, rat, rabbit, dog and human)	*In vitro*	[redacted]08	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.2
	Rat / Crl:CD(SD)	Oral	[redacted]DA10	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.3
	Rat / Crl:CD(SD)	Oral	[redacted]040-106	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.4
Metabolism	Microsome metabolism (rat and rabbit)	*In vitro*	[redacted]-7080	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.1
	Microsome metabolism (dog)	*In vitro*	[redacted]-7075	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.2
	Hepatocyte metabolism (rat, dog)	*In vitro*	779911	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.3
	Rat / Wistar	Intravenous, Intraarterial, Hepatic-portal	[redacted]12	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.4
Excretion	Rat / Wistar	Oral, Intravenous	[redacted]10	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.1
	Rat / Sprague Dawley	Oral	184700	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.3
	Dog / Beagle	Oral	184716	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.4
	Rat / Crl:CD(SD)	Oral	[redacted]040-105	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.5
Drug Interactions	Rat / Wistar	Oral	[redacted]-0001-FA	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.1

SD：Sprague Dawley

2.4.3.1　吸収

ラット及びイヌを用いて単回経口投与後のビラスチンの吸収を検討した．ビラスチンは速やかに吸収され，両種ともに投与 10 分以内に血漿中に検出された．50 mg/kg 以下の複数の用量で t_{max} はラットで 0.21～0.42 時間，イヌで 1.38～2.13 時間であった．イヌでの経口投与後のビラスチンの BA は 42%～69%であり，ラット（25%～61%）に比べてわずかに高かった．イヌに経口投与したときのビラスチンの血漿中濃度は，検討した用量範囲において用量依存的に上昇したが，ラットでは用量依存的な血漿中濃度の上昇は確認できなかった．

ラットにビラスチンの[redacted]結晶形又は異なる結晶形[redacted]を 10 mg/kg の用量で経口投与した場合，薬物速度論的パラメータに有意な差を認めなかった．

2.4.3.2　分布

ラットに［^{14}C］-ビラスチンを 20 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を評価した．経口投与した場合，アルビノラット及び有色ラットのいずれも，血液中放射能濃度よりも高く分布した組織は肝臓及び腎臓など一部で，大部分の組織の放射能濃度は低く推移した．有色ラットのブドウ膜及び眼球を除き，組織中放射能の消失は速やかであった．脳及び脊髄に放射能は検出されなかったか，検出されてもわずかであり，脳への移行性は低いと考えられた．また，放射能の血液胎盤関門の通過はわずかであり，胎児組織中放射能は投与後 24 時間には消失した．ヒトにおけるビラスチンの血漿蛋白結合率は 0.2～1 μg/mL の濃度範囲［ヒトに 20 mg 経口投与時の C_{max}＝約 0.27 μg/mL，第 2.7.2.2 項，表 2.7.2.2.2.1.1-1］において男性 87.03%～90.04%，女性 84.22%～86.00%であり，濃度依存的な変動はなかった．

2.4.3.3　代謝

ラット，ウサギ及びイヌの肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験でビラスチンの代謝を評価した．その結果，ラット及びイヌの肝ミクロソーム存在下で 2 時間インキュベーションした場合ビラスチンの濃度がわずかに低下し，ウサギの肝ミクロソームでは濃度の低下を認めなかった．ビラスチンの肝代謝での種差を検討するために，［^{14}C］-ビラスチンを用いてラット及びイヌの肝細胞における *in vitro* 代謝試験を実施した．いずれのインキュベーションでも［^{14}C］-ビラスチンの割合（%）に経時的な変化を認めず，検討した動物種では［^{14}C］-ビラスチンは代謝されなかった．以上のことから，［^{14}C］-ビラスチンはこれらの *in vitro* 試験系で代謝的に安定であり，ビラスチンはほとんど又はまったく代謝されないことが示された．

肝臓及び肺での代謝を検討するため，ラットにビラスチンを 10 mg/kg の用量で動脈内，静脈内及び門脈内に単回投与した後の薬物速度論的パラメータを比較した結果，肝臓及び肺においてビラスチンは代謝されないことが明らかとなった．

［^{14}C］-ビラスチンをラット及びイヌに単回経口投与し，尿，糞，胆汁及び血漿中に存在する代謝物を検討した結果，ラット及びイヌの尿，糞及び血漿中には主として未変化体が存在した．ラットの胆汁中には主として 2 種の水酸化体のグルクロン酸抱合体が存在し，未変化体も確認された．［^{14}C］-ビラスチンを経口投与したときの代謝は，ラットとイヌで類似していた．ラット及びイヌにおいてビラスチンは，水酸化，水酸化体のグルクロン酸抱合化，脱エチル化，直接抱合化又は開裂後に抱合化される過程により代謝されると推定された．

