

ビラノア錠 20 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6.1 緒言

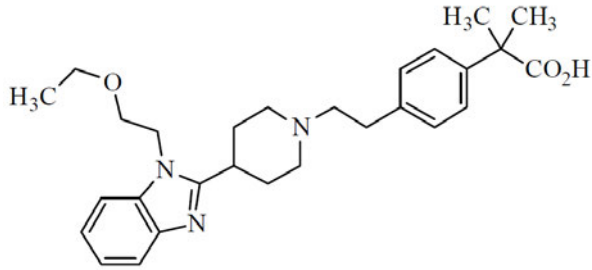
大鵬薬品工業株式会社

2.6.1 緒言

ビラスチンは、FAES FARMA 社が創製した新規ヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬である。ビラスチンのヒスタミン H₁ 受容体に対する結合親和性、*in vitro* と *in vivo* における抗ヒスタミン作用及び *in vivo* における抗アレルギー作用が検討され、ヒスタミン H₁ 受容体に対して選択的な拮抗作用を有し、*in vitro* 及び *in vivo* で既存のヒスタミン H₁ 拮抗薬であるセチリジン塩酸塩とほぼ同程度で、フェキソフェナジン塩酸塩よりも強い効力を示すことが確認された。

ビラスチンの日本名、英名、化学名及び構造式を表 2.6.1-1 に示した。ビラスチンは、エバスチン、ベポタスチンベシル酸塩、フェキソフェナジン塩酸塩（以下、フェキソフェナジン）等¹と同じピペリジン誘導体に属する抗ヒスタミン薬である。

表 2.6.1-1 ビラスチンの日本名、英名、化学名及び構造式（JAN）

日本名	ビラスチン
英名	Bilastine
化学名	2-[4-(2-{4-[1-(2-Ethoxyethyl)-1H-benzimidazol-2-yl]piperidin-1-yl}ethyl)phenyl]-2-methylpropanoic acid
構造式	

ビラスチンの予定する効能・効果（案）及び用法・用量（案）を以下に示した。

- ・ 効能・効果（案）
アレルギー性鼻炎，蕁麻疹，皮膚疾患（湿疹・皮膚炎，痒疹，皮膚そう痒症）に伴うそう痒
- ・ 用法・用量（案）
通常，成人にはビラスチンとして 1 回 20 mg を 1 日 1 回空腹時に経口投与する．なお，症状により適宜減量する．

参考文献

1. Simons FE. Advances in H₁-antihistamines. N Engl J Med. 2004;351:2203-2217.（第 4.3.7 項）

ビラノア錠 20 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6.2 薬理試験の概要文

大鵬薬品工業株式会社

目次

目次	2
略号一覧表	5
2.6.2 薬理試験の概要文	6
2.6.2.1 まとめ	6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験	7
2.6.2.2.1 <i>In vitro</i> 試験	7
2.6.2.2.2 <i>In vivo</i> 試験	11
2.6.2.3 副次的薬理試験	21
2.6.2.3.1 <i>In vitro</i> 試験	21
2.6.2.3.2 <i>In vivo</i> 試験	23
2.6.2.4 安全性薬理試験	25
2.6.2.4.1 心血管系	25
2.6.2.4.2 中枢神経系	36
2.6.2.4.3 呼吸器系	47
2.6.2.4.4 消化器系	48
2.6.2.4.5 その他の器官系	50
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験	51
2.6.2.5.1 <i>In vivo</i> 試験	51
2.6.2.6 考察及び結論	51
2.6.2.7 図表	51

図一覧

図 2.6.2.2.1.2-1 ビラスチンのヒトヒスタミン H ₁ 受容体に対する特異的結合の濃度 反応曲線	8
図 2.6.2.2.1.3-1 モルモット摘出回腸のヒスタミン誘発収縮反応に対する作用	9
図 2.6.2.2.1.4-1 モルモット摘出気管のヒスタミン誘発収縮反応に対する作用	10
図 2.6.2.2.1.5-1 感作モルモット摘出回腸の抗原誘発収縮反応に対する抑制作用	11
図 2.6.2.2.2.1-1 ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用（経 口投与）	12
図 2.6.2.2.2.1-2 ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用 （静脈内投与）	12
図 2.6.2.2.2.2-1 ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進に対するビラスチン 投与後の経過時間と抑制率の推移	13
図 2.6.2.2.2.3-1 麻酔下モルモットのヒスタミン誘発気道収縮に対する抑制作用の 経時的変化	14
図 2.6.2.2.2.4-1 モルモットのヒスタミン誘発気道漏出色素量に対する作用	15
図 2.6.2.2.2.5-1 モルモットのヒスタミン誘発致死に対する防御作用	16
図 2.6.2.2.2.7-1 マウスの IgG 依存性 ACA に対する抑制作用	17

図 2.6.2.2.2.7-2	マウスの IgE 依存性 ACA に対する抑制作用	18
図 2.6.2.2.2.8-1	抗 OVA 血漿によるラット PCA に対する抑制作用	19
図 2.6.2.2.2.8-2	抗 DNP-IgE によるラット PCA に対する抑制作用	19
図 2.6.2.2.2.9-1	ラットの compound 48/80 誘発致死に対する防御作用	20
図 2.6.2.2.2.10-1	ラットの compound 48/80 誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用	20
図 2.6.2.3.2.1-1	ラットのセロトニン誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用...	24
図 2.6.2.3.2.2-1	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抑制作用	24
図 2.6.2.4.1.1.1-1	電気刺激モルモット左心房における変力作用に及ぼす影響	25
図 2.6.2.4.1.1.2-1	モルモット右心房自発拍動の変時性に及ぼす影響	26
図 2.6.2.4.1.1.3-1	ビラスチンの濃度依存性 hKv1.5 電流のブロック	27
図 2.6.2.4.1.1.3-2	ビラスチンの電圧依存性 hKv1.5 チャネル活性の影響	27
図 2.6.2.4.1.1.3-3	ビラスチンの濃度依存性 hERG 電流の阻害作用	28
図 2.6.2.4.1.1.3-4	ビラスチンの濃度依存性 KvLQT1+minK 電流の阻害作用	29
図 2.6.2.4.1.1.3-5	ビラスチンの濃度依存性 Kv4.3 電流の阻害作用	30
図 2.6.2.4.1.1.4-1	ビラスチンの hERG 電流の阻害作用	30
図 2.6.2.4.1.1.5-1	ビラスチン, セチリジン, フェキソフェナジン及びデスロラタジンによる用量依存性 hERG 電流の阻害作用	31
図 2.6.2.4.1.2.1-1	麻酔下モルモットのビラスチン, テルフェナジン及びキニジンの心電図に対する影響	32
図 2.6.2.4.1.2.2-1	覚醒イヌのビラスチン単回経口投与による心電図に及ぼす影響	33
図 2.6.2.4.2.1	マウスを用いたビラスチン, セチリジン, クロニジン及びメトクロプラミドの腸管運動に及ぼす影響	50

表一覧

表 2.6.2.2.1.1-1	モルモットヒスタミン H ₁ 受容体に対する結合親和性	7
表 2.6.2.2.2.3-1	麻酔下モルモットのヒスタミン誘発気道収縮に対する各時間での ED ₅₀ 値	14
表 2.6.2.2.2.6-1	マウスのアルサス反応に対する抑制率	16
表 2.6.2.2.2.6-2	マウスの遅延型皮膚反応に対する抑制率	17
表 2.6.2.3.1.1-1	ビラスチンの各種受容体及びイオンチャネルに対する結合阻害率	21
表 2.6.2.3.1.2-1	ビラスチンのヒスタミン受容体に対する作用	22
表 2.6.2.3.1.3-1	ビラスチン及びデスロラタジンのムスカリン受容体に対する作用	22
表 2.6.2.3.1.4-1	ビラスチンの摘出組織を用いたケミカルメディエーターに対する作用	23
表 2.6.2.4.2.1-1	ラットのビラスチンによる一般行動に及ぼす影響	37
表 2.6.2.4.2.2-1	マウスの探索行動に及ぼす各種薬物の影響	38

表 2.6.2.4.2.3-1 マウスの協調運動に及ぼすビラスチンの影響	39
表 2.6.2.4.2.4-1 自発運動の評価に用いたパラメータ	39
表 2.6.2.4.2.4.1-1 マウスの自発運動量に及ぼす影響.....	40
表 2.6.2.4.2.4.2-1 ラットの自発運動に対するビラスチン及び他の薬物の影響	41
表 2.6.2.4.2.5.1-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のペンチレンテトラゾール誘発痙攣に及ぼす影響	42
表 2.6.2.4.2.5.2-1 マウスを用いたビラスチン及びその他の薬物の最大電撃誘発痙攣に及ぼす影響	43
表 2.6.2.4.2.6.1-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のジアゼパム誘発睡眠に及ぼす影響	44
表 2.6.2.4.2.6.2-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のエタノール誘発睡眠に及ぼす影響	45
表 2.6.2.4.2.6.3-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のペントバルビタール誘発睡眠に及ぼす影響.....	46
表 2.6.2.4.2.7-1 正常体温ラットを用いたビラスチン及び他の薬物の直腸温に及ぼす影響.....	47
表 2.6.2.4.3.1-1 ビラスチンの呼吸器系パラメータへの影響：呼吸数，1回換気量及び分時換気量	48

※F-96221-BM Bilastine 又は Bilastine はいずれもビラスチンを指す.

各試験報告書中の F-96221-BM 又は F-96221-BM1 はいずれもビラスチンを指す.

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
DNP	dinitrophenyl : ジニトロフェニル
ED ₃₀	30% effective dose : 30%有効用量
ED ₅₀	50% effective dose : 50%有効用量
E _{max}	maximum observed effect (peak effect) : 最大効果
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
IgE	immunoglobulin E : 免疫グロブリン E
IgG	immunoglobulin G : 免疫グロブリン G
i.v.	intravenously : 静脈内に
K _d	dissociation constant : 解離定数
K _i	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
minK	minimal potassium ion channel : minK カリウムチャネル
msec	millisecond : ミリ秒
nH	Hill coefficient : Hill 係数
ns	not significant : 有意差なし
OVA	ovalbumin : 卵白アルブミン
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
pKi	K _i の負対数
p.o.	per os : 経口
PR	P-R interval : PR 間隔
QTc	corrected QT : 補正 QT (間隔)
SE	standard error : 標準誤差

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

ビラスチンは、ヒスタミン H_1 受容体拮抗薬であり、薬理試験からヒスタミン H_1 受容体に高い選択性を有することが確認されている。

効力を裏付ける試験では、ビラスチンの抗ヒスタミン作用と抗アレルギー作用を検討した。

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。動物を用いた抗ヒスタミン作用の評価では、モルモットのヒスタミン誘発気道収縮及び気道血管透過性亢進、ラットの皮膚血管透過性亢進に対する評価に加え、モルモットのヒスタミン誘発致死、ラットの compound 48/80 誘発致死及び皮膚血管透過性亢進を評価し、すべての試験系で効力を確認した。ラット及びモルモット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。

抗アレルギー作用の評価では、抗原で免疫した動物を用い、*in vitro* では Schultz-Dale 反応を、*in vivo* では抗原誘発の皮膚漏出色素量を評価し、効力を確認した。一方、アルサス反応及び遅延型皮膚反応に対しては、ビラスチンはほとんど作用しなかった。

副次的薬理試験では、ビラスチンの標的選択性を評価するため、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の評価に加えて、ラットを用いた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とヒスタミン及びカルバコール誘発の胃酸分泌を評価した。*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。一方、*in vivo* 試験では、ビラスチンは、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が、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。

安全性薬理試験では、心血管系、中枢神経系、呼吸器系、消化器系及び赤血球膜に及ぼすビラスチンの影響を評価した。心血管系に対する影響の試験では、摘出モルモット心房に対する変力又は変時作用、ヒト心筋細胞の心再分極に関与するカリウム電流に対する影響、ヒト胎児由来腎細胞（HEK293 細胞）での human ether-a-go-go-related gene (hERG) イオンチャネル遮断作用、麻酔下モルモットの心電図に及ぼす影響、覚醒ビーグル犬の心拍数、血圧及び心電図に及ぼす影響を検討した。*In vitro* 試験では hERG イオンチャネルに対する影響等を認めたものの、*in vivo* 試験でビラスチンは臨床治療用量を超える用量（モルモットではビラスチンの 60 mg/kg、ビーグル犬では 30 mg/kg）でいずれの動物種でも心電図、心拍数及び血圧に影響を及ぼさなかった。中枢神経系に対する影響の試験として、一般行動（Irwin の変法）、自発運動、探索行動、協調運動（回転棒試験）、抗痙攣作用（ペンタメチレンテトラゾール又は電撃誘発痙攣）、睡眠増強作用（ジアゼパム、エタノール及びベントバルビタール）、体温に及ぼす影響を検討した。ビラスチンは、マウスでは 800 mg/kg で自発運動の中等度な低下、マウスでは 200 mg/kg で睡眠時間の延長を認めた。抗痙攣作用はなく、エタノール又はジアゼパムを投与したマウスにビラスチンを投与したが鎮静作用の増強を認めなかった。ビラスチンは 200 mg/kg を投与した場合に、ベントバルビタールの作用を増強したが、この用量は他の類似物質（セチリジン、アステミゾール及びロラタジン）が同様の作用を示した 100 mg/kg より高い用量であった。

呼吸器系に対する影響では、ビラスチンはラット呼吸器系に対して影響しなかった。

消化器系に対する影響では、幽門結紮ラットの胃灌流により測定した胃酸分泌に対する影響を評価した。ビラスチンは胃酸分泌量、pH 及び総酸度に影響しなかった。更に、腸管運動に対する影響をマウスの炭末輸送で検討したが、ビラスチンは影響しなかった。

ビラスチンの血液に対する影響を、*in vitro* 低張条件下のラット赤血球膜安定化作用で評価した。ビラスチンに膜安定化作用は認めなかった。

安全性薬理試験では、ビラスチンは臨床治療用量では、中枢神経系、心血管系、呼吸器系及び消化器系に影響をしないと考えた。また、赤血球膜にも影響はなかった。

薬力学的薬物相互作用試験では、マウスを用いたアロキサソ誘発高血糖に対するインスリンとの相互作用及び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、これらの薬剤との相互作用はなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro*試験

主にセチリジンとフェキソフェナジンを対照として、ヒスタミン H₁ 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 反応の試験を実施した。

2.6.2.2.1.1 モルモットヒスタミン H₁ 受容体に対する結合親和性

モルモットの小脳より調製した細胞膜標品を 50 mmol/L リン酸緩衝液に懸濁し、³H-ピリラミン及び被験物質を 30 分間作用させた。その後、GF/B フィルターにハーベストし、液体シンチレーションカウンターにて放射活性を測定し、モルモットヒスタミン H₁ 受容体に対する結合親和性を検討した（第 4.2.1.1.1 項）。

ビラスチンは、モルモット小脳膜蛋白質への ³H-ピリラミン結合を阻害し、平均の阻害定数 (K_i) 値と標準誤差 (SE) は、44.15 ± 6.08 nmol/L であった。一方、セチリジンとフェキソフェナジンの平均 K_i 値と SE は、それぞれ 143.12 ± 16.35 と 246 ± 40.7 nmol/L であった（表 2.6.2.2.1.1-1）。

表 2.6.2.2.1.1-1 モルモットヒスタミン H₁ 受容体に対する結合親和性

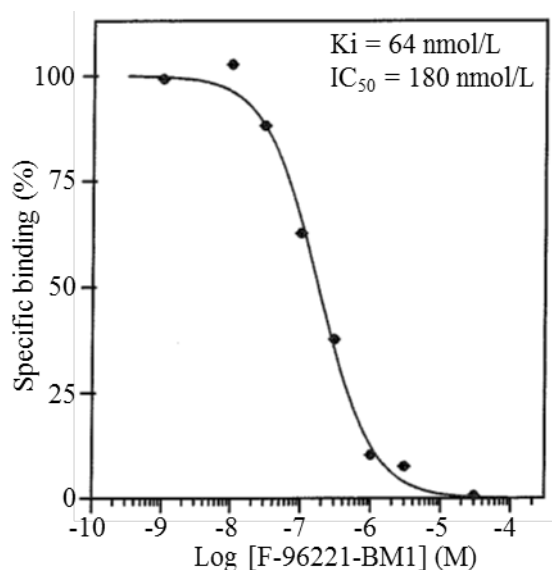
H ₁ antagonists	各試験の K _i (nmol/L)	pK _i	平均 K _i (nmol/L) Mean ± SE
F-96221-BM (Exp 1)	58.4	7.23	44.15 ± 6.08
F-96221-BM (Exp 2)	38.3	7.42	
F-96221-BM (Exp 3)	30.7	7.51	
F-96221-BM (Exp 4)	49.2	7.31	
Cetirizine (Exp 1)	153	6.82	143.12 ± 16.35
Cetirizine (Exp 2)	175	6.76	
Cetirizine (Exp 3)	147	6.83	
Cetirizine (Exp 4)	97.5	7.01	
Fexofenadine (Exp 1)	236	6.63	246 ± 40.7
Fexofenadine (Exp 2)	321	6.49	
Fexofenadine (Exp 3)	181	6.74	

第 4.2.1.1.1 項 試験報告書 No.F96221BM.B08 Table 1~4, Table 9~12, Figure 5, Figure 14 及び ANEXO1 Table 1~3, Figure 4 を改変

2.6.2.2.1.2 ヒトヒスタミンH₁受容体に対する結合親和性

ヒトヒスタミン H₁ 受容体を発現させた HEK293 細胞より調製した細胞膜標品を 50 mmol/L リン酸緩衝液に懸濁し、³H-ピリラミン及び被験物質を 60 分間作用させた。その後、GF/B フィルターにハーベストし、液体シンチレーションカウンターにて放射活性を測定し、ヒトヒスタミン H₁ 受容体に対する結合親和性を検討した（第 4.2.1.1.2 項）。

ビラスチンは、ヒトヒスタミン H₁ 受容体を発現させた細胞膜標品への ³H-ピリラミン結合を阻害し、K_i 値と 50%阻害濃度（IC₅₀）値はそれぞれ 64 と 180 nmol/L であった（図 2.6.2.2.1.2-1）。



2 例の平均値を示す。

第 4.2.1.1.2 項 試験報告書 No. 6517 Figure 1 及び Table 1-1 を改変

図 2.6.2.2.1.2-1 ビラスチンのヒトヒスタミン H₁ 受容体に対する特異的結合の濃度反応曲線

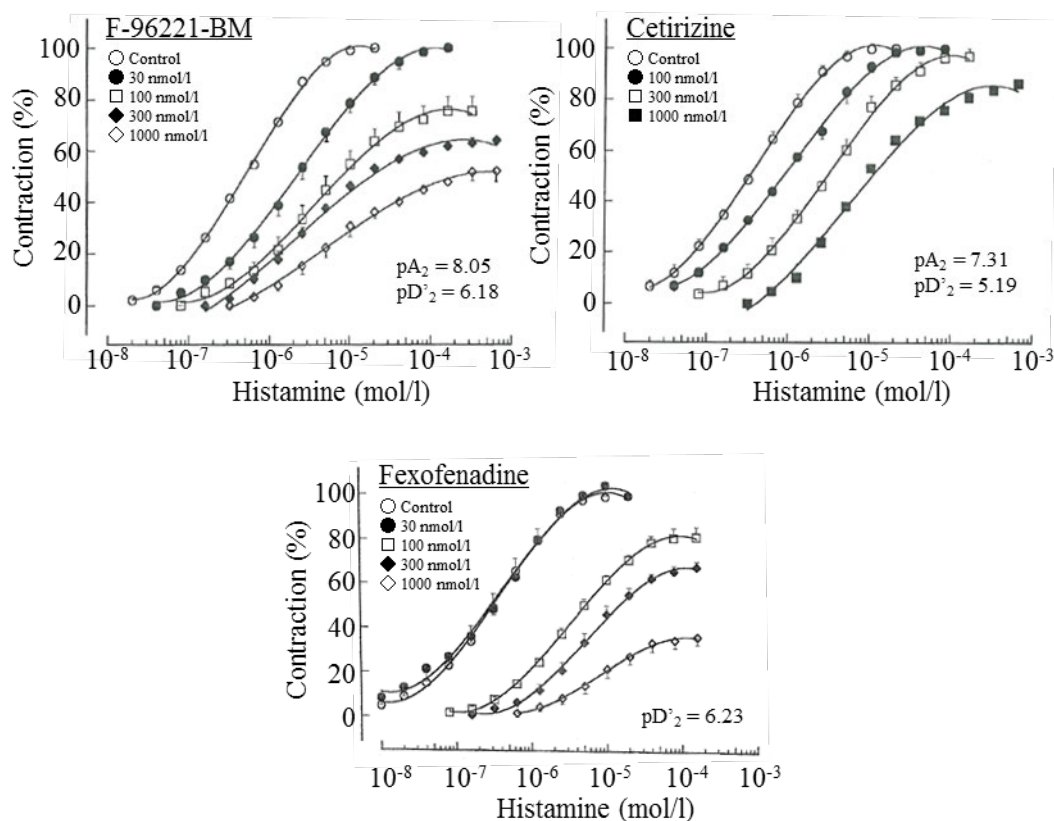
2.6.2.2.1.3 モルモット摘出回腸でのヒスタミン誘発収縮反応に対する作用

摘出回腸標本は、Tyrode 液中に懸垂し、被験物質を 15 分間作用させた。その後、ヒスタミンを累積添加して得られた収縮反応を、等張性トランスジューサーを用いて測定し、ヒスタミンで誘発した収縮反応に対する作用を検討した（第 4.2.1.1.3 項）。

ビラスチンは、ヒスタミンの濃度反応曲線を高濃度側に移動させ、100 nmol/L 以上の濃度では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（pA₂）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'）値はそれぞれ 8.05 と 6.18 であった。

セチリジンもヒスタミンの濃度反応曲線を高濃度側へ移動させ、1000 nmol/L 以上の濃度では最大反応を抑制した。得られた pA₂ 値と pD' 値はそれぞれ 7.31 と 5.19 であった。

一方、フェキソフェナジンでは、拮抗型阻害を示さず、100 nmol/L 以上の濃度より最大反応を抑制した。得られた pD' 値は 6.23 であった（図 2.6.2.2.1.3-1）。



Control 群 10 例, F-96221-BM 群 3 例, cetirizine 群 2~3 例及び fexofenadine 群 3~4 例の平均値と SE (3 例以上の場合) を示す。

第 4.2.1.1.3 項 試験報告書 No.F96221BMC.A01 Figure 1, Figure 2 及び ANEXO1 Figure 1 を改変

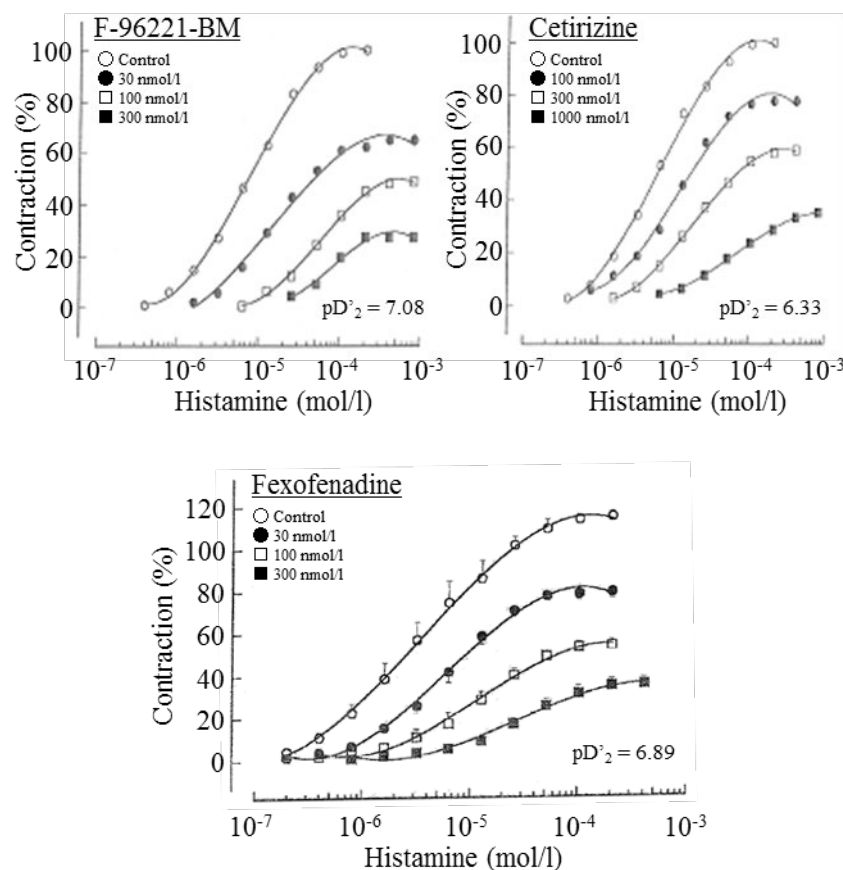
図 2.6.2.2.1.3-1 モルモット摘出回腸のヒスタミン誘発収縮反応に対する作用

