2.6.1　緒言

PT010

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.6.1.1　緒言 4
2.6.1.2　予定する効能・効果及び用法・用量 5

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
BGF MDI	ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤（社内製品コード PT010）
COPD	慢性閉塞性肺疾患
DSPC	1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン又はジステアロイルホスファチジルコリン
HFA	ハイドロフルオロアルカン
ICS	吸入ステロイド薬
LABA	長時間作用性 β_2 刺激薬
LAMA	長時間作用性抗コリン薬
MDI	定量噴霧式吸入剤

2.6.1.1　　緒言

ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤（社内製品コード PT010、以下 BGF 定量噴霧式吸入剤［MDI］）は、吸入ステロイド薬（ICS）であるブデソニド、吸入長時間作用性抗コリン薬（LAMA）であるグリコピロニウム臭化物、及び吸入長時間作用性 β_2 刺激薬（LABA）であるホルモテロールフマル酸塩水和物から成る固定用量 3 剤配合剤であり、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の成人患者に対する長期維持治療薬として開発された。

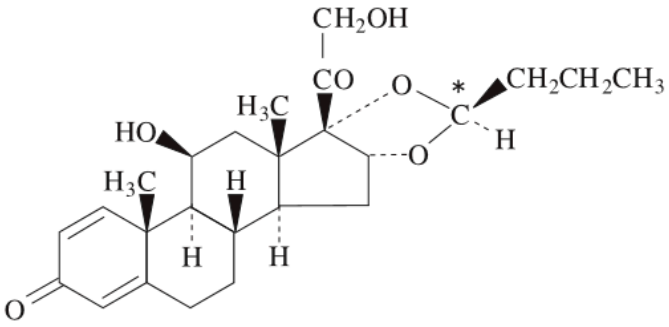
本剤は固定用量配合剤であり、製剤化に共懸濁技術を利用している。薬物送達のための共懸濁技術は、革新的な製剤化基盤技術であり、単剤又は固定用量配合剤をエアロゾルとして効果的かつ安定的に継続投与することを可能にしている。この共懸濁技術では、1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）及び塩化カルシウムから成る[redacted]した多孔性粒子を、[redacted]した活性薬理成分と共に噴射剤であるハイドロフルオロアルカン（HFA）に懸濁することで安定した懸濁液ベースの MDI としている。MDI を用いた経口吸入は世界的に COPD 治療の主流であり、コンパクトで使いやすく、しかも確実な送達システムとして患者、医師及び規制当局によく理解されている。

ブデソニドは、単剤で喘息及びアレルギー性鼻炎の治療薬として、また、併用療法として喘息及び COPD の治療薬として世界の多くの国々で承認されている。鼻腔内及び経口吸入の両製剤の利用が可能である。喘息及び COPD 患者での使用には、ブデソニドとホルモテロールフマル酸塩の配合剤が世界の多くの国で承認されている。ホルモテロールフマル酸塩は、喘息に対しては ICS との併用で、COPD に対しては単剤療法あるいは ICS 又は抗コリン薬との併用療法で、世界の多くの国々で承認されている強力な選択的 LABA である。また、グリコピロニウム臭化物は、COPD の治療を含む異なる適応症に対して、複数の製剤が世界の多くの国で承認されている。

ブデソニド

化学名：　(+)-[(*RS*)-16α,17α-butylidenedioxy-11β,21-dihydroxy-1,4-pregnadiene-3,20-dione]

構造式：



＊：本品は 22 位の不斉炭素原子におけるエピマーの混合物である。

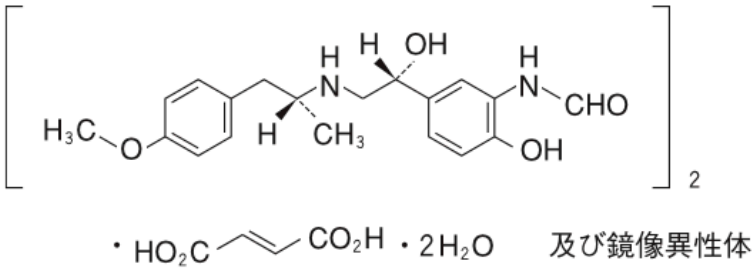
分子式：　$C_{25}H_{34}O_6$

分子量：　430.53

ホルモテロールフマル酸塩水和物

化学名：　*N*-(2-Hydroxy-5-{(1*RS*)-1-hydroxy-2-[(1*RS*)-2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl}phenyl) formamide hemifumarate monohydrate