2.4.3.4　排泄

ラットを用いて，ビラスチンの単回経口投与後及び単回静脈内投与後の未変化体の尿中及び糞中排泄率を検討した．ビラスチンの平均尿中排泄率は，10 mg/kg 静脈内投与で 4.98%，10 mg/kg 経口投与で 1.04%，20 mg/kg 経口投与で 1.64%であった．尿試料の酵素的加水分解処理を行ってもビラスチンの増加を認めなかったことから，ビラスチンのグルクロン酸抱合体は尿中に存在しないことが判明した．経口投与又は静脈内投与後の未変化体の平均糞中排泄率は，投与後 96 時間までにそれぞれ 47.73%及び 27.51%であり，いずれの投与経路でも主排泄経路は糞中排泄であった．ラット糞中にビラスチンのグルクロン酸抱合体は検出されなかった．

ラットに［^{14}C］-ビラスチンを単回経口投与し，放射能の尿及び糞中排泄を検討した．その結果, 投与された放射能の大部分は糞中に排泄され, 168 時間までの平均糞中放射能排泄率は 83.5%, 尿中排泄率は低く 12.3%であった．24 時間までの総放射能排泄率は約 93%であり，排泄は速やかであった．胆管にカニューレを施したラットに［^{14}C］-ビラスチンを単回経口投与し，放射能の胆汁排泄を検討した．48 時間までの胆汁排泄及び尿排泄はそれぞれ 16.7%及び 7.48%であった．これらの結果から，投与された［^{14}C］-ビラスチンに由来する総放射能の排泄は速やかであり，投与放射能の大部分（無処置ラットでは約 93%, 胆管にカニュレーションを施したラットでは約 96%）は投与後 24 時間以内に排泄され，投与 168 時間までに体内からほぼ消失した．ラットでの経口投与後の吸収率は約 24%以上と推定された．

イヌに［^{14}C］-ビラスチンを 40 mg/kg の用量で単回経口投与し，放射能の尿及び糞中排泄を検討した．投与後 168 時間までに 92.6%が糞中に排泄され，尿中放射能排泄率は 3.8%であった．投与量の約 93%が 48 時間以内に排泄された．

授乳ラットに［^{14}C］-ビラスチンを 20 mg/kg で単回経口投与し放射能の乳汁中排泄を検討した．その結果，乳汁中に放射能の移行を認め，乳汁中放射能濃度は投与後 0.5 時間で最も高い値を示した後，血漿中放射能濃度と並行に消失した．乳汁中放射能は血漿中放射能よりも低く推移し，投与後 24 時間では血漿及び乳汁ともに検出限界以下となった．

2.4.3.5　　薬物動態学的薬物相互作用

ラットにおいて P-gp の阻害剤である valspodar の前投与によりビラスチンの AUC 及び C_{max} が有意に増加したことから，ビラスチンはラット P-gp の基質であることが示唆された．

2.4.4　　毒性試験

主要な毒性試験は GLP に従って実施した．試験に関する情報を表 2.4.4-1 に示した．

表 2.4.4-1　毒性試験一覧

Type of study	Species and Strains	Route of dosing	GLP application	Study number	Batch	Polymorph	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	CD1 Mice	Oral (gavage)	Yes	[redacted]04	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1.1
	CD1 Mice	Oral (gavage)	No	[redacted]03	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1.2
	CD1 Mice	Intravenously	Yes	[redacted]06	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1.3
	Wistar Rats	Oral (gavage)	Yes	[redacted]04	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1.4
	Wistar Rats	Intravenously	Yes	[redacted]01	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1.5
Repeat-Dose Toxicity	CD1 Mice	Oral (feeding)	Yes	[redacted]846843	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.1
	CD1 Mice	Oral (feeding)	Yes	[redacted]848057	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.2
	Wistar Rats	Oral (feeding)	Yes	[redacted]846842	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.3
	Wistar Rats	Oral (gavage)	Yes	[redacted]01	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.4
	Wistar Rats	Oral (feeding)	Yes	[redacted]848056	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.5
	SD Rats	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/7086T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.6
	SD Rats	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/8081T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.7
	Wistar Rats	Intravenously	Yes	[redacted]A21846	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.8
	Beagle Dogs	Oral (gavage or capsules)	Yes	[redacted]/5841T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.9
	Beagle Dogs	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/6346T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.10
	Beagle Dogs	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/7821T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.11
	Beagle Dogs	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/8717T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.12
	Beagle Dogs	Intravenously	No	[redacted]S03587	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.13
	Beagle Dogs	Intravenously	Yes	[redacted]S03598	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.14
Reproductive and Developmental Toxicity	SD Rats	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/8785T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.1.1
	SD Rats	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/7750T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2.1
	NZW Rabbits	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/8414T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2.2
	NZW Rabbits	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/9355T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2.3
	SD Rats	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/9001T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.3.1

