

ビバンセカプセル 20mg, 同 30mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表.....	3
2.6.1 緒言.....	4
2.6.1.1 医薬品の構造及び薬理学的特性.....	5
2.6.1.2 申請した臨床適応，用量及び投与期間.....	5
2.6.1.3 参考文献一覧.....	5

2.6.1 略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
ADHD	attention-deficit/hyperactivity disorder	注意欠陥／多動性障害
DAT	dopamine reuptake transporter	ドパミントランスポーター
NET	noradrenaline reuptake transporter	ノルアドレナリントランスポーター

2.6.1 緒言

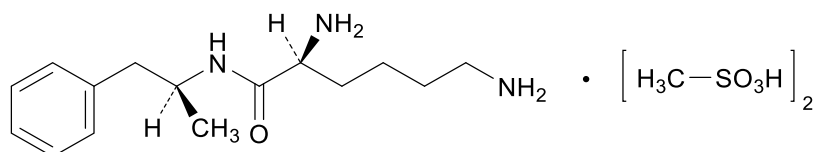
ビバンセカプセルは、注意欠陥／多動性障害 (ADHD) 患者が 1 日 1 回服用する治療薬として Shire AG (以下、Shire 社) によって開発され (開発コード：SPD-489 又は NPR-104), 20 年, 塩野義製薬株式会社は、国内における ADHD 治療薬としての開発の権利を取得し、開発を開始した (開発コード：S-877489).

ビバンセカプセルの新有効成分は、リスデキサンフェタミンメシル酸塩 (以下、本薬) であり、リスデキサンフェタミンは、活性体である *d*-アンフェタミンとアミノ酸である L-リジンがアミド結合で共有結合したプロドラッグである (ビバンセカプセル 20 mg 及び同 30 mg は、それぞれ 20 及び 30 mg の本薬を含んでおり、*d*-アンフェタミン換算ではそれぞれ約 5.9 及び 8.9 mg である). 本薬の経口、腹腔内又は静脈内投与後、リスデキサンフェタミンは、*d*-アンフェタミンと L-リジンに加水分解される。*d*-アンフェタミンは、脳内に移行して、ノルアドレナリントランスポーター (NET) 及びドパミントランスポーター (DAT) の阻害作用並びに脳内におけるノルアドレナリン及びドパミンの放出促進により、シナプス間隙のノルアドレナリン及びドパミン濃度を増加させると考えられている [1,2]. リスデキサンフェタミン自身は、NET 及び DAT の阻害作用を示さず、薬理学的に不活性である.

アンフェタミンとしては、*dl*-アンフェタミンが肥満、ナルコレプシー、ADHD 等の治療のために、1930 年代から海外で臨床使用されており、薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的性質が知られている. 海外での Shire 社による本薬の非臨床開発計画では、*d*-アンフェタミンの効果を考慮し、リスデキサンフェタミン自体の特徴を特定するために、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験、安全性薬理試験、薬物動態試験、単回及び反復投与毒性試験 (6 ヶ月までのラット及び 28 日までのイヌ)、遺伝毒性試験、胚・胎児発生に関する試験、幼若ラット及びイヌを用いた毒性試験並びに依存性関連試験が実施されていた. 新有効成分の申請に必要な毒性試験のうち、胚・胎児発生に関する試験以外の生殖発生毒性試験が実施されていないため、本申請では、Shire 社が Adderall® (米国で市販) を申請するために、その有効成分である混合アンフェタミン塩 [*dl*-アンフェタミン硫酸塩、*dl*-アンフェタミンアスパラギン酸塩、*d*-アンフェタミン硫酸塩及び *d*-アンフェタミンサッカラートのアンフェタミン換算としての等量混合物 (*d:l* = 3:1)] を用いて実施した受胎能及び初期胚発生に関する試験と出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を参考資料として使用した. また、がん原性評価については、米国国家毒性プログラムが *dl*-アンフェタミン硫酸塩を用いて実施したがん原性試験 [3] を文献として利用した. さらに、非臨床の申請データパッケージの充足性に関する独立行政法人医薬品医療機器総合機構の意見 (医薬品 相談回答, 20 年 月 日付) に基づいて、非げっ歯類における長期反復投与毒性試験として、イヌ 9 ヶ月反復経口投与毒性試験を追加実施した.

2.6.1.1 医薬品の構造及び薬理学的特性

(1) 医薬品の構造



(2) 薬理的特性

- リスデキサンフェタミンは、NET 及び DAT に対する親和性を示さない。
- リスデキサンフェタミンは、主に赤血球の可溶性画分に存在するアミノペプチダーゼによって *d*-アンフェタミンに加水分解され、*d*-アンフェタミンが脳内に移行して、薬理作用を示す。
- *d*-アンフェタミンの ADHD に対する治療効果の作用機序は、完全には確立されていないが、NET 及び DAT 阻害作用並びに脳内におけるノルアドレナリン及びドパミンの放出促進の結果、シナプス間隙のノルアドレナリン及びドパミン濃度が増加することに起因すると考えられている [1,2]。

2.6.1.2 申請した臨床適応、用量及び投与期間

(1) 効能又は効果

小児期における注意欠陥／多動性障害 (AD/HD)

(2) 用法及び用量：

通常、小児にはリスデキサンフェタミンメシル酸塩として 30 mg を 1 日 1 回朝経口投与する。症状により、1 日 70 mg を超えない範囲で適宜増減するが、増量は 1 週間以上の間隔をあけて 1 日用量として 20 mg を超えない範囲で行うこと。

2.6.1.3 参考文献一覧

1. Heal DJ, Cheetham SC, Smith SL. The neuropharmacology of ADHD in vivo: insights on efficacy and safety. *Neuropharmacology* 2009; 57: 609-18.
2. Heal DJ, Smith SL, Findling RL. ADHD: Current and Future Therapeutics. *Curr Top Behav Neurosci* 2012; 9 (A018): 361-90.
3. NTP (National Toxicology Program) TR-387. Toxicology and Carcinogenesis Studies of *dl*-Amphetamine Sulphate (CAS No. 60-13-9) in F344/N Rats and B6C3F₁ Mice (Feed Studies). Reported June 1991.

ビバンセカプセル 20mg, 同 30mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表.....	3
2.6.2 薬理試験の概要文	4
2.6.2.1 まとめ.....	4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....	6
2.6.2.2.1 カテコールアミントランスポーターに対するリスデキサンフェタミンの結合 親和性	6
2.6.2.2.2 本薬の動物における薬理作用	6
2.6.2.2.2.1 本薬及び <i>d</i> -アンフェタミン硫酸塩の衝動性に対する効果.....	6
2.6.2.2.2.2 本薬及びメチルフェニデート塩酸塩の前頭前皮質及び線条体の細胞外モノア ミン濃度並びに自発運動量に対する効果.....	7
2.6.2.2.2.3 本薬及び <i>d</i> -アンフェタミン硫酸塩の線条体の細胞外ドパミン濃度及び自発運 動量に対する効果.....	13
2.6.2.2.2.4 <i>d</i> -アンフェタミン硫酸塩の多動，衝動性及び注意欠如に対する効果.....	17
2.6.2.2.2.5 モノアミン酸化酵素に対する <i>d</i> -アンフェタミンの作用.....	19
2.6.2.2.2.6 ラット脳シナプトソームからのモノアミン遊離に対する <i>d</i> -アンフェタミン硫 酸塩の作用.....	20
2.6.2.3 副次的薬理試験.....	21
2.6.2.3.1 種々の受容体，トランスポーター，イオンチャネル，酵素及びその他標的分子 に対するリスデキサンフェタミンの結合親和性.....	21
2.6.2.3.2 セロトニントランスポーター及び種々の受容体に対する <i>d</i> -アンフェタミンの結 合親和性	21
2.6.2.4 安全性薬理試験.....	23
2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響	23
2.6.2.4.2 心血管系に及ぼす影響	25
2.6.2.4.2.1 <i>In vitro</i> hERG 試験.....	25
2.6.2.4.2.2 麻酔イヌの心血管系に対する作用.....	25
2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響	27
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	27
2.6.2.6 考察及び結論.....	28
2.6.2.6.1 本薬の中枢薬理作用	28
2.6.2.6.2 安全性薬理試験	29
2.6.2.6.2.1 本薬の安全性薬理試験.....	29
2.6.2.6.2.2 結論.....	30
2.6.2.7 図表.....	30
2.6.2.8 参考文献.....	31

2.6.2 略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
ADHD	attention-deficit/hyperactivity disorder	注意欠陥/多動性障害
C _{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DAT	dopamine transporter	ドパミントランスポーター
DOPAC	3,4-dihydroxyphenylacetic acid	3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸
FOB	functional observation battery	機能観察総合評価法
GLP	Good Laboratory Practice	
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
5-HIAA	5-hydroxyindoleacetic acid	5-ヒドロキシインドール酢酸
5-HT	serotonin	セロトニン
HVA	homovanillic acid	ホモバニリン酸
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
Ki	inhibition constant	阻害定数
MAO	monoamine oxygenase	モノアミン酸化酵素
NET	noradrenaline transporter	ノルアドレナリントランスポーター
6-OHDA	6-hydroxydopamine	6-ヒドロキシドパミン
SEM	standard error of the mean	平均値の標準誤差
SERT	serotonin transporter	セロトニントランスポーター
SH	spontaneously hypertensive	自然発症高血圧
T _{max}	time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

ビバンセカプセルは、注意欠陥/多動性障害 (ADHD) 患者が 1 日 1 回服用する治療薬として Shire AG によって開発され (開発コード: SPD-489 又は NPR-104), 2014 年, 塩野義製薬株式会社は, 国内における ADHD 治療薬としての開発の権利を取得し, 開発を開始した (開発コード: S-877489).

ビバンセカプセルの新有効成分は, リスデキサンフェタミンメシル酸塩 (以下, 本薬) であり, リスデキサンフェタミンは, 活性体である *d*-アンフェタミンとアミノ酸である L-リジンがアミド結合で共有結合したプロドラッグである (ビバンセカプセル 20 mg 及び同 30 mg は, それぞれ 20 及び 30 mg の本薬を含んでおり, *d*-アンフェタミン換算ではそれぞれ約 5.9 及び 8.9 mg である). 本薬の経口, 腹腔内又は静脈内投与後, リスデキサンフェタミンは, *d*-アンフェタミンと L-リジンに加水分解される. *d*-アンフェタミンは, 脳内に移行して, ノルアドレナリントランスポーター (NET) 及びドパミントランスポーター (DAT) の阻害作用並びに脳内におけるノルアドレナリン及びドパミンの放出促進により, シナプス間隙のノルアドレナリン及びドパミン濃度を増加させると考えられている [1,2]. リスデキサンフェタミン自身は, NET 及び DAT の阻害作用を示さず, 薬理学的に不活性である.

本薬の薬効薬理及び安全性薬理を評価するために, 本薬, リスデキサンフェタミン塩酸塩又はリスデキサンフェタミン (塩は記載なし) を用いて, 効力を裏付ける試験, 副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した (表 2.6.2.1-1). 特に指定しない限り, 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の投与量は, 投与した本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩量で表記し, 基本的に *d*-アンフェタミン換算量を併記した. なお, 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の換算係数を表 2.6.2.1-2 に示す. また, 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の濃度は, それぞれリスデキサンフェタミン換算及び *d*-アンフェタミン換算で表記し, リスデキサンフェタミン塩酸塩及びリスデキサンフェタミンの濃度は, モル換算で表記した.

表 2.6.2.1-1 本薬，リスデキサンフェタミン塩酸塩又はリスデキサンフェタミンを用いて実施した非臨床薬理試験の一覧

試験項目	試験系	投与経路	添付資料番号
効力を裏付ける試験			
カテコールアミントランスポーターに対する結合親和性 ^A	標識リガンド結合試験	<i>In vitro</i>	4.2.1.1-01
衝動性に対する効果 ^B	ラット	経口投与	4.2.1.1-02
前頭前皮質及び線条体の細胞外モノアミン濃度並びに自発運動量に対する効果 ^C	ラット	経口投与	4.2.1.1-03, 4.2.1.1-04
線条体の細胞外ドパミン濃度及び自発運動量に対する効果 ^B	ラット	腹腔内投与	4.2.1.1-05
副次的薬理試験			
種々の受容体等に対する結合親和性 ^D	標識リガンド結合試験	<i>In vitro</i>	4.2.1.2-01
安全性薬理試験			
中枢神経系に及ぼす影響 ^{A, E}	ラット(単回及び幼若 8 週間*)	経口投与	4.2.3.1-04, 4.2.3.5-03
心血管系に対する作用 ^{B, *}	麻酔イス	静脈内投与	4.2.1.3-01
呼吸系に及ぼす影響 [*]	麻酔モルモット	静脈内投与	4.2.1.3-02
<i>In vitro</i> hERG 試験 ^{B, *}	HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	4.2.1.3-03

略号：hERG, human ether-à-go-go-related gene.

A=リスデキサンフェタミン塩酸塩を用いた試験

B=*d*-アンフェタミン硫酸塩も併せて評価した試験

C=メチルフェニデート塩酸塩も併せて評価した試験

D=リスデキサンフェタミンを用いた試験

E=毒性試験で評価

*: GLP (Good Laboratory Practice) で実施.

表 2.6.2.1-2 本薬及び*d*-アンフェタミン硫酸塩の換算係数 (被験物質を 100 とした場合の換算値)

被験物質	リスデキサンフェタミン換算値	<i>d</i> -アンフェタミン換算値
本薬 (リスデキサンフェタミンメシル酸塩)	57.8	29.6
<i>d</i> -アンフェタミン硫酸塩	適用せず	73.5

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 カテコールアミントランスポーターに対するリスデキサンフェタミンの結合親和性

参考資料 4.2.1.1-01

概要表 2.6.3.2.1

NET 及び DAT に対するリスデキサンフェタミンの結合親和性を明らかにするため、リスデキサンフェタミン塩酸塩 (濃度: 1 nmol/L~10 µmol/L) を用いて、ヒト遺伝子組み換え型 NET 又は DAT における放射性標識リガンド結合試験法により検討した。

その結果、リスデキサンフェタミンは、NET 及び DAT の放射性標識リガンド結合部位に親和性を示さなかった。本試験で用いた最高濃度である 10 µmol/L での結合阻害率は、NET (放射性標識リガンドとして ³H 標識したニソキセチンを使用) 及び DAT (放射性標識リガンドとして ³H 標識した WIN35,428 を使用) のいずれにおいても 15%未満と低い値であった。

したがって、活性体である *d*-アンフェタミンの薬理作用発現に関与するターゲット分子である NET 及び DAT に対して、リスデキサンフェタミンは親和性を示さず、NET 及び DAT に対する直接作用がないことが示された。

一方、*d*-アンフェタミンの結合親和性については、³H 標識したニソキセチンの NET 結合に対する阻害定数 (K_i) は 257 nmol/L であること [3] が、³H 標識した WIN35,428 の DAT 結合に対する K_i は 190 nmol/L であること [4] が、³H 標識した GBR 12935 の DAT 結合に対する 50%阻害濃度 (IC₅₀) は 9600 nmol/L であること [5] が、それぞれ報告されている。これらの結果は、*d*-アンフェタミンが NET 及び DAT に対する競合的基質であることを示している。なお、NET 及び DAT を介してノルアドレナリン及びドパミン作動性神経終末へ取り込まれた *d*-アンフェタミンは、細胞質やシナプス小胞などの貯蔵プールからノルアドレナリン及びドパミンを遊離させることが知られている [1,6]。

以上のことから、NET 及び DAT に対して、*d*-アンフェタミンが親和性を示し、リスデキサンフェタミンは親和性を示さないことが明らかとなった。これらの結果から、リスデキサンフェタミンは薬理的に不活性なプロドラッグであり、本薬の *in vivo* 作用は、活性体である *d*-アンフェタミンによって発揮されと考えられる。

2.6.2.2.2 本薬の動物における薬理作用

2.6.2.2.2.1 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の衝動性に対する効果

参考資料 4.2.1.1-02

概要表 2.6.3.2.2

衝動性は ADHD の主要な症状の一つであり、衝動性を示す患者は報酬をすぐに求める傾向がある。そのため、待つことで得られる大きな報酬とすぐに得られる小さな報酬のどちらを選択するのかを指標とした試験は、動物における衝動性の評価モデルと考えられている。そこで、本薬が衝動的行動に対して改善効果を示すか否か、幼若ラットにおける T 字型迷路装置を用いた遅延価値割引課題によって検討した。本試験では、*d*-アンフェタミン硫酸塩を比較対照薬として使用した。

ラットは試験期間を通して給餌制限され、薬物評価期間中、自由摂食時の体重の 65%~75%

となるよう維持された。最初に、T 字型迷路装置内の可動式ギロチンドアで仕切られた両側のボックスのうち、片側ボックスには常に大きな報酬 (20 mg の餌を 5 個) を置き、もう一方には小さな報酬 (20 mg の餌を 1 個) を置き、大報酬ボックスを選択するように個々のラットを訓練した。次に、大報酬ボックスを選択する場合は、報酬を得るまでに 30 秒間の遅延時間をおいた。この待ち時間によって、ラットはすぐに得られる小報酬ボックスを選択するようになる。薬効評価は、この 30 秒間待たせる条件下で、5 試行を 1 セッションとして、薬物投与前日に 2 セッション、薬物投与 1 及び 2 日目の投与後 1 時間に各 1 セッション、2 回目の薬物投与翌日に 2 セッションの計 6 セッションを実施した。

雄性 Wistar 系幼若ラット (34~36 日齢, 11~18 匹/群) に媒体 (60% PEG400 + 40%滅菌水)、本薬 [投与量: 4, 8 及び 16 mg/kg/日 (*d*-アンフェタミン換算値: それぞれ約 1.2, 2.4 及び 4.7 mg/kg/日)] 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 [投与量: 3 mg/kg/日 (*d*-アンフェタミン換算量: 約 2.2 mg/kg)] を 2 日間反復経口投与した。衝動性の改善指標として、遅延大報酬ボックスの選択数を用い、薬物投与前日のセッションに対する薬物投与後のセッションにおける変化を比較した。

その結果、本薬は全ての用量で大報酬選択数を増加させた。このとき、4 及び 16 mg/kg 投与群の平均大報酬選択数は、薬物投与前日の平均大報酬選択数に対して統計学的に有意であったが、8 mg/kg 投与群は、有意差を示さなかった。同様に、*d*-アンフェタミン硫酸塩も 3 mg/kg の用量で平均大報酬選択数を有意に増加させた。本薬を投与したいずれの群及び *d*-アンフェタミン硫酸塩投与群でも、薬物投与翌日には大報酬選択数増加作用は消失していた。

これらの結果は、本薬が、衝動的行動を減少させることを示しており、ADHD 患者の衝動性に対して治療効果があることを示唆している。

2.6.2.2.2.2 本薬及びメチルフェニデート塩酸塩の前頭前皮質及び線条体の細胞外モノアミン濃度並びに自発運動量に対する効果

参考資料 4.2.1.1-03, 4.2.1.1-04
概要表 2.6.3.2.3, 2.6.3.2.4.