2.6.2.2.1.4 モルモット摘出気管でのヒスタミン誘発収縮反応に対する作用

摘出気管標本は、Krebs-Henseleit 液中に懸垂し、被験物質を 30 分間作用させた。その後、ヒスタミンを累積添加して得られた収縮反応を、等張性トランスジューサーを用いて測定し、ヒスタミンで誘発した収縮反応に対する作用を検討した (第 4.2.1.1.4 項)。

ビラスチンは、30 nmol/L 以上の濃度よりヒスタミンの最大反応を抑制し、得られた pD'_2 値は 7.08 であった。

セチリジンとフェキソフェナジンもヒスタミンの最大反応を抑制し、得られた pD'_2 値はそれぞれ 6.33 と 6.89 であった (図 2.6.2.2.1.4-1)。



上図は、control 群 2~4 例、F-96221-BM 群 2~4 例及び cetirizine 群 2~3 例の平均値を示す。

下図は、control 群 3~4 例及び fexofenadine 群 3~4 例の平均値と SE を示す。

第 4.2.1.1.4 項 試験報告書 No.F96221BMC.A07 Figure 1, Figure 2 及び ANEXO1 Figure 1 を改変

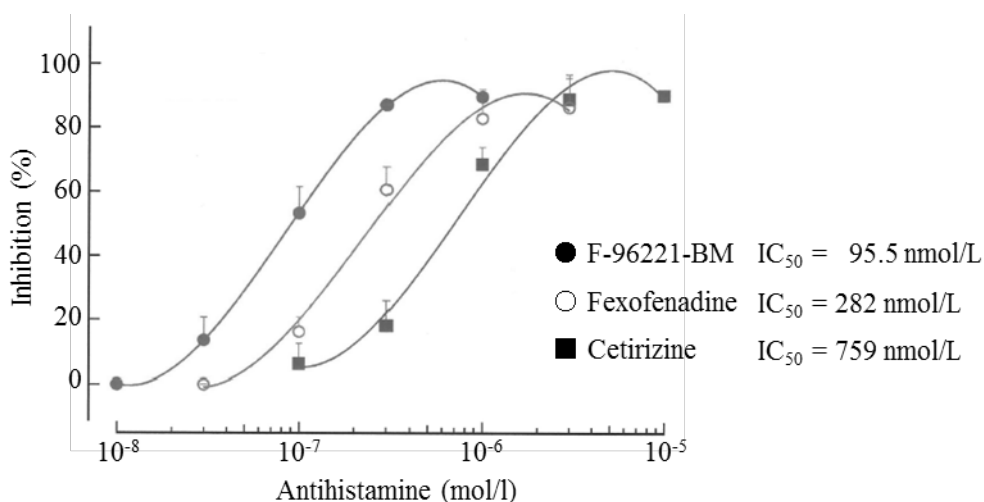
図 2.6.2.2.1.4-1 モルモット摘出気管のヒスタミン誘発収縮反応に対する作用

2.6.2.2.1.5 抗原感作モルモット摘出回腸でのSchultz-Dale反応に対する作用

卵白アルブミン (OVA) にて感作したモルモットより回腸を摘出し、標本を作製した。摘出回腸標本は、Tyrode 液中に懸垂し、ヒスタミン $1 \mu\text{mol/L}$ での収縮を測定した後、OVA $0.5 \mu\text{g/mL}$ で反応を惹起した。被験物質は OVA 添加の 5 分前から処置した。ヒスタミンによる収縮に対する抗原による収縮の比を求め抑制率として表し、Schultz-Dale 反応に対する作用を検討した(第 4.2.1.1.5 項)。

ビラスチンは、感作モルモット摘出回腸の抗原誘発収縮反応に対して濃度依存的に抑制し、その IC_{50} 値は 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 (図 2.6.2.2.1.5-1)。



F-96221-BM 群 3～5 例, cetirizine 群及び fexofenadine 群 3～6 例の平均値と SE を示す。

第 4.2.1.1.5 項 試験報告書 No.F96221BMC.A16 Figure 1 及び Table 1～3 を改変

図 2.6.2.2.1.5-1 感作モルモット摘出回腸の抗原誘発収縮反応に対する抑制作用

2.6.2.2.2 *In vivo*試験

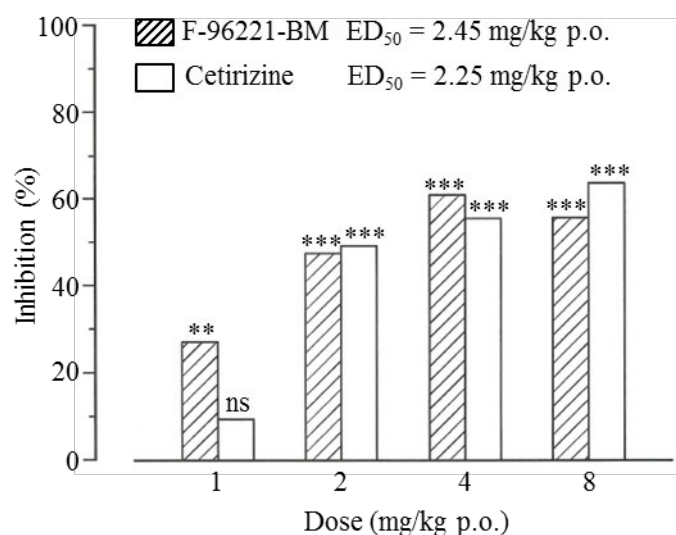
抗ヒスタミン作用は、ラット及びモルモットを用いて、ヒスタミン及び肥満細胞脱顆粒因子である compound 48/80 によって惹起される反応に対する抑制作用を検討した。抗アレルギー作用は、感作したマウス及びラットを用いて、抗原誘発の皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用を検討した。その他 III 型と IV 型のアレルギー反応に対する作用も検討した。主にセチリジンとフェキソフェナジンを対照として試験を実施した。

2.6.2.2.2.1 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

雄性 Wistar ラットの背部 2 ヶ所にヒスタミン 10 µg を皮内投与し、その直後に 0.625%エバンスブルー液を 4 mL/kg となるように尾静脈内に投与した。ヒスタミン投与の 30 分後に背部皮膚を摘出し、漏出した色素量を定量し、ヒスタミンで誘発した皮膚血管透過性に対する作用を検討した（第 4.2.1.1.6 項）。薬効評価は、経口投与と静脈内投与の 2 とおりで実施し、それぞれヒスタミン投与の 1 時間前及び 5 分前に被験物質を投与した。

経口投与での薬効評価では、ビラスチンは 1 mg/kg より有意に抑制し、50%有効用量（ED₅₀）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、ED₅₀ 値は 2.25 mg/kg であった（図 2.6.2.2.2.1-1）。

静脈内投与での薬効評価では、ビラスチンは 0.1 mg/kg より有意に抑制し、30%有効用量（ED₃₀）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、ED₃₀ 値は 281.4 µg/kg であった（図 2.6.2.2.2.1-2）。

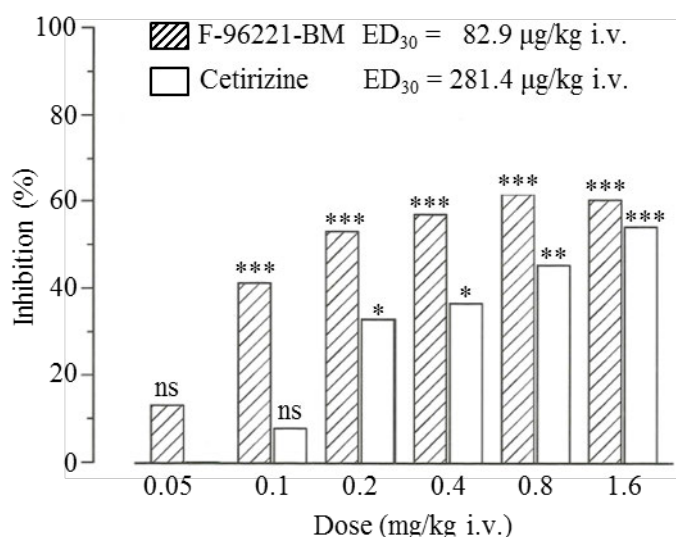


10 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$ versus vehicle-treated group (Student's *t*-test), ns: not significant

第 4.2.1.1.6 項 試験報告書 No.F96221BM.A50 Figure 1 改変

図 2.6.2.2.2.1-1 ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用（経口投与）



10 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$ versus vehicle-treated group (Student's *t*-test), ns: not significant

第 4.2.1.1.6 項 試験報告書 No.F96221BM (ANEXO1.A50) Figure 1 改変

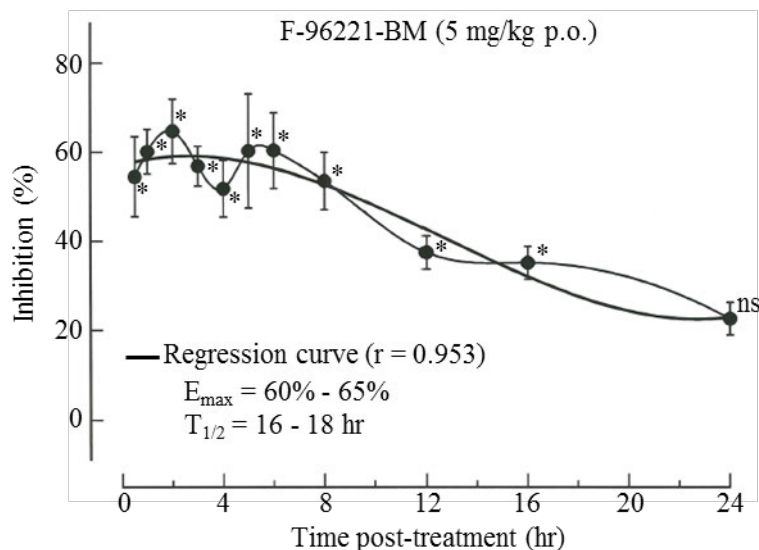
図 2.6.2.2.2.1-2 ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用（静脈内投与）

2.6.2.2.2.2 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の持続性

雄性 Wistar ラットの背部 2 ヶ所にヒスタミン 10 μg を皮内投与し、その直後に 0.625%エバンスブルー液を 4 mL/kg となるように尾静脈内に投与した。ヒスタミン投与の 30 分後に背部皮膚を摘出し、漏出した色素量を定量した。ビラスチンは 5 mg/kg の用量をヒスタミン投与の 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 16 及び 24 時間前の各時点に経口投与し、ヒスタミンで誘発した皮膚血管透過性に対する作用の持続性を検討した（第 4.2.1.1.7 項）。

ビラスチンはヒスタミン誘発の皮膚血管透過性亢進を投与 30 分から 8 時間までは 50%以上抑制し、投与後 12 時間から 16 時間までは 30%以上抑制した。

3 次回帰曲線（相関係数 $r = 0.953$ ）より得られた最大効果（ $E_{\max}$ ）と効力の半減時間は、それぞれ 60%~65%及び 16~18 時間と推定された（図 2.6.2.2.2-1）。



10 例の平均値と SE を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

*: $p < 0.001$ versus vehicle-treated group (Student's t -test), ns: not significant

第 4.2.1.1.7 項 試験報告書 No.F96221BM.A57 Figure 1 及び Summary table を改変

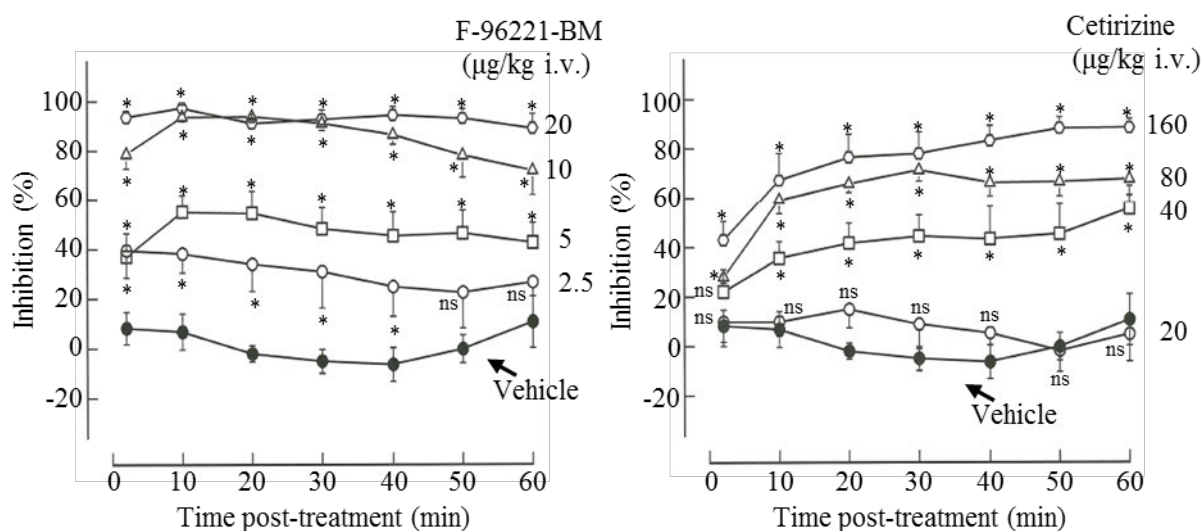
図 2.6.2.2.2-1 ラットのヒスタミン誘発皮膚血管透過性亢進に対するビラスチン投与後の経過時間と抑制率の推移

2.6.2.2.2.3 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（静脈内投与）

ウレタン麻酔下の雄性 Dunkin-Hartley モルモットに気管カニューレを挿入し、自発呼吸を停止させた後、人工呼吸（60 回/min）下で圧トランスジューサーを用いて経時的に気管内圧を測定した。頸静脈にカニューレーションを行い、ヒスタミン（2.5~12.5 $\mu\text{g/kg}$ ）に対する反応性が安定した時点で前値を測定後、被験物質を静脈内投与し、その 2, 10, 20, 30, 40, 50 及び 60 分後に前値と同量のヒスタミンを投与し、気管内圧増加に対する抑制率を算出し、ヒスタミンで誘発した気道収縮に対する作用を検討した（第 4.2.1.1.8 項）。

ビラスチンは、麻酔下モルモットのヒスタミン誘発の気管内圧増加を 2.5 $\mu\text{g/kg}$ より有意に抑制し（投与後 2~40 分, $p < 0.05$ ）、その作用は投与後 60 分まではほぼ一定であった（図 2.6.2.2.2.3-1）。各時間における ED_{50} 値は 3.67~6.15 $\mu\text{g/kg}$ であった（表 2.6.2.2.2.3-1）。

セチリジンは、40 $\mu\text{g/kg}$ より有意に抑制し（投与後 10~60 分, $p < 0.05$ ）、その作用は時間経過に伴い増強する傾向を示した（図 2.6.2.2.2.3-1）。各時間における ED_{50} 値は投与後 60 分が 33.63 $\mu\text{g/kg}$ と最も低かった（表 2.6.2.2.2.3-1）。



6 例の平均値と SE を示す。

*: $p < 0.05$ versus vehicle-treated group at same time (Student's t -test), ns: not significant

第 4.2.1.1.8 項 試験報告書 No.F96221BM.A30 Figure 1, Figure 2 及び Table 1~9 を改変

図 2.6.2.2.3-1 麻酔下モルモットのヒスタミン誘発気道収縮に対する抑制作用の経時的変化

表 2.6.2.2.3-1 麻酔下モルモットのヒスタミン誘発気道収縮に対する各時間での ED₅₀ 値

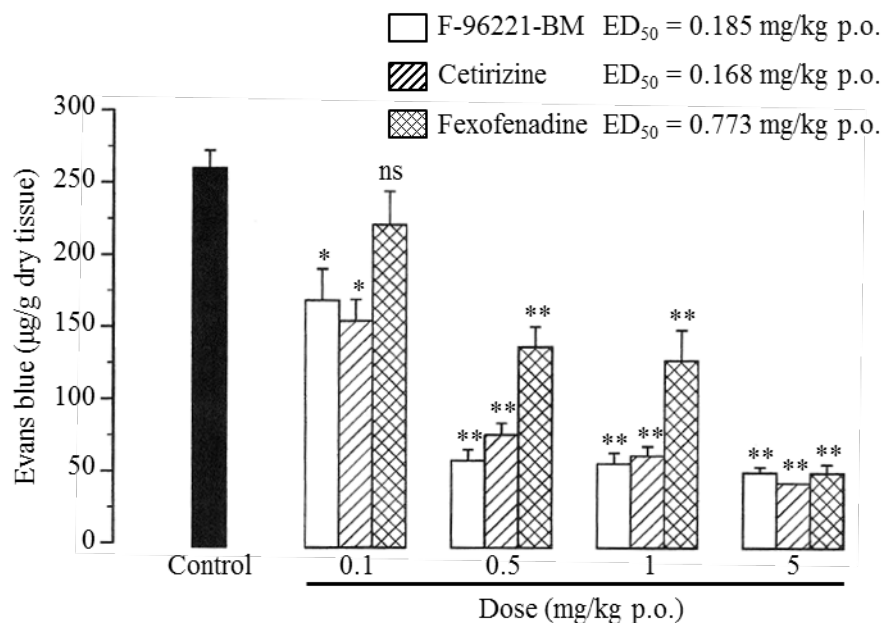
被験物質	投与後の経過時間 (分)						
	2	10	20	30	40	50	60
ピラスチン ED ₅₀ (μg/kg, i.v.)	6.15	3.67	3.89	4.27	4.75	5.31	5.55
セチリジン ED ₅₀ (μg/kg, i.v.)	>160	72.51	56.96	55.61	48.67	46.53	33.63

第 4.2.1.1.8 項 試験報告書 No.F96221BM.A30 Table 10 及び Table 11 を改変

2.6.2.2.2.4 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

雄性 Dunkin-Hartley モルモットの頸静脈にあらかじめカニューレーションを行い、ヒスタミン (150 μg/kg) とエバンスブルー (20 mg/kg) との混合液を 1 mL/kg となるように静脈内投与した。その 10 分後に気管を摘出し、漏出した色素量を定量し、ヒスタミンで誘発した気道血管透過性に対する作用を検討した。被験物質は、ヒスタミン投与の 1 時間前に経口投与した (第 4.2.1.1.9 項)。

ピラスチンは、ヒスタミン誘発の気道血管透過性亢進を 0.1 mg/kg より有意に抑制し、ED₅₀ 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 ED₅₀ 値はそれぞれ 0.168 及び 0.773 mg/kg であった (図 2.6.2.2.4-1)。



Control 群 10 例, F-96221-BM 群 3~6 例, cetirizine 群 2~5 例及び fexofenadine 群 3~6 例の平均値と SE を示す.

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ versus control group (Student's t -test), ns: not significant

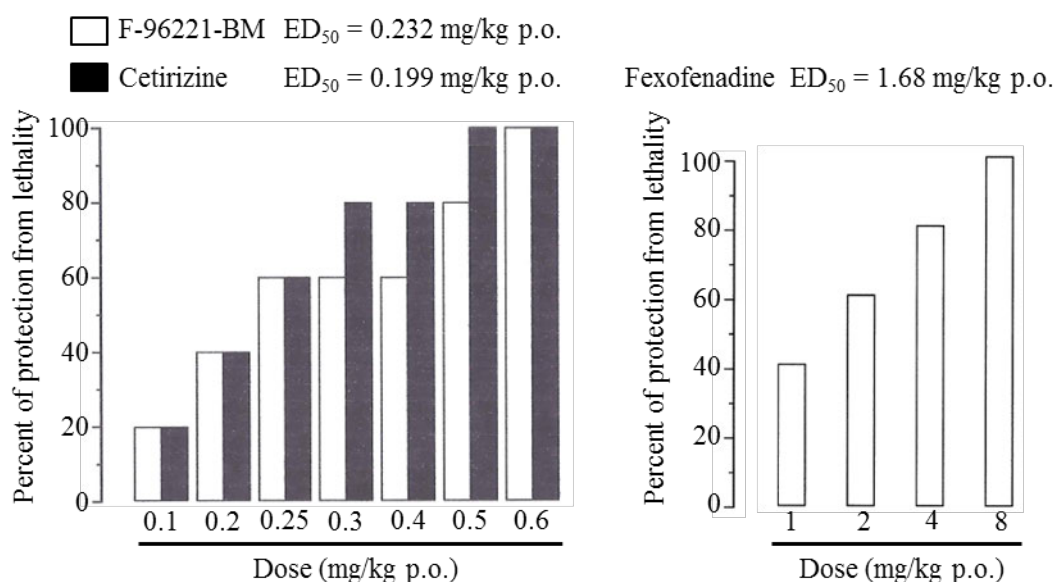
第 4.2.1.1.9 項 試験報告書 No.F96221BMC.A34 Figure 1 及び Table 1~3 を改変

図 2.6.2.2.4-1 モルモットのヒスタミン誘発気道漏出色素量に対する作用

2.6.2.2.2.5 モルモットのヒスタミン誘発致死に対する作用

雄性 Dunkin-Hartley モルモットに被験物質を経口投与し, その 1 時間後に致死量のヒスタミン (10 mg/kg) を皮下投与後 24 時間までの生死を観察し, ヒスタミンで誘発した致死に対する作用を検討した (第 4.2.1.1.10 項).

ビラスチン, セチリジン及びフェキソフェナジンは用量依存的にヒスタミン誘発致死を防御し, ED_{50} 値はそれぞれ 0.232, 0.199 及び 1.68 mg/kg であった (図 2.6.2.2.2.5-1).