表 2.4.4-1　毒性試験一覧（続き）

Type of study	Species and Strains	Route of dosing	GLP application	Study number	Batch	Polymorph	Location in CTD
Genotoxicity *in vitro*							
Bacterial reverse mutation	TA1535 TA1537 TA98 TA100 TA102	*In vitro*	Yes	[redacted]/5508T W-08-7175	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1.1 4.2.3.3.1.2
Chromosome aberration	Human lymphocytes	*In vitro*	Yes	[redacted]/5510T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1.3
Genotoxicity *in vivo*							
Bone marrow micronucleus test	CD-1 Mice	Oral (gavage)	Yes	[redacted]/5509T	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.2.1
Carcinogenicity, Long-term Studies							
104 weeks carcinogenicity	CD-1 Mice	Oral (feeding)	Yes	[redacted]849398	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.1.1
104 weeks carcinogenicity	Wistar Rats	Oral (feeding)	Yes	[redacted]849397	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.1.2
Other Toxicity Studies							
Type of study	**Species and Strains**	**Route of dosing**	**GLP application**	**Study number**	**Impurity: batch or Bilastine: batch**		**Location in CTD**
Bacterial reverse mutation in Salmonella *typhimurium* (impurities)	TA1535 TA1537 TA98 TA100 TA102	*In vitro*	Yes	[redacted]-9092 [redacted]-7168 [redacted]-7046	[redacted]		4.2.3.7.6.1 4.2.3.7.6.2 4.2.3.7.6.3

ビラスチンのマウス，ラット及びイヌを用いた経口及び静脈内投与による単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験を実施した．一部の反復投与毒性試験ではトキシコキネティクスパラメータを評価した．遺伝毒性試験として *in vitro* のヒトリンパ球を用いた染色体異常試験，マウスを用いた *in vivo* の小核試験及び 2 つの細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した．また，マウス及びラットを用い，投与期間を 104 週間としたがん原性試験を 2 試験実施した．生殖発生毒性試験を実施し，ラットの受胎能及び初期胚発生，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に対するビラスチンの影響を評価した．胚・胎児発生に及ぼす影響についてはラット及びウサギで評価した．

更に，ビラスチンの 11 種類の既知の合成不純物の遺伝毒性を細菌を用いた復帰突然変異試験により評価した．

2.4.4.1　　トキシコキネティクス

マウス，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験，並びにマウス及びラットを用いたがん原性試験でビラスチンのトキシコキネティクスを評価した．トキシコキネティクスの測定の詳細な結果を第 2.6.7.2 項及び 2.6.7.3 項に示した．

マウスでは最高 2000 mg/kg の用量で 2，13 及び 104 週間混餌投与した．

ラットでは最高 2000 mg/kg の用量で 2，13 及び 104 週間混餌投与し，最高 1000 mg/kg の用量で 13 及び 26 週間経口投与した．また，最高 50 mg/kg の用量で，4 週間静脈内投与した．

イヌでは最高用量 1600 mg/kg で 4 週間, 1500 mg/kg で 4 週間, 1000 mg/kg で 13 週間, 800 mg/kg で 52 週間経口投与した．また，イヌでは最高用量 60 mg/kg で 4 週間静脈内投与した．

大半の試験で血中濃度及び AUC 値は投与用量に応じて上昇し，性差はなかった．ラットに 13 週間及び 26 週間経口投与した場合，雄より雌の方でビラスチンの曝露量が増加した．マウスを用いた 13 週間経口投与毒性試験では, いずれの投与群でも雄性マウスのビラスチン血漿濃度は同用量の雌性マウスと比較して統計学的に有意に高かった．すべての投与群の雌雄で投与を重ねるごとにビラスチン曝露量が減少し，曝露の蓄積を認めなかった．