自由行動下の雄性 Sprague-Dawley 系ラット (体重 250~350 g, 6~7 匹/群) に媒体 (脱イオン水) 又は本薬 [投与量: 約 1.7, 5.1 及び 15.2 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算量: それぞれ 0.5, 1.5 及び 4.5 mg/kg)] を単回経口投与し、投与前 60 分から投与後 300 分まで、二重プローブ微小透析法を用いて、前頭前皮質及び線条体の細胞外モノアミン及びその代謝物濃度を測定すると共に、中枢刺激性の副作用の指標として自発運動量も測定した [参考資料 4.2.1.1-03]。また、比較対照薬であるメチルフェニデート塩酸塩 (メチルフェニデート換算投与量: 3, 10 及び 30 mg base/kg) を使用して、同様の試験 (単回経口投与, 媒体: 1%メチルセルロース含有脱イオン水) を実施した [参考資料 4.2.1.1-04]。本薬及びメチルフェニデート塩酸塩の投与量は、ラット弁別試験 [2.6.6.8.2 項参照] の結果から、アンフェタミン様弁別刺激効果が同等となるように選択した。

本薬約 1.7 及び 5.1 mg/kg 投与群では、測定中いずれの時間帯においても、自発運動量はわずかしこ増加しなかったが、約 15.2 mg/kg 投与群では、自発運動量の有意な増加が投与後 300 分まで持続的に観察された。したがって、本薬約 1.7 及び 5.1 mg/kg 単回経口投与は、中枢刺激性

の副作用を示さないあるいは副作用が軽微な用量であると考えられ、約 15.2 mg/kg 単回経口投与は、中枢刺激性の副作用を示す用量であると考えられる。

前頭前皮質の細胞外ドパミン、ノルアドレナリン、セロトニン (5-HT)、3,4-ヒドロキシフェニル酢酸 (DOPAC)、ホモバニリン酸 (HVA) 及び 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA) 濃度に及ぼす本薬約 1.7 及び 5.1 mg/kg 単回経口投与の影響を検討した。その結果、細胞外ドパミン及びノルアドレナリン濃度は、それぞれ最大でベースライン値 (投与前 60 分間の平均値) に対して約 200%及び約 300%にまで増加した。これらは、投与後 90~120 分に顕著であり、投与後 240 分まで媒体投与群と比較して有意な増加を示した。細胞外 5-HT 濃度は、細胞外ドパミン及びノルアドレナリンほどの増加や持続はなかったが、散発的に有意に増加した。細胞外 DOPAC 濃度は、細胞外ドパミン濃度の増加と一致して、緩やか、かつ持続的に減少した。一方、細胞外 HVA 及び 5-HIAA 濃度は変化しなかった。

線条体の細胞外モノアミン濃度に及ぼす本薬約 1.7 及び 5.1 mg/kg 単回経口投与の影響を検討した。その結果、細胞外ドパミン濃度は用量依存的に増加し、それぞれ最大でベースライン値に対して 156%及び 214%にまで増加した。これらの増加は、投与後 90 分に最大値を示し、投与後それぞれ 150 分及び 240 分まで媒体投与群と比較して有意であり、約 1.7 mg/kg 単回経口投与では投与後 270 分にベースライン値まで減少した。この結果は、約 1.7 及び 5.1 mg/kg 投与群でわずかなではあるが用量依存的な自発運動量の増加を認めたことと一致していた。細胞外 DOPAC 及び HVA 濃度は、細胞外ドパミン濃度の増加に伴って減少した。細胞外 5-HT 及び 5-HIAA 濃度は、約 1.7 mg/kg 単回経口投与では有意に変化しなかった。一方、約 5.1 mg/kg 単回経口投与では、細胞外 5-HT 濃度は投与後わずかに増加し、投与 90 分後に有意に増加したが、細胞外 5-HIAA 濃度は変化しなかった。

これらの結果から、本薬約 1.7 及び 5.1 mg/kg 単回経口投与は、中枢刺激性の副作用の指標である自発運動量の増加をわずかししか示さず、前頭前皮質でのドパミン系及びノルアドレナリン系の機能並びに線条体でのドパミン系の機能を増強させることが示された。脳内カテコールアミン作動性神経伝達を促進させる薬物が ADHD 症状を改善させることから、これらのモノアミン機能増強が本薬の ADHD に対する治療効果に寄与すると考えられる。

前頭前皮質の細胞外モノアミン濃度に及ぼす本薬約 15.2 mg/kg 単回経口投与の影響を検討した。その結果、細胞外ドパミン及びノルアドレナリン濃度は、それぞれ最大でベースライン値に対して 296%及び 529%にまで増加した。細胞外ドパミン及びノルアドレナリン濃度の増加は、それぞれ投与後 60 分から 240 分まで及び投与後 45 分から 300 分まで、持続的に認められた。一方、細胞外 5-HT 濃度は一過性に増加したが、細胞外 DOPAC、HVA 及び 5-HIAA 濃度は変化しなかった。

線条体の細胞外モノアミン濃度に及ぼす本薬約 15.2 mg/kg 単回経口投与の影響を検討した。その結果、細胞外ドパミン濃度は最大でベースライン値に対して 364%まで増加した。細胞外 DOPAC 及び HVA 濃度は減少し、細胞外 5-HT 濃度は増加したが、細胞外 5-HIAA 濃度は変化しなかった。

メチルフェニデート塩酸塩 3 mg base/kg 投与群では投与後 60 分に、10 mg base/kg 投与群では投与後 45 及び 60 分に、それぞれ自発運動量が軽度増加した。この自発運動量の増加は、投

与後 15 分から 60 分まで観察された。一方、メチルフェニデート塩酸塩 30 mg base/kg 投与群では、自発運動量は投与直後から著しく増加した。この増加は、投与約 45 分後に最高値を示し、その後徐々に減少したが、投与後 255 分までは媒体投与群と比較して有意であった。これらの結果から、メチルフェニデート塩酸塩 3 及び 10 mg base/kg 単回経口投与は、中枢刺激性の副作用が軽微な用量と考えられ、30 mg base/kg 単回経口投与は、中枢刺激性の副作用を示す用量であると考えられる。

前頭前皮質の細胞外ドパミン、ノルアドレナリン、5-HT、DOPAC、HVA 及び 5-HIAA 濃度に及ぼすメチルフェニデート塩酸塩 3、10 及び 30 mg base/kg 単回経口投与の影響を検討した。その結果、3 mg base/kg 単回経口投与では細胞外ドパミン濃度が選択的に増加し、10 mg base/kg 単回経口投与では細胞外ドパミン濃度より細胞外ノルアドレナリン濃度の方が増加し、30 mg base/kg 単回経口投与では細胞外ドパミン及びノルアドレナリン濃度が同程度に増加した。これらの増加は、投与後比較的早い時間で認められ、投与後約 60 分で最高値を示した。細胞外 DOPAC 濃度は、細胞外ドパミン濃度の増加に伴って著しく減少したが、細胞外 5-HT 濃度は変化しなかった。

線条体の細胞外モノアミン濃度に及ぼすメチルフェニデート塩酸塩 3、10 及び 30 mg base/kg 単回経口投与の影響を検討した。その結果、細胞外ドパミン濃度は、3 mg base/kg 単回経口投与では増加しなかったが、10 mg base/kg 単回経口投与では投与後 15 及び 60 分に媒体投与群と比較して有意に増加した。また、30 mg base/kg 単回経口投与では投与直後から著しく増加し、投与後 45 分に最大（ベースライン値に対して 243%にまで増加）を示した後、徐々に減少したが、この増加は投与後 210 分まで持続した。細胞外 5-HT 濃度は、3 及び 10 mg base/kg 単回経口投与では投与後 240 及び 285 分に媒体投与群と比較して有意に減少したが、30 mg base/kg 単回経口投与では投与 30～60 分後に一過性に増加し、投与後 240～300 分の間有意に減少した。細胞外 DOPAC 濃度は、いずれの用量でも有意に変化しなかったが、細胞外 HVA 濃度は、全ての用量で媒体投与群と比較して有意に増加した。細胞外 5-HIAA 濃度は、3 及び 10 mg base/kg 単回経口投与では投与後 135 分まで変化せず、それ以降媒体投与群と比較して有意に増加したが、30 mg base/kg 単回経口投与では投与直後から増加し、投与後 300 分まで高値を維持した。

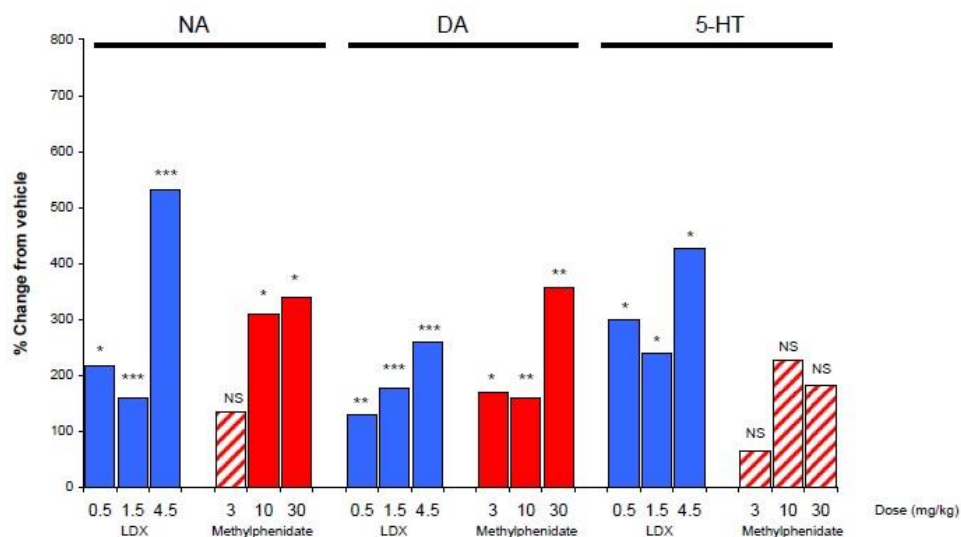
以上の結果から、[図 2.6.2.2-1](#) に示すように、中枢刺激性の副作用を示さない用量である本薬約 1.7 及び 5.1 mg/kg（図中のそれぞれ LDX 0.5 及び 1.5 mg/kg）単回経口投与とメチルフェニデート塩酸塩 3 及び 10 mg base/kg 単回経口投与との間に、いくつかの相違点が認められた。本薬は、前頭前皮質の細胞外ドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT 濃度並びに線条体の細胞外ドパミン及び 5-HT 濃度を増加させたのに対して、メチルフェニデート塩酸塩は、前頭前皮質の細胞外ドパミン及びノルアドレナリン濃度並びに線条体の細胞外ドパミン濃度のみを増加させ、前頭前皮質及び線条体の細胞外 5-HT 濃度を増加させなかった。また、本薬は、線条体の細胞外ドパミン濃度を増加させる一方で、その主要かつ最終代謝産物である細胞外 HVA 濃度を減少させたのに対して、メチルフェニデート塩酸塩は、線条体の細胞外ドパミン及び HVA 濃度の両方を増加させた。これらのことから、本薬はドパミン代謝回転の低下を、メチルフェニデート塩酸塩はドパミン代謝回転の亢進を、それぞれ伴うことが示唆され、結果的に本薬の方がメチルフェニデート塩酸塩より線条体の細胞外ドパミン濃度を増加させたと考えられる。本薬は、いずれの

用量でも前頭前皮質の細胞外ドパミン、ノルアドレナリン及び5-HT濃度を同程度に増加させた。一方、メチルフェニデート塩酸塩は、3 mg base/kg で細胞外ドパミン濃度のみを有意に増加させ、10 mg base/kg では細胞外ドパミン及びノルアドレナリン濃度を有意に増加させたが、細胞外ドパミン濃度より細胞外ノルアドレナリン濃度の方が高いという用量により異なる細胞外モノアミン増加作用を示した。

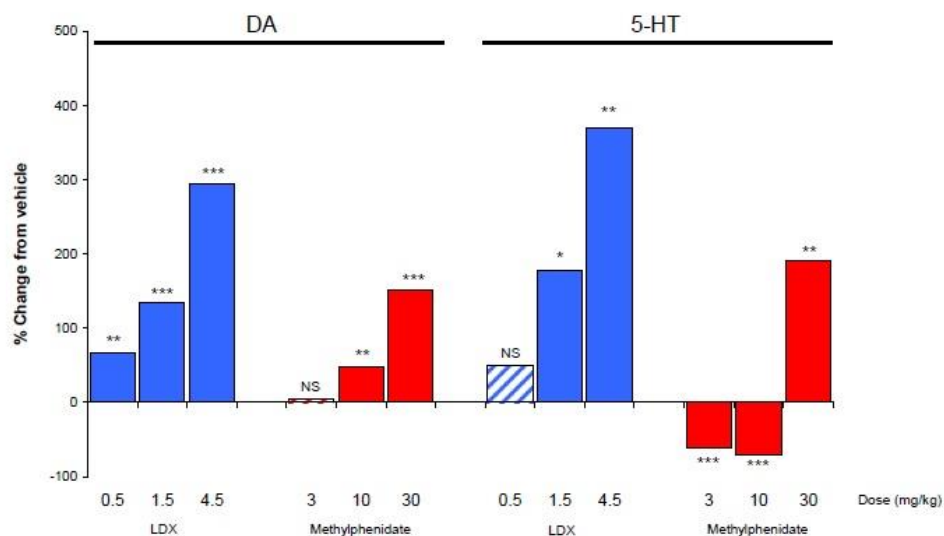
また、中枢刺激性の副作用を示す用量である本薬約 15.2 mg/kg 及びメチルフェニデート塩酸塩 30 mg base/kg 単回経口投与時の線条体の細胞外ドパミン濃度と自発運動量の相関について解析した (図 2.6.2.2-2)。本薬及びメチルフェニデート塩酸塩はいずれも、線条体の細胞外ドパミン濃度と自発運動量の間に直線性の相関を示したが、本薬の直線の傾きは、メチルフェニデート塩酸塩の傾きと比較してより緩やかであった。これらの解析により、本薬は、線条体の細胞外ドパミン濃度を最大でベースライン値に対して約 360%にまで増加させ、メチルフェニデート塩酸塩 (最大でベースライン値に対して約 240%にまで増加) より高い増加を示したにもかかわらず、中枢刺激性の副作用の指標とした自発運動量の増加はメチルフェニデート塩酸塩より軽度であることが示された。中枢刺激性の副作用の指標として、自発運動量以外を評価していないため、ヒトで発現する中枢刺激性の副作用すべてを考察することは困難だが、本薬は、ヒトにおいて、メチルフェニデート塩酸塩と同程度あるいはそれ以上の細胞外ドパミン濃度増加を示した場合でも、メチルフェニデート塩酸塩より覚醒レベルの増加、活動性亢進、不眠等の中枢刺激性の副作用を誘発しにくいことが期待される。

図 2.6.2.2-1 本薬及びメチルフェニデート塩酸塩単回経口投与時の前頭前皮質及び線条体の細胞外ドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT 濃度の最大増加率の比較

Prefrontal cortex (PFC)

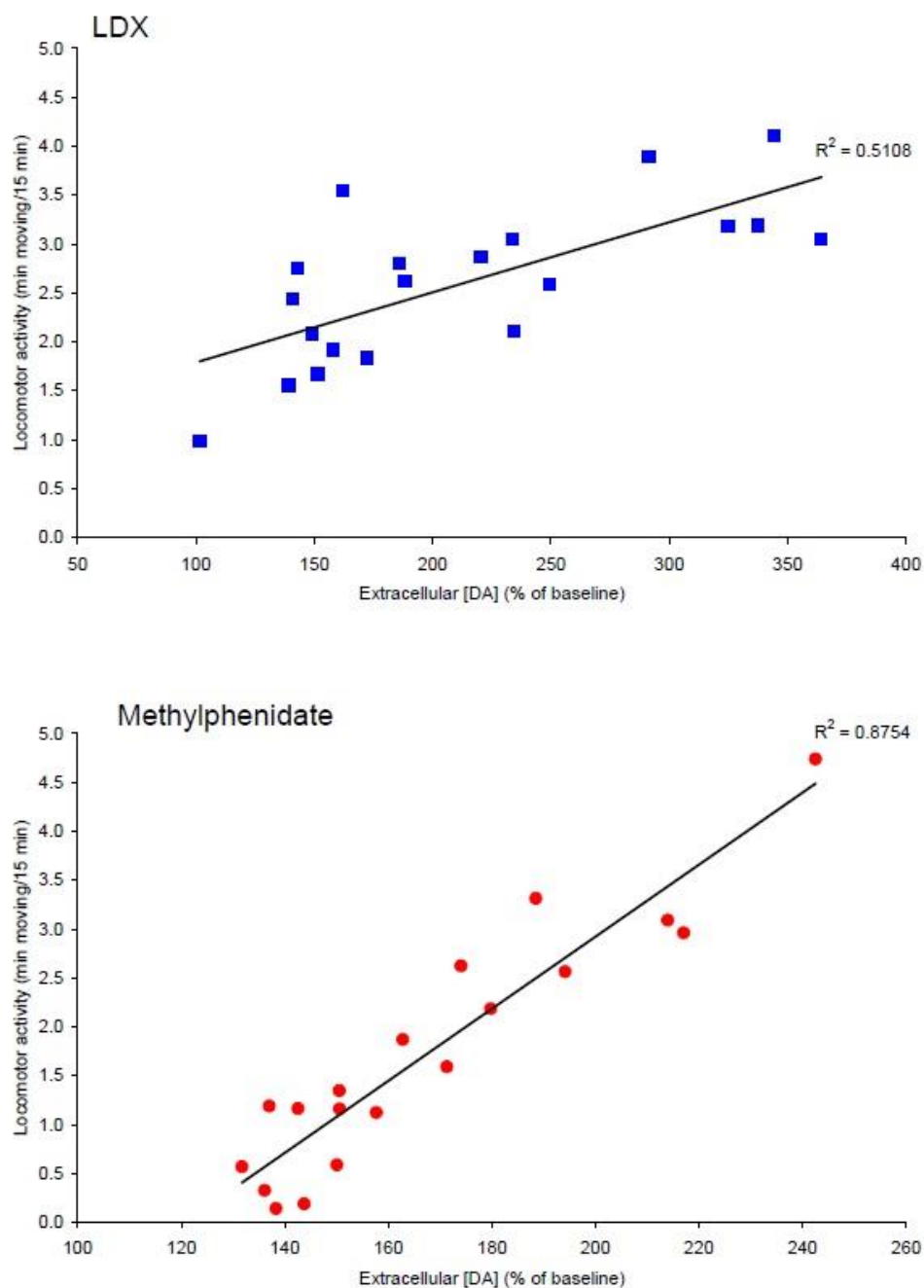


Striatum



参考資料 4.2.1.1-04 から抜粋. 図中の NA, DA, 5-HT, LDX 及び Methylphenidate は、それぞれノルアドレナリン、ドパミン、5-HT、本薬及びメチルフェニデート塩酸塩を表す. 本薬の投与量は *d*-アンフェタミン換算量で、メチルフェニデート塩酸塩の投与量はメチルフェニデート換算量で、それぞれ示した. データは、媒体投与群 (N=5~7) からの最大平均変化率 (%) で示され、統計学的有意差があるもの及びないものは、それぞれ色塗り及び斜線棒で区別した. データを共分散分析した後、本薬及びメチルフェニデート塩酸塩各投与量群を、Williams 検定を用いて媒体投与群と比較した. 統計学的有意差は、* $p<0.05$, ** $p<0.01$ 及び*** $p<0.001$ で示した.