5 例中の生存率を示す。

第 4.2.1.1.10 項 試験報告書 No.F96221BMC.A66 Figure 1, Table 1, Table 2 及び ANEXO1 Figure 1, Table 1 を改変

図 2.6.2.2.5-1 モルモットのヒスタミン誘発致死に対する防御作用

2.6.2.2.2.6 マウスのアルサス反応及び遅延型皮膚反応に対する作用

代表的な III 型及び IV 型アレルギーのモデルに対するビラスチンの作用を検討した（第 4.2.1.1.11 項、第 4.2.1.1.12 項）。

III 型アレルギーモデルであるアルサス反応は、雄性 CD1 マウスにヒツジ赤血球 (1.85×10^8 個) を day 1 と day 14 の 2 回腹腔内投与することにより感作し、その 5 日後に、ヒツジ赤血球 (0.9×10^8 個) を右後肢の足底部に投与することで惹起した。惹起 3 時間後に、左右の後肢を摘出し、重量の差から、浮腫率を算出した。被験物質は、惹起の 24 時間前と 1 時間前の 2 回、それぞれ経口投与した。

IV 型アレルギーモデルである遅延型皮膚反応は、雄性 CD1 マウスに 2%オキサゾロン 100 μL を腹部に塗布することにより感作し、その 8 日後に、2%オキサゾロン 10 μL を右耳介の裏面に塗布することで惹起した。惹起 24 時間後に、左右の耳介を摘出し、重量の差から、浮腫率を算出した。被験物質は、惹起の 1 時間前と 6 時間後の 2 回、それぞれ経口投与した。

ビラスチンの 100 mg/kg の経口投与では、アルサス反応及び遅延型皮膚反応に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（表 2.6.2.2.6-1、表 2.6.2.2.6-2）。

表 2.6.2.2.6-1 マウスのアルサス反応に対する抑制率

被験物質	Dose (mg/kg p.o.)	Inhibition (%)
ビラスチン	100	15.31
セチリジン	50	11.11
フェキソフェナジン	50	19.77

第 4.2.1.1.11 項 試験報告書 No.F96221BMC A73 Table 2 及び Table 3 を改変

表 2.6.2.2.6-2 マウスの遅延型皮膚反応に対する抑制率

被験物質	Dose (mg/kg p.o.)	Inhibition (%)
ビラスチン	100	4.22
セチリジン	100	7.07
フェキソフェナジン	100	0.74

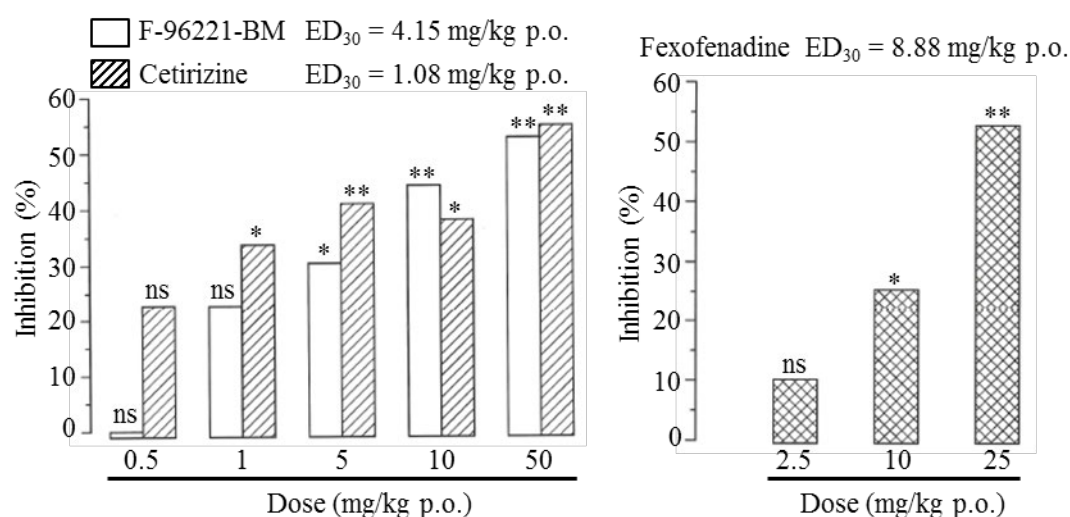
第 4.2.1.1.12 項 試験報告書 No.F96221BMC.A61 Table 3 改変

2.6.2.2.7 マウス能動感作皮膚アナフィラキシーに対する作用

OVA を完全フロイントアジュバント [免疫グロブリン G (IgG) 依存性マウス能動感作皮膚アナフィラキシー (ACA)] 又は水酸化アルミニウムゲル [免疫グロブリン E (IgE) 依存性マウス ACA] をアジュバントとして、雄性 CD1 マウスを能動感作した。その 2 週間後に、OVA を両耳の耳介部に皮内投与し、その直後に 0.5%エバンスブルー液を尾静脈に投与した。抗原惹起の 30 分後に両耳を摘出し、漏出した色素量を定量し、ACA に対する作用を検討した。被験物質は、抗原惹起の 1 時間前に経口投与した (第 4.2.1.1.13 項、第 4.2.1.1.14 項)。

IgG 依存性 ACA での薬効評価では、ビラスチン、セチリジン及びフェキソフェナジンの ED₃₀ 値はそれぞれ 4.15, 1.08 及び 8.88 mg/kg であった (図 2.6.2.2.7-1)。

IgE 依存性 ACA での薬効評価では、ビラスチン、セチリジン及びフェキソフェナジンの ED₃₀ 値はそれぞれ 3.82, 0.67 及び 9.35 mg/kg であった (図 2.6.2.2.7-2)。

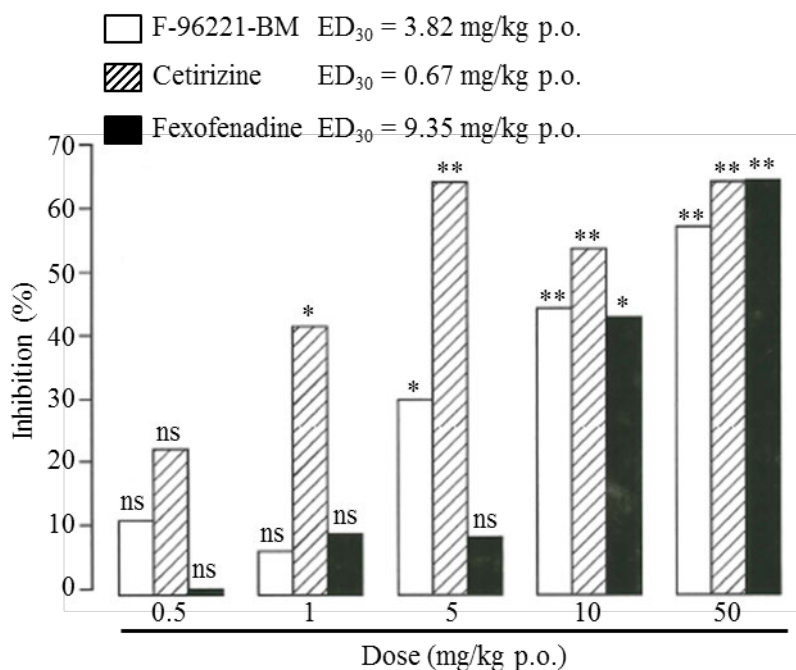


8~16 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

*: p<0.05, **: p<0.01 versus control group (Student's *t*-test), ns: not significant

第 4.2.1.1.13 項 試験報告書 No.F96221BMC.A71 Figure 1, Table 1, Table 2 及び Figure 2, Table 3 を改変

図 2.6.2.2.7-1 マウスの IgG 依存性 ACA に対する抑制作用



8~16 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ vs control group (Student's *t*-test), ns: not significant

第 4 2 1 1 14 項 試験報告書 No.F96221BMC.A72 Figure 1 及び Table 1~3 を改変

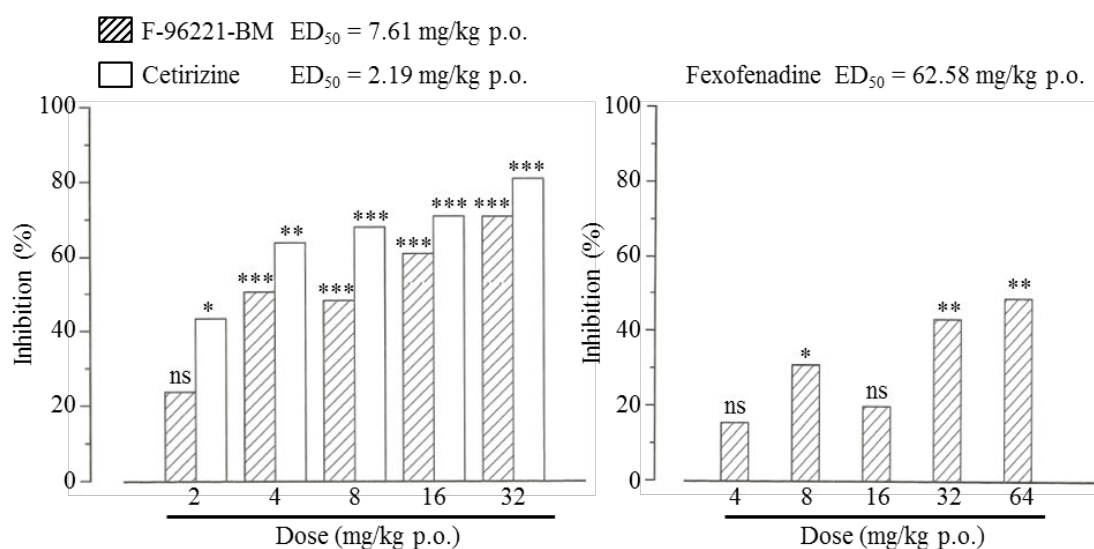
図 2.6.2.2.7-2 マウスの IgE 依存性 ACA に対する抑制作用

2.6.2.2.2.8 ラット受動感作皮膚アナフィラキシーに対する作用

雄性 Wistar ラットの背部に抗 OVA 血漿又は抗ジニトロフェニル (DNP) -IgE を皮内注射し受動感作した。その 48 時間後に、抗原とエバンスブルーとの混合液を尾静脈に投与した。抗原惹起の 30 分後に背部皮膚を摘出し、漏出した色素量を定量し、受動感作皮膚アナフィラキシー (PCA) に対する作用を検討した。被験物質は、抗原惹起の 1 時間前に経口投与した (第 4.2.1.1.15 項, 第 4.2.1.1.16 項)。

抗 OVA 血漿による PCA での薬効評価では、ビラスチン、セチリジン及びフェキソフェナジンの ED_{50} 値はそれぞれ 7.61, 2.19 及び 62.58 mg/kg であった (図 2.6.2.2.2.8-1)。

抗 DNP-IgE による PCA での薬効評価では、ビラスチン、セチリジン及びフェキソフェナジンの ED_{50} 値はそれぞれ 5.96, 4.27 及び 58.78 mg/kg であった (図 2.6.2.2.2.8-2)。

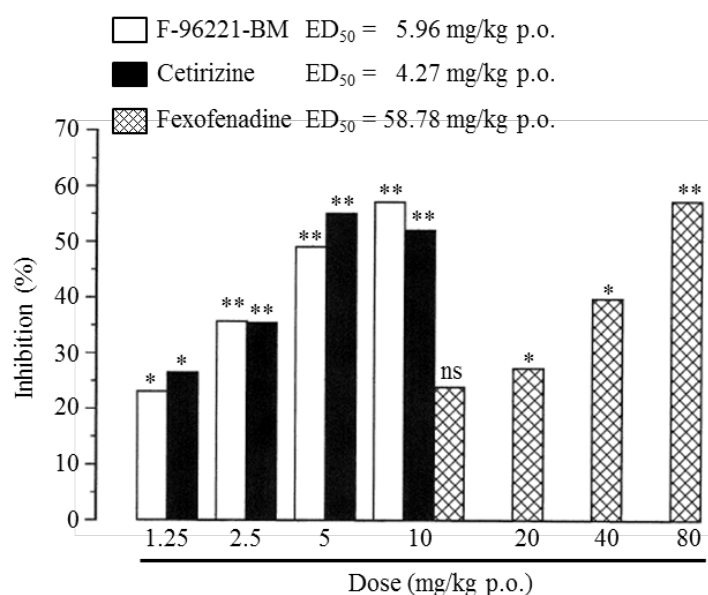


10 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ versus vehicle-treated group (Student's *t*-test), ns: not significant

第 4 2 1 1 15 項 試験報告書 No.F96221BM.A52 Figure 1 及び Figure 2 を改変

図 2.6.2.2.8-1 抗 OVA 血漿によるラット PCA に対する抑制作用



7 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ versus control group (Student's *t*-test), ns: not significant

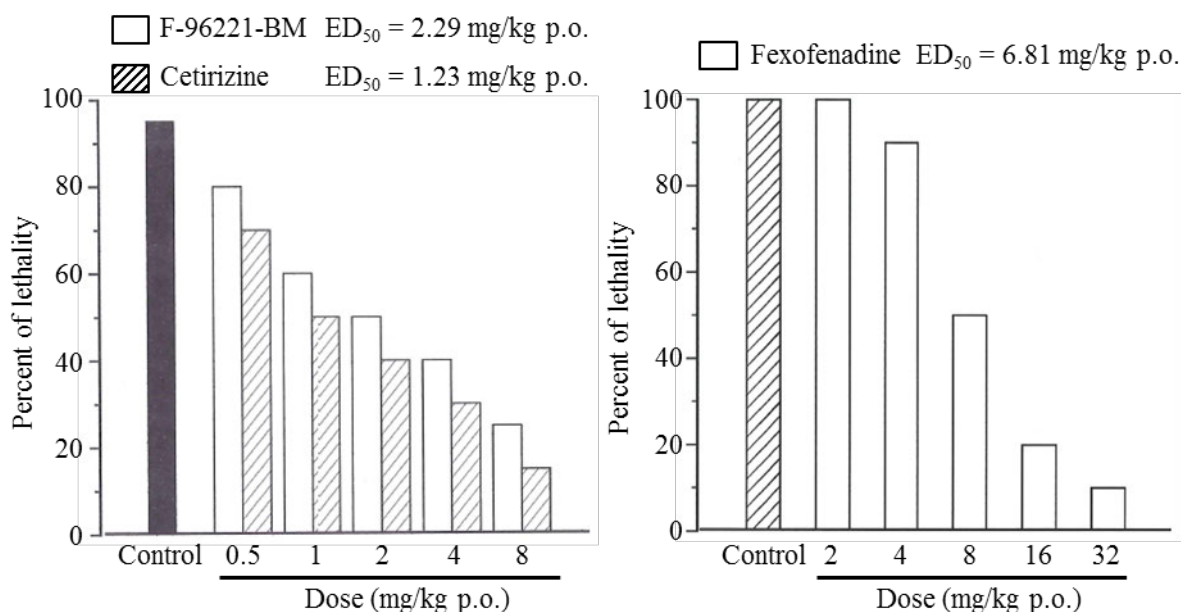
第 4 2 1 1 16 項 試験報告書 No.F96221BMC.A74 Figure 1 及び Table 1~3 を改変

図 2.6.2.2.8-2 抗 DNP-IgE によるラット PCA に対する抑制作用

2.6.2.2.2.9 ラットの compound 48/80 誘発致死に対する作用

雌性 Wistar ラットに被験物質を経口投与し、その 1 時間後に致死量の compound 48/80 (1 mg/kg) を尾静脈内投与した。Compound 48/80 投与後 2 時間までの生死を観察し、compound 48/80 で誘発した致死に対する作用を検討した (第 4.2.1.1.17 項)。

ビラスチン、セチリジン及びフェキソフェナジンは用量依存的に compound 48/80 誘発致死を防御し、ED₅₀ 値はそれぞれ 2.29, 1.23 及び 6.81 mg/kg であった (図 2.6.2.2.9-1)。



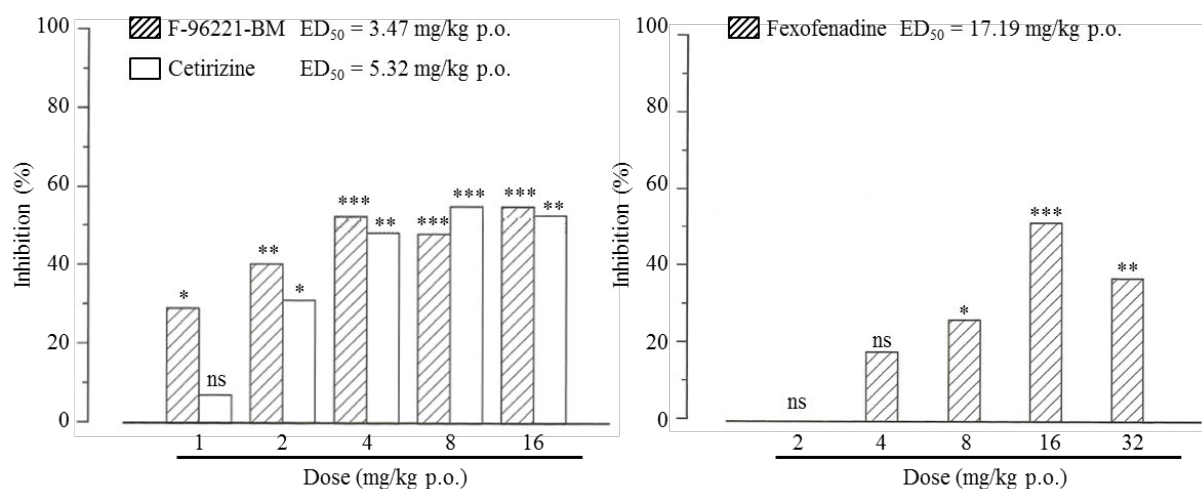
Control 群 10~40 例, F-96221-BM 群 10~20 例, cetirizine 群 10~20 例及び fexofenadine 群 10 例の致死率を示す。
第 4.2.1.1.17 項 試験報告書 No.F96221BMC.A58 Figure 1, Table 2, Table 3 及び ANEXO1 Figure 1, Table 2 を改変

図 2.6.2.2.9-1 ラットの compound 48/80 誘発致死に対する防御作用

2.6.2.2.2.10 ラットの compound 48/80 誘発皮膚血管透過性亢進に対する作用

雄性 Wistar ラットの背部 2 ヶ所に compound 48/80 0.3 µg を皮内注射し, その直後に 0.625% エバンスブルー液を 4 mL/kg となるように尾静脈内に投与した. Compound 48/80 投与の 30 分後に背部皮膚を摘出し, 漏出した色素量を定量し, compound 48/80 で誘発した皮膚血管透過性に対する作用を検討した. 被験物質は, compound 48/80 投与の 1 時間前に経口投与した (第 4.2.1.1.18 項).

ビラスチンは 1 mg/kg より有意に抑制し, ED₅₀ 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 ED₅₀ 値はそれぞれ 5.32 及び 17.19 mg/kg であった (図 2.6.2.2.2.10-1).



10 例の平均値を示す. 検定結果は, 色素漏出量での結果を示す.

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 versus vehicle-treated group (Student's t-test), ns: not significant

第 4.2.1.1.18 項 試験報告書 No.F96221BM.A69 Figure 1 及び ANEXO1 Figure 1, Summary table を改変

図 2.6.2.2.2.10-1 ラットの compound 48/80 誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 *In vitro*試験

ビラスチンの標的選択性を評価するため、30種類の受容体及びイオンチャネルに対する結合親和性、ヒスタミン受容体に対する作用、ムスカリン受容体に対する作用及び7種のケミカルメディエーターに対する作用について試験を実施した。

受容体及びイオンチャネルに対する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。ヒスタミン H₂, H₃, H₄受容体及びムスカリン M₁, M₂, M₃, M₄, M₅受容体には作用しなかった。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って生じ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 D₄には作用しなかった。

2.6.2.3.1.1 他の受容体及びイオンチャネルに対する結合親和性

30種類の受容体及びイオンチャネルに対する結合親和性を、標識リガンドを用いた結合試験で検討した（第 4.2.1.2.1 項）。ビラスチン 10 µmol/L の結合阻害率は最大でも 35%であり、作用がないか弱い阻害作用しか示さなかった（表 2.6.2.3.1.1-1）。

表 2.6.2.3.1.1-1 ビラスチンの各種受容体及びイオンチャネルに対する結合阻害率

Receptor	Ligand	Tissue	Displacement (%)
Adenosine A ₁	[³ H]DPCPX	Rat brain	7
Adenosine A _{2A}	[³ H]CGS-21680	Rat striatum	5
Adrenergic α ₁	[³ H]Prazosin	Rat brain	35
Adrenergic α ₂	[³ H]Rauwolscine	Rat cortex	15
Adrenergic β ₁	[¹²⁵ I]l-Cyanopindolol	Human, Recombinant	7
Adrenergic β ₂	[³ H]CGP-12177	Human, Recombinant	-1
Calcium channel (L)	[³ H]Nitrendipine	Rat cerebral cortex	-13
Dopamine D ₁	[³ H]SCH23390	Human, Recombinant	-2
Dopamine D _{2L}	[³ H]Spiperone	Human, Recombinant	-4
Estrogen	[³ H]Estradiol	Calf uterus	7
GABA _A agonist site	[³ H]Muscimol	Rat brain	21
GABA _A chloride channel	[³ H]TBOB	Rat cerebral cortex	-7
Glucocorticoid	[³ H]Dexamethasone	Human Jurkat cells	-7
Glutamate, NMDA, phencyclidine	[³ H]TCP	Rat cerebral cortex	2
Glutamate, non-selective	[³ H]L-Glutamate	Rat brain	-9
Glycine, strychnine sens.	[³ H]Strychnine	Rat spinal cord	-14
Insulin	[¹²⁵ I]Insulin	Rat liver	-3
Muscarinic M ₂	[³ H]NMS	Human, Recombinant	4
Muscarinic M ₃	[³ H]NMS	Human, Recombinant	8
Opiate δ	[³ H]DPDPE	Guinea pig brain	17
Opiate κ	[³ H]U-69593	Guinea pig brain	-11
Opiate μ	[³ H]DAMGO	Guinea pig brain	4
Phorbol ester	[³ H]PDBu	Mouse brain	18
Potassium [K _{ATP}]	[³ H]Glyburide	Syrian Hamster, HIT-T15	11
Progesterone	[³ H]R-5020	Calf uterus	3
Serotonin 5-HT ₁	[³ H]5-HT	Rat cerebral cortex	19
Serotonin 5-HT ₂	[³ H]Ketanserin	Rat brain	11
Sigma, non-selective	[³ H]DTG	Guinea pig brain	20
Sodium channel, site-2	[³ H]Batrachotoxin	Rat brain	25
Testosterone	[³ H]Mibolerone	Rat ventral prostate	2

ビラスチン 10 µmol/L での結合阻害率を示す。

第 4 2 1 2 1 項 試験報告書 No. 132041 PRIMARY TEST RESULTS 改変

2.6.2.3.1.2 ヒスタミン受容体に対する作用

ヒスタミン H₂, H₃, H₄ 受容体に対するビラスチンの作用を検討した (第 4.2.1.2.2 項, 第 4.2.1.2.3 項, 第 4.2.1.2.4 項). ビラスチンはこれらの受容体に対して作用しなかった (表 2.6.2.3.1.2-1).

表 2.6.2.3.1.2-1 ビラスチンのヒスタミン受容体に対する作用

受容体	組織又は細胞	アゴニスト	試験系	濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	試験成績
ヒスタミン H ₂	モルモット右心房	Dimaprit	心拍数	100	作用なし
ヒスタミン H ₃	モルモット空腸	α -methyl-histamine	収縮反応	30	作用なし
ヒスタミン H ₄	Human recombinant HEK293 細胞	[³ H]histamine	結合親和性	10	作用なし

2.6.2.3.1.3 ムスカリン受容体に対する作用

ムスカリン M₁, M₂, M₃, M₄, M₅ 受容体に対するビラスチンの作用を検討した. それぞれの受容体の安定発現株 (ラット C6 神経膠腫細胞) を用いて, アセチルコリンによる細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇に対する作用を検討した (第 4.2.1.2.5 項). ビラスチンは 100 $\mu\text{mol/L}$ まで検討したが, これらの受容体に対して作用しなかった. 一方, デスロラタジンでは, すべての受容体に対して阻害作用を示した (表 2.6.2.3.1.3-1).

表 2.6.2.3.1.3-1 ビラスチン及びデスロラタジンのムスカリン受容体に対する作用

受容体	例数	ビラスチン	デスロラタジン IC ₅₀ (nmol/L), 平均値と SE
ムスカリン M ₁	3	作用なし	65 $\pm$ 6
ムスカリン M ₂	3	作用なし	21 $\pm$ 2
ムスカリン M ₃	4	作用なし	165 $\pm$ 14
ムスカリン M ₄	3	作用なし	219 $\pm$ 30
ムスカリン M ₅	4	作用なし	116 $\pm$ 7

第 4.2.1.2.5 項 試験報告書 No. [REDACTED] Table 1 及び Appendix 2 を改変

2.6.2.3.1.4 ケミカルメディエーターに対する作用

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ビラスチンの作用を検討した (第 4.2.1.2.6 項, 第 4.2.1.2.7 項, 第 4.2.1.2.8 項, 第 4.2.1.2.9 項, 第 4.2.1.2.10 項, 第 4.2.1.2.11 項, 第 4.2.1.2.12 項). ビラスチンは, アセチルコリンとブラジキニンによって生じるモルモット回腸収縮反応を 100 $\mu\text{mol/L}$ 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. その他, 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 D₄ には作用しなかった (表 2.6.2.3.1.4-1).