2.4.4.2　　単回投与毒性試験

ビラスチンの単回投与毒性試験をマウス及びラットを用いて経口及び静脈内投与にて実施した．

マウスで 5000 mg/kg，ラットで 2000 mg/kg の用量でビラスチンを経口投与したが，いずれの動物種でも全身毒性を示す症状は認めず, 50%致死用量（LD_{50}）値はマウスで 5000 mg/kg を超え，ラットで 2000 mg/kg を超えると判断した（第 2.6.6.2.1.1 項，第 2.6.6.2.1.2 項，第 2.6.6.2.2.1 項）．マウスで最高 49 mg/kg（被験液の分析値で換算した投与量）及びラットで最高 90 mg/kg の用量でそれぞれ静脈内投与した結果，マウスでは 40 mg/kg 以上，ラットでは 45mg/kg 以上の用量で中枢神経系及び呼吸器系への影響を示唆する振戦，痙攣，運動失調及び呼吸困難等の症状を認め，高用量では死亡が認められた．LD_{50} 値は，マウスでは 33.22 mg/kg（被験液の分析値で換算した投与量），ラットでは 45～75 mg/kg であった．動物種及び投与経路に関わらず，いずれの用量でも剖検時に肉眼的変化は認めなかった（第 2.6.6.2.1.3 項，第 2.6.6.2.2.2 項）．

2.4.4.3　　反復投与毒性試験

マウス，ラット及びイヌを用いた経口投与による反復投与毒性試験で，投与期間はマウスで 2 及び 13 週間，ラットで 2，4，13 及び 26 週間，イヌで 4，13 及び 52 週間とした．更に，ラット

及びイヌを用いた静脈内投与による反復投与毒性試験を実施した．投与期間はラットで 4 週間，イヌで 1 及び 4 週間とした．

2.4.4.3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験

マウスを用いた 2 試験では，ビラスチンを最高 2000 mg/kg/day の用量で 14 日間及び 13 週間混餌投与した．ビラスチン投与に起因した死亡並びに体重，摂餌量，血液学的検査及び血液化学的検査に影響は認めなかった．2000 mg/kg/day で肝重量の軽度な増加及び肝細胞肥大が認められたが，肝臓の適応性変化と考えられた．いずれの用量でも，全身毒性を示す症状は認めなかったことから最大無毒性量（NOAEL）は 2000 mg/kg/day と判断した（第 2.6.6.3.1.1 項，第 2.6.6.3.1.2）．

2.4.4.3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

ラットを用いた試験ではビラスチンを最高 2000 mg/kg/day の用量で 14 日間及び 13 週間混餌投与，最高 1000 mg/kg/day の用量で 28 日間，13 週間及び 26 週間経口投与し，更に最高 50 mg/kg/day の用量で 28 日間静脈内投与した．

14 日間の混餌投与試験では，1000 及び 2000 mg/kg/day で軽度な肝細胞の肥大，更に 2000 mg/kg/day では甲状腺濾胞の肥大/過形成を認めた（第 2.6.6.3.2.1 項）．これらの変化は肝代謝の増加に対する生体の適応性変化及びそれに伴う二次的変化と考えられた．28 日間の経口投与試験では，1000 mg/kg/day で血中コレステロール及びリン脂質濃度の上昇，尿量の増加を認めたが，一般状態，剖検及び病理組織学的検査ではビラスチン投与に起因した変化は認めなかった（第 2.6.6.3.2.2 項）．13 週間の混餌投与試験では，2000 mg/kg/day で軽度な貧血性変化を認めたが，1000 mg/kg/day では認めなかった（第 2.6.6.3.2.3 項）．13 週間の経口投与試験では，275 及び 1000 mg/kg/day で軽度な一過性の貧血性変化を認め，1000 mg/kg/day で腎臓及び甲状腺の器官重量が軽度に増加した（第 2.6.6.3.2.4 項）．26 週間の経口投与試験では，1000 mg/kg/day で甲状腺の器官重量及びビリルビンの血中濃度の軽度な増加，尿中の尿酸結晶を認めた．75, 275 及び 1000 mg/kg/day では，肝臓の肝細胞肥大及び二次的な変化として甲状腺濾胞の肥大/過形成を認めた（第 2.6.6.3.2.5 項）．また，ビラスチンを最高 50 mg/kg/day の用量で 28 日間静脈内投与した試験では，50 mg/kg/day で腎臓の近位尿細管の肥大を認めた（第 2.6.6.3.2.6 項）．