図 2.6.2.2-2 本薬及びメチルフェニデート塩酸塩単回経口投与時の線条体の細胞外ドパミン濃度と自発運動量との相関



参考資料 4.2.1.1-04 から抜粋. 図中の LDX, Methylphenidate 及び DA は, それぞれ本薬, メチルフェニデート塩酸塩及びドパミンを表す. 最高投与用量である本薬 [投与量: 約 15.2 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算量: 4.5 mg/kg)] 又はメチルフェニデート塩酸塩 (メチルフェニデート換算投与量: 30 mg base/kg) 単回経口投与時のデータ (N=5~7) を, ベースライン値からの細胞外ドパミン濃度変化率 (%) 及び 15 分中の平均運動量を, それぞれ横軸及び縦軸として, プロットした. 運動量データは, 平方根した値を, ドパミンデータは, 対数変換した値を, それぞれ共変数として共分散分析した.

2.6.2.2.3 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の線条体の細胞外ドパミン濃度及び自発運動量に対する効果

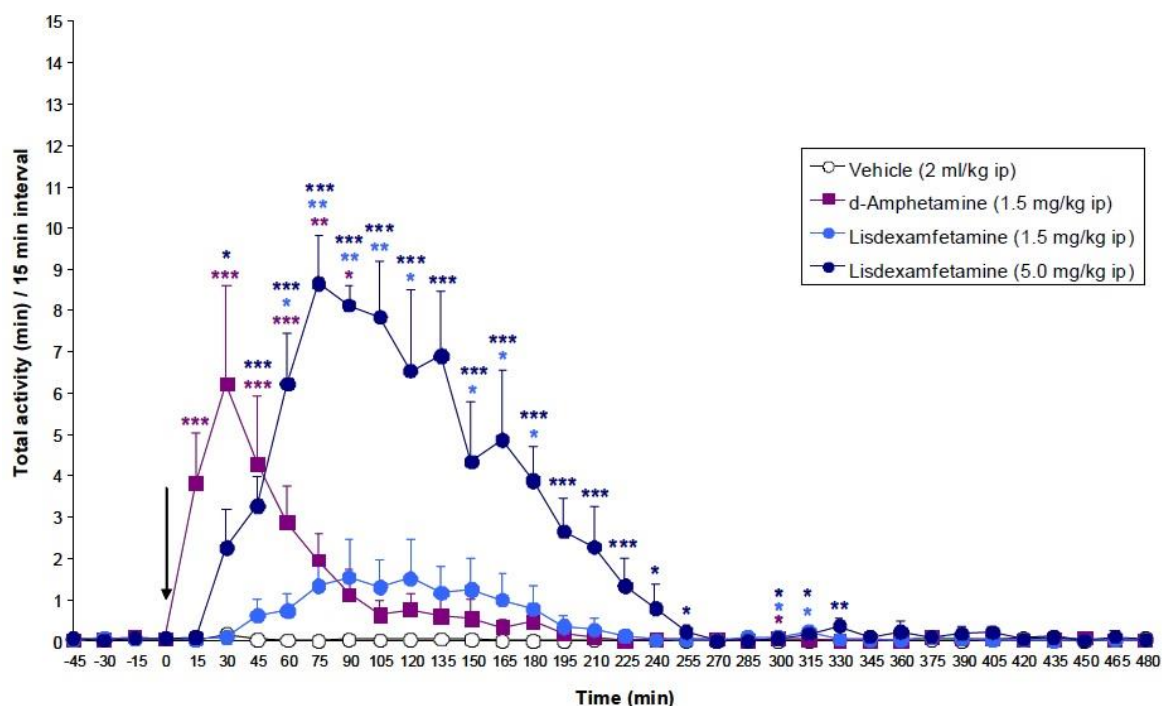
参考資料 4.2.1.1-05

概要表 2.6.3.2.5

自由行動下の雄性 Sprague-Dawley 系ラット (体重 250～350 g, 5～6 匹/群) に本薬 [投与量: 約 5.1 及び 16.9 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算量: それぞれ 1.5 及び 5 mg/kg)] 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 [投与量: 約 2.0 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算量: 1.5 mg/kg)] を単回腹腔内投与し, 自発運動量, 線条体の細胞外ドパミン濃度並びに血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を経時的に測定した。

図 2.6.2.2-3 に示すように, 本薬約 5.1 mg/kg 投与群 [図中の Lisdexamfetamine (1.5 mg/kg ip)] は, 軽度な自発運動量増加作用 (投与後 90～120 分で最大) を示した。一方, *d*-アンフェタミン換算で等量の *d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 投与群 [図中の *d*-Amphetamine (1.5 mg/kg ip)] は, 本薬約 5.1 mg/kg 投与群と比べて大幅な自発運動量増加作用 (投与後 30 分で最大) を示した。また, *d*-アンフェタミン換算で約 3 倍量の本薬約 16.9 mg/kg 投与群 [図中の Lisdexamfetamine (5.0 mg/kg ip)] は, *d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 投与群以上の自発運動量増加作用 (投与後 75 分で最大) を示した。

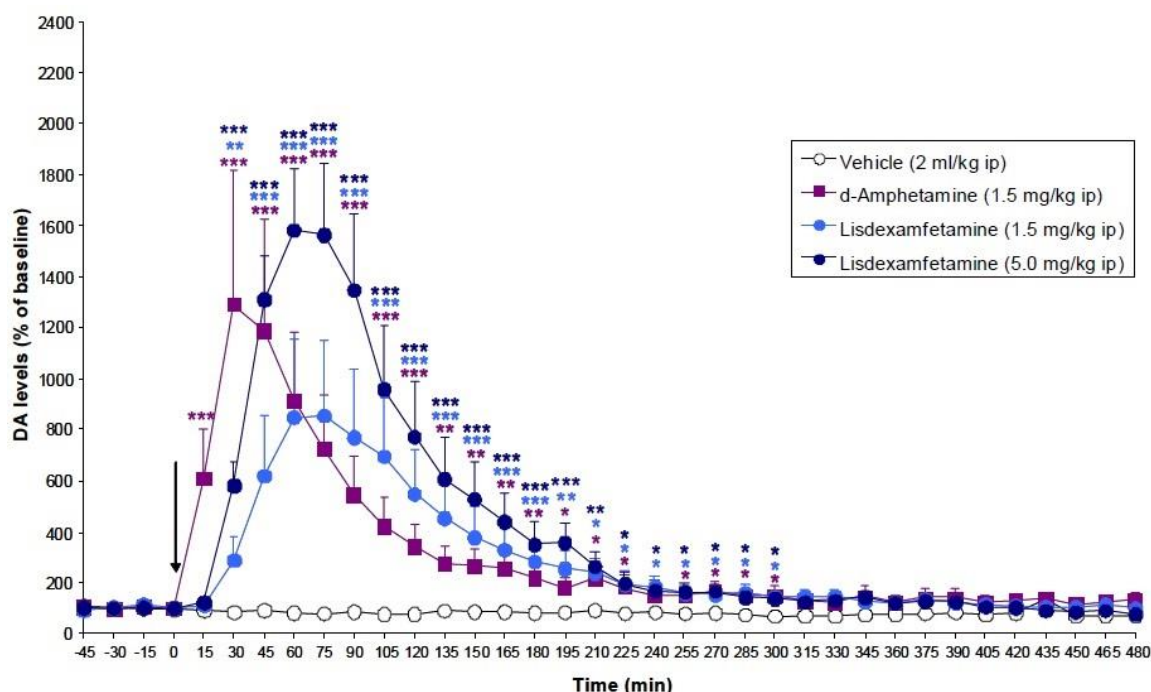
図 2.6.2.2-3 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与による自発運動量に対する作用



参考資料 4.2.1.1-05 から抜粋。図中の IP, *d*-Amphetamine 及び Lisdexamfetamine は, それぞれ単回腹腔内投与, *d*-アンフェタミン硫酸塩及び本薬を表す。投与量は, *d*-アンフェタミン換算量で示した。平均値 (N=5～6) をデータとし, SEM (平均値の標準誤差) は統計モデルの残差から算出した。矢印は, 本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時点を示す。対数変換した 15 分中の平均運動量の値を共変数として, データを共分散分析した後, 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩各投与群を, それぞれ Williams 検定及び多重 t-test を用いて媒体投与群と比較した。統計学的有意差は, * $p<0.05$, ** $p<0.01$ 及び*** $p<0.001$ で示した。

図 2.6.2.2-4 に示すように、線条体の細胞外ドパミン濃度は、*d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 投与群 [図中の *d*-Amphetamine (1.5 mg/kg ip)] では、急峻な増加を示し、投与後 30 分で最大 (ベースライン値に対して約 1300%) となった。一方、*d*-アンフェタミン換算で等量の本薬約 5.1 mg/kg 投与群 [図中の Lisdexamfetamine (1.5 mg/kg ip)] では、緩やかな増加パターンを示し、投与後 75 分で最大 (ベースライン値に対して約 800%) となった。また、*d*-アンフェタミン換算で約 3 倍量の本薬約 16.9 mg/kg 投与群 [図中の Lisdexamfetamine (5.0 mg/kg ip)] では、比較的緩やかな増加パターンを示し、投与後 60 分で最大 (ベースライン値に対して約 1600%) となった。

図 2.6.2.2-4 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与による線条体の細胞外ドパミン濃度に対する作用



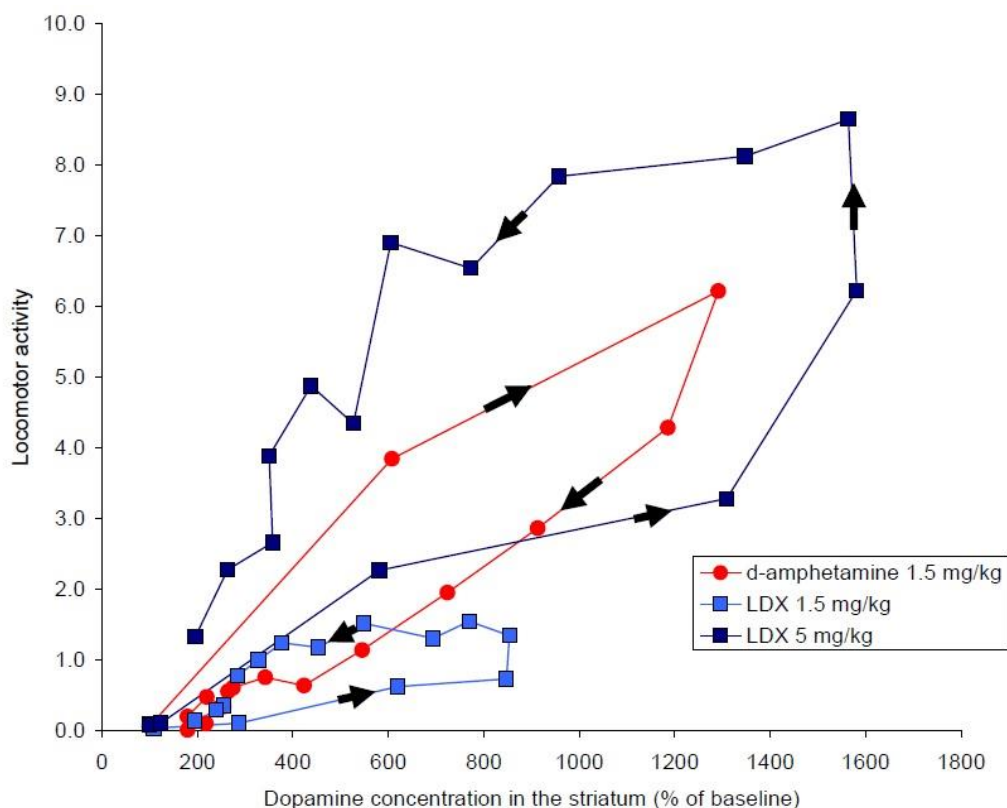
参考資料 4.2.1.1-05 から抜粋。図中の DA, IP, *d*-Amphetamine 及び Lisdexamfetamine は、それぞれドパミン、単回腹腔内投与、*d*-アンフェタミン硫酸塩及び本薬を表す。投与量は、*d*-アンフェタミン換算量で示した。平均値 (N=5~6) をデータとし、SEM は統計モデルの残差から算出した。矢印は、本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時点を示す。対数変換したベースライン値を共変数として、データを共分散分析した後、本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩各投与群を、それぞれ Williams 検定及び多重 t-test を用いて媒体投与群と比較した。統計学的有意差は、**p*<0.05, ***p*<0.01 及び****p*<0.001 で示した。

本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩を単回腹腔内投与したラット血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度測定において、本薬約 5.1 mg/kg 投与群の *d*-アンフェタミンの最高血漿中濃度 (C_{max}) は、 41.5 ± 7.8 ng/mL (平均値 $\pm$ SEM) であり、*d*-アンフェタミン換算で等量の *d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 投与群の C_{max} (86.0 ± 17.0 ng/mL) の約 1/2 であった。また、本薬約 5.1 mg/kg 投与群の *d*-アンフェタミンの最高血漿中濃度到達時間 (T_{max}) は、42 分 (平均値) であり、*d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 投与群の T_{max} (20 分) より遅延した。一方、*d*-アンフェタミン換算で約 3 倍量の本薬約 16.9 mg/kg 投与群の *d*-アンフェタミンの C_{max} は、

130.3 ± 18.0 ng/mL であり、*d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 投与群の約 1.5 倍であった。また、本薬約 16.9 mg/kg 投与群の *d*-アンフェタミンの $T_{\max}$ は、48 分であり、本薬約 5.1 mg/kg 投与群より更に遅延した。なお、本薬約 5.1 及び 16.9 mg/kg 投与群のリスデキサンフェタミンの $T_{\max}$ は共に 15 分で、 $C_{\max}$ はそれぞれ 261.48 ± 70.06 及び 603.66 ± 76.87 ng/mL であったが、当該時間での自発運動量や線条体の細胞外ドパミン濃度に変化は認められなかった。

血漿中 *d*-アンフェタミン濃度の経時変化と線条体の細胞外ドパミン濃度や自発運動量に対する作用との関連性について、血漿中 *d*-アンフェタミン濃度上昇及び下降時のヒステリシス解析を実施した。本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩は、いずれも血漿中 *d*-アンフェタミン濃度上昇時よりも下降時に線条体の細胞外ドパミン濃度及び自発運動量の顕著な増加を示すといった反時計回りのヒステリシス曲線を示した。同様に、線条体の細胞外ドパミン濃度と自発運動量との関連性についても、ヒステリシス解析を実施した。本薬は、線条体の細胞外ドパミン濃度上昇時よりも下降時に自発運動量の顕著な増加を示すといった反時計回りのヒステリシス曲線を示したが、*d*-アンフェタミン硫酸塩は、線条体の細胞外ドパミン濃度上昇時に自発運動量の顕著な増加を示すといった時計回りのヒステリシス曲線を示した (図 2.6.2.2-5)。これらの解析により、本薬は、自発運動量と線条体の細胞外ドパミン濃度との関係において、*d*-アンフェタミン硫酸塩とは異なることが改めて示された。この相違は、本薬投与時の *d*-アンフェタミンの $T_{\max}$ が *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時と比べて遅延することに起因すると考えられる。

図 2.6.2.2-5 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与による線条体の細胞外ドパミン濃度と自発運動量との関連性 (ヒステリシス解析)



参考資料 4.2.1.1-05 から抜粋. 図中の *d*-Amphetamine 及び LDX は, それぞれ *d*-アンフェタミン硫酸塩及び本薬を表す. 投与量は, *d*-アンフェタミン換算量で示した. 本薬と *d*-アンフェタミン硫酸塩の間におけるドパミン濃度に対する自発運動活性の変動値の最大差には, 統計学的有意差があった ($p < 0.05$, 一元配置分散分析した後, 本薬投与群を, 多重 *t*-test を用いて *d*-アンフェタミン硫酸塩投与群と比較).