表 2.6.2.3.1.4-1 ビラスチンの摘出組織を用いたケミカルメディエーターに対する作用

ケミカルメディエーター	組織	試験系	濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	試験成績
セロトニン	ラット尾動脈	収縮反応	100	作用なし
ノルアドレナリン	ウサギ胸部大動脈	収縮反応	100	作用なし
アセチルコリン	モルモット回腸	収縮反応	100	弱い阻害作用 ($pA_2 = 3.83$)
			30	作用なし
カルシウム	モルモット回腸	収縮反応	100	作用なし
ブラジキニン	モルモット回腸	収縮反応	100	弱い阻害作用 ($pD'_2 = 3.02$)
イソプロテレノール	モルモット気管	弛緩反応	100	作用なし
ロイコトリエン D_4	モルモット気管	収縮反応	100	作用なし

アセチルコリン誘発収縮反応に対するセチリジン 100 $\mu\text{mol/L}$ での阻害作用: $pA_2 = 4.08$ (第 4.2.1.2.8 項 試験報告書 No.F96221BMC.A03 Table 2 数値化)

ブラジキニン誘発収縮反応に対するセチリジン 100 $\mu\text{mol/L}$ での阻害作用: $pD'_2 = 3.13$ (第 4.2.1.2.10 項 試験報告書 No.F96221BMC.A05 Table 2 数値化)

2.6.2.3.2 *In vivo*試験

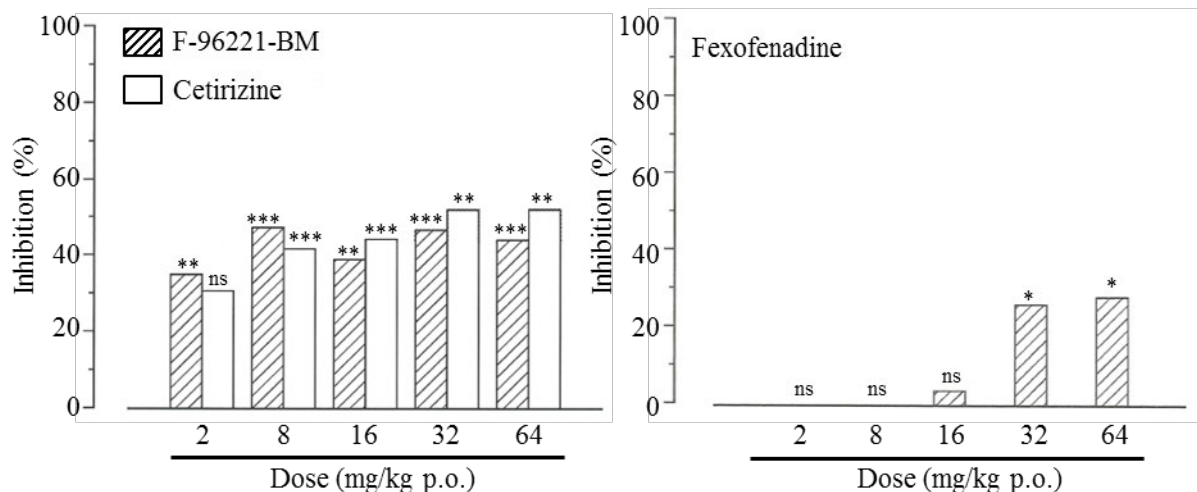
ラットを用いて、セロトニン及びブラジキニン誘発皮膚血管透過性亢進とヒスタミン及びカルバコール誘発胃酸分泌に対する作用を主にセチリジンを対照として、試験を実施した。

セロトニン及びブラジキニン誘発皮膚血管透過性亢進に対して、ビラスチン、セチリジン及びフェキソフェナジンは有意な抑制作用を示した。一方、ヒスタミン及びカルバコール誘発胃酸分泌に対しては、ビラスチン及びセチリジンは作用しなかった。

2.6.2.3.2.1 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

雄性 Wistar ラットの背部 2 ヶ所にセロトニン 0.5 μg を皮内投与し、その直後に 0.625%エバンスブルー液を 4 mL/kg となるように尾静脈内に投与した。セロトニン投与の 30 分後に背部皮膚を摘出し、漏出した色素量を定量し、セロトニンで誘発した皮膚血管透過性に対する作用を検討した。被験物質は、セロトニン投与の 1 時間前に経口投与した (第 4.2.1.2.13 項)。

ビラスチンは 2 mg/kg より、セチリジンは 8 mg/kg より、フェキソフェナジンは 32 mg/kg より、それぞれ有意に抑制した (図 2.6.2.3.2.1-1)。



10 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ versus vehicle-treated group (Student's *t*-test), ns: not significant

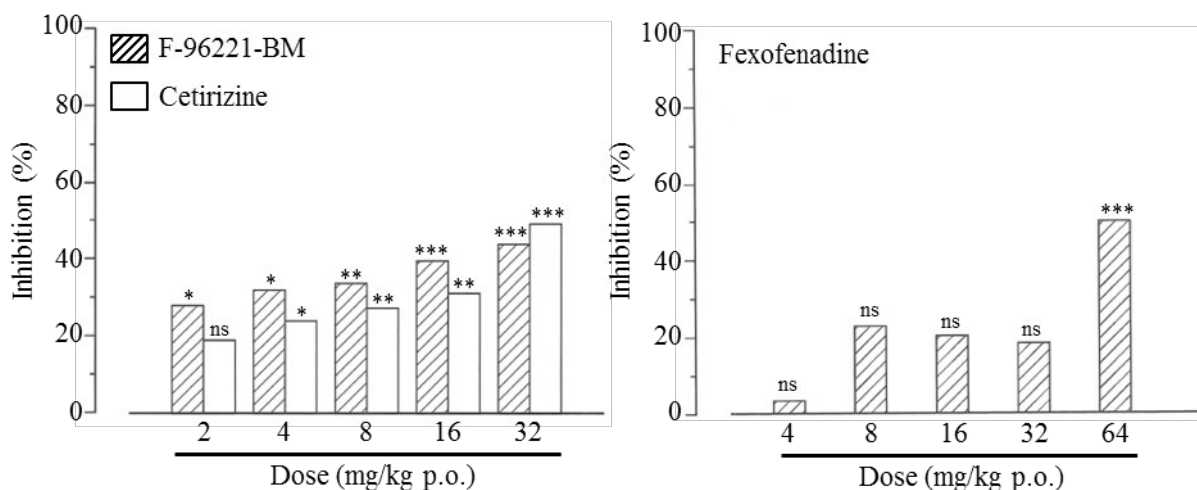
第 4.2.1.2.13 項 試験報告書 No.F96221BM.A51 Figure 1 及び ANEXO1 Figure 1 を改変

図 2.6.2.3.2.1-1 ラットのセロトニン誘発皮膚血管透過性亢進に対する抑制作用

2.6.2.3.2.2 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

雄性 Wistar ラットの背部 2 ヶ所にブラジキニン 6 μ g を皮内投与し、その直後に 0.625%エバンスブルー液を 4 mL/kg となるように尾静脈内に投与した。ブラジキニン投与の 30 分後に背部皮膚を摘出し、漏出した色素量を定量し、ブラジキニンで誘発した皮膚血管透過性に対する作用を検討した。被験物質は、ブラジキニン投与の 1 時間前に経口投与した (第 4.2.1.2.14 項)。

ビラスチンは 2 mg/kg より、セチリジンは 4 mg/kg より、フェキソフェナジンは 64 mg/kg で、それぞれ有意に抑制した (図 2.6.2.3.2.2-1)。



10 例の平均値を示す。検定結果は、色素漏出量での結果を示す。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ versus vehicle-treated group (Student's *t*-test), ns: not significant

第 4.2.1.2.14 項 試験報告書 No.F96221BM.A53 Figure 1 及び ANEXO1 Figure, Table 13 を改変

図 2.6.2.3.2.2-1 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抑制作用

2.6.2.3.2.3 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する作用

ウレタン麻酔下の雄性 Wistar ラット胃内に十二指腸カニューレを挿入して、経時的に胃内 pH を測定しながら、頸静脈よりヒスタミン (500 µg/mL, 2.4 mL/hr) 又はカルバコール (20 µg/kg/hr) を持続注入した。胃内 pH が 2~3 に安定した時点で、被験物質 (50 mg/kg/hr) を持続注入し、その後の pH 変化を検討した (第 4.2.1.2.15 項及び第 4.2.1.2.16 項)。

ビラスチン及びセチリジンは、pH に影響せず、ヒスタミン及びカルバコール誘発胃酸分泌には作用しなかった。

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験では、心血管系、中枢神経系、呼吸器系、消化器系及び赤血球膜に及ぼすビラスチンの影響を検討した。

2.6.2.4.1 心血管系

2.6.2.4.1.1 In vitro試験

2.6.2.4.1.1.1 電気刺激モルモット左心房における変力作用に及ぼす影響

ビラスチン並びに他の H₁ 選択的抗ヒスタミン薬であるアステミゾール、テルフェナジン及びセチリジンの電気刺激モルモット左心房に及ぼす影響を検討するため、モルモットの左心房を使用し心筋細胞の収縮力を測定した (第 4.2.1.3.1.1 項)。この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) 下で実施しなかった。ビラスチン及びセチリジン (いずれも濃度 100 µmol/L) は、電気刺激モルモット左心房に対して明らかな変力作用を示さなかった。一方、アステミゾール及びテルフェナジン (いずれも濃度 10, 30 及び 100 µmol/L) は、濃度 30 及び 100 µmol/L で著明で用量依存的な陰性変力作用を示した (アステミゾールで各々 52.57% 及び 83.41%, テルフェナジンで各々 70.57% 及び 82.81%) (図 2.6.2.4.1.1.1-1)。

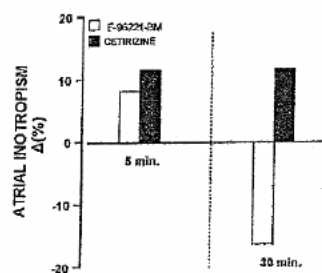
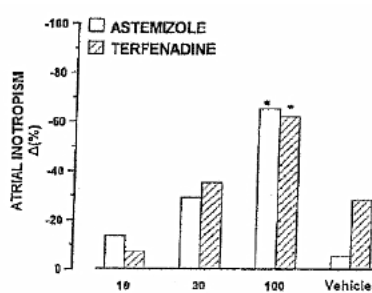


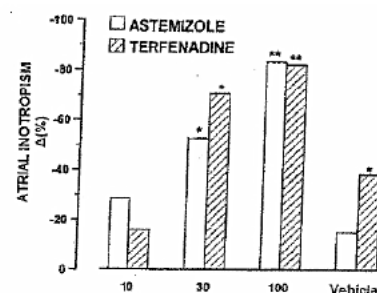
Figure 1



Statistical analysis : *p<0.05

(Student's t-test)

Figure 2



Statistical analysis : *p<0.05, **<0.01

(Student's t-test)

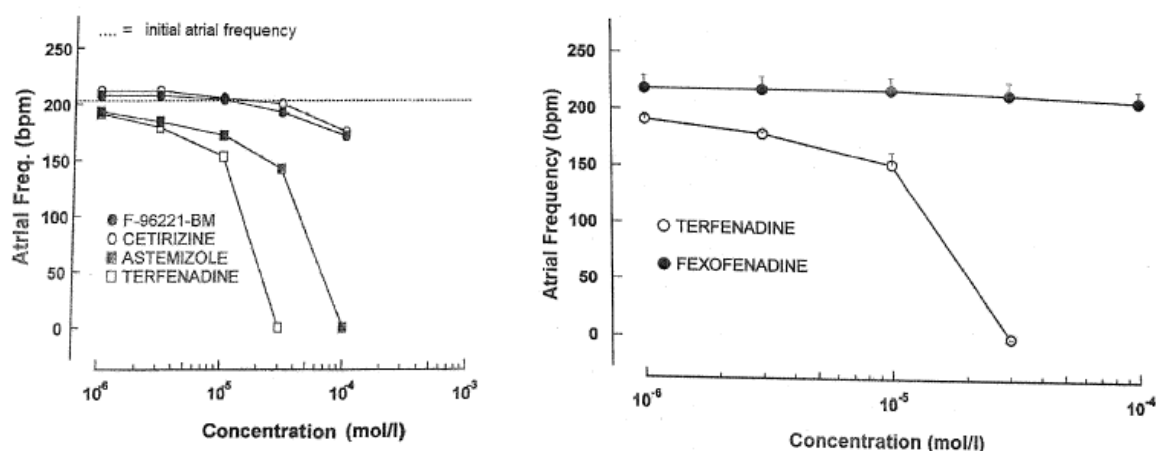
Figure 3

第 4.2.1.3.1.1 項 試験報告書 No. F96221BMC.V01 ANNEX Figure 1 (薬剤添加後 5, 30 分), Figure 2 (薬剤添加後 5 分), Figure 3 (薬剤添加後 30 分)

図 2.6.2.4.1.1.1-1 電気刺激モルモット左心房における変力作用に及ぼす影響

2.6.2.4.1.1.2 モルモット右心房自発拍動の変時作用に及ぼす影響

非 GLP 試験として、ビラスチン及び他の H_1 選択的抗ヒスタミン薬（アステミゾール、テルフェナジン、セチリジン及びフェキソフェナジン）の心拍数に及ぼす影響をモルモットの右心房自発拍動で検討した（第 4.2.1.3.1.2 項）。被験物質の添加前に記録された拍動数の平均値は 203.54 ± 3.60 回/分であった。ビラスチン、フェキソフェナジン及びセチリジン（濃度はいずれも $100 \mu\text{mol/L}$ ）は変時作用を示さなかった（心房調律の低下率それぞれ 11.04%, 3.08%及び 17.32%）。一方、アステミゾールでは $30 \mu\text{mol/L}$ から心拍数の顕著な低下（28.28%）を発現し、 $100 \mu\text{mol/L}$ では完全に停止した。テルフェナジンでも同様の影響を認め、 $10 \mu\text{mol/L}$ で心拍数が顕著に低下し（22.34%）， $30 \mu\text{mol/L}$ で停止した。ビラスチンはモルモット心臓に対して変時作用を示さなかった（図 2.6.2.4.1.1.2-1）。



第 4.2.1.3.1.2 項 試験報告書 No. F96221BMC.V11 ANEXO Figure 1 及び ANEXO.V11 Figure 1

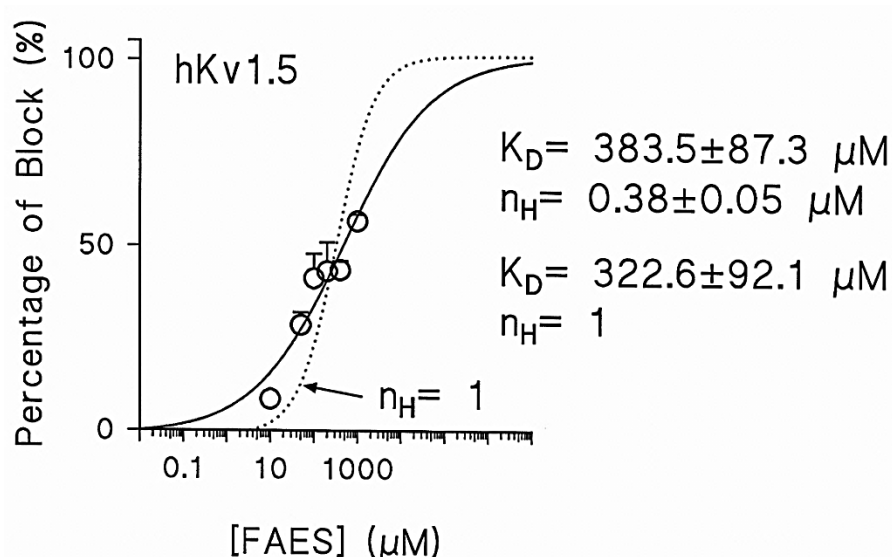
図 2.6.2.4.1.1.2-1 モルモット右心房自発拍動の変時性に及ぼす影響

2.6.2.4.1.1.3 心再分極に関与するヒトクローンカリウムチャネルに対する直接的影響

非 GLP 試験として、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検討した（第 4.2.1.3.1.3 項）。ヒト $Kv1.5$ カリウムチャネル（hKv1.5）発現細胞、hERG 発現細胞、 $KvLQT1$ カリウムチャネル（ $KvLQT1$ ）+minK カリウムチャネル（minK）発現細胞、及び $Kv4.3$ カリウムチャネル（ $Kv4.3$ ）発現細胞を使用した。各薬物濃度の抑制率から解離定数（ K_d ）及び Hill 係数（nH）を算出した。その結果、いずれのカリウムチャネル電流に対しても抑制することが示された。

(1) hKv1.5 電流に対するビラスチンの影響

ビラスチン（ $10 \sim 1000 \mu\text{mol/L}$ ）は定常状態電流を濃度依存的に低下させた。持続時間 500 ms, +60 mV 刺激後の電流低下の指標とした。濃度反応式の個々のデータを非線形最小二乗法に当てはめると、見かけの K_d は $383.5 \pm 87.3 \mu\text{mol/L}$, nH は $0.38 \pm 0.05 \mu\text{mol/L}$ であった。nH を 1 に固定して同じデータを当てはめると、 K_d は $322.6 \pm 92.1 \mu\text{mol/L}$ となった（図 2.6.2.4.1.1.3-1）。

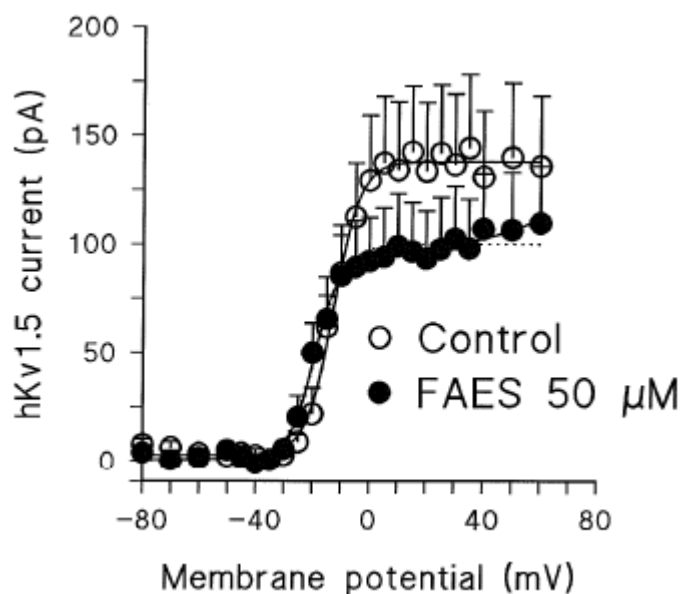


FAES : ビラスチン

第 4.2.1.3.1.3 項 試験報告書 No. F96221BM Figure 2

図 2.6.2.4.1.1.3-1 ビラスチンの濃度依存性 hKv1.5 電流のブロック

ビラスチンは、-25 及び -20 mV のパルスで惹起した電流を各々 190.8% 及び 87.6% 増大させた。-20 mV 以上の正の膜電位で、ビラスチンはすべての用量で hKv1.5 電流を低下させた。薬物-チャネル間相互作用に対する電位の影響を定量化するため、膜電位に対する相対的電流値をコントロール条件下で求めた平均活性化曲線とともにプロットした。チャネルの活性化に伴い発生した抑制は 5 mV で最大値に到達し ($25.9 \pm 6.1\%$, $P < 0.05$)、以後は一定を保った。更に hKv1.5 チャネル活性化の電位依存性を解析したところ、ビラスチンはこのプロセスを変化させた。コントロール条件下で、データをボルツマン分布へ当てはめ、活性化曲線を算出したところ、薬物非存在下の V_h 及び k の平均値はそれぞれ -12.8 ± 1.2 及び 4.5 ± 0.4 mV であった ($n = 6$) (図 2.6.2.4.1.1.3-2)。



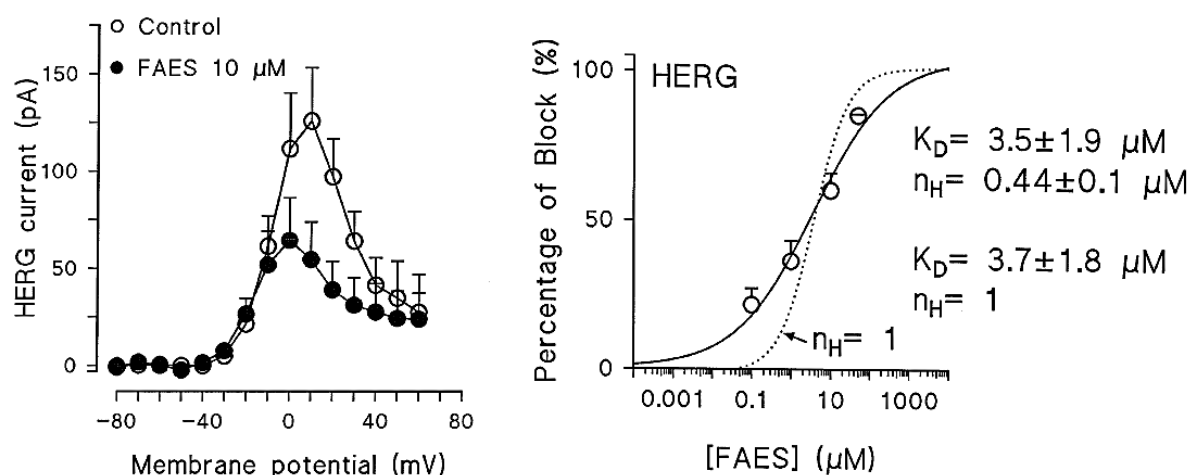
FAES : ビラスチン

第 4.2.1.3.1.3 項 試験報告書 No. F96221BM Figure 5

図 2.6.2.4.1.1.3-2 ビラスチンの電圧依存性 hKv1.5 チャネル活性の影響

(2) hERG 電流に及ぼすビラスチンの影響

ビラスチンは、+10 mV のパルス刺激後に惹起される最大外向き電流を $60.2 \pm 5.2\%$ 低下させた ($n = 6$, $P < 0.05$)。この作用には電流活性化の加速を伴い、活性化の時定数は 629 ± 99 msec に低下した ($n = 6$, $P < 0.01$)。また、ビラスチンは最大テール電流を 263.1 ± 32.3 pA から 125.2 ± 22.1 pA に低下させた ($n = 6$, $P < 0.01$)。ビラスチン $10 \mu\text{mol/L}$ は、テール電流非活性化の経時変化にほとんど影響しなかったが、 $0.1 \sim 50 \mu\text{mol/L}$ は定常状態電流を濃度依存的に低下させた。濃度反応式の個々のデータを非線形最小二乗法に当てはめたところ、見かけの K_d は $3.5 \pm 1.9 \mu\text{mol/L}$, n_H は 0.44 ± 0.1 であった。 n_H を 1 に固定したとき、 K_d は $3.7 \pm 1.8 \mu\text{mol/L}$ となった。+60 mV の 5 秒間パルス刺激後、-60 mV に戻したとき、ビラスチンは最大テール電流を 373 ± 34.5 pA から 158.1 ± 24.5 pA に低下させた ($n = 6$, $P < 0.01$) (図 2.6.2.4.1.1.3-3)。



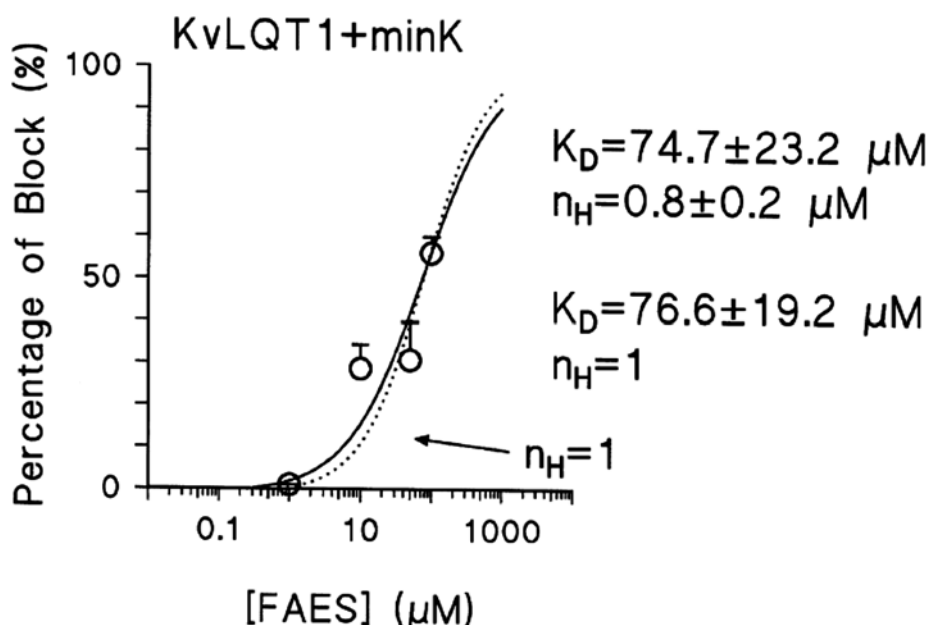
FAES : ビラスチン

第 4.2.1.3.1.3 項 試験報告書 No. F96221BM Figure 7 及び 8 合体

図 2.6.2.4.1.1.3-3 ビラスチンの濃度依存性 hERG 電流の阻害作用

(3) KvLQT1 + minK 電流に及ぼすビラスチンの影響

ビラスチンは、最大外向き電流を $56.0 \pm 3.9\%$ 低下させたが ($n = 8$, $P < 0.05$)、活性化速度は変化しなかった。ビラスチンは濃度依存的に定常状態電流を低下させた。非線形最小二乗法を用いて、個々のデータを濃度反応式に当てはめたところ、見かけの K_d 値は $74.7 \pm 23.2 \mu\text{mol/L}$, n_H は 0.8 ± 0.2 であった。 n_H を 1 に固定したとき、 K_d は $76.6 \pm 19.2 \mu\text{mol/L}$ となった。また、ビラスチンは最大テール電流を低下させ、テール電流低下の経時変化に影響しなかった ($\tau = 628 \pm 82$ ms, $n = 8$, $P > 0.05$) (図 2.6.2.4.1.1.3-4)。



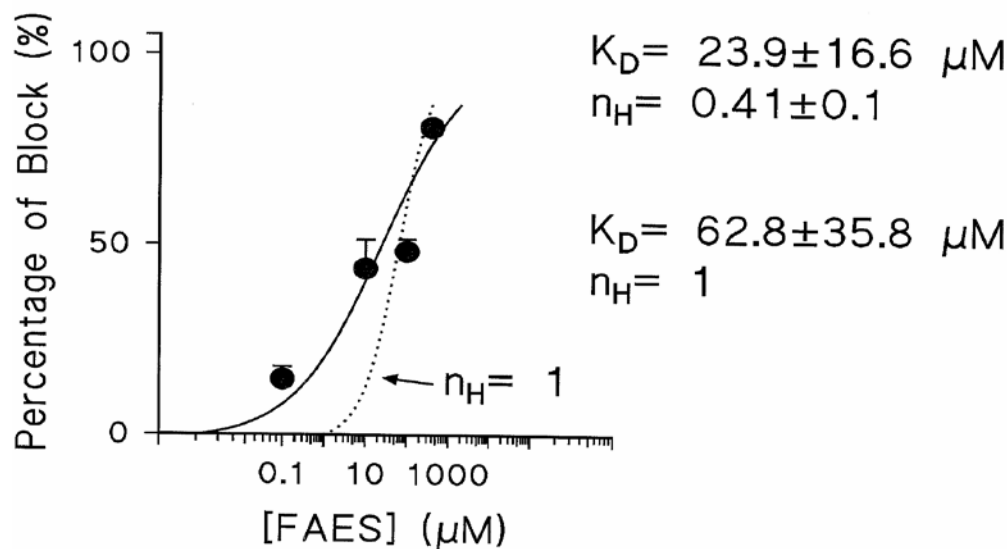
FAES : ビラスチン

第 4.2.1.3.1.3 項 試験報告書 No. F96221BM Figure 12

図 2.6.2.4.1.1.3-4 ビラスチンの濃度依存性 KvLQT1+minK 電流の阻害作用

(4) Kv4.3 電流に及ぼすビラスチンの影響

ビラスチンは濃度 100 $\mu\text{mol/L}$ において、+50 mV で惹起された最大電流を $31.2 \pm 7.2\%$ 低下させ ($n = 7$, $P > 0.05$), 不活性化過程の経時変化を加速し, τ_f 及び τ_s を各々 10.4 ± 1.9 ms 及び 48.3 ± 4.5 ms に低下させた ($n = 7$, $P < 0.05$). また, Kv4.3 電流が活性化する膜電位で, ビラスチンは最大 Kv4.3 電流をわずかに低下させた. ビラスチンは Kv4.3 チャネルの電流低下の加速に顕著に影響した. 最大電流の低下は定常状態の阻害ではなく, 開口チャネルの阻害を示唆した. ビラスチンは, -15 mV 以上のテストパルスにより膜を通過する電荷を顕著に低下させた ($n = 7$, $P < 0.05$). また, ビラスチンは持続時間 250 ms, +50 mV のパルス刺激したとき, 膜を通過する電荷を $48.4 \pm 3.2\%$ 低下させ, 同じ電位で惹起された最大電流に対する阻害より顕著に大きかった ($P < 0.01$). ビラスチンの Kv4.3 チャネルに対する影響の濃度依存性を解析したところ, 見かけの K_d は $23.9 \pm 16.6 \mu\text{mol/L}$, n_H は $0.41 \pm 0.1 \mu\text{mol/L}$ であった. n_H を 1 に固定したとき, K_d は $62.8 \pm 35.8 \mu\text{mol/L}$ となった. 更に, ビラスチンはチャネル不活性化の電位依存性を変化させ, 不活性化曲線の中点をより負の電位側にシフトさせた. 以上より, ビラスチンは不活化状態のチャネルに優先的に結合すると考えた (図 2.6.2.4.1.1.3-5).