以上の結果から，ビラスチンを最高 2000 mg/kg/day の用量で混餌投与した場合の NOAEL は 2000 mg/kg/day，最高 1000 mg/kg/day の用量で経口投与した場合の NOAEL は 28 日間で 300 mg/kg/day，13 週間で 75 mg/kg/day，26 週間で 275 mg/kg/day と判断した．最高 50 mg/kg/day の用量で 28 日間静脈内投与した場合の NOAEL は 30 mg/kg/day と判断した．

2.4.4.3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験

イヌを用いた試験では，ビラスチンを最高 1500 及び 1600 mg/kg/day の用量で 4 週間反復経口投与した．また，最高 1000 及び 800 mg/kg/day の用量でそれぞれ 13 及び 52 週間反復経口投与した．更に最高 60 mg/kg/day の用量で 1 及び 4 週間静脈内投与した．

4 週間の経口投与毒性試験では，300 mg/kg/day 以上の群で嘔吐及び下痢，摂餌量の減少及び体重の増加抑制を認め，病理組織学的検査では，腎臓の限局性糸球体内皮細胞の腫大を認めた（第 2.6.6.3.3.2 項）．13 週間の経口投与毒性試験では，200 mg/kg/day 以上の群で嘔吐及び流涎が認められた．1000 mg/kg/day では一過性の摂餌量及び体重の減少，軟便及び下痢が認められた．尿検査，血液学的検査，血液化学的検査，眼科学的検査，心電図検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査にビラスチン投与に起因した変化は認めなかった（第 2.6.6.3.3.3 項）．52 週間の経口投与毒性

試験では，800 mg/kg/day で一過性の摂餌量の減少，体重の増加抑制，嘔吐及び軟便，好中球数の高値，精子の運動性の低下及び精子形態に異常を認めた．また，QTc 間隔の延長を認めたが，回復期間終了時には認めなかった．いずれの投与群でも剖検，器官重量及び病理組織学的検査に変化は認めなかった（第 2.6.6.3.3.4 項）．1 週間の静脈内投与毒性試験では，45 mg/kg/day 以上の群で嘔吐及び振戦が認められたが，反復投与により減少した（第 2.6.6.3.3.5 項）．4 週間の静脈内投与毒性試験では，60 mg/kg/day で嘔吐，投与部位の静脈血栓及び軽度かつ可逆的な心拍数の増加が認められた．血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，眼科学的検査，精子の運動性及び形態にビラスチン投与に起因した変化は認めなかった（第 2.6.6.3.3.6 項）．

以上の結果から，ビラスチンを 4 週間経口投与した場合の NOAEL は 60 mg/kg/day，13 週間経口投与した場合の NOAEL は 40 mg/kg/day，52 週間経口投与した場合の NOAEL は 125 mg/kg/day と判断した．4 週間静脈内投与した場合の NOAEL は 60 mg/kg/day と判断した．

2.4.4.4　遺伝毒性

ビラスチンの遺伝毒性を *in vitro* 試験である細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いた染色体異常試験並びに *in vivo* 試験であるマウス小核試験により評価した．

その結果，細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験でビラスチンに遺伝毒性がないことを確認した（第 2.6.6.4.1.1 項，第 2.6.6.4.1.2 項，第 2.6.6.4.1.3 項）．また，マウス小核試験でも遺伝毒性を認めなかった（第 2.6.6.4.2.1 項）．

したがって，ビラスチンは遺伝毒性を誘発する可能性はないと判断した．

2.4.4.5　がん原性

マウスを用いた長期がん原性試験では，ビラスチンを最高 2000 mg/kg/day の用量で，ラットを用いた試験では最高 1200 mg/kg/day の用量でそれぞれ 104 週間混餌投与した．

その結果，ビラスチンはいずれの動物種でもがん原性を示さなかった（第 2.6.6.5.1.1 項，第 2.6.6.5.1.2 項）．

2.4.4.6　生殖及び発生毒性

ラットを用いて雌雄の受胎能，初期胚及び出生前後の発生に及ぼすビラスチンの影響を評価した．また，ラット及びウサギを用いて胚胎児発生に及ぼす影響を評価した．

ラットを用いた受胎能試験では，ビラスチンを最高 1000 mg/kg/day の用量で雄性ラットには交配前の 4 週間，交配中及び剖検時まで投与した．雌性ラットには交配前の 2 週間，交配中及び妊娠 8 日まで投与した．死亡及び一般状態に変化はなく，交配結果，受胎能，妊娠率及び胚の死亡率等の各指標に影響は認めなかった．また，雌雄の生殖器及び精子の数，形態並びに運動性に影響は認めなかった．したがって，NOAEL は雌雄ともに 1000 mg/kg/day と判断した（第 2.6.6.6.1.1 項）．