以上の結果をまとめると, *d*-アンフェタミン換算で等量 (1.5 mg/kg) の本薬約 5.1 mg/kg 及び *d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 単回腹腔内投与を比較した場合, 本薬は, 自発運動量と線条体の細胞外ドパミン濃度との関係において, *d*-アンフェタミン硫酸塩とは異なる作用を示した. *d*-アンフェタミン硫酸塩は, 自発運動量及び線条体の細胞外ドパミン濃度をいずれも急峻かつ大幅に増加させたが, 本薬は, 線条体の細胞外ドパミン濃度を大幅に増加させた場合でも, 自発運動量の増加は *d*-アンフェタミン硫酸塩より軽度であった. 本薬投与時の *d*-アンフェタミンは, *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時より T_{max} が遅延し, C_{max} が減少するといった薬物動態学的特徴を示す. 本特徴が, ADHD 治療に寄与すると考えられる線条体の細胞外ドパミン濃度を増加させた場合でも, 中枢刺激性の副作用の指標とした自発運動量の増加を軽減させ, 本薬の両作用が発現し始める時間及び最大化する時間が *d*-アンフェタミン硫酸塩より遅いことの原因であると考えられる. したがって, 本薬は, ヒトにおいても, *d*-アンフェタミン硫酸塩より覚醒レベルの増加, 活動性亢進, 不眠等の中枢刺激性の副作用を誘発しにくいことが期待される.

2.6.2.2.2.4 *d*-アンフェタミン硫酸塩の多動、衝動性及び注意欠如に対する効果

添付資料 4.3-37, 4.3-38, 4.3-39, 4.3-40, 4.3-41, 4.3-42, 4.3-43, 4.3-44

非臨床試験では、多動及び注意欠如に対する本薬の作用は検討していないが、本薬の活性体である *d*-アンフェタミンは多動、衝動性及び注意欠如に対して有効であることが公表文献で報告されている。

自然発症高血圧 (SH) ラットは、多動性、衝動性、注意欠如など、ADHD に特徴的な行動異常のいくつかを示すため、ADHD モデル動物として利用されており [11], Sagvolden らにより、SH ラットを用いた 2 選択レバー押し課題において、*d*-アンフェタミンが多動性や注意持続時間の低下に対して有効であることが報告されている [12]。2 選択レバー押し課題を習得させるため、摂水量を制限した雄性 SH ラット 16 例に対し、評価装置内にある 2 つのレバーの内、ライトの点灯した側のレバー (正解レバー) を押すと水報酬が得られるトレーニングを継続実施した。対照群として雄性 WKY (Wistar/Nico) ラット 16 例に対しても、同様にトレーニングを継続実施した。この課題において、評価中にレバーを押した回数を多動性の指標として、短い間隔 (<0.67 秒) で正解レバーを連続して押した回数を衝動性の指標として、正解レバーを押した割合を持続的注意の指標として用いた。媒体 (生理食塩液) 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 (*d*-アンフェタミン換算投与量 : 0.64, 1.27 及び 1.91 mg/kg) の腹腔内投与 30 分後から、90 分間各両指標を測定した。媒体のみを投与した群では、WKY ラット媒体投与群と比べて、SH ラット媒体投与群では、レバーを押した回数、短い間隔で正解レバーを連続して押した回数が多く、正解レバーを押した割合は低かった。SH ラット *d*-アンフェタミン硫酸塩投与群では、用量依存的にレバー押し回数が抑制された。また、SH ラット *d*-アンフェタミン硫酸塩 1.91 mg/kg 投与群のレバー押し回数は、WKY ラット媒体投与群と同程度にまで改善された。同様に、短い間隔で正解レバーを連続して押した回数に対しても、*d*-アンフェタミン硫酸塩は用量依存的に改善作用を示し、1.27 及び 1.91 mg/kg 投与群で有意な改善が認められた。また、正解レバーを押した割合に対しても、*d*-アンフェタミン硫酸塩は改善作用を示し、0.64 mg/kg 投与群でのみ有意な改善が認められた。最高用量である 1.91 mg/kg 投与群では、測定開始前半部分で異常行動が認められており、著者はこのことが本用量で作用が認められなかった原因の可能性があると考えしている。また、1.27 mg/kg 投与群では有意な作用が認められなかったものの、改善傾向は認められている。詳細な理由は不明であるが、本モデルでは *d*-アンフェタミン硫酸塩の至適有効用量が存在し、用量依存的な作用が認められず、1.27 mg/kg 投与群で有意な改善が認められなかった可能性が考えられる。

Caballero-Puntiverio らにより、マウスを用いた 5-選択反応時間課題においても、*d*-アンフェタミンが注意欠如に対して有効であることが報告されている [13]。5-選択反応時間課題を習得させるため、摂餌量を制限した C57Bl/6J マウスに対し、評価装置内にあるタッチスクリーン上に提示された視覚刺激の位置を鼻でタッチすると報酬が得られるトレーニングを継続実施した。視覚刺激が提示される位置は 5 カ所あり、そのうち 1 カ所に視覚刺激が提示される。また、一定時間 (0.2, 0.4, 0.7, 1.1 及び 1.8 秒) 経過後、視覚刺激は消失するため、報酬を得るために、マウスはタッチスクリーンに視覚を集中することが求められる。この課題において、視覚刺激が提示されている位置をタッチできた割合 [正解率 : 正解したトライアル数/(正解したトライア

ル数 + 不正解したトライアル数)] 及びランプが点灯している間に反応しなかった割合 (無反応率: ランプが点灯している間に反応しなかったトライアル数/全トライアル数) を持続的注意の指標として, ランプが点灯している間に反応しなかったトライアル数も含めて, 視覚刺激が提示されている位置をタッチできた割合 (平均スコア: 正解したトライアル数/全トライアル数) を, 正解率及び無反応率を含めた持続的注意の指標として, ランプが点灯していない時に反応した割合 (尚早反応率) を衝動性の指標として用いた. 評価はクロスオーバー法により実施し, 媒体 (生理食塩液) のみ又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 (投与量: 0.25, 0.5 及び 1 mg/kg) の腹腔内投与 30 分後から, 60 分間各指標を測定した. 16 匹のラットを用い, 注意機能については, 媒体投与時の平均スコアの結果を指標に, 全ての個体を含んだ群 ($n=16$), 成績の上位 30% 以上に該当する注意機能の高い群 ($n=5$), 下位 30% 以下に該当する注意機能の低い群 ($n=5$) の計 3 群で, 衝動性については, 媒体投与時の尚早反応率を指標に, 同様に 3 群で, *d*-アンフェタミン硫酸塩の作用を評価した.

正解率については, *d*-アンフェタミン硫酸塩の 0.5 mg/kg が注意機能の低い群の正解率を向上させた. また, *d*-アンフェタミン硫酸塩はより高用量の 1 mg/kg では注意機能の低い群の正解率に影響しなかった. 一方, 注意機能の高い群及び全ての個体を含んだ群に対しては, 全ての投与量において, *d*-アンフェタミン硫酸塩は正解率に影響しなかった. 中枢刺激薬の有効性は, ドパミン及びノルアドレナリン濃度の適度な上昇が D1 及び α_{2A} アドレナリン受容体を活性化させることにより発揮される一方, ドパミン及びノルアドレナリン濃度の過剰な上昇によって成績が低下する逆 U 字型の相関を示すと考えられており [14], 注意機能の低い群で, 用量反応性が認められなかった今回の結果もこの仮説を支持するものと著者は考えている. また, 全ての個体を解析対象とした場合, 正解率は生理食塩水と *d*-アンフェタミン硫酸塩で同程度であったことの理由は, *d*-アンフェタミン硫酸塩による改善効果が認められなかった注意機能の高い群を含んでいるためと考えられる. 注意機能が高い群では, 高い正解率を達成するために必要なドパミン, ノルアドレナリンが至適濃度で存在すると考えられ, *d*-アンフェタミンによるさらなる注意機能増強作用が認められなかった可能性があるかと著者は考察している. 無反応率については, 視覚刺激の点灯時間が異なる全ての条件の結果を合わせて解析した場合, 生理食塩水に比べて *d*-アンフェタミン硫酸塩の 1 mg/kg 投与で, 有意な作用は認められなかった. 一方で, 点灯時間を 0.2 秒間の条件とした場合は, 生理食塩水に比べて有意な改善作用を示した. このことは, *d*-アンフェタミン硫酸塩の無反応率改善作用を示唆するものの, 点灯時間の異なる条件の結果を合わせたことにより, 生理食塩水と *d*-アンフェタミン硫酸塩で同程度の結果が得られたと考えられる. 一般的に, 視覚刺激の点灯時間が短くなると, 正解するためには高い注意機能が求められ, 無反応率が上昇する. *d*-アンフェタミン硫酸塩は高い注意機能を求める条件で, 無反応率に関係する注意機能を増強する可能性があるかと著者は考えている. 衝動性については, 衝動性の低い群及び全ての個体を含んだ群で, 1 mg/kg の *d*-アンフェタミン硫酸塩は尚早反応率を上昇させた. 高用量の *d*-アンフェタミンは運動量増加作用があり, 実際に 1 mg/kg の *d*-アンフェタミンがマウスの運動量を増加させることが報告されている [15]. 今回の試験では運動量を直接は評価していないが, 1 mg/kg の *d*-アンフェタミン硫酸塩により, 運動量が増加したことが尚早反応率の上昇に関与した可能性を, 著者は考察している. 衝動性の高い群では, 1

mg/kg の *d*-アンフェタミン硫酸塩により、尚早反応率は上昇傾向にあるが、生理食塩水投与時と大きな差はなく、有意な作用は認められなかった。同様に、衝動性の高い群の生理食塩水投与時の尚早反応率は、衝動性の低い群の 1 mg/kg の *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時とも大きな差はなく、シーリング効果が影響した可能性が考えられる。ADHD 患者は 5-CSRTT や持続性注意集中力検査において、健常人と比較して高い尚早反応率を示すことが報告されており [16]、本研究における衝動性の高い群が ADHD の衝動性の側面を反映している可能性があると考えられる。衝動性の高い群においては、有意な作用ではなかったものの、0.5 mg/kg の *d*-アンフェタミン硫酸塩によって、生理食塩水投与群と比較して、尚早反応率が約半分になり、減少傾向にあった。

生後間もなく脳室に 6-ヒドロキシドパミン (6-OHDA) を投与したラットはドパミン神経が破壊され、生後 3~4 週齢から多動を生じ、この多動が、ADHD 治療薬で抑制されることから、ADHD のモデル動物として利用されている [17]。Heffner らにより、6-OHDA 投与ラットの多動に対して *d*-アンフェタミンが有効であることが報告されている [18]。生後 3 日の雄性ラットの脳室に 6-OHDA を投与し、生後 21~51 日の間に運動量を測定した。対照群として、生理食塩水を脳室に投与したラットを用いた。媒体 (生理食塩液) 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 (*d*-アンフェタミン換算投与量 : 0.25, 0.5, 1, 2 及び 4 mg/kg) の腹腔内投与 30 分後から、60 分間運動量を測定した。6-OHDA 投与ラットでは、用量依存的に運動量を抑制し、0.5 mg/kg 以上で統計学的に有意な作用が認められた。

これらの報告は、*d*-アンフェタミン硫酸塩がげっ歯類において多動、衝動性及び注意欠如を改善することを示しており、ADHD 患者の多動、衝動性及び注意欠如に対して治療効果があることを示唆している。

2.6.2.2.2.5 モノアミン酸化酵素に対する *d*-アンフェタミンの作用

添付資料 4.3-45

非臨床試験では、モノアミン酸化酵素 (MAO)-A 及び MAO-B に対する *d*-アンフェタミンの作用は評価していないが、Robinson により、*d*-アンフェタミンが MAO に対して阻害作用を示すことが報告されている [19]。

ラット肝臓をホモジナイズした後、Triton X-100 での可溶化、硫酸アンモニウムでの処理等を行い、MAO 酵素標品を得た。酵素標品と *d*-アンフェタミンを、3 分間インキュベートした後に、MAO-A と MAO-B のそれぞれの基質として ^{14}C 標識した 5-HT 又は β -phenylethylamine を添加して酵素反応を開始させ、10 分後に塩酸を添加し、反応を終了させた。MAO-A と MAO-B による脱アミノ化産物は、それぞれベンゼン/酢酸エチル混合液又はトルエンで抽出し、放射活性を測定した。*d*-アンフェタミンの MAO-A 及び MAO-B に対する K_i は、それぞれ 33.8 及び 161 $\mu\text{mol/L}$ であり、MAO-B と比較して MAO-A に対して強い作用を示した。

これらの結果から、リスデキサンフェタミンの活性体である *d*-アンフェタミンは、MAO 阻害活性を有しており、MAO 阻害によるモノアミンの代謝阻害が ADHD に対する治療効果に寄与している可能性がある。

2.6.2.2.2.6 ラット脳シナプトソームからのモノアミン遊離に対する *d*-アンフェタミン硫酸塩の作用

添付資料 4.3-46, 4.3-47, 4.3-48

非臨床試験では、*d*-アンフェタミン硫酸塩のモノアミン遊離作用を評価していないが、Healらの総説では、*d*-アンフェタミンがラットの脳スライス及びシナプトソームからモノアミン遊離を促進することが報告されている [20]。遊離作用の評価方法は統一されておらず、その強さは用いる試料の種類、試薬の濃度などの実験条件に影響されるため、異なる文献の結果から、その強さを比較、考察することはできないが、著者は、10 $\mu\text{mol/L}$ 以下で遊離作用が認められる場合に、評価化合物が遊離作用を有すると判断している。

Holmes らにより、ラット脳シナプトソームからのドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT 遊離に対する *d*-アンフェタミン硫酸塩の作用が検討されている [21]。線条体、大脳皮質又は中脳をショ糖溶液下でホモジナイズし、遠心分離によってそれぞれのシナプトソームを分画した。各シナプトソームに、 $[^3\text{H}]$ -ドパミン、 $[^3\text{H}]$ -ノルアドレナリン又は $[^3\text{H}]$ -5-HT 添加して、インキュベートした後に、シナプトソーム内に取り込まれていない $[^3\text{H}]$ -モノアミンを除去するために、遠心し、洗浄した。その後、*d*-アンフェタミン硫酸塩 ($[^3\text{H}]$ -ドパミン及び $[^3\text{H}]$ -5-HT : 10 $\mu\text{mol/L}$ ~1 mmol/L , $[^3\text{H}]$ -ノルアドレナリン : 100 nmol/L ~1 mmol/L) を添加し、30 分間反応させた。組織と上清に分離し、放射活性量を測定し、組織と上清中の放射活性に対する上清中の放射活性の比を遊離量の指標とした。ドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT 遊離作用の指標として算出した 50%有効濃度は、それぞれ 11, 0.8 及び 26 $\mu\text{mol/L}$ であった。

Rothman らによっても、異なる方法で、ラット脳シナプトソームからのドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT 遊離に対する *d*-アンフェタミン硫酸塩の作用が検討されている [22]。尾状核もしくは全脳から小脳及び尾状核を除いた部分を、レセルピンを含むショ糖溶液下でホモジナイズし、遠心分離によってそれぞれのシナプトソームを分画した。前者と後者は、それぞれ $[^3\text{H}]$ -ドパミンもしくは $[^3\text{H}]$ -ノルアドレナリン及び $[^3\text{H}]$ -5-HT の遊離作用実験に用いた。各シナプトソームに $[^3\text{H}]$ -ドパミン、 $[^3\text{H}]$ -ノルアドレナリン又は $[^3\text{H}]$ -5-HT を添加して、 $[^3\text{H}]$ -ドパミンは 30 分間、 $[^3\text{H}]$ -ノルアドレナリン及び $[^3\text{H}]$ -5-HT は 60 分間インキュベートした後に、*d*-アンフェタミン硫酸塩を添加し、 $[^3\text{H}]$ -ドパミン及び $[^3\text{H}]$ -5-HT は 5 分間、 $[^3\text{H}]$ -ノルアドレナリンは 30 分間反応させた。その後、トリス塩酸緩衝液を添加し、ガラスフィルター上にろ過することにより、反応を終了させた。ガラスフィルター上に保持された残渣を、トリス塩酸緩衝液で洗浄後、残渣内に残った放射活性量を測定した。*d*-アンフェタミン硫酸塩非存在下に対する、*d*-アンフェタミン硫酸塩存在下の放射活性の低下量をもとに算出した IC_{50} を指標に、遊離作用を評価した。ドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT 遊離作用の IC_{50} は、それぞれ 24.8, 7.07 及び 1765 nmol/L だった。

これらの結果は、*d*-アンフェタミン硫酸塩がドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT の遊離作用を有していることを示しており、*d*-アンフェタミンを活性体とする本薬が、ドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT の遊離作用を有していることを示唆している。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 種々の受容体，トランスポーター，イオンチャネル，酵素及びその他標的分子に対するリスデキサンフェタミンの結合親和性

参考資料 4.2.1.2-01

概要表 2.6.3.3.1

各種哺乳動物由来の 62 種の受容体，トランスポーター，イオンチャネル，セカンドメッセンジャー，ステロイド，プロスタグランジン，成長因子及びホルモン，脳及び腸ペプチド並びに酵素に対するリスデキサンフェタミンの結合親和性について，リスデキサンフェタミン（塩は記載なし，濃度：10 $\mu\text{mol/L}$ ）を用いて，放射性標識リガンド結合試験法により検討した．リスデキサンフェタミン 10 $\mu\text{mol/L}$ による各標識リガンドの結合に対する阻害率は，検討した 62 種の大部分で 20%未満であり，最も高い結合阻害率でも 36%（非選択的アドレナリン α_2 受容体）と，50%を超える阻害作用は認められなかった．したがって，これらの受容体，トランスポーター，イオンチャネル，酵素及びその他標的分子との親和性は無視できると考えられる．