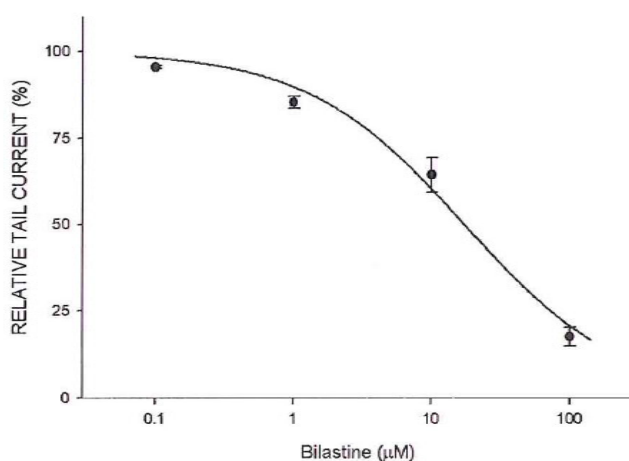
FAES: ビラスチン

第 4.2.1.3.1.3 項 試験報告書 No. F96221BM Figure 16

図 2.6.2.4.1.1.3-5 ビラスチンの濃度依存性 Kv4.3 電流の阻害作用

2.6.2.4.1.1.4 hERG電流に及ぼすビラスチンの影響

GLP 試験として、hERG チャンネルを発現させた HEK293 細胞を用い、hERG 電流に及ぼすビラスチン (0.1 $\mu\text{mol/L}$ - 100 $\mu\text{mol/L}$) の影響を検討した (第 4.2.1.3.1.4 項)。ビラスチンは 1 $\mu\text{mol/L}$ 以上で hERG 電流を有意に抑制し、 IC_{50} 値は 17.17 $\mu\text{mol/L}$ であった (図 2.6.2.4.1.1.4-1)。



第 4.2.1.3.1.4 項 試験報告書 No. A0781 Figure 1

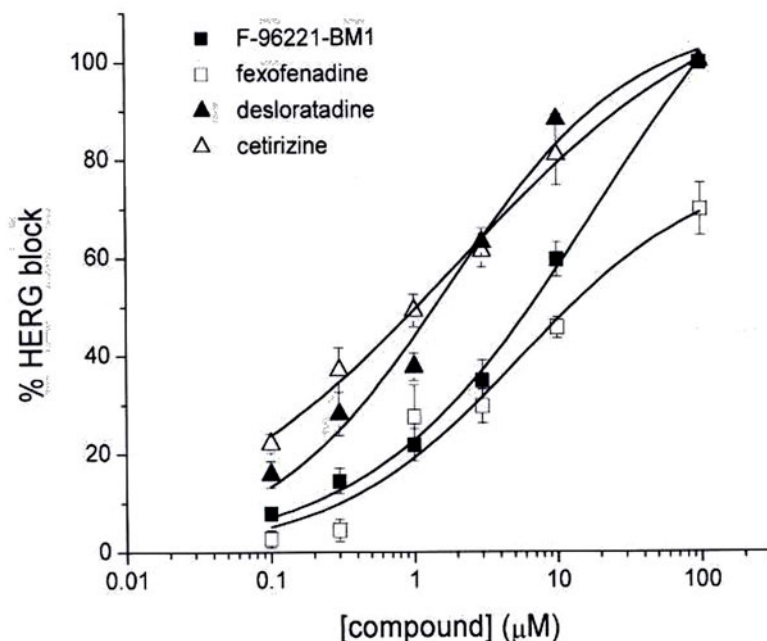
図 2.6.2.4.1.1.4-1 ビラスチンの hERG 電流の阻害作用

2.6.2.4.1.1.5 hERG電流に及ぼす影響: 急速活性化遅延整流外向きK電流(I_{kr})

非 GLP 試験として、hERG チャンネルを発現させた HEK293 細胞を用い、ビラスチン、セチリジン、フェキソフェナジン及びデスロラタジンの hERG 電流に及ぼす影響を検討した (第 4.2.1.3.1.5

項). ビラスチンは hERG 電流を用量依存的に低下させた. ビラスチンの濃度反応関係を Hill の式に当てはめたところ, IC_{50} 値は $6.5 \mu\text{mol/L}$ であった. HEK293 細胞に $0.1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ のビラスチンを曝露し, 3 Hz のペーシングで生じる速度依存的な hERG 電流をわずかに抑制した. 他の薬物の IC_{50} 値は, フェキソフェナジン $12.5 \mu\text{mol/L}$, デスロラタジン $1.4 \mu\text{mol/L}$ 及びセチリジン $1.1 \mu\text{mol/L}$ であった.

ビラスチンを含む化合物は hERG 電流を濃度依存的に低下させ, その効果はフェキソフェナジンが最も弱く, セチリジン及びデスロラタジンが最も強かった (図 2.6.2.4.1.1.5-1).



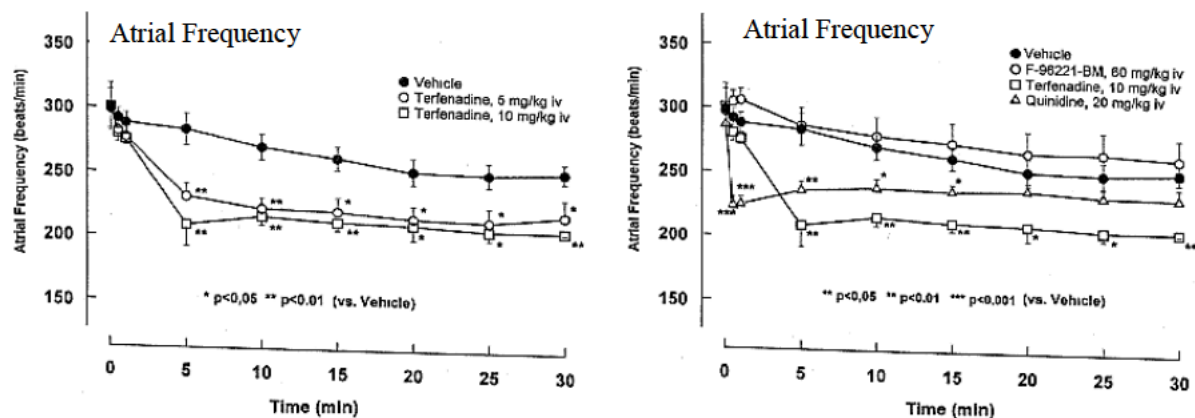
第 4.2.1.3.1.5 項 試験報告書 No. FAES 02/01 Figure 1

図 2.6.2.4.1.1.5-1 ビラスチン, セチリジン, フェキソフェナジン及びデスロラタジンによる用量依存性 hERG 電流の阻害作用

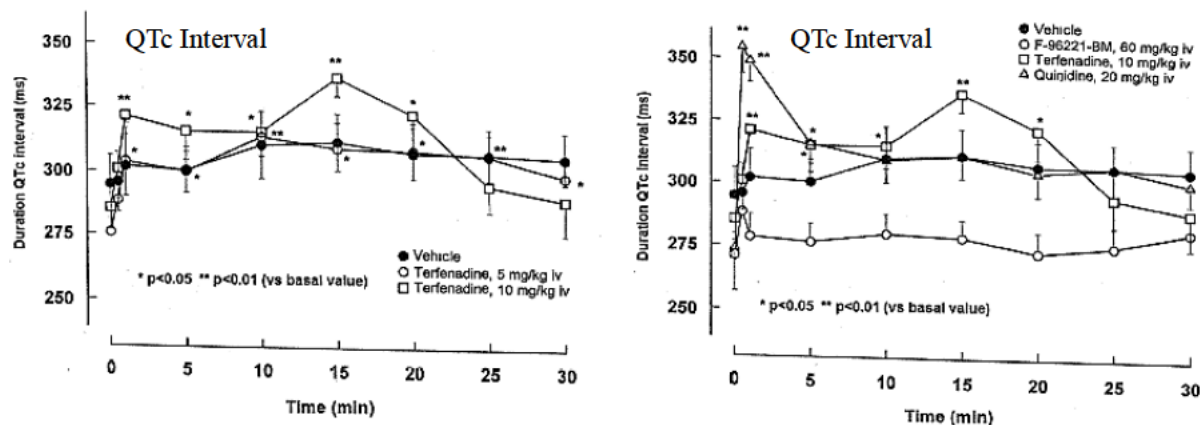
2.6.2.4.1.2 *In vivo*試験

2.6.2.4.1.2.1 麻酔下モルモットの心電図に対する影響

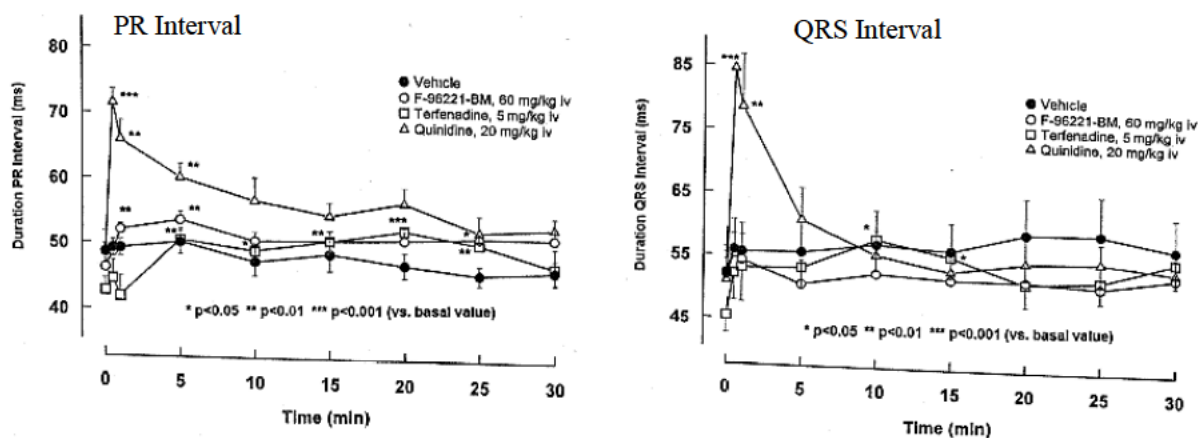
非 GLP 試験として, ビラスチン, テルフェナジン及びキニジンを静脈内投与した場合の麻酔下モルモットの心電図パラメータに対する影響を検討した (第 4.2.1.3.1.6 項). ウレタン麻酔 (1.5 g/kg , 腹腔内投与) を処置した各群 6 匹のモルモットを用い, DII 誘導に従って皮下に電極を設置し, 心電図を記録することで, 心拍数, 補正 QT 間隔 (QTc), PR 間隔 (PR) 及び QRS 波を測定した. ビラスチンは 60 mg/kg , キニジンは 20 mg/kg , テルフェナジンは 5 及び 10 mg/kg を投与した. 被験物質投与の影響を検討するため, 投与 30 秒後, 並びに 1, 5, 10, 15, 20, 25 及び 30 分後に心電図を記録した. ビラスチン 60 mg/kg は, 心拍数, QTc, PR 及び QRS 波に影響しなかった. テルフェナジン 5 及び 10 mg/kg 群は心拍数の低下, 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 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. この試験条件下では, ビラスチンによって心毒性が発現する可能性はないと考えた (図 2.6.2.4.1.2.1-1) .



第 4.2.1.3.1.6 項 試験報告書 No. F96221BMV39 (ANEXO) Figure 1, Figure 2



第 4.2.1.3.1.6 項 試験報告書 No. F96221BMV39 (ANEXO) Figure 3, Figure 4



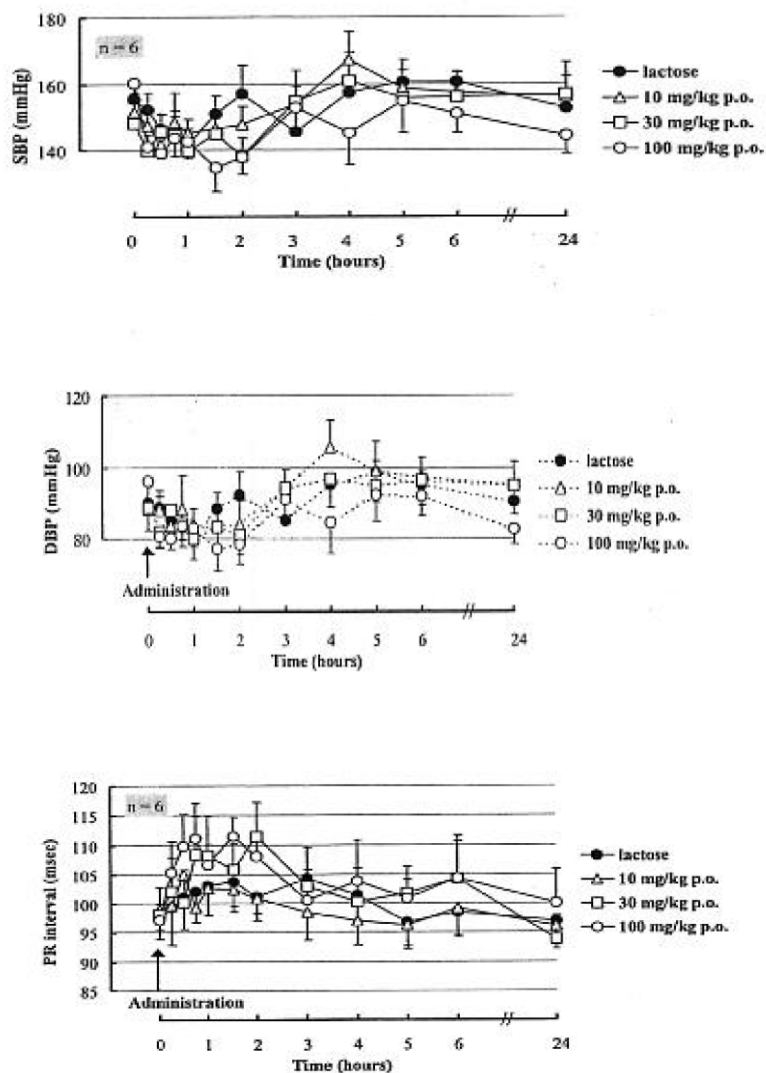
第 4.2.1.3.1.6 項 試験報告書 No. F96221BMV39 (ANEXO) Figure 5, Figure 6

図 2.6.2.4.1.2.1-1 麻酔下モルモットのビラスチン、テルフェナジン及びキニジンの心電図に対する影響

2.6.2.4.1.2.2 イヌの心血管系に及ぼす影響

GLP 試験として、覚醒ビーグル犬にテレメトリー装置を適用し、心血管系パラメータ（動脈血圧及び心電図）に及ぼすビラスチンの影響を検討した（第 4.2.1.3.1.7 項）。雄性ビーグル犬 6 匹を使用し、最初に対照として乳糖 100 mg/kg をカプセル経口投与し、その後ビラスチンの 10, 30 及び 100 mg/kg を用量漸増しカプセルで経口投与した。動脈血圧及び心電図シグナルは投与前から

投与 24 時間後まで連続的に記録した。動脈血圧及び心電図パラメータは投与前, 投与後 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6 及び 24 時間に測定した。ビラスチン 10, 30 及び 100 mg/kg を投与した場合, 最高用量の 100 mg/kg でのみ, 中等度な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 投与後の心電図の PR, QT 及び QTc には著変を認めなかった。100 mg/kg では, QT の軽度で短時間の延長が認められ, 心拍数の軽度な減少を伴った。また, 一般状態及び動脈血圧に対するビラスチンの影響はなかった (図 2.6.2.4.1.2.2-1)。

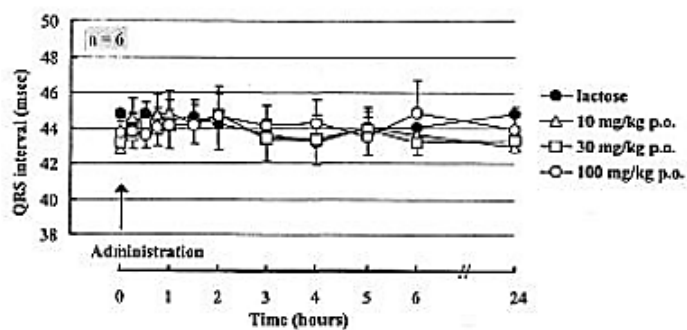


第 4.2.1.3.1.7 項 試験報告書 No. [REDACTED] Figure 1 (systolic and diastolic blood pressure), Figure 4 (PR interval)

図 2.6.2.4.1.2.2-1 覚醒イヌのビラスチン単回経口投与による心電図に及ぼす影響

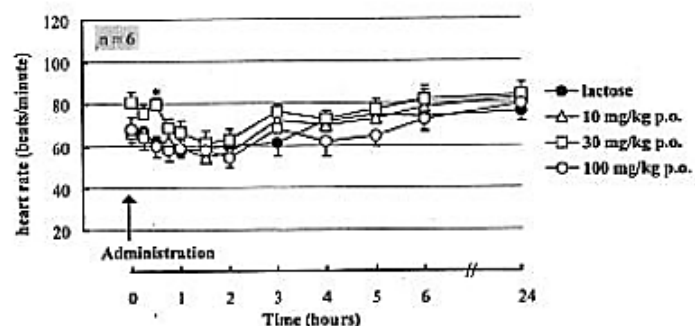
Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry

Time course of QRS interval



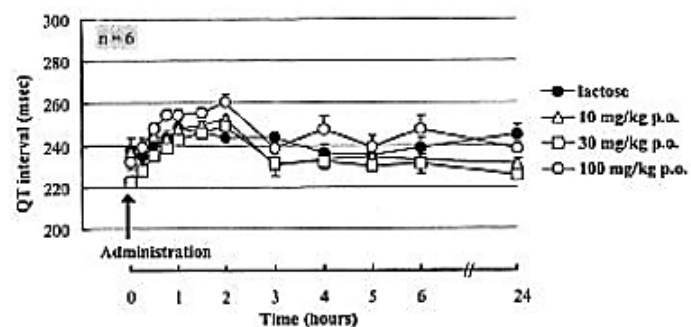
Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry

Time course of heart rate



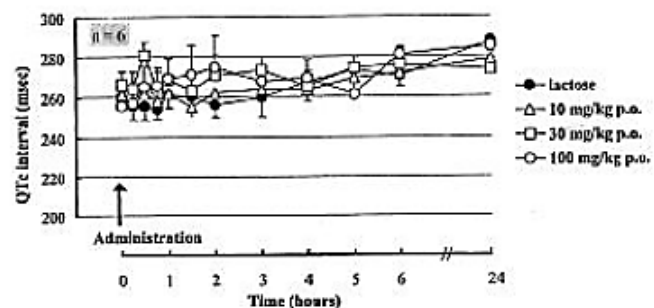
Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry

Time course of QT interval



Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry

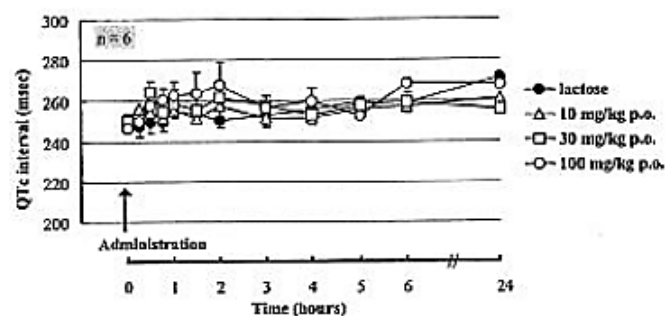
Time course of QT interval using Bazett formula (QT/RR)



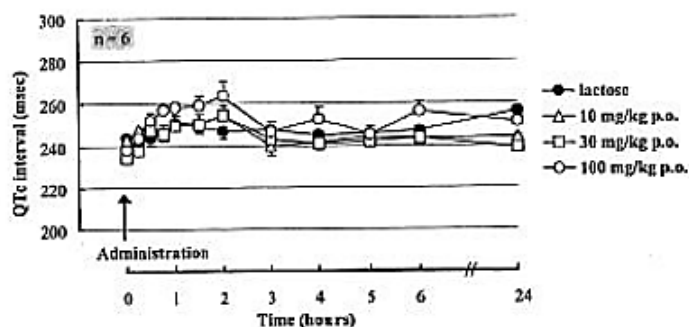
第 4.2.1.3.1.7 項 試験報告書 No. [REDACTED] Figure 5 (QRS interval), Figure 6 (heart rate), 7 (QT interval), 8 (Bazett formula)

図 2.6.2.4.1.2.2-1 覚醒イヌのビラスチン単回経口投与による心電図に及ぼす影響 (続き)

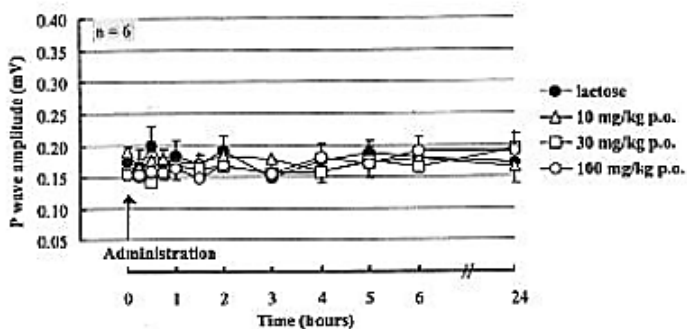
Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry
Time course of QT interval using Fridericia formula ($QT/\sqrt{RR}$)