ラットを用いた催奇形性試験では，ビラスチンを最高 1000 mg/kg/day の用量で妊娠ラットに妊娠 6～17 日まで経口投与した．死亡，一般状態及び体重への影響は認めなかった．また，胚胎児発生への影響及び催奇形性は認めなかった．したがって，NOAEL は母動物及び胚胎児ともに 1000 mg/kg/day と判断した（第 2.6.6.6.2.1 項）．

ウサギを用いた催奇形性試験のための用量設定試験では，ビラスチンを最高 700 mg/kg/day の用量で妊娠ウサギに妊娠 6～18 日まで投与した．400 mg/kg/day 以上の群で流産，摂餌量の減少及

び体重の増加抑制並びに 500 mg/kg/day 以上の群で死亡を認めた．600 mg/kg/day 以上の群で着床後胚死亡率が増加し，生存胎児数が減少した（第 2.6.6.6.2.2 項）．

ウサギを用いた催奇形性試験では，ビラスチンを最高 400 mg/kg/day の用量で妊娠ウサギに妊娠 6～19 日まで経口投与した．400 mg/kg/day の 1 例が流産した．死亡は認めなかった．摂餌量は 400 mg/kg/day 投与群の妊娠 13～24 日目で低値を示したが，体重には変化は認めなかった．着床数，生存及び死亡胎児の数，並びに胎児体重，外表，骨格及び内臓に変化は認めなかった．したがって母動物の NOAEL は 110 mg/kg/day，胚胎児の NOAEL は 400 mg/kg/day と判断した（第 2.6.6.6.2.3 項）．

出生前後の発生及び母体の機能への影響を評価した試験では，ビラスチンを最高 1000 mg/kg/day の用量で妊娠ラットに妊娠 6～分娩後 21 日まで経口投与した．妊娠中に，死亡又は一般状態の変化は認めなかった．1000 mg/kg/day 群で授乳期間に体重の増加抑制を認めた．母動物の妊娠日数，分娩及び哺育の状況，次世代の出生前後の発生並びに生殖能に影響は認めなかった．したがって，母動物の NOAEL は 275 mg/kg/day，次世代の NOAEL は 1000 mg/kg/day 以上と判断した（第 2.6.6.6.3.1 項）．

以上の結果から，ビラスチンはラットでは，1000 mg/kg/day まで雌雄の受胎能，胚胎児発生及び次世代の出生前後の発生に影響せず，催奇形性も認められなかった．ウサギにおいても催奇形性は認められなかった．

2.4.4.7　　不純物の評価

毒性試験に使用した原薬と臨床試験用原薬及び安定性試験用原薬中の不純物含量を表 2.4.4.7-1 に示した（第 3.2.S.3.2 項及び第 3.2.S.4.4 項）．

表 2.4.4.7-1　毒性試験に使用した原薬と臨床試験用原薬及び安定性試験用原薬中の不純物含量

不純物名	毒性試験に使用した原薬中の含量（%w/w）	臨床試験用原薬及び安定性試験用原薬中の含量（%w/w）
*A	[redacted]	[redacted]
*B	[redacted]	[redacted]
*D	[redacted]	[redacted]
*C	[redacted]	[redacted]

毒性試験に使用した原薬中の不純物含量はいずれも臨床試験用原薬及び安定性試験用原薬バッチに使用した原薬中の不純物含量と同等か又は上回っていた．したがって，*A は [redacted]%，*B は [redacted]%及び *C は [redacted]%の濃度まで安全性は担保されていると判断した．なお，これらの不純物はいずれも構造決定されている（第 3.2.S.3.2 項）．一方，残留溶媒である [redacted]及び [redacted]が [redacted]%以下の濃度で存在していた．日米欧医薬品規制調和国際会議（ICH）Q3C「医薬品の残留溶媒ガイドライン」では，クラス 3 の溶媒（低毒性の溶媒）の残留量は 0.5%以下であれば許容されるとされている．したがって，工業バッチの残留溶媒はヒトの健康リスクには影響しないと判断した．

11 種類の既知不純物である *C，*B，*D，*A，*E，*F，*G，*K，*H，*I 及び *J をネズミチフス菌 TA1535，TA1537，TA98，TA100 及び TA102 に最大 5000 µg/plate（プレートあたり最大 100 mg/mL 溶液を 0.05 mL），1000 µg/plate（プレートあたり最大 20 mg/mL 溶液を 0.05 mL）又は