日本人小児におけるリスデキサンフェタミンの薬物動態パラメータについては，経時的な血漿中リスデキサンフェタミン濃度データがないため，算出できない．しかしながら，血漿中リスデキサンフェタミン濃度推移に民族差及び反復投与による蓄積はないことが確認されており [それぞれ 2.7.2.3.4.6 及び 2.7.2.2.2.1 項参照]，外国人児童 ADHD 患者（6～12 歳）における最大投与量（70 mg/日）単回投与時の C_{max} の最大値は 175 ng/mL (0.664 $\mu\text{mol/L}$) [2.7.6.3.1.2 項参照] である．したがって，リスデキサンフェタミンは，これらの受容体，トランスポーター，イオンチャネル，酵素及びその他標的分子と直接的に相互作用して副作用を発現する可能性は低いと考えられる．

2.6.2.3.2 セロトニントランスポーター及び種々の受容体に対する *d*-アンフェタミンの結合親和性

添付資料 4.3-49，4.3-50，4.3-51，4.3-52

非臨床試験では，各種標的分子に対する *d*-アンフェタミンの結合親和性は評価していないが，放射性リガンド標識法を用いた公表文献で，報告されている [23,24,25]．

Kula らにより，ラット大脳皮質のホモジネートを用いた検討で，5-HT トランスポーター (SERT) に対する K_i が 10 $\mu\text{mol/L}$ 以上であったと報告されている [23]．

Toll らにより，各種受容体発現細胞膜を用いた検討で，ヒト D_1 受容体，ヒト D_2 受容体，ヒト D_3 受容体，ヒト 5-HT_{2A} 受容体，ラット 5-HT_{2C} 受容体及びマウス神経芽細胞腫とラットグリオーマ細胞のハイブリッド神経株に発現した 5-HT₃ 受容体に対する K_i が 10 $\mu\text{mol/L}$ 以上，ヒト 5-HT_{1A} 受容体に対する K_i が 6606 nmol/L であったと報告されている [24]．

U'prichard らにより，ラット全脳ホモジネート又はラット全脳から小脳を除いた部位のホモジネートを用いた検討で， α_1 受容体及び α_2 受容体に対する K_i が，それぞれ 10 及び 1.6 $\mu\text{mol/L}$ であったと報告されている [25]．

日本人小児 ADHD 患者（6～17 歳）における本薬最大投与量（70 mg/日）投与時の推定された *d*-アンフェタミンの C_{max} の最大値は 250 ng/mL (1.85 $\mu\text{mol/L}$) [2.7.2.3.3.1 項参照] であり，ヒト血

漿タンパク結合率 16.2% [2.6.4.4.1.1 項参照] で補正した最大血漿中非結合型濃度は 209.5 ng/mL (1.55 μ mol/L) である。したがって、*d*-アンフェタミンが α_2 受容体と直接的に相互作用する可能性はあるが、 α_2 受容体の生体内アゴニストであるノルアドレナリンの細胞外濃度は *d*-アンフェタミンにより上昇すること、ノルアドレナリンの α_2 受容体に対する K_i は 170 nmol/L [26] と、ノルアドレナリンの方が *d*-アンフェタミンより結合しやすいことから、*d*-アンフェタミンが α_2 受容体と直接的に相互作用する可能性は低いと考えられる。以上のことから、*d*-アンフェタミンが SERT, D₁, D₂, D₃, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, α_1 受容体及び α_2 受容体と直接的に相互作用して副作用を発現する可能性は低いと考えられる。

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響

評価資料 4.2.3.5-03

参考資料 4.2.3.1-04

概要表 2.6.3.4.1

本薬の中枢神経系に及ぼす影響については、安全性薬理試験として独立した試験は実施していないが、本薬のラット単回経口投与毒性試験 [2.6.6.2.2 項参照] において、一般状態の評価を実施している。当該試験では、Sprague-Dawley 系ラット (各群雌雄各 3 例) に本薬を 0.1, 1, 10, 60, 100 及び 1000 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算値：それぞれ約 0.03, 0.3, 3.0, 17.8, 29.6 及び 296 mg/kg) の用量で単回経口投与後 7 日間観察した。

その結果、1000 mg/kg 投与群の雌 1 例が投与 2 日目に死亡し、剖検において色素涙、色素鼻汁、ガス貯留による胃拡張、副腎腫大及び小腸の水腫様拡張が認められた。また、1000 mg/kg 投与群の雄 1 例が自傷行動による背側頸部の皮膚病変の悪化に伴い、投与 3 日目に切迫殺された。さらに、60 mg/kg 以上の投与群で、投与後 2 時間以内に活動性亢進が認められ、この変化は投与 2 日目まで持続した。また、投与 3 日目までに軽度の色素涙及び色素鼻汁も認められた。投与 4～7 日目においては、60 mg/kg 以上の投与群で一般状態に変化は認められなかった。なお、10 mg/kg 以下の投与群では、いずれの時点においても、一般状態に変化は認められなかった。以上の結果から、ラットへの単回経口投与により、本薬は 10 mg/kg までの用量で中枢神経系へ影響を及ぼさないが、60 mg/kg 以上の用量で中枢神経系に影響を及ぼすと判断した。

本薬の幼若ラット 8 週間反復経口投与毒性試験 [2.6.6.6.5 項参照] においては、一般状態観察、機能観察総合評価法 (FOB)、自発運動量検査、聴覚性驚愕反検査応及び水迷路試験を実施している。当該試験では、Sprague-Dawley 系ラット (各群雌雄各 60 例) に本薬を 0 (対照群)、4, 10 及び 40 mg/kg/日 (*d*-アンフェタミン換算値：それぞれ約 1.2, 3.0 及び 11.8 mg/kg/日) の用量で生後 7 日から 8 週間反復経口投与し、投与期間中、全ての個体の一般状態観察を行うと共に、各群雌雄各 10 例について、生後 22 日又は生後 23 日、生後 59 日又は生後 60 日並びに生後 88 日又は生後 89 日に FOB 及び自発運動量の測定を実施し、生後 62 日又は生後 63 日、並びに生後 90 日及び生後 91 日に聴覚性驚愕反応試験を行い、生後 52 日～生後 61 日、並びに生後 76 日～生後 84 日に水迷路試験を行った。

その結果、一般状態観察においては、本薬を投与した全ての群の雌雄で活動性亢進が認められ、40 mg/kg/日投与群では、雌雄で常同行動が、雄で協調運動の低下、立毛、削瘦及び投与後の流涎が、さらに認められた。また、自発運動量検査において、40 mg/kg/日投与群の雄の生後 22 日又は生後 23 日及び雌雄の生後 59 日又は生後 60 日で自発運動量の低値が認められ、4 及び 10 mg/kg/日投与群の雌の生後 59 日又は生後 60 日でも低値が認められた。一方、FOB、聴覚性驚愕反応及び水迷路における評価では、本薬による影響は認められなかった。

以上の結果から、幼若ラットへの 8 週間反復経口投与により、本薬は検討した最低用量である 4 mg/kg/日から中枢神経系へ影響を及ぼすと判断した。

d-アンフェタミンの中枢神経系に及ぼす影響についての公表論文の内容を、以下に記載する。

Moscardo らは、Irwin 法を基とした行動試験法について最適化を検討した中で、*d*-アンフェタ

ミン硫酸塩を、雄性 Sprague-Dawley 系ラット (8 例) 及び雄性 ICR 系マウス (8 例) に、それぞれ 20 及び 10 mg/kg の用量 (*d*-アンフェタミン換算量) で単回経口投与した [7]。ラットでは、投与後 1～4 時間に覚醒及び自発運動量の増加などの興奮作用が観察された。その他の所見として、観察者の指を近づけた時の反応、頭部接触時の反応、恐怖行動、驚愕反応及びテールピンチ時の反応の亢進が主に投与後 1 時間に観察された。また、投与後 2 及び 4 時間に試験エリアの周回行動及び床面の嗅行動などの常同行動が有意に観察された。同時間には、視角による位置認識の減少及び歩行時における軽度な立ち上がり行動の増加も観察された。さらに、投与後 1～4 時間に立毛が、投与後 2 時間に眼球突出や顕著な流涎などの自律神経系の作用が、それぞれ認められた。また、全観察時間中に、尿量及び糞量の減少も認められた。体温は、投与後 1～4 時間まで有意な上昇が認められた (最大で投与後 2 時間に 2.2°C の上昇)。一方、マウスでは、*d*-アンフェタミンによる興奮作用は顕著に認められず、投与後 4 時間にわずかに自発運動量が増加したのみであった。また、ラットとは異なり、体温は低下し、投与後 1 時間に有意な体温低下が観察された (2.5°C の低下)。本報告でのラットを用いた検討では、他の報告と同様に、予想された *d*-アンフェタミンの興奮作用、自律神経系作用及び体温上昇が観察されており、*d*-アンフェタミン硫酸塩を投与した全例で周回行動及び嗅行動などの常同行動が、再現良く認められた。一方、マウスでは、*d*-アンフェタミンによる常同行動や体温上昇などの神経行動学的症状が認められず、予想された興奮作用が観察されなかった。本報告では、この違いは *d*-アンフェタミンの薬理作用に対するマウスの感受性に起因すると推察している。

Himmel らは、雌雄の新生児 (2 週齢)、雌雄の幼若 (4 週齢) 及び雄性成熟 (8～9 週齢) Wistar 系ラットに、*d*-アンフェタミンを 0.5 及び 5 mg/kg の用量で単回皮下投与し、中枢神経系機能に対する影響を評価した [8]。成熟ラットでは、用量依存的な一般症状に対する影響が観察され (無影響量 : 0.5 mg/kg)、投与後約 1.5～2 時間に最大の影響が認められた。また、成熟ラットでは、*d*-アンフェタミン 5 mg/kg 投与群で、投与後 2 時間に振戦、歩行異常、姿勢異常、挙尾、常同行動、自発運動亢進、興奮症状、啼鳴、及び接触に対する防御又は攻撃反応が観察された。新生児及び幼若ラットでも、同様に一般症状に対する影響が観察された。新生児ラットでも、自発運動亢進や常同行動は認められたが、挙尾及び歩行異常は成熟ラットほど顕著には認められなかった。また、成熟ラットでは、*d*-アンフェタミン 5 mg/kg 投与群で、投与後 1～1.5 時間を最大とした体温上昇が認められ、幼若ラットでも同様であったが、新生児ラットでは体温に影響が認められなかった。

Gauvin らは、アカゲザルを用いて機能観察総合評価法を検証した中で、4 例の雄性サルに *d*-アンフェタミン塩酸塩を 3.2 mg/kg の用量 (投与量の基準は記載なし) で単回経口投与した [9]。その結果、自発運動亢進、眼振、過活動及び拘束時の攻撃反応が認められた。

Tontodonati らは、ビーグルイヌを用いて神経行動学的及び心血管系に対する影響について同時評価した中で、覚醒下の 4 例の雄性ビーグルイヌに *d*-アンフェタミン硫酸塩を 0 (対照)、0.25、0.75 及び 1.5 mg/kg の用量 (投与量の基準は記載なし) で、少なくとも各 3 日間の投与間隔を設けて漸増単回経口投与し、活動量、一般状態及び体温を投与後 24 時間まで観察した [10]。その結果、一般症状において、過剰反応及び常同行動などの中枢興奮作用が用量依存的に認められた。

2.6.2.4.2 心血管系に及ぼす影響

2.6.2.4.2.1 *In vitro* hERG 試験

参考資料 4.2.1.3-03

概要表 2.6.3.4.1

hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を 1 群あたり 4～5 例使用した。細胞に媒体 (0.1% dimethyl sulfoxide), 本薬 (リスデキサンフェタミン換算濃度: 50 µg/mL) 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 (*d*-アンフェタミン換算濃度: 5, 15 及び 50 µg/mL) を適用し、ホールセルパッチクランプ法により、hERG チャネル電流 (テールピーク電流) をそれぞれの薬物適用前と適用後 10 分に測定し、電流の抑制率を算出した。

その結果、媒体群及び本薬 50 µg/mL 適用群における hERG チャネル電流抑制率は、それぞれ 18.3% 及び 8.3% であり、本薬は有意な抑制を示さなかった。一方、*d*-アンフェタミン硫酸塩 5, 15 及び 50 µg/mL 適用群における hERG チャネル電流抑制率は、それぞれ 16.3%, 28.4% 及び 47.7% であり、50 µg/mL 適用群において有意な抑制が認められたが、電流抑制率は 50% に達しておらず、これらの結果から推定された 25% 阻害濃度は 31 µg/mL であった。

2.6.2.4.2.2 麻酔イヌの心血管系に対する作用

評価資料 4.2.1.3-01

概要表 2.6.3.4.1

絶食下の雌雄各 2 例のビーグルイヌ (体重: 7.0～12.8 kg) を、メトヘキシタールナトリウム (投与量: 10 mg/kg) 静脈内投与により麻酔した後、人工呼吸下でイソフルラン (濃度: 2.1%～4%) 吸入麻酔により麻酔状態を維持させた。雌雄各 1 例のイヌには、媒体 (生理食塩液) 並びに本薬 0.5, 1 及び 5 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算量: それぞれ約 0.15, 0.30 及び 1.48 mg/kg) の順に、30 分間隔で漸増単回静脈内投与 (投与液量: 1 mL/kg, 投与速度: 2 mL/分, 投与時間: 3.5～6.4 分) した。別の雌雄各 1 例のイヌには、媒体並びに *d*-アンフェタミン硫酸塩 0.202, 0.404 及び 2.02 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算量: 約 0.15, 0.30 及び 1.48 mg/kg) を同様に投与した。血圧 (収縮期, 拡張期及び平均血圧), 心拍数, 心拍出量, 左心室圧, 左心室拡張末期圧, 左心室圧最大立ち上がり速度をモニターし、投与前及び投与後 1 分毎に測定した。また、各投与前、投与終了直後及び投与後 30 分における心電図も観察した。

本薬 0.5 mg/kg 投与により、血圧, 心拍出量, 左心室圧及び左心室圧最大立ち上がり速度は増加し、心拍数は減少した。本薬 1 mg/kg 投与により、血圧, 心拍数, 心拍出量, 左心室圧, 左心室拡張末期圧及び左心室圧最大立ち上がり速度が増加した。本薬 5 mg/kg 投与により、血圧, 心拍数, 左心室圧及び左心室圧最大立ち上がり速度は増加し、心拍出量及び左心室拡張末期圧は減少した。これらの変化は投与後約 15～25 分から認められ、投与後 30 分の心電図では洞頻脈が観察された。

一方、*d*-アンフェタミン硫酸塩の場合は、いずれの用量においても、血圧, 心拍数, 心拍出量及び左心室圧が増加し、0.202 mg/kg 投与により、左心室圧最大立ち上がり速度も増加した。また、いずれの用量においても、左心室拡張末期圧は、投与直後から増加したが、投与後 8～15 分より減少を示した。心電図では、雌 1 例で、*d*-アンフェタミン硫酸塩 0.202 mg/kg 投与終了

直後に心室性期外収縮が観察され、0.404 mg/kg 投与後 30 分及び 2.02 mg/kg 投与終了直後には洞頻脈が観察された。

本試験は、各薬物を 30 分間隔で漸増投与して評価しており、各用量での心血管系パラメータに対する作用が回復していない状態で、次用量が投与された。本薬 0.5 及び 1 mg/kg 投与による最大作用は、投与後 25～30 分の時点で認められていたが、*d*-アンフェタミン硫酸塩投与による最大作用は、投与直後に認められることが多かった。媒体並びに本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の最少用量単回静脈内投与による心血管系パラメータの最大変化率を表 2.6.2.4-1 に示す。

本薬静脈内投与による麻酔イヌの心血管系パラメータに対する作用のうち、心拍数は、本薬 0.5 mg/kg 投与時には減少した（血圧上昇が生じた際の反射機能と推測）が、1 及び 5 mg/kg 投与時には、*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時と同じく増加した。その他の心血管系パラメータについては、*d*-アンフェタミン換算で等量の *d*-アンフェタミン硫酸塩静脈内投与による作用と類似していたが、その作用は軽度であり、緩やかに発現した。

表 2.6.2.4-1 麻酔イヌにおける媒体並びに本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の最少用量単回静脈内投与による心血管系パラメータの最大変化率

心血管パラメータ	媒体	本薬 0.5 mg/kg [約 0.15 mg/kg] ^a	媒体	<i>d</i> -アンフェタミン 硫酸塩 0.202 mg/kg [約 0.15 mg/kg] ^a
収縮期血圧	9 ^{13,14}	41 ²⁷	2 ^{4,23}	126 ²
拡張期血圧	11 ^{13,14,30}	38 ²⁷	2 ²³	150 ²
平均血圧	11 ^{13,14}	39 ²⁷	2 ²³	137 ²
心拍数	6 ³⁰	-21 ¹⁶	-3 ^{25-27,29,30}	30 ³
心拍出量	19 ³⁰	137 ²⁷	35 ²⁹	66 ²¹
左心室圧	2 ^{13,14}	36 ²⁷	-3 ^{21,25,30}	139 ²
左心室圧最大立ち上がり速度 (減少)	-3 ^{21,26}	-3 ¹	-3 ²²	-63 ²
左心室圧最大立ち上がり速度 (増加)	2 ^{14,15,29,30}	53 ²⁸	3 ^{5,14,15}	138 ²⁷
左心室拡張末期圧	4 ¹³	21 ²⁷	13 ²³	155 ¹