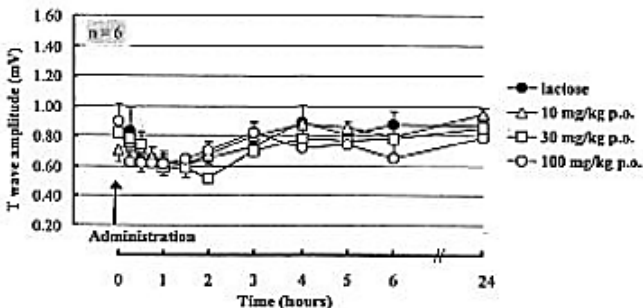
Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry
Time course of QT interval using formula ($\log 1000 \times (QT/\log RR)$)



Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry
Time course of P wave amplitude



Effects of F-96221-BM after oral administration in conscious dogs using telemetry
Time course of T wave amplitude



第 4.2.1.3.1.7 項 試験報告書 No. [REDACTED] Figure 9 (Fridericia formula), Figure 10 [formula $\log 1000 \times (QT/\log RR)$], Figure 13 (P wave amplitude), Figure 14 (T wave amplitude)

図 2.6.2.4.1.2.2-1 覚醒イヌのビラスチン単回経口投与による心電図に及ぼす影響 (続き)

2.6.2.4.1.2.3 ビーグル犬を用いた心血管系安全性薬理試験

GLP 試験として、テレメトリー装置を適用したビーグル犬において、心血管系パラメータ（動脈血圧及び心電図）に及ぼすビラスチン及びテルフェナジンの影響を検討した（第 4.2.1.3.1.8）。雄性ビーグル犬 6 匹を用い、ビラスチンをカプセル投与（10, 30 及び 100 mg/kg）し、対照として空のゼラチンカプセル又はテルフェナジンの 100 mg/kg を経口投与した。各投与後 24 時間にわたり、血圧、心拍数及び心電図を 15 分ごとに 2 分間記録した。各投与の 10 時点（投与前、投与後 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 及び 24 時間）で検討した。ビラスチン投与後に一般状態の変化はなく、心電図、心拍数及び血圧の変化もなかった。テルフェナジン 100 mg/kg を投与した 3 例で被験物質投与と関連のある変化（第 1 度房室ブロック）が現れ、そのうち 1 例では洞停止も発現していた。

2.6.2.4.2 中枢神経系

中枢神経系に対するビラスチンの作用を検討するため、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及ぼす影響について試験を実施した。試験モデルとして雄性 SD 又は Wistar ラット及び雄性 Swiss CD1 マウスを選択した。臨床では経口投与を予定しているため、経口投与を選択した。安全性薬理試験に使用した試験方法は ICH S7A 「安全性薬理試験ガイドライン」に示された指針に従った。

2.6.2.4.2.1 一般行動に及ぼす影響（Irwinの変法）

GLP 試験として、Irwin 変法を用い、ラットの一般行動に及ぼすビラスチン（経口投与）の影響を検討した（第 4.2.1.3.2.1 項）。雄性 SD ラット 1 群 5 匹の 4 群を設け、各動物にビラスチン 0, 75, 275 及び 1000 mg/kg を単回投与した。投与前、投与後 1, 3, 5 及び 24 時間に行動の変化を検討した。Irwin 変法では飼育ケージ内の観察、ハンドリング時／身体検査時の観察、標準的なオープンフィールド内の観察を行った。ビラスチン投与に関連する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。ビラスチン 1000 mg/kg の投与後に覚醒水準及び探索行動の増強を認めた。これは検出された唯一の行動異常であり、ビラスチンの投与に起因すると判断した。

ビラスチン 0, 75 又は 275 mg/kg の単回経口投与ではラットの行動に影響しなかった。ビラスチン 1000 mg/kg を投与したところ、対照薬と比較して覚醒水準及び探索行動の増強が発現した（表 2.6.2.4.2.1-1）。

表 2.6.2.4.2.1-1 ラットのビラスチンによる一般行動に及ぼす影響

+ 1 h Observations		
Group / Dose Level (mg F-96221-BM / kg)	Animal No.	Observations
1 Vehicle Control (0)	1	NAD
	2	NAD
	3	NAD
	4	Grooming session
	5	NAD
2 Low (75)	6	Grooming session
	7	NAD
	8	NAD
	9	NAD
	10	Hunched posture noted in the standardised arena
3 Intermediate (275)	11	Grooming session
	12	Grooming session (3)
	13	NAD
	14	NAD
	15	NAD
4 High (1000)	16	Animal climbed out of standardised arena on 2 occasions
	17	NAD
	18	Grooming session (3)
	19	Body held high
	20	Increased alertness and exploratory activity, hunched / body held high, all noted in the standardised arena

NAD: No abnormalities detected

Incidences are given in parentheses

第 4.2.1.3.2.1 項 試験報告書 No. [REDACTED] Table 1

2.6.2.4.2.2 探索行動に及ぼす影響（ホールボード試験）

非 GLP 試験として、ホールボード試験を用いて、マウスの探索行動に及ぼすビラスチン (200, 400 及び 800 mg/kg) の影響を検討した (第 4.2.1.3.2.2 項)。対照薬としてアステミゾール、クロルフェニラミン、アンフェタミン、ジアゼパム、ハロペリドール、クロルジアゼポキシド、ブスピロン、セチリジン及びロラタジンを検討した。雄性 Swiss CD1 マウス 10 匹を使用し、ビラスチンは 200, 400 及び 800 mg/kg, アンフェタミン、ジアゼパム及びハロペリドールは 1, 3 及び 10 mg/kg, クロルジアゼポキシド及びブスピロンは 3, 10 及び 30 mg/kg, クロルフェニラミン、アステミゾール、セチリジン及びロラタジンは 200 mg/kg を経口投与した。投与後 60 分、探索行動に対する薬物投与の影響を検討した。16 穴のボードの上にマウスを個別に載せ、それぞれの穴に自動記録システムに接続された光電セルを装備し、2 分間に各個体が能動的に探索した穴の数を記録し、この穴の数の平均値を群別に求めた。ビラスチン (200~800 mg/kg) は、コントロール群と比較して探索行動の回数に有意な減少を認めなかったが 800 mg/kg では探索行動が有意に増強した (表 2.6.2.4.2.2-1)。

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では、200 mg/kg で探索行動の有意な減少を認め、セチリジンでは減少傾向にあった。更にジアゼパム、クロルジアゼポキシド、ブスピロン及びハロペリドールでは、全薬物で探索行動を抑制した。一方、アンフェタミンでは自発運動亢進作用を認めた。

表 2.6.2.4.2.2-1 マウスの探索行動に及ぼす各種薬物の影響

Treatment (p.o.)	Dose (mg/kg)	N ^a	Number of holes explored/2 min ^b (Mean ± S.E.)
Control		70	21.3 ± 0.5
F-96221-BM	200	10	20.4 ± 1.1
	400	10	22.3 ± 1.5
	800	10	25.5 ± 1.7**
Amphetamine	1	10	21.5 ± 1.4
	3	10	25.3 ± 2.4*
	10	10	23.9 ± 3.1
Diazepam	1	10	15.6 ± 0.9***
	3	10	17.2 ± 1.8*
	10	10	15.1 ± 0.8***
Chlordiazepoxide	3	10	15.5 ± 1.2***
	10	10	15.9 ± 1.3***
	30	10	16.1 ± 0.7***
Buspirone	3	10	19.5 ± 1.6
	10	10	19.7 ± 1.0
	30	10	16.1 ± 0.9***
Haloperidol	1	10	22.9 ± 2.1
	3	10	15.8 ± 1.7***
	10	10	5.9 ± 1.3***
Chlorpheniramine	200	10	11.0 ± 1.3*** ###
Astemizole	200	10	15.8 ± 1.1*** ###
Cetirizine	200	10	18.8 ± 1.3
Loratadine	200	10	18.1 ± 1.2*

(a) Number of animals used

(b) Statistical analysis:

(*) p<0.05 ;(**) p<0.01 ;(***) p<0.001 versus control.

(###) p<0.001 versus F-96221-BM, 200 mg/kg (Student's *t*-test)

第 4.2.1.3.2.2 項 試験報告書 No. F96221BM.C37 Table 9

2.6.2.4.2.3 協調運動に及ぼすビラスチンの影響（回転棒試験）

非 GLP 試験として、回転棒試験でのマウスの協調運動に対するビラスチン、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の影響を検討した（第 4.2.1.3.2.3 項）。1 群 12 匹の Swiss CD1 マウスを用い、事前に 5 分間にわたり一定速度で回転する棒の上で落下しない、あるいは落下回数 3 回までのマウスを選択し、試験に使用した。ビラスチンは 50, 100, 200 及び 400 mg/kg, 30%エタノールは 10 mL/kg 及びジアゼパムは 10 mg/kg, セチリジン, ロラタジン及びアステミゾールは 100 及び 200 mg/kg, クロルフェニラミンは 100 mg/kg を経口投与した。試験時間 2 分間として回転棒試験を投与後 1, 2 及び 3 時間に実施し、各動物で 3 回試行した。3 回以上落下した個体は神経学的に影響が生じていると判断し、棒上に留まった時間を記録した。ビラスチン（50～400 mg/kg）は投与後 3 時間まで、協調運動に影響しなかった。30%エタノール, ロラタジン, セチリジン, アステミゾール及びクロルフェニラミンも同様の結果であった。ジアゼパムでは、投与後 1 及び 2 時間で落下回数に有意な増加が認められ、協調運動に対して典型的な抑制を示した（表 2.6.2.4.2.3-1）。

表 2.6.2.4.2.3-1 マウスの協調運動に及ぼすビラスチンの影響

Treatment (p.o.)	Dose mg/kg	N ^a	Number of animals affected ^b		
			1 hour	2 hours	3 hours
Control	-	36	0	0	0
F-96221-BM	50	12	0	0	0
	100	12	0	0	0
	200	12	1	0	0
	400	12	0	0	0
Diazepam	10	12	8**	4**	2
Ethanol	30%	12	0	0	0
Loratadine	100	12	0	0	0
	200	12	1	1	0
Cetirizine	100	12	0	0	0
	200	12	0	0	0
Astemizole	100	12	0	0	0
	200	12	0	1	0
Chlorpheniramine	100	12	1	0	0

a) Number of animals employed

b) Statistical analysis: (*) p<0.05 ;(**) p<0.01 (Fisher test/ Epistat)

第 4.2.1.3.2.3 項 試験報告書 No. F96221BM.C54 Table15

2.6.2.4.2.4 自発運動に及ぼすビラスチンの影響

非 GLP 試験として、マウス及びラットの運動モニターで測定される合計 21 のパラメータのうち下記の 5 つに注目（表 2.6.2.4.2.4-1）し、自発運動に及ぼす薬物の影響を検討した。

表 2.6.2.4.2.4-1 自発運動の評価に用いたパラメータ

水平方向運動	一定の時間内に水平方向センサー表面の光電セルビームを横切った回数
総距離	一定の時間内に動物が移動した距離、cm 単位
移動回数	1 秒以上の休止時間を挟み、一定の時間内に水平方向センサーにより検出された個々の動きの数
垂直方向運動	一定の時間内に垂直方向センサー表面の光電セルビームを横切った回数
常同行動	一定の時間内に水平及び垂直方向センサー表面の光電セルビームを横切った回数であって、動物の常同行動（繰り返した動き）を表したもの

2.6.2.4.2.4.1 マウスの自発運動に及ぼす影響

非 GLP 試験として、マウスの自発運動量に及ぼすビラスチン、セチリジン、ロラタジン、ジアゼパム及びアンフェタミンの影響を検討した（第 4.2.1.3.2.4 項）。1 群 10 匹の雄性 Swiss CD1 マウスを用い、ビラスチンは 100, 200, 400 及び 800 mg/kg、アンフェタミン及びジアゼパムは 10 mg/kg、セチリジン及びロラタジンは 100, 200 及び 400 mg/kg を経口投与した。投与直後から投与後 3 時間まで、自発運動量測定装置を用い、データ収集は 1 時間間隔とし、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評価した。ビラスチン（100～400 mg/kg）では、コントロール群と比較して顕著な変化を認めなかった。セチリジン及びロラタジンでも同様の結果であった。ビラスチンの 800 mg/kg 投与では総距離、移動回数及び垂直方向運動に有意な中等度の低下を認めたものの、ジアゼパムを投与した場合の変化と比べると極めて軽度であった。アンフェタミンでは典型的な運動量の増加が生じた（表 2.6.2.4.2.4.1-1）。

表 2.6.2.4.2.4.1-1 マウスの自発運動量に及ぼす影響

Treatment (p.o.)	Dose (mg/kg)	N ^a	Parameters ^b				
			HA	TD	NM	VA	SC
Control		50	19156	4340	972	3243	8881
			±1079	±296	±57	±235	±566
F-96221-BM	100	10	22390	5244	1197	3833	10196
			±2690	±715	±139	±457	±1536
	200	10	22757	4470	1015	3493	11205
			±2729	±666	±133	±606	±1479
	400	10	17488	3822	900	3068	8219
			±1418	±461	±96	±404	±828
	800	10	17520	2904*	656*	2112*	8402
			±2562	±400	±69	±249	±1186
Amphetamine	10	10	54290***	22513***	2266***	7750***	32008***
			±3683	±2596	±133	±722	±3674
Diazepam	10	10	11688**	1747***	277***	354***	6882
			±2805	±205	±37	±57	±1676
Cetirizine	100	10	16264	3743	866	3138	7238
			±1655	±535	±109	±569	±809
	200	10	17120	4013	950	3004	7864
			±1917	±776	±168	±542	±833
	400	10	14933	3971	904	2780	6228*
			±2412	±714	±170	±541	±891
Loratadine	100	10	20428	4800	1043	3653	9367
			±2379	±908	±153	±667	±1276
	200	10	18915	5332	1085	3805	7895
			±2178	±746	±129	±587	±966
	400	9	15465	4768	888	2400	6655
			±2522	±616	±105	±381	±1302

Mean ± S.E.

Accumulated data corresponding to 3 hours of experimentation

(a) Number of animals used

(b) HA (horizontal activity); TD (total distance); NM (number of movements);

VA (vertical activity); and SC (stereotypical counts).

(*) p<0.05 ;(**) p<0.01 ;(***) p<0.001.(Student t-test)

第 4.2.1.3.2.4 項 試験報告書 No.F96221BM.C52 Table14

2.6.2.4.2.4.2 ラットの自発運動に及ぼすビラスチン及び他の薬物の影響

非 GLP 試験として、ラットの自発運動量に及ぼすビラスチン、セチリジン、ロラタジン、アステミゾール、アンフェタミン及びジアゼパムの影響を検討した（第 4.2.1.3.2.5 項）。1 群 10 匹の雄性 Wistar ラットを用い、ビラスチンは 200, 400 及び 800 mg/kg, アンフェタミン及びジアゼパムは 10 mg/kg, セチリジン、アステミゾール及びロラタジンは 200 mg/kg を経口投与した。データ収集は 1 時間間隔とし、投与直後から投与後 3 時間まで、自発運動量測定装置で水平方向運動、総距離、移動回数、垂直方向運動及び常同行動を評価した。ビラスチンは、いずれのパラメータもコントロール群と比較して著変を認めなかった。セチリジン及びアステミゾールでも同様の結果を確認したのに対し、ロラタジンではパラメータの顕著な抑制を示した。抗ヒスタミン薬の基準物質である（Loratadine）とビラスチンの同等の用量である 200 mg/kg を比較した場合、いずれのパラメータにおいても、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が生じた（表 2.6.2.4.2.4.2-1）。

表 2.6.2.4.2.4.2-1 ラットの自発運動に対するビラスチン及び他の薬物の影響

Treatment (p.o.)	Dose (mg/kg)	N ^a	Parameters ^b				
			HA	TD	NM	VA	SC
Control		20	11356	4374	453	840	5303
			±697	±370	±31	±77	±314
F-96221-BM	200	10	11114	4220	447	911	5132
			±843	±487	±27	±85	±408
	400	10	10174	3502	415	756	4844
			±973	±407	±35	±100	±475
	800	10	12663	5272	536	891	5501
			±827	±502	±43	±125	±371
Amphetamine	10	10	60763***	31344***	2394***	5174***	30184***
			±4079	±3987	±113	±1111	±2857
Diazepam	10	10	4562***	1912***	172***	310	2267***
			±364	±189	±18	±32	±185
Cetirizine	200	10	10873	4018	395	676 [#]	5374
			±557	±323	±18	±72	±371
Loratadine	200	10	8169** [#]	2863** [#]	296** ^{###}	489** ^{###}	3899** [#]
			±683	±288	±26	±70	±345
Astemizole	200	10	9730	3807	351 [#]	654 [#]	4816
			±593	±246	±26	±65	±366

Mean ± S.E.

Accumulated data corresponding to 3 hours of experimentation

(a) Number of animals used

(b) HA (horizontal activity); TD (total distance); NM (number of movements);

VA (vertical activity); and SC (stereotypical counts).

(*) p<0.05 ;(**) p<0.01 ;(***) p<0.001, with respect to control.(Student t-test)

(#) p<0.05 ;(##) p<0.01 ;(###) p<0.001, with respect to F-96221-BM, 200 mg/kg. (Student t-test)

第 4.2.1.3.2.5 項 試験報告書 No F96221BM.C50 Summary Table

2.6.2.4.2.5 抗痙攣作用

2.6.2.4.2.5.1 マウスを用いたペンチレンテトラゾール誘発痙攣に及ぼす影響

非 GLP 試験として、ペンチレンテトラゾールにより誘発したマウスの痙攣に対するビラスチン、セチリジン、ロラタジン及びジアゼパムの抗痙攣作用を検討した（第 4.2.1.3.2.6 項）。この試験では雄性 Swiss CD1 マウス 10 匹を 1 群とし、ビラスチンは 50, 100 及び 200 mg/kg, ジアゼパムは 5 mg/kg, セチリジン及びロラタジンは 100 mg/kg を経口投与した。各薬物投与後 1 時間にペンチレンテトラゾールの 120 mg/kg を腹腔内投与した。ペンチレンテトラゾール投与後 30 分まで、間代性又は強直性痙攣の発現、正向反射の消失及び死亡の発現を観察した。何らかの痙攣が発現した動物の数及び死亡動物数をコントロール群と比較した。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はいずれも 100 mg/kg の用量で同様の結果であった。ジアゼパムは 5 mg/kg の用量で特徴的な抗痙攣作用を示し、コントロール群と比較して間代性及び強直性両者の痙攣の発生を抑制したのに加え、死亡動物数も減少した（表 2.6.2.4.2.5.1-1）。

表 2.6.2.4.2.5.1-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のペンチレンテトラゾール誘発痙攣に及ぼす影響

Treatment (p.o.)	Dose (mg/kg)	N ^a	Number of animals with convulsions		Mortality
			Clonic	Tonic	
Control	-	10	9	10	9
F-96221-BM	50	10	10	10	9
	100	10	10	10	8
	200	10	10	10	8
Diazepam	5	10	0**	0**	0**
Cetirizine	100	9	9	9	8
Loratadine	100	10	10	10	10

Fisher's exact test * p<0.05 ; ** p<0.01 versus control

(a) N: number of animals analysed

第 4.2.1.3.2.6 項 試験報告書 No F96221BM.C77 Table 8 抜粋

2.6.2.4.2.5.2 マウスを用いた最大電撃誘発痙攣に及ぼす影響

非 GLP 試験として、角膜を介した最大電撃より誘発したマウスの痙攣に対するビラスチン、セチリジン、ロラタジン、ジアゼパム、クロルジアゼポキシド及びジフェニルヒダントインの影響を検討した（第 4.2.1.3.2.7 項）。1 群 10 匹の雄性 Swiss CD1 マウスを用い、ビラスチンは 50, 100 及び 200 mg/kg, ジアゼパムは 5, 20 及び 50 mg/kg, クロルジアゼポキシドは 30 mg/kg, ジフェニルヒダントインは 10 及び 30 mg/kg, セチリジン及びロラタジンは 100 mg/kg を経口投与した。投与後 1 時間、0.9% NaCl 溶液 1 滴を眼に塗布し、その直後に角膜電極により電撃（一定周波数 50 Hz ms, 電流 50 mA, 持続時間 0.2 秒）した。動物は片手で保持し、痙攣の全様及び全持続期間を観察するため電撃適用の直後に放した。観察時間は 60 分間とし、間代性又は強直性痙攣の発現、正向反射の消失及び死亡の発現を観察した。何らかの痙攣が発現した動物数及び死亡動物数を対照群と比較した。ビラスチン、セチリジン及びロラタジンを投与した場合、最大電撃で誘発した痙攣及び／又はそれによる死亡を抑制しなかった。ジアゼパムの 20 mg/kg 及びジフェニルヒダントインの 30 mg/kg は強直性痙攣の発現例数及び死亡例の発現を低下させた（表 2.6.2.4.2.5.2-1）。

表 2.6.2.4.2.5.2-1 マウスを用いたビラスチン及びその他の薬物の最大電撃誘発痙攣に及ぼす影響

Treatment (p.o.)	Dose (mg/kg)	N ^a	Number of animals with convulsions		Mortality ^b
			Clonic	Tonic	
Control	-	30	4	30	23
F-96221-BM	50	10	0	10	7
	100	10	0	10	7
	200	10	4	9	7
Diazepam	5	10	7**	8	3*
	20	10	9**	3**	0**
	50	10	10**	0**	0**
hlordiazepoxide	30	10	6**	8	3*
Diphenylhydantoin	10	10	4	9	7
	30	10	10**	0**	0**
Cetirizine	100	10	1	9	8
Loratadine	100	10	0	10	10

Fisher's exact test * p<0.05 ; ** p<0.01 versus control

(a) N: number of animals analysed

(b) expressed as the No. of dead animals

第 4.2.1.3.2.7 項 試験報告書 No F96221BM.C80 Table 13

2.6.2.4.2.6 実験的睡眠に及ぼすビラスチンの影響

ビラスチン及び他の対照薬の鎮静作用の評価を目的として、雄性 Swiss CD1 マウスを用いた安全性薬理試験を実施した。各試験でジアゼパム、エタノール又はペントバルビタールを用い、被験物質の経口投与 1 時間後に睡眠を誘発した。正向反射の消失後、直ちに被験動物を電気毛布上又は標準的な赤外線ランプ下（一定の体温を維持するため）で仰臥位とし、睡眠の持続時間を記録した。睡眠の持続時間は意識消失から正向反射の回復までの時間と定義した。また、ジアゼパム、エタノール及びペントバルビタールは投与 2 時間までに発生した死亡例の数を記録した。

2.6.2.4.2.6.1 マウスを用いたジアゼパム誘発睡眠に及ぼす影響

非 GLP 試験として、雄性 Swiss CD1 マウス 10 匹 1 群を用い、ビラスチンは 50, 100 及び 200 mg/kg, アンフェタミンは 5 mg/kg, カフェインは 30 mg/kg, クロルプロマジン は 10 mg/kg 及びエタノールは 40% v/v, セチリジン, ロラタジン, アステミゾール及びクロルフェニラミンは 100 mg/kg を経口投与した。経口投与の 1 時間後、動物にジアゼパムの 20 mg/kg 又は生理食塩液を腹腔内投与した。その後、睡眠の持続時間を記録し、ジアゼパム投与後 2 時間までに発生した死亡動物数を記録し、ジアゼパムで誘発した睡眠作用を検討した（第 4.2.1.3.2.8 項）。ビラスチン（200 mg/kg）は、対照群と比較して、ジアゼパムにより誘発した睡眠の持続時間の延長を認めなかった。ロラタジン及びクロルフェニラミンでも同様の結果であった。しかし、セチリジン及びアステミゾールでは著明な増強作用が発現した。一方、クロルプロマジン及びエタノールは、単独投与では睡眠持続時間に変化を生じない用量でも、ジアゼパムと同時に投与した場合に睡眠持続時間を延長した。なお、死亡はいずれの投与群でも認めなかった（表 2.6.2.4.2.6.1-1）。

表 2.6.2.4.2.6.1-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のジアゼパム誘発睡眠に及ぼす影響

Pre-treatment	Dose mg/kg (p.o.)	Treatment	Dose mg/kg (i.p.)	N ^a	Δ Time of narcosis ^b (min) Mean ± S.E.	NLSR ^c	Number of deaths ^c
Control	-	Diazepam	20	20	0.0 ± 0.0	0	0
F-96221-BM	50	Diazepam	20	10	0.0 ± 0.0	0	0
	100	Diazepam	20	10	0.0 ± 0.0	0	0
	200	Diazepam	20	10	0.0 ± 0.0	0	0
Amphetamine	5	Diazepam	20	10	0.0 ± 0.0	0	0
Caffeine	30	Diazepam	20	10	0.0 ± 0.0	0	0
Chlorpromazine	10	Diazepam	20	10	101.3 ± 11.3**	10 ^{oo}	0
Ethanol	40%	Diazepam	20	10	60.4 ± 8.4**	10 ^{oo}	0
Cetirizine	100	Diazepam	20	10	15.9 ± 6.6**	7 ^{oo}	0
Loratadine	100	Diazepam	20	10	0.0 ± 0.0	0	0
Astemizole	100	Diazepam	20	10	23.3 ± 8.0**	8 ^{oo}	0
Chlorpheniramine	100	Diazepam	20	10	0.0 ± 0.0	0	0
Chlorpromazine	10	Saline solution	-	10	0.0 ± 0.0	0	0
Ethanol	40%	Saline solution	-	10	0.0 ± 0.0	0	0