＊ 新薬承認情報提供時に置き換えた

200 μg/plate（プレートあたり最大 4 mg/mL 溶液を 0.05 mL）の濃度で，代謝活性化の非存在下及び存在下で処理した．

代謝活性化の有無に関わらず，　*K　及び　*J　以外，いずれの菌株でも細胞毒性及び遺伝子復帰突然変異誘発能を認めなかった．一方，　*K　は，代謝活性化の存在下の TA1535 菌株において，　*J　は代謝活性化の存在下及び非存在下の TA1535 菌株及び代謝活性化の存在下の TA100 菌株で用量に応じて復帰変異コロニー数が増加した．したがって，*K　及び　*J　は遺伝子復帰突然変異誘発能を有していると考えた（第 2.6.6.8.1.1 項，第 2.6.6.8.1.2 及び第 2.6.6.8.1.3 項）．しかし，本不純物は製造過程で消失するため（第 3.2.S.3.2 項），臨床においては問題にならないと判断した．

2.4.5　総括及び結論

ビラスチンは, FAES FARMA 社が創製した新規ヒスタミン H_1 受容体拮抗薬である. 海外では, 12 歳以上の季節性及び通年性アレルギー性鼻炎並びに蕁麻疹を適応として 2010 年 9 月に欧州医薬品庁（European Medicinal Agency）の承認を受けた．ビラスチンは，これまでの臨床試験から従来のヒスタミン H_1 受容体拮抗薬の問題点であった副作用の鎮静作用や心毒性作用がない非鎮静性第二世代抗ヒスタミン薬として位置付けられている [6].

薬効薬理試験において，ビラスチンのヒスタミン H_1 受容体に対する結合親和性及び摘出組織でのヒスタミン拮抗作用は，フェキソフェナジン及びセチリジンよりも強かった．また，動物を用いた抗ヒスタミン作用の発現用量は，フェキソフェナジンよりも低く，セチリジンとはほぼ同様の用量域であった．更に，副次的薬理試験では，ビラスチンは，ヒスタミン H_1 受容体以外にはほとんど作用を示さず，高いヒスタミン H_1 受容体選択性を示した [1,2].

In vitro 及び *in vivo* 安全性薬理試験では，ビラスチンは治療曝露量で心血管系，中枢神経系及び呼吸器系に加え，消化管及び赤血球膜に対し重大な作用を及ぼさなかった．

ラット及びイヌの薬物動態試験では，ビラスチンは経口投与後速やかに吸収され，t_{max} はラットで 0.21～0.42 時間，イヌで 1.38～2.13 時間であった．ビラスチンの BA はイヌで 42%～69%，ラットで 25%～61%であった．［^{14}C］-ビラスチンを経口投与した場合，血液中放射能濃度よりも高く分布した組織は肝臓及び腎臓など一部で，大部分の組織の放射能濃度は低く推移した．脳への移行性は低いと考えられた．ヒトでのビラスチンの血漿蛋白結合率は 0.2～1 μg/mL の濃度範囲で 84.22%～90.04%であり，濃度依存的な変動はなかった．*In vitro* 及び *in vivo* 代謝試験からビラスチンはほとんど代謝されないことが示された．経口投与後のビラスチンは主に糞中に排泄された. ^{14}C-ビラスチン経口投与後の妊娠ラットでは, 低いものの放射能の胎児への移行が確認された. ^{14}C-ビラスチン経口投与後に放射能の乳汁中への移行が認められた．ビラスチンは，水酸化，水酸化体のグルクロン酸抱合化，脱エチル化，直接抱合化又は開裂後に抱合化される過程により代謝されると推定された．ビラスチンはラット P-gp の基質であることが示唆された．

ビラスチンの単回投与毒性試験では，経口投与の場合マウスで 5000 mg/kg，ラットで 2000 mg/kg まで死亡例及び一般状態に毒性変化はなかった．静脈内投与では高用量投与群のみで死亡例が認められ，LD_{50} はマウスで 33.22 mg/kg（被験液の分析値の換算した投与量），ラットで 45～75 mg/kg であった. マウスの 13 週間反復混餌投与毒性試験では 2000 mg/kg/day まで重篤な毒性はなく，NOAEL も 2000 mg/kg/day と判断した．ラットでは 28 日間及び 13 週間反復経口投与試験のいずれにおいても 1000 mg/kg/day まで重篤な毒性を認めなかった．26 週間反復経口投与では 1000 mg/kg/day で甲状腺の器官重量及びビリルビンの血中濃度の軽度な増加，尿中の尿酸結晶を