平均値 (n=2) [上付きの値は、最大変化率が認められた時点 (投与開始からの分) を示す]。

a: 投与量 ([] 内に *d*-アンフェタミン換算量を示す)。

d-アンフェタミンの心血管に及ぼす影響についての公表論文の内容を、以下に記載する。

Tontodonati らは、覚醒下の 4 例の雄性ビーグルイヌに *d*-アンフェタミン硫酸塩を 0 (対照), 0.25, 0.75 及び 1.5 mg/kg の用量 (投与量の基準は記載なし) で、少なくとも各 3 日間の投与間隔を設けて、漸増単回経口投与し、血圧、心拍数、心電図を投与後 24 時間まで観察した [10]。その結果、*d*-アンフェタミン硫酸塩は、用量依存的な血圧上昇を示すと共に、心筋収縮性の指標となる QA 間隔を短縮させた。心拍数の上昇は、1.5 mg/kg 投与後のみで認められた。

2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響

評価資料 4.2.1.3-02

概要表 2.6.3.4.1

絶食下の雄性 Hartley 系モルモット (各群 4 例) を、ウレタン (投与量: 1.4~1.5 g/kg) の腹腔内投与により麻酔した。本薬を 0 (対照群), 1, 5 及び 7.5 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算量: それぞれ約 0.3, 1.5 及び 2.2 mg/kg) の用量で 30 秒から 1 分以内の低速で単回静脈内投与し、食道に留置したカテーテルより食道内圧を測定すると共に、気管に留置したカテーテルより whole body plethysmography 法を用いて、投与前及び投与後 5 分までは 1 分毎、以降投与後 30 分までは 5 分毎の呼吸数, 1 回換気量, 分時換気量, 気道抵抗及び肺コンプライアンスを測定した。対照群には媒体 (生理食塩液) を投与した。

各呼吸パラメータの最大変化率を表 2.6.2.4-2 に示す。本薬 1 及び 5 mg/kg 投与群では、媒体対照群と比較して、各呼吸系パラメータに対する有意な影響は観察されなかった。一方、本薬 7.5 mg/kg 投与群では、投与後 20~25 分に分時換気量の有意な増加が認められた。また、本薬を投与した全ての群で、呼吸数及び分時換気量が、投与前値と比較して軽度かつ徐々に増加した。さらに、本薬 5 mg/kg 投与群では、投与後 2 及び 10 分においてのみ、1 回換気量も、投与前値と比較してわずかに増加した。

表 2.6.2.4-2 麻酔モルモットにおける本薬単回静脈内投与時の呼吸パラメータの最大変化率

呼吸パラメータ	媒体	本薬投与量 (mg/kg) ^a		
		1 [約 0.3]	5 [約 1.5]	7.5 [約 2.2]
肺コンプライアンス	8 ¹⁵	4 ⁵	2 ¹	16 ⁵
呼吸数	11 ¹⁵	37 ³⁰	35 ²⁰	45 ²⁵
1 回換気量	9 ³⁰	4 ²	20 ²	13 ^{2,15}
分時換気量	16 ¹⁵	28 ³⁰	41 ¹⁵	51 ³⁰

平均値 (n=4) [上付きの値は、最大変化率が認められた時点 (投与開始からの分) を示す]。

a: [] 内に *d*-アンフェタミン換算量を示す。

気道抵抗は、いずれの投与群でも、±0.01 cmH₂O/mL/sec 以下の変化であり、本表には記載していない。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験なし。

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 本薬の中枢薬理作用

本薬の薬理学的特徴を明らかにするため、脳内モノアミン神経系に対する神経化学評価及び治療効果に関連する行動評価を実施すると共に、中枢刺激性の副作用を誘発する可能性を検討した。

In vitro 結合試験により検討した結果、リスデキサンフェタミンは、*d*-アンフェタミンとは異なり、NET 及び DAT に対する親和性を示さず、各種哺乳動物由来の 62 種の受容体、トランスポーター、イオンチャネル、セカンドメッセンジャー、ステロイド、プロスタグランジン、成長因子及びホルモン、脳及び腸ペプチド並びに酵素に対して親和性を示さないことが判明した。一方、本薬をラットに単回経口投与し、二重プローブ微小透析法を用いて前頭前皮質及び線条体の細胞外モノアミン濃度を測定した試験において、前頭前皮質の細胞外ドパミン、ノルアドレナリン及び 5-HT 濃度並びに線条体の細胞外ドパミン及び 5-HT 濃度が増加し、前頭前皮質でのドパミン系及びノルアドレナリン系の機能並びに線条体でのドパミン系の機能を増強させることが示された。これらの結果から、リスデキサンフェタミンは薬理学的に不活性なプロドラッグであり、本薬の *in vivo* 作用は、活性体である *d*-アンフェタミンによって発揮されと考えられる。

なお、*d*-アンフェタミンの ADHD に対する治療効果の作用機序は、完全には確立されていないが、NET 及び DAT 阻害作用並びに脳内におけるノルアドレナリン及びドパミンの放出促進の結果、シナプス間隙のノルアドレナリン及びドパミン濃度が増加することに起因すると考えられている [1,2]。また、*d*-アンフェタミンは、MAO の弱い阻害剤として作用し [19]、この作用機序も ADHD に対する治療効果に寄与している可能性がある [1,2]。

衝動性は ADHD の主要な症状の一つであり、衝動性を示す患者は報酬をすぐに求める傾向がある。幼若ラットを用いた遅延価値割引課題は、動物における衝動性の評価モデルと考えられており、本薬の衝動性への作用検討として同モデルを用いた評価を実施した。その結果、本薬は、幼若ラットを用いた遅延価値割引課題において衝動的行動を減少させたことから、目先の報酬をより選択する傾向にある ADHD 患者の衝動性に対しても治療効果を有することが示唆される。

ADHD 症状改善に寄与すると考えられる脳内カテコールアミン作動性神経の伝達促進は、治療効果だけでなく、覚醒レベルの増加、活動性亢進、不眠等の中枢刺激性の副作用の原因となっている [1,2]。そこで、本薬又はメチルフェニデート塩酸塩を投与したラットを用いて、ADHD 症状改善の指標として線条体の細胞外ドパミン濃度を、中枢刺激性の副作用の指標として自発運動量の増加を、それぞれ測定することにより、本薬及びメチルフェニデート塩酸塩の作用を比較した。中枢刺激性の副作用を示す用量である本薬約 15.2 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算投与量：4.5 mg/kg) 及びメチルフェニデート塩酸塩 30 mg base/kg 単回経口投与時の線条体の細胞外ドパミン濃度と自発運動量の相関について解析した結果、本薬は、線条体の細胞外ドパミン濃度を最大でベースライン値に対して約 360%にまで増加させ、メチルフェニデート塩酸塩 (最大でベースライン値に対して約 240%にまで増加) より高い増加を示したにもかかわらず、自発運動量の増加はメチルフェニデート塩酸塩より軽度であることが示された。このことから、本薬

は、ヒトにおいて、メチルフェニデート塩酸塩と同程度あるいはそれ以上の細胞外ドパミン濃度上昇を示した場合でも、メチルフェニデート塩酸塩より中枢刺激性の副作用を誘発しにくいことが期待される。また、*d*-アンフェタミン換算で等量 (1.5 mg/kg) の本薬約 5.1 mg/kg 及び *d*-アンフェタミン硫酸塩約 2.0 mg/kg 単回腹腔内投与を比較した場合、本薬は、自発運動量と線条体の細胞外ドパミン濃度との関係において、*d*-アンフェタミン硫酸塩とは異なる作用を示した。*d*-アンフェタミン硫酸塩は、自発運動量を本薬と比べて大幅に増加させると共に、線条体の細胞外ドパミン濃度を急峻かつ大幅に増加させた (ベースライン値に対して約 1300%) が、本薬は、線条体の細胞外ドパミン濃度を大幅に増加させた (ベースライン値に対して約 800%) 場合でも、自発運動量の増加は軽度であった。本薬投与時の *d*-アンフェタミンは、*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時より $T_{\max}$ が遅延し、 $C_{\max}$ が減少するといった薬物動態学的特徴を示す。本特徴が、ADHD 治療に寄与すると考えられる線条体の細胞外ドパミン濃度を増加させた場合でも、中枢刺激性の副作用の指標とした自発運動量の増加を軽減させ、本薬の両作用が発現し始める時間及び最大化する時間が *d*-アンフェタミン硫酸塩より遅いことの原因であると考えられる。したがって、本薬は、ヒトにおいても、*d*-アンフェタミン硫酸塩より中枢刺激性の副作用を誘発しにくいことが期待される。

2.6.2.6.2 安全性薬理試験

2.6.2.6.2.1 本薬の安全性薬理試験

本薬は、50 µg/mL (リスデキサソフェタミン換算濃度) で hERG チャンネル電流を抑制しなかったが、*d*-アンフェタミン硫酸塩は、軽度に抑制し、その 25% 阻害濃度は 31 µg/mL (*d*-アンフェタミン換算濃度) であった。なお、日本人小児 ADHD 患者 (6~17 歳) における最大投与量 (70 mg/日) 投与時の推定された *d*-アンフェタミンの $C_{\max}$ の最大値は 250 ng/mL [2.7.2.3.3.1 項参照] であり、ヒト血漿タンパク結合率 16.2% [2.6.4.4.1.1 項参照] で補正した最大血漿中非結合型濃度 (209.5 ng/mL) 及びこの 25% 阻害濃度 (31 µg/mL) の間には、約 148 倍の乖離が認められる。

麻酔イヌの心血管系に対する作用を調べる試験において、*d*-アンフェタミン硫酸塩を漸増単回静脈内投与した場合、投与直後を最大とした血圧増加が認められた。また、本薬の漸増単回静脈内投与でも、同様の作用が観察されたが、軽度な作用である上に、0.5 及び 1 mg/kg 投与時の最大作用は、投与後 25~30 分の時点で認められた。イヌに本薬を 30 分かけて静脈内投与した際の *d*-アンフェタミンの $T_{\max}$ は 1.00 時間である [2.6.4.3.2.7 項参照] ことから、本試験における心血管系パラメータへの作用は、リスデキサソフェタミンの活性体である *d*-アンフェタミンに起因することが示唆された。さらに、呼吸系に及ぼす影響を調べる試験において、本薬単回静脈内投与により、麻酔モルモットの呼吸数及び分時換気量が軽度かつ徐々に増加し、本薬 7.5 mg/kg 投与群では、投与後 20~25 分に分時換気量の有意な増加が認められた。

本薬の中枢神経系に及ぼす影響については、安全性薬理試験として独立した試験は実施していないが、本薬のラット単回経口投与毒性試験 [2.6.6.2.2 項参照] において、10 mg/kg 以下の投与群では一般状態に変化は認められなかったが、60 mg/kg 以上の投与群で活動性亢進が見られ、中枢神経系に影響を及ぼすと判断した。また、本薬の幼若ラット 8 週間反復経口投与毒性試験 [2.6.6.6.5 項参照] においては、全て (4, 10 及び 40 mg/kg/日) の投与群で、FOB 試験、聴覚性

驚愕反応及び水迷路試験では本薬投与による影響は認められなかったが、一般症状観察において、全ての投与群で活動性亢進が見られたこと、4及び10 mg/kg/日投与群の雌で自発運動量の低値が認められたことから、4 mg/kg/日から中枢神経系へ影響を及ぼすと判断した。

2.6.2.6.2.2 結論

本薬の安全性薬理試験で本薬投与により認められた種々の変化は、*d*-アンフェタミンの公表論文で報告された変化や各試験で比較対照薬として使用した *d*-アンフェタミン硫酸塩投与により認められた変化と質的に変わらないと判断した。

2.6.2.7 図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1. Heal DJ, Cheetham SC, Smith SL. The neuropharmacology of ADHD in vivo: insights on efficacy and safety. *Neuropharmacology* 2009; 57: 609-18.
2. Heal DJ, Smith SL, Findling RL. ADHD: Current and Future Therapeutics. *Curr Top Behav Neurosci* 2012; 9 (A018): 361-90.
3. Cheetham SC, Viggers JA, Butler SA, Prow MR, Heal DJ. [³H]Nisoxetine – a radioligand for noradrenaline reuptake sites: correlation with inhibition of [³H]noradrenaline uptake and effect of DSP-4 lesioning and antidepressant treatments. *Neuropharmacology* 1996; 25 (1): 63-70.
4. Pristupa ZB, Wilson JM, Hoffman BJ, Kish SJ, Niznik HB. Pharmacological heterogeneity of the cloned and native human dopamine transporter: disassociation of [³H]WIN 35,428 and [³H]GBR 12,935 binding. *Mol Pharmacol* 1994; 45: 125-35.
5. Andersen PH. Biochemical and pharmacological characterization of [³H]GBR 12935 binding in vitro to rat striatal membranes: labeling of the dopamine uptake complex. *J Neurochem* 1987; 48: 1887-96.
6. Heal DJ, Smith SL, Kulkarni RS, Rowley HL. New perspectives from microdialysis studies in freely-moving, spontaneously hypertensive rats on the pharmacology of drugs for the treatment of ADHD. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 90: 184-97.
7. Moscardo E, Maurin A, Dorigatti R, Champeroux P, Richard S. An optimised methodology for the neurobehavioural assessment in rodents. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007; 56: 239-55.
8. Himmel HM. Safety pharmacology assessment of central nervous system function in juvenile and adult rats: effects of pharmacological reference compounds. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2008; 58: 129-46.
9. Gauvin DV, Baird TJ. A functional observation battery in non-human primates for regulatory-required neurobehavioural assessments. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2008; 58: 88-93.
10. Tontodonati M, Faselli N, Moscardo E, Giarola A, Dorigatti R. A canine model used to simultaneously assess potential neurobehavioural and cardiovascular effects of candidate drugs. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007; 56: 265-75.
11. Sagvolden T. Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24 (1): 31-9.
12. Sagvolden T, Xu T. l-Amphetamine improves poor sustained attention while d-amphetamine reduces overactivity and impulsiveness as well as improves sustained attention in an animal model of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD). *Behav Brain Funct* 2008; 4: 3.
13. Caballero-Puntiverio M, Fitzpatrick CM, Woldbye DP, Andreasen JT. Effects of amphetamine and methylphenidate on attentional performance and impulsivity in the mouse 5-Choice Serial Reaction Time Task. *J Psychopharmacol* 2017; 31 (2): 272-83.
14. Arnsten AF, Pliszka SR. Catecholamine influences on prefrontal cortical function: relevance to treatment of attention deficit/hyperactivity disorder and related disorders. *Pharmacol Biochem Behav* 2011; 99 (2): 211-6.

15. van den Buuse M, Martin S, Brosda J, Leck KJ, Matthaei KI, Hendry I. Enhanced effect of dopaminergic stimulation on prepulse inhibition in mice deficient in the alpha subunit of G(z). *Psychopharmacology (Berl)*. 2005; 183(3): 358-67.
16. Riccio CA, Waldrop JJ, Reynolds CR, Lowe P. Effects of stimulants on the continuous performance test (CPT): implications for CPT use and interpretation. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2001; 13(3): 326-35.
17. Davids E, Zhang K, Kula NS, Tarazi FI, Baldessarini RJ. Effects of norepinephrine and serotonin transporter inhibitors on hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesioning in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301 (3): 1097-102.
18. Heffner TG, Seiden LS. Possible involvement of serotonergic neurons in the reduction of locomotor hyperactivity caused by amphetamine in neonatal rats depleted of brain dopamine. *Brain Res* 1982; 244(1): 81-90.
19. Robinson JB. Stereoselectivity and isoenzyme selectivity of monoamine oxidase inhibitors. Enantiomers of amphetamine, N-methylamphetamine and deprenyl. *Biochem Pharmacol* 1985; 34(23): 4105-8.
20. Heal DJ, Smith SL, Kulkarni RS, Rowley HL. New perspectives from microdialysis studies in freely-moving, spontaneously hypertensive rats on the pharmacology of drugs for the treatment of ADHD. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 90(2): 184-97.
21. Holmes JC, Rutledge CO. Effects of the *d*- and *l*-isomers of amphetamine on uptake, release and catabolism of norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine in several regions of rat brain. *Biochem Pharmacol* 1976; 25(4): 447-51.
22. Rothman RB, Baumann MH, Dersch CM et al. Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse* 2001; 39(1): 32-41.
23. Kula NS, Baldessarini RJ, Tarazi FI et al. [³H]beta-CIT: a radioligand for dopamine transporters in rat brain tissue. *Eur J Pharmacol* 1999; 385(2-3): 291-4.
24. Toll L, Berzetei-Gurske IP, Polgar WE et al. Standard binding and functional assays related to medications development division testing for potential cocaine and opiate narcotic treatment medications. *NIDA Res Monogr* 1998; 178: 440-66.
25. U'Prichard DC, Greenberg DA, Snyder SH. Binding characteristics of a radiolabeled agonist and antagonist at central nervous system alpha noradrenergic receptors. *Mol Pharmacol* 1977; 13(3): 454-73.
26. Jarrott B, Louis WJ, Summers RJ. The characteristics of [³H]-clonidine binding to an alpha-adrenoceptor in membranes from guinea-pig kidney. *Br J Pharmacol* 1979; 65(4): 663-70.