(a) N : number of animals employed

(b) Statistical analysis : Student T-test : (*) p<0.05; (**) p<0.01 versus control

(c) NLSR : number of animals that lost the straightening reflex. Statistical analysis : Fisher's exact test : (°°) p<0.01 versus control

第 4.2.1.3.2.8 項 試験報告書 No F96221BM.C93 Table 5

2.6.2.4.2.6.2 マウスを用いたエタノール誘発睡眠に及ぼす影響

非 GLP 試験として、雄性 Swiss CD1 マウス 10 匹 1 群（対照群は 30 匹）を用い、ビラスチンは 50, 100 及び 200 mg/kg, アンフェタミンは 5 mg/kg, クロルプロマジン は 10 mg/kg, ジアゼパムは 2 mg/kg, セチリジン, ロラタジン, アステミゾール及びクロルフェニラミンは 100 mg/kg を経口投与した。経口投与の 1 時間後、動物に 16.5%エタノール溶液を腹腔内投与し、睡眠の持続時間及び死亡動物数を記録し、エタノールで誘発した睡眠作用を検討した（第 4.2.1.3.2.9 項）。ビラスチンの 200 mg/kg では、コントロール群と比較して、エタノールにより誘発した睡眠の持続時間を延長したものの、有意な変化ではなかった。ビラスチンの 50 及び 100 mg/kg では睡眠の持続時間を延長せず、アステミゾール又はクロルフェニラミンでも延長しなかった。セチリジン, ロラタジン, ジアゼパム及びクロルプロマジンでは睡眠持続時間を著明かつ有意に延長した。クロルプロマジンでは死亡も発生した。アンフェタミンでは顕著な影響を認めなかった（表 2.6.2.4.2.6.2-1）。

表 2.6.2.4.2.6.2-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のエタノール誘発睡眠に及ぼす影響

Pre-treatment	Dose mg/kg (p.o.)	Treatment	Dose mg/kg (i.p.)	N ^a	Δ Time of narcosis ^b (min) Mean ± S.E.	NLSR ^c	Number of deaths ^c
Control	-	Ethanol	16.5	30	4.2 ± 1.3	14	0
F-96221-BM	50	Ethanol	16.5	10	3.5 ± 0.9	7	0
	100	Ethanol	16.5	10	5.5 ± 2.3	5	0
	200	Ethanol	16.5	10	8.2 ± 2.5	7	0
Diazepam	2	Ethanol	16.5	10	73.6 ± 12.1**	9 ^o	0
Chlorpromazine	10	Ethanol	16.5	10	90.3 ± 9.0**	10 ^{oo}	4 ^o
Amphetamine	5	Ethanol	16.5	10	7.7 ± 1.1	10 ^{oo}	0
Cetirizine	100	Ethanol	16.5	10	16.4 ± 6.5***	9 ^o	0
Loratadine	100	Ethanol	16.5	10	27.4 ± 11.0**	9 ^o	0
Astemizole	100	Ethanol	16.5	10	1.5 ± 1.3	2	0
Chlorpheniramine	100	Ethanol	16.5	10	3.1 ± 1.3	5	0

(a) N : number of animals

(b) Statistical analysis : Student T-test : (*) p<0.05; (**) p<0.01 ; (***) p<0.001 versus control

(c) NLSR : number of animals that lost the straightening reflex. Statistical analysis : Fisher's exact test : (o) p<0.05; (oo) p<0.01

第 4.2.1.3.2.9 項 試験報告書 No F96221BM.C56 Table 5

2.6.2.4.2.6.3 マウスを用いたペントバルビタール誘発睡眠に及ぼす影響

非 GLP 試験として、雄性 Swiss CD1 マウス 10 匹 1 群（対照群の動物数は 40 匹、ビラスチン 200 mg/kg 投与群は 20 匹）を用い、ビラスチンは 50, 100 及び 200 mg/kg、アンフェタミンは 5 mg/kg、クロルプロマジン 10 mg/kg、ジアゼパムは 2 mg/kg、エタノールは 40% v/v、セチリジン、ロラタジン、アステミゾール及びクロルフェニラミンは 100 mg/kg を経口投与し、経口投与 1 時間後にマウスにペントバルビタールナトリウム 50 mg/kg を腹腔内投与した。睡眠の持続時間及び死亡動物数を記録し、ペントバルビタールにより誘発した睡眠作用を検討した（第 4.2.1.3.2.10 項）。ビラスチン（200 mg/kg）は、対照薬と比較して軽度な増強傾向を認めた。ビラスチン（50 及び 100 mg/kg）又はクロルフェニラミンでは変化しなかった。セチリジン、アステミゾールに加え、特にロラタジンでは、ペントバルビタールの睡眠作用を増強した。一方、ジアゼパム、クロルプロマジン及びエタノールでは典型的な睡眠作用を示し、ペントバルビタールの睡眠作用を増強したのに対し、アンフェタミンでは軽度の刺激作用を示した（表 2.6.2.4.2.6.3-1）。

表 2.6.2.4.2.6.3-1 マウスを用いたビラスチン及び他の薬物のペントバルビタール誘発睡眠に及ぼす影響

Pre-treatment	Dose mg/kg (p.o)	Treatment	Dose mg/kg (i.p.)	N ^a	Δ Time of narcosis ^b (min) Mean±S.E.	NLSR ^c	Number of deaths ^c
Control	-	Pentobarbital	50	40	44.1 ± 2.7	40	0
F-96221-BM	50	Pentobarbital	50	10	43.3 ± 4.0	10	0
	100	Pentobarbital	50	10	38.0 ± 4.7	10	0
	200	Pentobarbital	50	20	61.3 ± 7.0**	10	3 ^o
Diazepam	2	Pentobarbital	50	10	107.9 ± 8.2**	10	8 ^{oo}
Chlorpromazine	10	Pentobarbital	50	10	111.1 ± 6.5**	10	3 ^{oo}
Ethanol	40%	Pentobarbital	50	10	113.1 ± 3.6**	10	0
Amphetamine	5	Pentobarbital	50	10	33.0 ± 3.7 ◇	10	0
Cetirizine	100	Pentobarbital	50	10	72.1 ± 5.1**	10	0
Loratadine	100	Pentobarbital	50	10	112.6 ± 2.7**	10	2 ^o
Astemizole	100	Pentobarbital	50	10	55.6 ± 5.4 ◇	10	0
Chlorpheniramine	100	Pentobarbital	50	10	38.5 ± 5.5	10	0

(a) N : number of animals employed

(b) Statistical analysis : Student T-test : (*) p<0.05; (**) p<0.01 versus control ; (◇) quasi-significant difference (p<0.05) versus control

(c) NLSR : number of animals that lost the straightening reflex. Statistical analysis : Fisher's exact test : (°) p<0.05, (°°) p<0.01 versus control

第 4.2.1.3.2.10 項 試験報告書 No F96221BM.C57 Table 5

2.6.2.4.2.7 直腸温に及ぼすビラスチンの影響

非 GLP 試験として、正常体温ラットの直腸温に対するビラスチン、セチリジン、ロラタジン、ジアゼパム、クロルプロマジン及びレセルピンの影響を検討した (第 4.2.1.3.2.11 項)。雄性 Wistar ラット 10 匹を 1 群とし、ビラスチンは 100 及び 200 mg/kg、クロルプロマジンは 30 mg/kg 及びジアゼパム並びにレセルピンは 20 mg/kg、セチリジン及びロラタジンは 100 mg/kg を直腸温の測定直後に経口投与した。直腸温は被験物質投与前、被験物質投与後 1, 2, 4, 6 及び 24 時間に測定した。それぞれの投与群の平均直腸温及びベースライン温度からの上昇を算出した。温度上昇は各時点の対照群の値と比較した。ビラスチン 200 mg/kg では、投与 1 時間後に正常体温ラットの直腸温がわずかに低下した。100 mg/kg ではいずれの時点にも顕著な差を認めなかった。クロルプロマジン及びレセルピンは直腸温下降作用を示したが、ジアゼパム、セチリジン及びロラタジンでは顕著な差を認めなかった。(表 2.6.2.4.2.7-1)。

表 2.6.2.4.2.7-1 正常体温ラットを用いたビラスチン及び他の薬物の直腸温に及ぼす影響

Pre-treatment	Dose ^a mg/kg	N ^b	Temperatures(Absolute values / Increments) in °C ^c										
			Mean±S.E.										
			T ₀ ^d	T ₁	Δ ₁	T ₂	Δ ₂	T ₄	Δ ₄	T ₆	Δ ₆	T ₂₄	Δ ₂₄
Control	-	40	38.9 ± 0.1	38.3 ± 0.1	-0.6 ± 0.1	38.0 ± 0.1	-0.9 ± 0.1	37.5 ± 0.1	-1.4 ± 0.1	37.4 ± 0.1	-1.5 ± 0.1	38.4 ± 0.1	-0.5 ± 0.1
F-96221-BM	100	10	38.4 ± 0.1	38.1 ± 0.1	-0.3 ± 0.1	37.8 ± 0.1	-0.6 ± 0.1	37.3 ± 0.1	-1.0 ± 0.1	37.2 ± 0.1	-1.2* ± 0.1	37.8 ± 0.3	-0.5 ± 0.2
	200	10	39.1 ± 0.1	38.1 ± 0.1	-1.0** ± 0.1	38.2 ± 0.1	-0.9 ± 0.1	37.4 ± 0.1	-1.6 ± 0.1	37.4 ± 0.1	-1.7 ± 0.1	38.2 ± 0.2	-0.9 ± 0.2
Chlorpromazine	30	10	38.9 ± 0.1	37.3 ± 0.2	-1.6** ± 0.2	36.8 ± 0.2	-2.1** ± 0.2	36.3 ± 0.3	-2.6** ± 0.3	36.1 ± 0.3	-2.9** ± 0.3	38.4 ± 0.2	-0.6 ± 0.2
Diazepam	20	10	38.7 ± 0.2	37.5 ± 0.1	-1.2** ± 0.2	37.8 ± 0.2	-0.9 ± 0.2	37.8 ± 0.1	-0.7** ± 0.1	37.8 ± 0.2	-0.8** ± 0.2	38.6 ± 0.2	-0.1* ± 0.1
Reserpine	20	9	38.8 ± 0.1	38.7 ± 0.1	-0.1** ± 0.1	38.1 ± 0.1	-0.7 ± 0.1	37.2 ± 0.1	-1.6 ± 0.1	37.0 ± 0.1	-1.8 ◇ ± 0.1	37.6 ± 0.2	-1.2** ± 0.2
Cetirizine	100	10	38.9 ± 0.1	37.7 ± 0.1	-1.1** ± 0.1	37.8 ± 0.1	-0.9 ± 0.1	37.7 ± 0.1	-1.1 ± 0.1	37.4 ± 0.1	-1.5 ± 0.1	38.5 ± 0.2	-0.4 ± 0.2
Loratadine	100	10	38.1 ± 0.2	37.5 ± 0.1	-0.6 ± 0.1	37.5 ± 0.2	-0.6 ± 0.2	37.0 ± 0.2	-1.1 ± 0.2	37.0 ± 0.2	-1.1* ± 0.2	37.5 ± 0.2	-0.6 ± 0.2

(a) All the products were administered p.o. at a concentration of 10 ml / kg

(b) N: number of animals used.

(c) Statistical analysis: Student T-test : (*) p<0.05; (**) p<0.01 respect to the control group; (◇) quasi-significant difference.

(d)Initial mean value 38.80 ± 0.05 °C (N: 110)

第 4.2.1.3.2.11 項 試験報告書 No F96221BM.C83 Table 9

2.6.2.4.3 呼吸器系

2.6.2.4.3.1 ビラスチン単回投与後のラットの呼吸パラメータ

GLP 試験として、ラットに単回経口投与した後のビラスチンの呼吸パラメータ（呼吸数，1 回換気量，分時換気量）に対する影響を検討した（第 4.2.1.3.3.1 項）。雄性 SD ラット 5 匹を 1 群とし、ビラスチン 0，75，275 及び 1000 mg/kg を経口投与した。投与前並びに投与後 30 分，1，2，4，6 並びに 24 時間に全動物の呼吸パラメータ（呼吸数，1 回換気量，分時換気量）を記録した。呼吸パラメータは各記録時点の 1 分間の記録から算出した。いずれのパラメータもビラスチン投与に起因した変化はなかった（表 2.6.2.4.3.1-1）。

表 2.6.2.4.3.1-1 ビラスチンの呼吸器系パラメータへの影響：呼吸数，1 回換気量及び分時換気量

Respiratory Rate (breaths / min): Group Mean Values								
Dose Group / Treatment (mg/kg)		Time in Relation to Dosing						
		Pre dose	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h	24 h
1-Vehicle Control (0)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	220	238	229	228	176	181	241
	SD	22	18	37	30	21	30	23
2-Low Dose (75)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	183	215	207	219	209	188	211
	SD	46	29	35	40	33	22	41
3-Intermediate Dose (275)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	229	212	198	196	176	162	209
	SD	13	26	23	25	15	30	25
4-High Dose (1000)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	208	258	216	206	190	171	231
	SD	65	39	23	33	29	15	14

第 4.2.1.3.3.1 項 試験報告書 No.666125 Table 2

Tidal Volume (mL): Group Mean Values								
Dose Group / Treatment (mg/kg)		Time in Relation to Dosing						
		Pre dose	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h	24 h
1-Vehicle Control (0)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	0.786	0.884	0.731	0.771	0.935	0.920	0.790
	SD	0.217	0.266	0.087	0.078	0.231	0.344	0.204
2-Low Dose (75)	Number	5	4	5	5	5	5	5
	Mean	1.014	0.915	0.982	0.940	0.975	1.058	1.061
	SD	0.204	0.245	0.360	0.219	0.308	0.306	0.372
3-Intermediate Dose (275)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	0.756	0.727	0.829	0.895	0.887	0.984	0.854
	SD	0.110	0.108	0.236	0.158	0.092	0.229	0.150
4-High Dose (1000)	Number	4	5	5	5	5	5	5
	Mean	0.897	0.678	0.791	0.897	0.937	1.065	0.857
	SD	0.159	0.236	0.217	0.128	0.145	0.233	0.110

第 4.2.1.3.3.1 項 試験報告書 No.666125 Table 3

Minute Volume (L / min): Group Mean Values								
Dose Group / Treatment (mg/kg)		Time in Relation to Dosing						
		Pre dose	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h	24 h
1-Vehicle Control (0)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	0.167	0.202	0.162	0.169	0.161	0.158	0.185
	SD	0.039	0.062	0.024	0.016	0.033	0.038	0.054
2-Low Dose (75)	Number	5	4	5	5	5	5	5
	Mean	0.186	0.184	0.193	0.193	0.194	0.191	0.213
	SD	0.061	0.028	0.047	0.034	0.044	0.043	0.038
3-Intermediate Dose (275)	Number	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	0.173	0.146	0.156	0.163	0.158	0.155	0.170
	SD	0.023	0.015	0.032	0.012	0.021	0.031	0.014
4-High Dose (1000)	Number	4	5	5	5	5	5	5
	Mean	0.178	0.159	0.171	0.177	0.178	0.173	0.193
	SD	0.074	0.040	0.057	0.039	0.028	0.025	0.017

第 4.2.1.3.3.1 項 試験報告書 No.666125 Table 4

2.6.2.4.4 消化器系

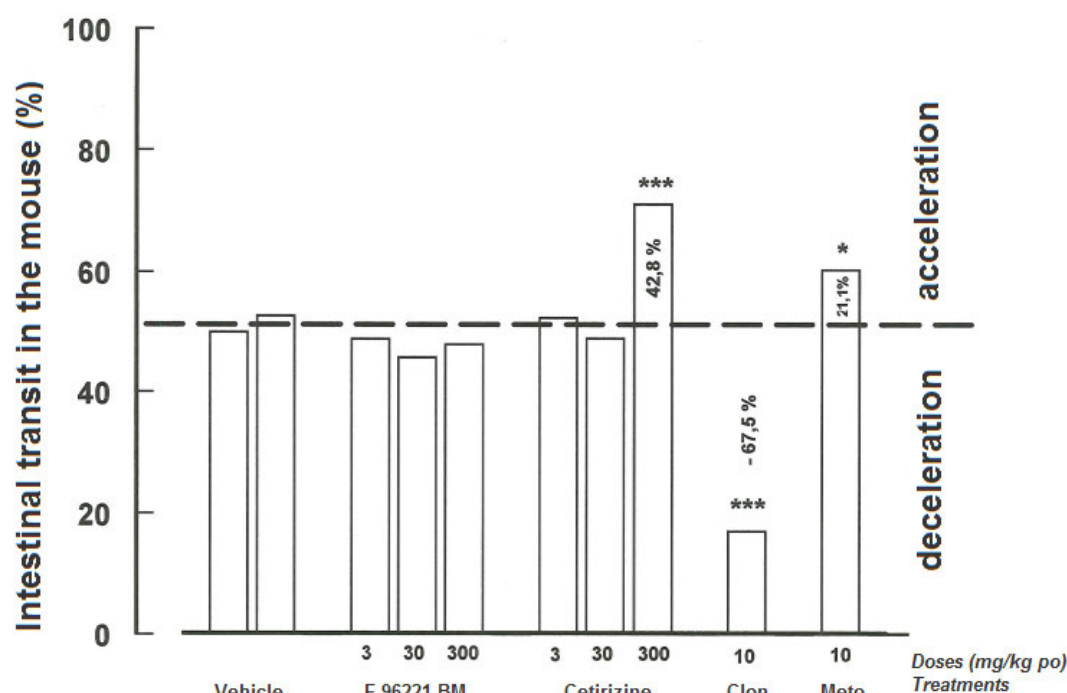
2.6.2.4.4.1 ラットでの胃酸分泌に及ぼす影響

非 GLP 試験として，ラットの胃酸分泌に対するビラスチン，セチリジン，フェキソフェナジン(10, 30 及び 100 mg/kg) 及びファモチジン(1, 3 及び 10 mg/kg) の影響を検討した(第 4.2.1.3.4.1)．1 群 8 匹の雄性 Wistar ラットを用い，エーテルで麻酔し，幽門を結紮した．その直後，十二指腸

内に薬物を投与した。4時間後に動物を安楽死させ、胃を摘出して内容物を回収した。胃内容物を遠心分離した後、パラメータである総胃酸分泌量 (mL)、pH 及び胃酸濃度 (meq/L) を検討した。H₂ 拮抗薬の基準物質であるファモチジンは 1 mg/kg の用量から胃酸度低下の活性を示し、3 mg/kg では検討したすべてのパラメータの有意な変化 (総胃酸分泌量 47.15%低下, 胃酸度 42.13%低下, pH 46.15%上昇: %はいずれも対照群に対する変化率, 以下同様) が生じたのに対し、ビラスチン及びフェキソフェナジンは検討したいずれのパラメータにも影響しなかった。一方、セチリジンは明らかに分泌抑制作用を示し、30 mg/kg では総胃酸分泌量が有意に低下し (43.89%低下), 100 mg/kg では総胃酸分泌量が 52.41%低下, 胃酸度が 28.59%低下し, pH が 1.7 に上昇した (39.68%上昇)。

2.6.2.4.4.2 マウスの炭末輸送

非 GLP 試験として、マウスの腸管運動に対するビラスチン、セチリジン (3, 30 及び 300 mg/kg, 経口投与)、クロニジン及びメトクロピラミド (10 mg/kg, 経口投与) の影響を検討した (第 4.2.1.3.4.2 項)。雄性 Swiss CD1 マウス 10 匹を 1 群とし、薬物を経口投与した。2 時間後、0.25%キサントガムに懸濁させた 5%活性炭を経口投与した。活性炭投与後の 30 分、投与動物を安楽死させ、消化管全体を摘出し、小腸の長さ (幽門括約筋から回盲連結部までの距離) 及び炭末移行距離を測定した。次いで、炭末移行距離と小腸の長さとの比較により、腸管輸送率を算出した。投与群ごとに平均腸管輸送率を算出し、対照群と比較した。ビラスチンは、評価したいずれの用量でもマウス腸管輸送に影響しなかった。セチリジンでは、最高用量 (300 mg/kg) を投与したとき有意な加速を認めた。一方、 α_2 拮抗薬であるクロニジン、腸管運動誘発性の基準物質であるメトクロピラミドでは、10 mg/kg を投与したとき腸管輸送能はそれぞれ遅延 (クロニジン) 及び加速 (メトクロピラミド) した (図 2.6.2.4.4.2-1)。



Statistical analysis: Student T-test : (*) p=0.0534; (***) p<0.001

第 4.2.1.3.4.2 項 試験報告書 No. F96221BM.D62 ANEXO Figure 1

図 2.6.2.4.4.2-1 マウスを用いたビラスチン、セチリジン、クロニジン及びメトクロプラミドの腸管運動に及ぼす影響

2.6.2.4.5 その他の器官系

2.6.2.4.5.1 ラット赤血球の低張性溶血に対する膜安定化作用

非 GLP 試験として in vitro でラット赤血球に低張性溶血誘発処理を実施したときの赤血球膜安定化に及ぼすビラスチン、セチリジン及びフェキソフェナジンの影響を検討した（第 4.2.1.3.5.1 項）。対照薬として、古典的な抗ヒスタミン薬の 2 種類（メピラミン、ジフェンヒドラミン）、第二世代抗ヒスタミン薬 2 種類（アステミゾール、テルフェナジン）も評価した。基準物質として、抗不整脈薬である非特異的 β 拮抗薬プロプラノロールを用いた。様々な濃度の塩化ナトリウム（40～90 mmol/L）添加リン酸緩衝液及びビラスチン、ジフェンヒドラミン、セチリジン及びビラスチン（いずれも 100 μ mol/L）とともに雄性 Wistar ラットの赤血球をチューブに添加した。ジフェンヒドラミン、セチリジン及びビラスチンに低張性溶血（EH50）曲線に対する顕著な影響はなく、メピラミン（100 μ mol/L）、テルフェナジン（10 μ mol/L）及びアステミゾール（100 μ mol/L）とは異なり、膜安定化作用はなかった（安定化指数：ジフェンヒドラミン 29.32、セチリジン 12.91、ビラスチン 1.75）。テルフェナジンは強い膜安定化作用を示し、安定化指数は 10 μ mol/L で 135.45 となった。アステミゾールは更に高い安定化指数を示したものの（165.43）、濃度は 100 μ mol/L であった。メピラミンの安定化指数は 61.49、フェキソフェナジンの安定化指数は -11.40（負の値）であった。ビラスチンは、低張性溶血に対して赤血球膜に影響を与えなかった。膜安定化の作用は抗ヒスタミン薬の中で強い順にテルフェナジン、アステミゾール、メピラミン、ジフェンヒドラミン、セチリジン、ビラスチン及びフェキソフェナジンであった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.5.1 *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、これらの薬剤との相互作用は確認できなかった。

2.6.2.5.1.1 マウスの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

雄性 Swiss CD1 マウスに 0.5%アロキサンを 10 mL/kg 静脈内投与し、高血糖を誘発した。アロキサン投与の 48 時間後に採血を行い、血糖値を測定した。ビラスチン (30 mg/kg) は、採血の 1 時間前にインスリン (1 IU/kg を皮下投与) と同時に経口投与した。

ビラスチンはインスリンによって生じる血糖降下に対して影響せず、インスリンとの相互作用はなかった。また、ビラスチンのみを投与した場合は、アロキサンにより誘発した高血糖を増悪することはなかった (第 4.2.1.4.1 項)。

2.6.2.5.1.2 ラットの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

雄性 Wistar ラットにビラスチン (50 mg/kg) を 0, 6, 24 時間の 3 回経口投与し、最終投与の 1 時間後に静脈からクエン酸採血を行い、血液凝固パラメータ (トロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間及びプロトロンビン時間) を測定した。ワルファリン (5 mg/kg) は 2 回目のビラスチン投与の 1 時間後に経口投与した。

ビラスチンはワルファリンによって生じる血液凝固時間の延長に対して、影響せず、ワルファリンとの相互作用はなかった。また、ビラスチンのみを投与した場合は、血液凝固時間に影響しなかった (第 4.2.1.4.2 項)。

2.6.2.6 考察及び結論

ビラスチンはヒスタミン H_1 受容体に高い選択性を示した。多くの *in vitro* 及び *in vivo* 試験結果からビラスチンは抗ヒスタミン作用及び抗アレルギー作用を示した。

In vivo の薬理試験では、モルモットのヒスタミン誘発気道収縮及び気道血管透過性亢進に対し、ビラスチンは抗ヒスタミン作用を示した。また、ラット PCA、IgE 又は IgG 依存性マウス ACA に対し、ビラスチンは用量依存的に抗アレルギー作用を示した。ビラスチンは III 型及び IV 型アレルギー反応には効果を示さなかった。

安全性薬理試験ではモルモット及びイヌの心臓の活性に対する影響を認めず、ラットの呼吸器系パラメータに対する影響もなかった。同様に、マウスの自発運動、マウスのペンタメチルテトラゾール又は電撃誘発痙攣、エタノール又はジアゼパム誘発睡眠にビラスチンは影響しなかった。ビラスチンの 200 mg/kg 投与はペントバルビタールの鎮静作用を増強したが、この用量は他の抗ヒスタミン剤であるセチリジン、アステミゾール及びロラタジンが同様の作用を示した用量より著しく高い用量であった。

薬力学的薬物相互作用試験では、ビラスチンはインスリンによって生じる血糖低下に対して影響せず、インスリンとの相互作用はなかった。また、ビラスチンはワルファリンによって生じる血液凝固時間の延長に対して、影響せず、ワルファリンとの相互作用はなかった。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

ビラノア錠 20 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6.3 薬理試験の概要表

大鵬薬品工業株式会社

目次

目次	2
2.6.3 薬理試験の概要表	3
2.6.3.1 薬理試験：一覧表	3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験	10
2.6.3.3 副次的薬理試験	12
2.6.3.4 安全性薬理試験	14
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験	16

※F-96221-BM 又は Bilastine はいずれもビラスチンを指す.