＊ 新薬承認情報提供時に置き換えた

認めたが，死亡例はなく NOAEL は 275 mg/kg/day と判断した．イヌの 4 週間反復経口投与では 300 mg/kg/day 以上で嘔吐及び下痢，摂餌量の減少及び体重の増加抑制を認め，13 週間反復経口投与では 200 mg/kg/day 以上で嘔吐及び流涎，1000 mg/kg/day で体重減少を認めたが，死亡例はなかった．4 週間経口投与した場合の NOAEL は 60 mg/kg/day，13 週間経口投与した場合の NOAEL は 40 mg/kg/day と判断した．52 週間反復経口投与では 800 mg/kg/day で体重の増加抑制，QT 及び/又は QTc 間隔の延長，好中球の軽度な増加を認め，加えて精子の運動性の低下及び形態に異常を認めたが，800 mg/kg/day まで死亡例はなく NOAEL は 125 mg/kg/day と判断した．遺伝毒性試験ではビラスチンは遺伝毒性を有していないことを確認した．がん原性試験ではマウス及びラットとも被験物質の投与に起因した腫瘍病変を認めなかった．生殖発生毒性試験ではラットでは 1000 mg/kg/day まで，ウサギでは 400 mg/kg/day までビラスチンを投与しても受胎能，胚胎児発生又は出生前後の発生に毒性変化を認めなかった．ビラスチンの 11 種類の既知不純物を復帰突然変異試験で評価した結果，9 種の不純物ではいずれも遺伝子突然変異誘発能は陰性であった．一方，不純物　*K　及び　*J　は遺伝子復帰突然変異誘発能が陽性と判断したが，本不純物は製造過程で消失するため，臨床では問題にならないと判断した．

ビラスチンの開発途中で 3 種類の結晶多形[redacted]が得られ，それぞれの結晶形について評価した結果から原薬として[redacted]結晶を選択している．非臨床試験では，[redacted]以外に[redacted]結晶，[redacted]結晶の原薬も使用していることから，[redacted]結晶を用いた試験結果と同等に評価可能であることを，各結晶形での溶解度，薬物速度論的パラメータ及び毒性変化を指標に比較検討した．その結果，結晶形は異なるものの溶解度，吸収及び毒性変化に大きな違いはなかったことから，[redacted]結晶とは異なる[redacted]の結晶を用いた非臨床試験の結果は，[redacted]結晶を用いた試験結果と同等に評価可能と考えた．

各ガイダンス又はガイドラインに従い非臨床試験を実施し，ビラスチンの薬理，代謝，薬物動態及び毒性学的な特徴を明らかにし，得られた知見により臨床使用に対する評価を行った．その結果，非臨床試験結果により，臨床試験でビラスチンを有効かつ安全に使用できることを確認することできた．

2.4.6　参考文献

1. Corcóstegui R, Labeaga L, Innerárity A, Berisa A, Orjales A. Preclinical pharmacology of bilastine, a new selective histamine H_1 receptor antagonist: receptor selectivity and *in vitro* antihistaminic activity. Drugs R D. 2005;6:371-384.（第 4.3.1 項）
2. Corcóstegui R, Labeaga L, Innerárity A, Berisa A, Orjales A. *In vivo* pharmacological characterisation of bilastine, a potent and selective histamine H_1 receptor antagonist. Drugs R D. 2006;7:219-231.（第 4.3.2 項）
3. Dávila I, Sastre J, Bartra J, del Cuvillo A, Jáuregui I, Montoro J et al. Effect of H_1 antihistamines upon the cardiovascular system. J Investig Allergol Clin Immunol. 2006;16 Suppl 1:13-23.（第 4.3.3 項）
4. 谷内一彦，櫻井映子，岡村信行，倉増敦朗.「他領域からのトピックス」抗ヒスタミン薬の薬理学. 日耳鼻 2009, 112:99-103.（第 4.3.4 項）
5. Baena-Cagnani CE, Safety and tolerability of treatments for allergic rhinitis in children. Drug Saf. 2004; 27 (12): 883-898.（第 4.3.5 項）
6. Scaglione F. Safety profile of bilastine: 2nd generation h1-antihistamines. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2012;16:1999-2005.（第 4.3.6 項）

* 新薬承認情報提供時に置き換えた