ビバンセカプセル 20mg, 同 30mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表	3
2.6.3 薬理試験概要表	4
2.6.3.1 薬理試験： 一覧表	4
2.6.3.2 効力を裏付ける試験	6
2.6.3.2.1 Binding affinity of LDX to catecholamine transporters	6
2.6.3.2.2 Effects of LDX dimesylate and <i>d</i> -amphetamine sulphate on impulsive behavior	7
2.6.3.2.3 Effects of LDX dimesylate on extracellular concentrations of monoamines in the prefrontal cortex and striatum and locomotor activity	9
2.6.3.2.4 Effects of methylphenidate HCl on extracellular concentrations of monoamines in the prefrontal cortex and striatum and locomotor activity	11
2.6.3.2.5 Effects LDX dimesylate and of <i>d</i> -amphetamine sulfate on extracellular concentrations of DA in the striatum and locomotor behavior	13
2.6.3.3 副次的薬理試験	15
2.6.3.3.1 Binding affinity for 62 different binding sites	15
2.6.3.4 安全性薬理試験	17
2.6.3.4.1 Results of safety pharmacology studies	17
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験	19

2.6.3 略号及び用語定義一覧表

Abbreviation	Content
Approx.	approximately
C _{max}	maximum plasma concentration
DA	dopamine
DAT	dopamine transporter
diHCl	dihydrochloride
DOPAC	3,4-dihydroxyphenylacetic acid
GLP	Good Laboratory Practice
HCl	hydrochloride
hDAT	human DAT
hERG	human ether-a-go-go related gene
5-HIAA	5-hydroxyindoleacetic acid
hNET	human NET
5-HT	serotonin
HVA	homovanillic acid
i.p.	intraperitoneally
LDX	lisdexamfetamine
NA	noradrenalin
NET	noradrenaline transporter
PFC	prefrontal cortex
PND	postnatal day
p.o.	orally
T _{max}	time to maximum plasma concentration

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験： 一覧表

Test Article: Lisdexamfetamine (LDX) dimesylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Binding affinity of LDX to catecholamine transporters	Human DAT, human NET	<i>In vitro</i> , LDX diHCl (1 nM – 10 µM)	██████████, USA	V01388M-SPD489	4.2.1.1-01
Effects of LDX dimesylate and <i>d</i> -amphetamine sulphate on impulsive behavior	Juvenile Male Wistar Rats	Oral, LDX dimesylate (4, 8, 16 mg/kg); <i>d</i> -Amphetamine sulphate (3 mg/kg)	██████████, France	R3846M-SPD559	4.2.1.1-02
Effects of LDX dimesylate on extracellular concentrations of monoamines in the prefrontal cortex and striatum and locomotor activity	Adult Male Sprague-Dawley Rats	Oral, LDX dimesylate (Approx. 1.7, 5.1, 15.2 mg/kg)	██████████, UK	R3851M-SPD489	4.2.1.1-03
Effects of methylphenidate HCl on extracellular concentrations of monoamines in the prefrontal cortex and striatum and locomotor activity	Adult Male Sprague-Dawley Rats,	Oral, Methylphenidate HCl (3, 10, 30 mg base/kg)	██████████, UK	R3852M-SPD489	4.2.1.1-04
Effects of LDX dimesylate and <i>d</i> -amphetamine sulphate on extracellular concentrations of DA in the striatum and locomotor activity	Adult Male Sprague-Dawley Rats,	Intraperitoneal, LDX dimesylate (Approx. 5.1, 16.9 mg/kg); <i>d</i> -Amphetamine sulphate (Approx. 2.0 mg/kg)	██████████, UK	R01878M-SP0489	4.2.1.1-05
Secondary Pharmacodynamics					
Binding affinity of LDX to 62 different binding sites	Sixty-two different binding sites	<i>In vitro</i> , LDX (Salt: no description, 10 µM)	██████████, USA	V01386M-SPD489	4.2.1.2-01
Safety Pharmacology					
Effect of LDX dimesylate on central nervous system (no GLP-compliant)	Rat/ Sprague-Dawley	Gavage, LDX dimesylate (0.1, 1, 10, 60, 100, 1000 mg/kg)	██████████, DE	R01370M-SPD489	4.2.3.1-04
Effect of LDX dimesylate on central nervous system (GLP compliant)	Rat/ Sprague-Dawley	Gavage, LDX dimesylate (0, 4, 10, 40 mg/kg/day)	██████████, Canada	R01363M-SPD489	4.2.3.5-03

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Effects of LDX dimesylate and <i>d</i> -amphetamine sulphate on hERG tail current (GLP compliant)	hERG transfected HEK293 cells	<i>In vitro</i> , LDX dimesylate (50 µg/mL as LDX); <i>d</i> -Amphetamine sulphate (5, 15, 50 µg/mL as <i>d</i> -amphetamine)	██████, UK	V02044M-SPD489	4.2.1.3-03
Cardiovascular evaluation of LDX dimesylate and <i>d</i> -amphetamine sulphate (GLP compliant)	Anaesthetized Beagle Dogs	Intravenous, LDX dimesylate (0.5, 1, 5 mg/kg); <i>d</i> -Amphetamine sulphate (0.202, 0.404, 2.02 mg/kg)	██████ PA, USA	D01385M-SPD489	4.2.1.3-01
Respiratory evaluation of LDX dimesylate (GLP compliant)	Anaesthetized Hartley Guinea Pigs	Intravenous, LDX dimesylate (1, 5, 7.5 mg/kg)	██████ PA, USA	V01384M-SPD489	4.2.1.3-02

Abbreviations: DAT, dopamine transporter; NET, noradrenaline transporter; diHCl, dihydrochloride; Approx., approximately; HCl, hydrochloride; GLP, Good Laboratory Practice; DA, dopamine; hERG, human ether-à-go-go-related gene.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2.1 Binding affinity of LDX to catecholamine transporters

Test Article: LDX diHCl			Location in CTD: 4.2.1.1-01			Study Number: V01388M-SPD489		
Test System	In vitro binding assay							
Evaluation Items	Binding inhibition (%) for NET and DAT sites							
Experimental Method	<u>[3H]-Nisoxetine binding to human NET (hNET)</u> Binding assays were performed with recombinant hNET, 1 nM [3H]-Nisoxetine, and LDX diHCl at 1 nM,100 nM and 10 μM in replicates. Reaction was carried out by incubation for 60 min at room temperature. Nonspecific binding was defined using 1 μM desipramine.							
	<u>[3H]-WIN35,428 binding to human DAT (hDAT)</u> Binding assays were performed with recombinant hDAT, 3 nM [3H]-WIN35,428, and LDX diHCl at 1 nM,100 nM and 10 μM in replicates. Reaction was carried out by incubation for 60 min at 0°C – 4°C. Nonspecific binding was defined using 1 μM GBR12909.							
	The radioactivity trapped onto the filter was determined, and assessed the inhibitory activity for hNET and hDAT. Average values were calculated from a single experiment (n=2). No binding acitivity is defined as producing between -20 and 20 percent inhibition of radioligand binding.							
Results	When tested at a maximum concentration of 10μM LDX, the percentage inhibition of binding of [3H]-WIN35,428 at DAT sites and [3H]-Nisoxetine at NET sites was less than 15% and was considered to be negligible.							
	Tabular Summary							
	Conditions			Binding inhibition (%; average: n=2)				
	Binding sites	Radioligand	Test Article	1 nM	100 nM	10 μM		
	hNET	[3H]-Nisoxetine	LDX diHCl	8.15	-11.75	13.89		
	hDAT	[3H]-WIN35,428	LDX diHCl	-10.46	11.52	-0.71		
Noteworthy Findings	LDX has no affinity for recombinant hNET and hDAT.							

2.6.3.2.2 Effects of LDX dimesylate and *d*-amphetamine sulphate on impulsive behavior

Test Article: LDX dimesylate, Comparator: <i>d</i> -Amphetamine sulfate		Location in CTD: 4.2.1.1-02		Study Number: R3846M-SPD559																									
Test System	Juvenile Male Wistar Rats																												
Evaluation Items	The number of choices for the large-but-30 s delayed reward in the T-maze																												
Experimental Method	Sixty-two male Wistar AF rats (weaning at postnatal day 22 – 23, 11 – 18 rats /group) were used in this study. Animals were restricted diet during the experimental period. The experiment consists of habituation, training and testing phase. <u>Training phase:</u> After the habituation to the test apparatus, the animals were trained to choose between a small food reward (20 mg/ pellet, 1 pellet) and a large food reward (5 pellets) that was placed in the goal box. Within four to ten sessions, all the rats selected the arm giving access to the large reward at more than 80% of the trials. Henceforth, rats underwent training in which a 30s-delay was introduced before access to the large reward. Training was carried out until animals selected the large and delayed reward at 1 trial or less out of five during three consecutive sessions. <u>Testing phase:</u> Drug testing (starting at postnatal day 34 – 36) was conducted over six consecutive test-sessions of five trials each, during which the access to the large reward was preceded by the delay. Test sessions were consisted of two Control pre-drug sessions on day 1, two Drug sessions on days 2 and 3 and two Control post-drug sessions on day 4. The second Drug session occurred 24 h after the first one. Placebo (60% PEG400 + 40% sterile water) was administered orally (p.o.) 60 min before the first Control pre-drug session and before the first post-drug sessions. LDX dimesylate [4, 8 and 16 mg/kg (Approx. 1.2, 2.4 and 4.7 mg/kg as <i>d</i>-amphetamine, respectively), n = 11 in each group], <i>d</i>-amphetamine sulfate [3 mg/kg (Approx. 2.2 mg/kg as <i>d</i>-amphetamine), n=11] or placebo (n=18) were administered p.o. 60 min before each drug session (i.e. they were administered twice, 24 h apart). An increase in the number of choices for the large-but-30 s delayed reward was used as an index of improvement of impulsivity. For each animal, the number of choices for the large-but-30 s-delayed reward was calculated on Control pre-drug sessions, Drug sessions and Control post-drug sessions. Each number of choices for the large-but-30 s delayed reward in Control pre-drug sessions, Drug sessions and Control post-drug sessions was abbreviated as LR (Pre), LR (Drug), and LR (Post) respectively. A difference was considered statistically significant at p< 0.05. The effects of compounds on the tolerance to delay of reward were analyzed by within group comparisons.																												
Results	LDX dimesylate at all doses increased the number of choices for the large-but-delayed reward. LR (Drug) of LDX dimesylate (16 mg/kg, p.o.) and LR (Drug) of <i>d</i>-amphetamine sulfate (3 mg/kg, p.o.) were significantly higher than respective LR (Pre) and LR (Post). LR (Drug) of LDX dimesylate (4 mg/kg, p.o.) was significantly higher than its LR (Pre) and tended to be higher than its LR (Post). LR (Drug) of LDX (8 mg/kg, p.o.) tended to be higher than its LR (Pre) and was not significantly different from its LR (Post). LR (Post) of LDX dimesylate (4, 8, and 16 mg/kg, p.o.) and LR (Post) of <i>d</i>-amphetamine sulfate (3 mg/kg, p.o.) were not significantly different from respective LR (Pre). Tabular Summary *p<0.05, **p<0.01 vs LR (Pre), ++p<0.01 vs LR (Post) by within group comparisons <table><tr><td>Group</td><td>LR (Pre)</td><td>LR (Drug)</td><td>LR (Post)</td></tr><tr><td>Placebo</td><td>1.28</td><td>1.67</td><td>1.61</td></tr><tr><td>LDX dimesylate (4 mg/kg, p.o.)</td><td>1.18</td><td>2.64*</td><td>1.36</td></tr><tr><td>LDX dimesylate (8 mg/kg, p.o.)</td><td>1.18</td><td>2.18</td><td>1.45</td></tr><tr><td>LDX dimesylate (16 mg/kg, p.o.)</td><td>1.18</td><td>3.55***++</td><td>1.82</td></tr><tr><td><i>d</i>-Amphetamine sulfate (3 mg/kg, p.o.)</td><td>1.18</td><td>2.82***++</td><td>1.73</td></tr></table>					Group	LR (Pre)	LR (Drug)	LR (Post)	Placebo	1.28	1.67	1.61	LDX dimesylate (4 mg/kg, p.o.)	1.18	2.64*	1.36	LDX dimesylate (8 mg/kg, p.o.)	1.18	2.18	1.45	LDX dimesylate (16 mg/kg, p.o.)	1.18	3.55***++	1.82	<i>d</i> -Amphetamine sulfate (3 mg/kg, p.o.)	1.18	2.82***++	1.73
Group	LR (Pre)	LR (Drug)	LR (Post)																										
Placebo	1.28	1.67	1.61																										
LDX dimesylate (4 mg/kg, p.o.)	1.18	2.64*	1.36																										
LDX dimesylate (8 mg/kg, p.o.)	1.18	2.18	1.45																										
LDX dimesylate (16 mg/kg, p.o.)	1.18	3.55***++	1.82																										
<i>d</i> -Amphetamine sulfate (3 mg/kg, p.o.)	1.18	2.82***++	1.73																										

Noteworthy Findings	LDX dimesylate increased the number of choices for the large-but-delayed reward in the T-maze procedure, <i>i.e.</i> decreased impulsivity.
---------------------	---

2.6.3.2.3 Effects of LDX dimesylate on extracellular concentrations of monoamines in the prefrontal cortex and striatum and locomotor activity

Test Article: LDX dimesylate						Location in CTD: 4.2.1.1-03				Study Number: R3851M-SPD489					
Test System		Adult Male Sprague-Dawley Rats													
Evaluation Items		Noradrenaline (NA), DA, serotonin (5-HT), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) levels in the prefrontal cortex (PFC) DA, 5-HT, DOPAC, HVA, and 5-HIAA levels in the striatum Locomotor activity and behavioral observations (sniffing, rearing, chewing, and circling)													
Experimental Method		A dual-probe microdialysis experiment in free-moving rats was carried out in combination with behavioral tests. Male Sprague-Dawley rats (250 – 350 g bodyweight; 6 – 7 rats /group) were used. Two concentric microdialysis probes were stereotaxically implanted bilaterally into the PFC and the striatum. Rats were allowed a recovery period of at least 16 h with food and water available <i>ad libitum</i> . Dialysate samples from the PFC and the striatum were collected simultaneously from freely-moving rats at 15 min intervals from 60 min before drug administration until 5 h post-drug administration. Locomotor activity was recorded by automated means as the total time spent active during each 15 min interval throughout the study. Behavior observations were carried out for 5 h after the administration of LDX dimesylate. LDX dimesylate [Approx. 1.7, 5.1 and 15.2 mg/kg (0.5, 1.5 and 4.5 mg/kg as <i>d</i> -amphetamine, respectively), n=6 – 7 in each group] or vehicle (deionized water, n=6) were administered p.o.													
Results		LDX dimesylate (Approx. 1.7, 5.1 and 15.2 mg/kg, p.o.) resulted in a significant increase in NA and DA efflux in the PFC and DA efflux in the striatum. LDX dimesylate (Approx. 15.2 but not 1.7 and 5.1 mg/kg, p.o.) resulted in a significant increase in 5-HT efflux in the PFC and striatum. LDX dimesylate produced a decrease in the extracellular concentrations of DOPAC and HVA in the striatum. LDX dimesylate had no significant effect on DOPAC and HVA levels in the PFC. LDX dimesylate (Approx. 15.2 mg/kg, p.o.) resulted in a dose-related reduction in DOPAC levels in the striatum. LDX dimesylate (Approx. 1.7, 5.1 and 15.2 mg/kg, p.o.) reduced HVA levels significantly. LDX dimesylate had no significant effect on 5-HIAA levels in the PFC and striatum. LDX dimesylate (Approx. 1.7 and 5.1 mg/kg, p.o.) did not significantly increase locomotor activity at any timepoint. At the highest dose (Approx. 15.2 mg/kg, p.o.), LDX dimesylate resulted in an increase in rat locomotor activity from 45-300 min post-drug administration. The maximal increase in activity was at 60 min. LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg, p.o.) exhibited a noticeable increase in overall exploratory behavior as an increase in sniffing, rearing, chewing and circling. LDX dimesylate (Approx. 15.2 mg/kg, p.o.) exhibited an increase in sniffing, rearing, chewing, and circling behaviors.													
		Tabular Summary													
		Approximate dose of LDX dimesylate (mg/kg, p.o.)	Significantly maximum increases between 0 and 300 min (% of baseline)					Main change						Locomotor activity	Behavioral observations
			PFC			Striatum		PFC			Striatum				
			NA	DA	5-HT	DA	5-HT	DOPAC	HVA	5-HIAA	DOPAC	HVA	5-HIAA		
			1.7	305	182	118	156	NS	–	–	–	(↓)	↓		
		5.1	306	254	92	214	168	–	–	–	(↓)	↓	–	+	Observed
15.2.	529	296	284	364	359	–	–	–	↓	↓	–	+++	Clearly observed		
NS = No significant change; ↓ = Significant decrease; (↓) = Decrease, but not significant; – = No change; += Increase slightly; +++ = Increase remarkably.															

NS = No significant change; ↓ = Significant decrease; (↓) = Decrease, but not significant; – = No change; + = Increase slightly; +++ = Increase remarkably.

Noteworthy Findings	LDX dimesylate potentiated noradrenergic and dopaminergic function in the PFC and dopaminergic function in the striatum at doses producing very low levels of locomotor activation.
---------------------	---

2.6.3.2.4 Effects of methylphenidate HCl on extracellular concentrations of monoamines in the prefrontal cortex and striatum and locomotor activity

Test Article: Methylphenidate HCl		Location in CTD: 4.2.1.1-04	Study Number: R3852M-SPD489
Test System	Adult Male Sprague-Dawley Rats		
Evaluation Items	DA, NA, 5-HT, DOPAC, HVA and 5-HIAA in the PFC DA, 5-HT, DOPAC, HVA and 5-HIAA in the striatum Locomotor activity and behavioral observations (sniffing, rearing, chewing and circling)		
Experimental Method	A dual-probe microdialysis experiment in free-moving rats was carried out in combination with behavioral tests and microdialysis. Male Sprague-Dawley rats (250 – 350 g bodyweight; 4 – 7 rats /group) were used. Two concentric microdialysis probes were stereotaxically implanted bilaterally into the PFC and the striatum. Rats were allowed a recovery period of at least 16 h with food and water available ad libitum. Dialysate samples from the PFC and the striatum were collected simultaneously from freely-moving rats at 15 min intervals from 60 min before drug administration until 5 h post-drug administration. Locomotor activity was recorded by automated means as the total time spent active during each 15 min interval throughout the study. Behavior observations were carried out for 5 h after the administration of methylphenidate HCl. Methylphenidate HCl (3, 10 and 30 mg base/kg, n=4 – 7 in each group) or vehicle (1% methylcellulose in deionized water, n=4 – 6) were administered p.o.		
Results	Methylphenidate HCl at each of the doses tested showed a different mode of action on extracellular levels of DA and NA in the PFC. Methylphenidate HCl (3 mg base/kg, po) only increased DA, but not NA, efflux in the PFC. Methylphenidate HCl (10 mg base/kg, p.o.) produced further increases in NA efflux than DA efflux in the PFC. Methylphenidate HCl (30 mg base/kg, p.o.) produced remarkably increase in DA and NA efflux in PFC. On the other hand, Methylphenidate HCl (3 mg base/kg, p.o.) did not increased extracellular DA levels in the striatum. Methylphenidate HCl (10 mg base/kg, p.o.) produced slightly increases in DA efflux in the striatum. Methylphenidate (30 mg base/kg, p.o) produced rapid and profound increases in DA efflux in the striatum. Methylphenidate HCl (3, 10 and 30 mg base/kg, p.o.) did not significantly change cortical 5-HT efflux in the PFC, but striatal 5-HT at 30 mg base/kg transiently increased and followed by significantly decreased. Methylphenidate produced decreases in the extracellular concentration of DOPAC and HVA in the PFC. Methylphenidate HCl (3, 10 and 30 mg base/kg, p.o.) did not significantly alter extracellular DOPAC levels in the striatum, but evoked significant increases in extracellular HVA in the striatum. Methylphenidate HCl (3 mg base/kg, p.o.) did not induce increases in locomotor activity. Methylphenidate HCl (10 mg base/kg, p.o.) produced increases in locomotor activity that was relatively small, and the effect was relatively fast in onset and of relatively short duration, i.e. about 60 min. Methylphenidate HCl (30 mg base/kg, p.o.) produced a rapid and substantial increase in locomotor activity that peaked at about 45 min and gradually declined thereafter, but nonetheless remained significantly above vehicle-treated control levels for until 255 min. Methylphenidate HCl (3 mg base/kg, p.o.) produced very little overt activation. Methylphenidate HCl (10 mg base/kg, p.o.) produced some activation including alerting behavior, increased vigilance and locomotor activity. Methylphenidate HCl (30 mg base/kg, p.o.) produced a typical range of stimulant-induced behaviors including exploratory activity, sniffing, rearing and walking around the dialysis chamber.		