各試験報告書中の F-96221-BM 又は F-96221-BM1 はいずれもビラスチンを指す.

2.6.3 薬理試験の概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
(1) Primary Pharmacodynamics					
Affinity of the compound F-96221-BM for H ₁ histamine receptors in the guinea pig cerebellum.	Guinea pig cerebellum	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. B08	4.2.1.1.1
<i>In Vitro</i> Pharmacology: Human H ₁ receptor - Study of F-96221-BM1 -.	Human recombinant HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	██████████ France	6517	4.2.1.1.2
F-96221-BM: H ₁ histamine receptor antagonistic activity in the guinea pig ileum. Comparative study with cetirizine.	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A01	4.2.1.1.3
F-96221-BM: Effect on the contractions induced by histamine in the isolated guinea pig trachea. Comparative study with cetirizine.	Guinea pig trachea	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A07	4.2.1.1.4
F-96221-BM: Schultz-Dale reaction in the isolated guinea pig ileum. Comparison with cetirizine and fexofenadine.	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A16	4.2.1.1.5
Activity of the compound F-96221-BM on the increment in cutaneous capillary permeability induced by histamine in the rat.	Rat / Wistar	Oral and Intravenous	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A50	4.2.1.1.6
Activity of the compound F-96221-BM on the increment in cutaneous capillary permeability induced by histamine in the rat. Time-response relationship.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A57	4.2.1.1.7
Activity of the compound F-96221-BM intravenously administered on the histamine-induced bronchospasm in the anaesthetised guinea pig.	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Intravenous	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A30	4.2.1.1.8
F-96221-BM: Effect on microvascular extravasation induced by histamine in the guinea pig trachea. Comparison with cetirizine and fexofenadine.	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A34	4.2.1.1.9

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
F-96221-BM: Protection against the lethality induced by histamine in the guinea pig. A comparative study with cetirizine.	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A66	4.2.1.1.10
Arthus Reaction: Effect of F-96221-BM (Type III hypersensitivity).	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A73	4.2.1.1.11
F-96221-BM: Effect on the contact dermatitis induced by oxazolone in the mouse ear. Comparative study with cetirizine and fexofenadine (Type IV hypersensitivity).	Mouse / CD1	Oral and Topical	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A61	4.2.1.1.12
Active cutaneous anaphylaxis Ig-G dependent in the mouse ear.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A71	4.2.1.1.13
Active cutaneous anaphylaxis Ig-E dependent in the mouse ear.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A72	4.2.1.1.14
Activity of the compound F-96221-BM on the increment in cutaneous capillary permeability induced by passive cutaneous anaphylactic reaction (Ig-E-dependent) in rat sensitized with anti-ovalbumin homologous serum.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A52	4.2.1.1.15
F-96221-BM: Passive cutaneous anaphylaxis induced by a monoclonal Ig-E anti-DNP antibody in the rat.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A74	4.2.1.1.16
F-96221-BM: Protection against lethal shock induced by the compound 48/80 in the rat. Comparative study with cetirizine.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A58	4.2.1.1.17
Activity of the compound F-96221-BM on the increment in cutaneous capillary permeability induced by compound 48/80 in the rat.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A69	4.2.1.1.18

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
(2) Secondary Pharmacodynamics					
Profiling Screen Data Report.	Tissues of different species	<i>In vitro</i>	██████████, Taiwan	132041	4.2.1.2.1
F-96221-BM: Study of the H ₂ antihistamine activity in the guinea pig right atrium stimulated with dimaprit. Comparative study with cetirizine.	Guinea pig heart	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. V00	4.2.1.2.2
F-96221-BM: Study of " <i>in vitro</i> " H ₃ Histamine receptor affinity. Comparison with cetirizine.	Guinea pig jejunum	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. N05	4.2.1.2.3
<i>In vitro</i> Pharmacology: Human H ₄ receptor binding assay. - Study of F-96221-BM1 -.	Human recombinant HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	██████████, France	11279	4.2.1.2.4
Pharmacological activity of bilastine at cholinergic muscarinic receptors.	CHO cells, C6 rat glioma cells	<i>In vitro</i>	██████████, USA	██████████	4.2.1.2.5
F-96221-BM: Effect on the contractions induced by serotonin in the caudal artery of the rat. Comparative study with cetirizine and ketanserine.	Rat caudal artery	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. V12	4.2.1.2.6
F-96221-BM: Effect on the contractions induced by noradrenaline in the rabbit thoracic aorta. Comparative study with cetirizine.	Rabbit thoracic aorta	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. V03	4.2.1.2.7
F-96221-BM: Inhibition of the contractions induced by acetylcholine in the isolated guinea pig ileum. M ₃ anticholinergic activity.	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A03	4.2.1.2.8
F-96221-BM: Inhibition of the contractions induced by calcium in the guinea pig ileum. Comparison with cetirizine.	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A04	4.2.1.2.9
F-96221-BM: Inhibition of the contractions induced by bradykinin in the isolated guinea pig ileum.	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A05	4.2.1.2.10
F-96221-BM: Antagonism of β ₂ receptors in the isolated guinea pig trachea. Comparative study with cetirizine, fexofenadine and propranolol.	Guinea pig trachea	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A11	4.2.1.2.11

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
F-96221-BM: Effect on the contractions induced by leukotriene D ₄ in the isolated guinea pig trachea. Comparative study with cetirizine, fexofenadine and the compound LY171883.	Guinea pig trachea	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. A14	4.2.1.2.12
Activity of compound F-96221-BM on the increase in cutaneous capillary permeability induced by serotonin in the rat.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A51	4.2.1.2.13
Activity of the compound F-96221-BM on the increase of cutaneous capillary permeability induced by bradykinin in the rat.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A53	4.2.1.2.14
F-96221-BM: Effect on the gastric hypersecretion induced by histamine in the anaesthetised rat. Comparative study with cetirizine and ranitidine.	Rat / Wistar	Intravenous	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. D30	4.2.1.2.15
F-96221-BM: Effect on the gastric hypersecretion induced by carbacol in the anaesthetised rat. Comparative study with cetirizine and pirenzepine.	Rat / Wistar	Intravenous	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. D31	4.2.1.2.16

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
(3) Safety Pharmacology					
(a) Effects on the cardiovascular system					
F-96221-BM: Effect on inotropism in the electrically stimulated left atrium of the guinea pigs.	Guinea pig atrium	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. V01	4.2.1.3.1.1
F-96221-BM: Effect on chronotropism of spontaneous beating of the right guinea pig atrium.	Guinea pig atrium	<i>In vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. V11	4.2.1.3.1.2
Direct effects of F-96221-BM on human cloned potassium channels involved in cardiac repolarization.	Ltk ⁺ and CHO cells	<i>In vitro</i>	██████████, Spain	F96221BM	4.2.1.3.1.3
Bilastine: Effect on hERG tail currents recorded from stably transfected HEK 293 cells	HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	██████████	A0781	4.2.1.3.1.4
F-96221-BM1, cetirizine, fexofenadine and desloratadine: In vitro effect on HERG current (I _{Kr}) expressed in Human Embryonic Kidney (HEK) cells.	HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	██████████, USA	FAES02/01	4.2.1.3.1.5
Activity of the compound F-96221-BM intravenously administered on the electrocardiogram of anaesthetised guinea pig.	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Intravenous	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. V39	4.2.1.3.1.6
Cardiovascular effects of the antihistamine compound F-96221-BM, after acute oral administration in conscious dogs using telemetry.	Dog / Beagle	Oral	██████████, France	5121	4.2.1.3.1.7
Cardiovascular safety pharmacology study with F-96221-BM1 in telemetrised Beagle dogs.	Dog / Beagle	Oral	██████████, The Netherlands	V5822	4.2.1.3.1.8
(b) Effects on the central nervous system					
Evaluation of the effect of F-96221-BM1 on the modified Irwin screen test in the rat.	Rat / SD	Oral	██████████, UK	667071	4.2.1.3.2.1
F-96221-BM Pharmacological safety. Effect on the exploratory activity (Hole Board Test) in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C37	4.2.1.3.2.2
F-96221-BM Effect on motor co-ordination (Rota- Rod assay) in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C54	4.2.1.3.2.3

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
F-96221-BM Pharmacological safety. Effect on the spontaneous motor activity in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C52	4.2.1.3.2.4
F-96221-BM Pharmacological safety. Effect on the spontaneous motor activity in the rat.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C50	4.2.1.3.2.5
F-96221-BM. Effect against the convulsions induced by pentamethylentetrazole in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C77	4.2.1.3.2.6
F-96221-BM Effect against the convulsions induced by maximal electric shock in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C80	4.2.1.3.2.7
F-96221-BM. Effect on narcosis induced by diazepam in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C93	4.2.1.3.2.8
F-96221-BM. Effect on narcosis induced by ethanol in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C56	4.2.1.3.2.9
F-96221-BM. Effect on narcosis induced by pentobarbital in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C57	4.2.1.3.2.10
F-96221-BM. Pharmacological safety. Effect on the rectal temperature of the normothermic rat.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. C83	4.2.1.3.2.11
(c) Effects on the respiratory system					
Respiratory parameters monitoring following a single dose administration of F-96221-BM1 in rats.	Rat / SD	Oral	██████████, UK	666125	4.2.1.3.3.1
(d) Effects on the gastrointestinal tract					
F-96221-BM. Effect on gastric secretion in the rat. Comparative study with cetirizine, fexofenadine and famotidine.	Rat / Wistar	Intraduodenal	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. D57	4.2.1.3.4.1
Activity of the compound F-96221-BM on the intestinal motility. Propulsion of activated carbon in the mouse.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. D62	4.2.1.3.4.2
(e) Effects on other organ systems					
Membrane stabilizing activity of the compound F-96221-BM. Rat erythrocytes submitted to hypotonic haemolysis.	Rat erythrocytes	<i>In Vitro</i>	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BM. A13	4.2.1.3.5.1

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
(f) Pharmacodynamic Drug Interactions					
F-96221-BM: Effect on the alloxan-induced hyperglycemia in the mouse. Interaction study with insulin.	Mouse / CD1	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. M51	4.2.1.4.1
F-96221-BM: Effect on rat blood coagulation parameters. Interaction study with warfarin.	Rat / Wistar	Oral	FAES FARMA SA, R&D Department, Bilbao, Spain	F96221BMC. S53	4.2.1.4.2

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Concentration (nmol/L) / Dosage (mg/kg)	Gender (M: male, F: female) and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Histamine H ₁ receptor binding	Guinea pig cerebellum	<i>In vitro</i>	2 - 8192	4 ^{a)}	Ki = 30.7 - 58.4 nmol/L	No	F96221BM. B08	4.2.1.1.1
Histamine H ₁ receptor binding	Human recombinant HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	1 - 30000	2	Ki = 64 nmol/L, IC ₅₀ = 180 nmol/L	No	6517	4.2.1.1.2
Anti-histamine activity	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	30 - 1000	3	pA ₂ = 8.05, pD' ₂ = 6.18	No	F96221BMC. A01	4.2.1.1.3
Anti-histamine activity	Guinea pig trachea	<i>In vitro</i>	30 - 300	2 - 4	pD' ₂ = 7.08	No	F96221BMC. A07	4.2.1.1.4
Schultz-Dale reaction	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	30 - 1000	3 - 5	IC ₅₀ = 95.5 nmol/L	No	F96221BMC. A16	4.2.1.1.5
Anti-histamine activity	Rat / Wistar	Oral and Intravenous	0.5 - 8 (oral) 0.05 - 1.6 (intravenous)	10 M / group	ED ₅₀ = 2.45 mg/kg (oral) ED ₃₀ = 82.9 µg/kg (intravenous)	No	F96221BM. A50	4.2.1.1.6
Anti-histamine activity	Rat / Wistar	Oral	5	10 M / group	E _{max} = 60% - 65%, T _{1/2} = 16 - 18 hr	No	F96221BM. A57	4.2.1.1.7
Anti-histamine activity	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Intravenous	0.0025 - 0.02	6 M / group	ED ₅₀ = 3.67 - 6.15 µg/kg	No	F96221BM. A30	4.2.1.1.8
Anti-histamine activity	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Oral	0.05 - 5	2 - 6 M / group	ED ₅₀ = 0.185 mg/kg	No	F96221BMC. A34	4.2.1.1.9
Anti-histamine activity	Guinea pig / Dunkin-Hartley	Oral	0.05 - 0.6	5 M / group	ED ₅₀ = 0.232 mg/kg	No	F96221BMC. A66	4.2.1.1.10
Type III hypersensitivity	Mouse / CD1	Oral	30, 50, 100	9 M / group	No effect on Arthus reaction at 100 mg/kg	No	F96221BMC. A73	4.2.1.1.11
Type IV hypersensitivity	Mouse / CD1	Oral and Topical	50, 100 (oral) 500 µg (topical)	8 - 10 M / group	No inhibition of the type IV contact dermatitis induced by oxazolone	No	F96221BMC. A61	4.2.1.1.12
Active cutaneous anaphylaxis	Mouse / CD1	Oral	0.5 - 50	8 - 16 M / group	ED ₃₀ = 4.15 mg/kg	No	F96221BMC. A71	4.2.1.1.13
Active cutaneous anaphylaxis	Mouse / CD1	Oral	0.5 - 50	8 - 16 M / group	ED ₃₀ = 3.82 mg/kg	No	F96221BMC. A72	4.2.1.1.14

a) 試験数を示す.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dosage (mg/kg)	Gender (M male, F female) and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Passive cutaneous anaphylaxis	Rat / Wistar	Oral	2 - 32	10 M / group	ED ₅₀ = 7.61 mg/kg	No	F96221BM. A52	4.2.1.1.15
Passive cutaneous anaphylaxis	Rat / Wistar	Oral	1.25 - 10	7 M / group	ED ₅₀ = 5.96 mg/kg	No	F96221BMC. A74	4.2.1.1.16
Lethal shock induced by the compound 48/80	Rat / Wistar	Oral	0.5 - 16	10 - 20 F / group	ED ₅₀ = 2.29 mg/kg	No	F96221BMC. A58	4.2.1.1.17
Cutaneous capillary permeability induced by the compound 48/80	Rat / Wistar	Oral	1 - 16	10 M / group	ED ₅₀ = 3.47 mg/kg	No	F96221BM. A69	4.2.1.1.18

2.6.3.3 副次的薬理試験

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Concentration (μmol/L)	Gender (M:male, F:female) and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Profiling Screen Data Report	Tissues of different species	<i>In vitro</i>	0.01 - 10	2	No binding to other receptors besides the histamine H ₁ receptor	No	132041	4.2.1.2.1
H ₂ antihistamine activity	Guinea pig heart	<i>In vitro</i>	100	4	No antagonistic activity on histamine H ₂ receptors	No	F96221BMC. V00	4.2.1.2.2
H ₃ antihistamine activity	Guinea pig jejunum	<i>In vitro</i>	30, 100	3	No antagonistic activity on histamine H ₃ receptors	No	F96221BMC. N05	4.2.1.2.3
Histamine H ₄ receptor binding	Human recombinant HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	1 - 10	2	No binding to histamine H ₄ receptors	No	11279	4.2.1.2.4
Muscarinic acetylcholine receptor binding	CHO cells, C6 rat glioma cells	<i>In vitro</i>	0.001 - 100	3 - 4 ^{a)}	No binding to muscarinic receptors	No		4.2.1.2.5
Contractions induced by serotonin	Rat caudal artery	<i>In vitro</i>	100	number not given	No antagonistic activity on serotonin 5-HT _{2A} receptors	No	F96221BMC. V12	4.2.1.2.6
Contractions induced by noradrenaline	Rabbit thoracic aorta	<i>In vitro</i>	100	3	No antagonistic activity on adrenergic α ₁ receptors	No	F96221BMC. V03	4.2.1.2.7
Contractions induced by acetylcholine	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	30, 100	3	No antagonistic activity on acetylcholine M ₃ receptors	No	F96221BMC. A03	4.2.1.2.8
Contractions induced by calcium	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	30, 100	2 - 3	No effect on calcium-induced contractions	No	F96221BMC. A04	4.2.1.2.9

a) 試験数を示す.

2.6.3.3 副次的薬理試験（続き）

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Concentration (μmol/L) / Dosage	Gender (M:male, F:female) and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Contractions induced by bradykinin	Guinea pig ileum	<i>In vitro</i>	100	4	Weak non-competitive antagonistic activity on bradykinin BK ₂ receptors	No	F96221BMC. A05	4.2.1.2.10
Antagonism of β ₂ receptors	Guinea pig trachea	<i>In vitro</i>	100	3	No antagonistic activity on adrenergic β ₂ receptors	No	F96221BMC. A11	4.2.1.2.11
Contractions induced by leukotriene D ₄	Guinea pig trachea	<i>In vitro</i>	100	3	No antagonistic activity on leukotriene D ₄ receptors	No	F96221BMC. A14	4.2.1.2.12
Cutaneous capillary permeability induced by serotonin	Rat / Wistar	Oral	2 - 64	10 M / group	Weak to moderate inhibition of serotonin-induced cutaneous capillary permeability	No	F96221BM. A51	4.2.1.2.13
Cutaneous capillary permeability induced by bradykinin	Rat / Wistar	Oral	2 - 32	10 M / group	Weak to moderate inhibition of bradykinin-induced cutaneous capillary permeability	No	F96221BM. A53	4.2.1.2.14
Gastric hypersecretion induced by histamine	Rat / Wistar	Intravenous	50 mg/kg/hr infusion	3 M / group	No antagonistic activity on histamine H ₂ receptors	No	F96221BMC. D30	4.2.1.2.15
Gastric hypersecretion induced by carbachol	Rat / Wistar	Intravenous	50 mg/kg/hr infusion	3 M / group	No antagonistic activity on acetylcholine M ₁ receptors	No	F96221BMC. D31	4.2.1.2.16

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: bilastine

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Dosage ^a (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Cardiovascular system	Isolated guinea pig atrium	<i>In vitro</i>	100 µM	number not given	Absence of inotropic effects in the left atrium electrically stimulated.	No	F96221BMC.V01	4.2.1.3.1.1
	Isolated guinea pig atrium	<i>In vitro</i>	1-100 µM	4-7 experiments	Absence of chronotropic effects in the right atrium.	No	F96221BMC.V11	4.2.1.3.1.2
	Ltk and CHO cells	<i>In vitro</i>	0.1-1000 µM	4-6 experiments	In a micromolar range of concentrations inhibition of all the K ⁺ currents involved in ventricular repolarization. Exhibition of low proarrhythmic effect, even in the presence of hypokalemia.	No	F96221BM	4.2.1.3.1.3
	HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	0.1, 1, 10, 100 µM	3 experiments	Dose-dependent reduction of HERG current amplitude.	Yes	A0781	4.2.1.3.1.4
	HEK 293 cells	<i>In vitro</i>	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 100 µM	5-6 experiments	Dose-dependent reduction of HERG current amplitude, more potent than fexofenadine and less potent than cetirizine and desloratadine.	No	FAES 02/01	4.2.1.3.1.5
	Dunkin-Hartley Guinea pig	Intravenous	60	6 M / group	No effects on HR, QTc and PR intervals or the QRS complex in the ECG.	No	F96221BM.V39	4.2.1.3.1.6
	Beagle dog	Oral	0, 10, 30, 100	6 M	Moderate but not significant decrease in the systolic and diastolic blood pressures and a slight and brief increase in QT interval at 100mg/Kg. No effect on blood pressure.	Yes	5121	4.2.1.3.1.7
	Beagle dog	Oral	0, 10, 30, 100	6M	No effect on ECG, heart rate or blood pressure.	Yes	V5822	4.2.1.3.1.8
Central Nervous system	Sprague-Dawley Rat	Oral	0, 75, 275, 1000	5 M / group	Increase alertness and exploratory activity at 1000 mg/kg but not deemed to be of clinical significance.	Yes	667071	4.2.1.3.2.1
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 200, 400, 800	10 M / group	Not significant reduction of exploratory activity (EXA).	No	F96221BM.C37	4.2.1.3.2.2
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 50, 100, 200, 400	12 M / group	No significant effect on the motor coordination in the three hours post-administration.	No	F96221BM.C54	4.2.1.3.2.3
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 100, 200, 400, 800	10 M / group	Only at 800 mg/kg moderate significant reduction in certain spontaneous motor activity (SMA) parameters.	No	F96221BM.C52	4.2.1.3.2.4

a: Single dose

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test Article: bilastine

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Dosage ^a (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Central Nervous system	Wistar Rat	Oral	0, 200, 400, 800	10 M / group	No significant modification of parameters of spontaneous motor activity (SMA).	No	F96221BM.C50	4.2.1.3.2.5
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 50, 100, 200	10 M / group	No anticonvulsant activity against the convulsions induced by pentamethylenetetrazol.	No	F96221BM.C77	4.2.1.3.2.6
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 50, 100, 200	10 M / group	No protection against the convulsions and/or the mortality induced by maximal electric shock.	No	F96221BM.C80	4.2.1.3.2.7
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 50, 100, 200	10 M / group	No potentiation of depressant effect of diazepam.	No	F96221BM.C93	4.2.1.3.2.8
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 50, 100, 200	10 M / group	No significant increase of the narcosis time induced by ethanol.	No	F96221BM.C56	4.2.1.3.2.9
	Swiss CD1 Mice	Oral	0, 50, 100, 200	10M or 20M / group	At 200 mg/kg slight but significant increase of the depressive effect induced by pentobarbital.	No	F96221BM.C57	4.2.1.3.2.10
	Wistar Rat	Oral	0, 100, 200	10 M / group	Only a slight reduction in the rectal temperature 1 hour after administration of 200mg/kg.	No	F96221BM.C83	4.2.1.3.2.11
Respiratory system	Sprague-Dawley Rat	Oral	0, 75, 275, 1000	5 M / group	No effect on the respiratory parameters respiratory rate, tidal volume and minute volume.	Yes	666125	4.2.1.3.3.1
Gastrointestinal system	Wistar Rat	Intraduodenal	10, 30, 100	8 M / group	No effect on gastric secretion: volume, pH and acid concentration.	No	F96221BMC.D57	4.2.1.3.4.1
	Swiss CD1 Mice	Oral	3, 30, 300	10 M / group	No effect on intestinal motility: intestinal transit time.	No	F96221BM.D62	4.2.1.3.4.2
Other systems	Rat erythrocytes	<i>In vitro</i>	100 µM	4 experiments	No erythrocyte membrane stabilizing activity.	No	F96221BM.A13	4.2.1.3.5.1

a: Single dose

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

Test Article: bilastine

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dosage (mg/kg)	Gender (M male, F female) and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Interaction with insulin	Mouse / CD1	Oral	30, 50	7 M / group	No interaction with insulin and no deterioration on alloxan-induced hyperglycaemia	No	F96221BMC. M51	4.2.1.4.1
Interaction with warfarin	Rat / Wistar	Oral	50	3 M / group	No interaction with warfarin and no effects on blood coagulation	No	F96221BMC. S53	4.2.1.4.2