	Tabular Summary													
	Dose of methylphenidate HCl (mg base/kg, p.o.)	Significantly maximum increases [decreases] between 0 and 300 min (% of baseline)					Main change						Locomotor activity	Behavioral observations
		PFC			Striatum		PFC			Striatum				
		NA	DA	5-HT	DA	5-HT	DOPAC	HVA	5-HIAA	DOPAC	HVA	5-HIAA		
	3	NS	202	NS	NS	[83]	↓	–	–	–	↑	↑	–	Absence
10	261	217	NS	131	[60]	↓	–	–	–	↑	↑	+	Observed	
30	289	343	NS	243	319 [59]	↓	↓	↓	–	↑	↑	+++	Clearly observed	
NS = No significant change; ↓ = Significant decrease; ↑ = Significant increase; – = No change; + = Increase slightly; +++ = Increase remarkably.														
Noteworthy Findings	Methylphenidate HCl potentiated noradrenergic and dopaminergic function in the PFC and dopaminergic function in the striatum although the balance of its actions on noradrenergic and dopaminergic neurotransmission varied with dose in the PFC. In contrast to LDX dimesylate, methylphenidate HCl concomitantly increased synaptic DA concentrations and its major metabolite HVA and, at therapeutically-relevant doses such as 3 and 10 mg/kg, did not enhance synaptic 5-HT concentrations. Methylphenidate HCl produced smaller increases in striatal dopaminergic neurotransmission than LDX dimesylate, but it showed higher levels of locomotor activation.													

2.6.3.2.5 Effects LDX dimesylate and of *d*-amphetamine sulfate on extracellular concentrations of DA in the striatum and locomotor behavior

Test Article: LDX dimesylate, Comparator: <i>d</i> -Amphetamine sulfate		Location in CTD: 4.2.1.1-05	Study Number: R01878M-SP0489
Test System	Adult Male Sprague-Dawley Rats		
Evaluation Items	DA in the striatum Locomotor activity Plasma drug concentrations (<i>d</i> -Amphetamine and LDX)		
Experimental Method	Male Sprague-Dawley rats (250 – 350 g bodyweight, 5 – 6 rats /group) were used. A concentric microdialysis probe was stereotactically implanted into the striatum. An indwelling catheter for blood collection was also implanted into the jugular vein. Rats were allowed a recovery period of at least 16 h with food and water available ad libitum. Dialysate samples from the striatum were collected from freely-moving rats at 15 min intervals from 60 min before drug administration until 8 h post-drug administration. Locomotor activity was recorded by automated means as the total time spent active during each 15 min interval throughout the study. Blood samples (0.3 ml/sample) were collected by automated means at 0, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 360 and 480 min. LDX dimesylate [Approx. 5.1 and 16.9 mg/kg (1.5 and 5 mg/kg as <i>d</i> -amphetamine, respectively), n=5 in each group], <i>d</i> -amphetamine sulfate [Approx. 2.0 mg/kg (1.5 mg/kg as <i>d</i> -amphetamine), n=6], or vehicle (Saline, n=6) were administered intraperitoneally (i.p.). All data was expressed as mean or mean $\pm$ standard error of mean.		
Results	LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg i.p.) produced a small increase in locomotor activity that was delayed in onset and reached a maximum 90 to 120 min after dosing. The equivalent dose as <i>d</i>-amphetamine of <i>d</i>-amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg i.p.) caused a significant increase in locomotor activity that peaked earlier at 30 min after dosing and persisted for up to 90 min post-dose. LDX dimesylate (Approx. 16.9 mg/kg i.p.) produced a significant increase in locomotor activity for up to 255 min post-drug. A maximal increase was observed at 75 min. LDX dimesylate (Approx. 5.1 and 16.9 mg/kg i.p.) dose-dependently increased striatal DA for up to 300 min with maximal increases at 75 min ($854 \pm 295\%$ of baseline at LDX dimesylate Approx. 5.1 mg/kg, $P<0.001$) and 60 min ($1581 \pm 242\%$ of baseline at LDX dimesylate Approx. 16.9 mg/kg, $P<0.001$). <i>d</i>-Amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg i.p.) significantly increased extracellular DA levels in the rat striatum for up to 300 min. The increase was rapid in onset and maximal at 30 min ($1291 \pm 522\%$ of baseline, $P<0.001$). After administration of <i>d</i>-amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg, i.p.), the $T_{\max}$ and $C_{\max}$ of <i>d</i>-amphetamine were 15 min and 86.0 ± 17.0 ng/mL, respectively. After administration of LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg i.p.), those were 42 min and 41.5 ± 7.8 ng/mL, respectively. After administration of LDX dimesylate (Approx. 16.9 mg/kg i.p.), those were 48 min and 130.3 ± 18.0 ng/mL, respectively. After administration of LDX dimesylate (Approx. 5.1 and 16.9 mg/kg, i.p.), the $T_{\max}$ of LDX were both 15 min and the $C_{\max}$ of LDX were 261.48 ± 70.06 and 603.66 ± 76.87 ng/mL, respectively.		

	Tabular Summary									
	Test Article or Comparator	Maximal DA efflux in the striatum		Maximal locomotor activity		Plasma <i>d</i> -amphetamine concentration			Plasma LDX concentration	
		% of baseline	Peak time (min)	Total activity (min/15 min)	Peak time (min)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/mL)	Half-life (min)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/mL)
	<i>d</i> -Amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg, i.p.)	1291	30	6.2 ± 2.4	30	20	86.0 ± 17.0	46.7 ± 8.4		
Noteworthy Findings	LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg, i.p.)	854	75	1.5 ± 0.9	90	42	41.5 ± 7.8	97.0 ± 8.7	15	261.48 ± 70.06
	LDX dimesylate (Approx. 16.9 mg/kg, i.p.)	1581	60	8.7 ± 1.2	75	48	130.3 ± 18.0	77.0 ± 9.4	15	603.66 ± 76.87
At equivalent dose as <i>d</i> -amphetamine (1.5 mg/kg), LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg, i.p.) produced plasma <i>d</i> -amphetamine concentrations that were both more gradual in onset and sustained than those observed by <i>d</i> -amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg, i.p.). Consistent with these pharmacokinetic profiles, LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg, i.p.) increased extracellular DA concentrations in the striatum that were later in onset and smaller than those induced by <i>d</i> -amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg, i.p.). LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg, i.p.) produced locomotor activity that was delayed in onset compared to <i>d</i> -amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg, i.p.). LDX dimesylate (Approx. 5.1 mg/kg, i.p.) was less behaviorally stimulant than <i>d</i> -amphetamine sulfate (Approx. 2.0 mg/kg, i.p.) even though it produced a substantial increase in striatal dopamine efflux.										

Abbreviations: T_{max}, time to maximum plasma concentration; C_{max}, maximum plasma concentration.

2.6.3.3 副次的薬理試験

2.6.3.3.1 Binding affinity for 62 different binding sites

Test Article: LDX (Salt: no description)	Location in CTD: 4.2.1.2-01	Study Number: V01386M-SPD489
Test System	<i>In vitro</i> Binding assay	
Evaluation Items	Binding inhibition (%) for 62 different binding sites	
Experimental Method	Competitive inhibition of radiolabeled ligand at the concentration of 10 μ M LDX was examined. Average values were calculated from a single experiment (n = 2). Compounds showing results in the range from -20% to +20% inhibition of binding or enzyme activity were considered to inactive at this site. Similarly, compounds exhibiting inhibition in the range from 20% to 49% were considered to show marginal activity that generally would not warrant further examination. Inhibition of 50% or greater qualifies a compound as active and warrants further studies including determining if there is a dose dependent response.	
Results	For the majority of the above targets, the displacement of a specific radiolabeled ligand by LDX was < 20% at 10 μ M and was considered to be negligible. The exceptions were marginal inhibition of non-selective binding at opioid receptors (25%) and non-selective binding at α_2 -adrenoceptors (36%).	
	Tabular Summary	
	62 different binding sites	(%) inhibition
	Neurotransmitter Related	62 different binding sites
	Adenosine, Non-selective	7.36
	Adrenergic, Alpha 1, Non-selective	-10.63
	Adrenergic, Alpha 2, Non-selective	36.12
	Adrenergic, Beta, Non-selective	2.46
	Dopamine, Non-selective	5.02
	GABA A, Agonist Site	-12.46
	GABA A, BDZ, alpha 1 site	1.33
	GABA-B	2.81
	Glutamate, AMPA Site	16.88
	Glutamate, Kainate Site	-5.56
	Glutamate, NMDA agonist Site	-5.58
	Glutamate, NMDA, Glycine (Stry-insens Site)	7.05
	Glycine, Strychnine-sensitive	19.48
	(%) inhibition	(%) inhibition
	Histamine, H1	13.51
	Histamine, H2	17.13
	Histamine, H3	14.78
	Melatonin, Non-selective	14.16
	Muscarinic, M1 (hr)	1.03
	Muscarinic, M2 (hr)	7.94
	Muscarinic, Non-selective, Central	-5.20
	Muscarinic, Non-selective, Peripheral	2.64
	Nicotinic (a-Bungarotoxin insensitive)	8.21
	Opioid, Non-selective	24.75
	Orphanin (hr)	0.58
	Serotonin, Non-selective	-0.53
	Sigma, Non-selective	17.08

	Transporters		Ion Channels	
	Dopamine Transporter	-3.68	Calcium Channel, Type L (Dihydropyridine Site)	-1.22
	Norepinephrine Transporter	1.43	Calcium Channel, Type N	-2.56
	Serotonin Transporter	2.82	Potassium Channel, ATP-Sensitive	18.89
	Steroids		Potassium Channel, Ca ²⁺ +Act., VI	-8.19
	Estrogen	11.79	Potassium Channel, I[Kr] (hERG) (hr)	-0.43
	Testosterone (cytosolic)	11.05	Sodium, Site 2	14.11
	Second Messengers		Prostaglandins	
	Nitric Oxide, NOS (Neuronal-Binding)	12.65	Leukotriene, LTD4	1.33
	Growth Factors		Thromboxane A2 (h)	-7.17
	Corticotropin Releasing Factor, Non-selective	1.72	Enzymes	
	Oxytocin	-4.82	Choline Acetyltransferase	9.15
	Platelet Activating Factor, PAF	8.36	Esterase, Acetylcholine	8.08
	Thyrotropin Releasing Hormone, TRH	1.81	Glutamic Acid Decarboxylase	1.76
	Brain/Gut Peptides		Oxidase, MAO-A, Peripheral	-7.51
	Angiotensin II, AT1 (h)	-0.46	Oxidase, MAO-B, Peripheral	4.41
	Angiotensin II, AT2	8.56	Brain/Gut Peptides	
	Bradykinin, BK2	10.04	Galanin, Non-selective	-2.24
	Cholecystokinin, CCK1 (CCKA)	-2.47	Neurokinin. NK1	5.13
	Cholecystokinin, CCK2 (CCKB)	-1.60	Neurokinin. NK2 (NKA) (hr)	6.07
	Endothelin, ET-A (h)	6.05	Neurokinin. NK3 (NKB)	13.37
	Endothelin, ET-B (h)	-2.19	Vasoactive Intestinal Peptide, Non-selective	13.45
			Vasopressin	0.76
Noteworthy Findings	LDX did not show over 50% inhibition for any 62 different binding sites tested. It is therefore unlikely to produce side effects mediated by these sites.			

2.6.3.4 安全性薬理試験

2.6.3.4.1 Results of safety pharmacology studies

Test Article: LDX dimesylate

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number ^a [Location in CTD]
Central nervous system	Rat/ Sprague-Dawley	Gavage (0.5% methylcellulose/ solution)	0.1, 1, 10, 60, 100, 1000 [Approx. 0.03, 0.3, 3.0, 17.8, 29.6, 296] ^b	3M, 3F	1000: One female died on Day 2. One male was euthanatized on Day 3 due to skin lesions on the ventral neck resulted from self-mutilation. ≥60: Increased motor activity within 2 hrs post-dose and which lasted into Day 2. Slight chromodacryorrhea/chromorhinorrhea up to Day 3. All remaining animals showed no abnormal signs on Days 4-7. ≤10: No observable changes throughout study.	No	R01370M-SPD489 [4.2.3.1-04]
	Rat/ Sprague-Dawley	Gavage (Deionized water/solution)	0, 4, 10, 40 [Approx. 1.2, 3.0, 11.8] ^b	60M, 60F	Clinical observations: Increased activity in all dose-group, stereotypic behavior in males and females of 40 mg/kg/day, uncoordination, thin, erected fur and salivation in males of 40 mg/kg/day. Motor activity: Total counts were significantly lower than controls at 40 mg/kg/day in males on PNDs 22/23, and in both sexes on PNDs 59/60. Also significantly lower than controls in females at 4 and 10 mg/kg/day on PNDs 59/60.	Yes	R01363M-SPD489 [4.2.3.5-03]
Cardio-vascular system	hERG transfected HEK293 cells	<i>In vitro</i>	0, 50 µg/mL (As LDX)	4 or 5 cells	Dimethyl sulfoxide (0.1%, the vehicle) produced an 18.3% reduction in the hERG tail current. LDX dimesylate at 50 µg/mL as LDX produced an 8.3% reduction. Additional groups received <i>d</i> -amphetamine sulphate (comparator) at 5, 15 or 50 µg/mL as <i>d</i> -amphetamine and E-4031 (positive control) at 100 nM. <i>d</i> -Amphetamine at 5, 15 and 50 µg/mL produced 16.3%, 28.4% and 47.7% reduction, respectively. The estimated 25% inhibition concentration for the tail current was 31 µg/mL. The positive control produced a 91% reduction in the tail current consistent with its known activity.	Yes	V02044M-SPD489 (ZNA28641.001) [4.2.1.3-03]

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number ^a [Location in CTD]
Cardio-vascular system	Dog/Beagle Anesthetized open-chest	Intravenous 1 mL/kg, 2 mL/min (Saline/ Solution)	0, 0.5, 1, 5	1M, 1F	An additional pair of dogs received <i>d</i>-amphetamine sulphate (comparator) at 0, 0.202, 0.404 and 2.02 mg/kg (Approx. 0.15, 0.30 and 1.48 mg/kg as <i>d</i>-amphetamine, respectively). LDX dimesylate at 0.5 mg/kg (Approx. 0.15 mg/kg as <i>d</i>-amphetamine) increased blood pressure, cardiac output, left ventricular pressure and rate of rise of left ventricular pressure, but reduced heart rate. A dose of 1.0 mg/kg (Approx. 0.30 mg/kg as <i>d</i>-amphetamine) produced similar changes, but also increased heart rate and left ventricular end diastolic pressure. A dose of 5 mg/kg (Approx. 1.48 mg/kg as <i>d</i>-amphetamine) increased blood pressure, heart rate, left ventricular pressure and rate of rise of left ventricular pressure, but reduced cardiac output and left ventricular end diastolic pressure. All doses of <i>d</i>-amphetamine sulphate increased blood pressure, heart rate, cardiac output and left ventricular pressure. A dose of 0.202 mg/kg, also caused an increase of rate of rise of left ventricular pressure. The effects of all doses of <i>d</i>-amphetamine on left ventricular end diastolic pressure were variable. Sinus tachycardia was observed at 5 mg/kg of LDX dimesylate and at 0.404 and 2.02 mg/kg of <i>d</i>-amphetamine sulphate. Ventricular extrasystoles were also observed at 0.202 mg/kg of <i>d</i>-amphetamine sulphate in a female dog.	Yes	D01385M-SPD489 (0247DN29.001) [4.2.1.3-01]
Respiratory system	Guinea pig/ Hartley Anesthetized	Intravenous 1 mL/kg, 30 – 60 sec (Saline/ Solution)	0, 1, 5, 7.5	4M	LDX dimesylate at 1 and 5 mg/kg did not induce any significant effect on pulmonary function. At 7.5mg/kg, there was a statistically significant increase in minute volume. A small gradual increase in respiratory rate was observed in all doses of LDX dimesylate groups.	Yes	V01384M-SPD489 (1082GN29.001) [4.2.1.3-02]

a: In parentheses, CRO study numbers are shown.

b: Doses as *d*-amphetamine are represented in brackets.

PNDs: Postnatal days.

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験なし.