構造式：



及び鏡像異性体

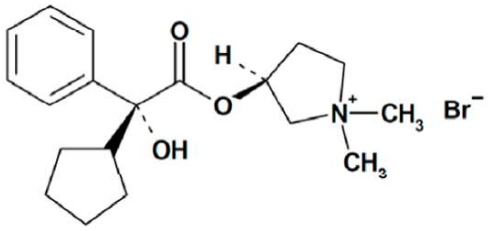
分子式：　$(C_{19}H_{24}N_2O_4)_2 \cdot C_4H_4O_4 \cdot 2H_2O$

分子量：　840.91

グリコピロニウム臭化物

化学名：　(3*RS*)-3-[(2*SR*)-(2-Cyclopentyl-2-hydroxy-2-phenylacetyl)oxy]-1,1-dimethylpyrrolidinium bromide

構造式：



及び鏡像異性体

分子式：　$C_{19}H_{28}BrNO_3$

分子量：　398.33

2.6.1.2　予定する効能・効果及び用法・用量

【効能・効果】（案）

慢性閉塞性肺疾患（慢性気管支炎、肺気腫）の諸症状の緩解（吸入ステロイド剤、長時間作用性吸入抗コリン剤及び長時間作用性吸入 β_2 刺激剤の併用が必要な場合）

【用法・用量】（案）

通常、成人には、1 回 2 吸入（ブデソニドとして 320 μg、グリコピロニウムとして 14.4 μg、ホルモテロールフマル酸塩として 9.6 μg）を 1 日 2 回吸入投与する。

2.6.2　薬理試験の概要文

PT010

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 6
2.6.2.2.1 ブデソニド 6
2.6.2.2.2 ホルモテロール 7
2.6.2.2.3 グリコピロニウム 7
2.6.2.2.3.1 *In vitro* 活性及びムスカリン受容体サブタイプに対する選択性 7
2.6.2.2.3.2 メサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する作用（試験 SR-[redacted]） 10
2.6.2.2.3.3 モルモット摘出気管のメサコリン誘発気管収縮に対する作用（試験 SR-[redacted]） 10
2.6.2.2.3.4 気管内投与時の *in vivo* 活性及び効果持続時間 10
2.6.2.3 副次的薬理試験 11
2.6.2.3.1 ブデソニド 11
2.6.2.3.2 ホルモテロール 11
2.6.2.3.3 グリコピロニウム 12
2.6.2.4 安全性薬理試験 12
2.6.2.4.1 中枢神経系に対する作用 13
2.6.2.4.1.1 BD MDI 13
2.6.2.4.1.2 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI 13
2.6.2.4.1.3 BGF MDI 14
2.6.2.4.2 心血管系に対する作用 14
2.6.2.4.2.1 BD MDI 14
2.6.2.4.2.2 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI 14
2.6.2.4.2.3 BGF MDI 15
2.6.2.4.3 呼吸器系に対する作用 15
2.6.2.4.3.1 BD MDI 15
2.6.2.4.3.2 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI 15
2.6.2.4.3.3 BGF MDI 16
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 16
2.6.2.6 考察及び結論 17
2.6.2.7 参考文献 18

表目次

表 1　ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 及び M_5 受容体に対するグリコピロニウムの阻害活性 8
表 2　ヒト M_1、M_2 及び M_3 受容体に対するチオトロピウム及びグリコピロニウムの結合親和性 9
表 3　ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するチオトロピウムの結合パラメータ 9
表 4　ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するグリコピロニウムの結合パラメータ 10
表 5　ラットにおけるグリコピロニウム及びチオトロピウムの効力及び治療係数 11
表 6　安全性薬理に関連した項目を評価した試験 13

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
BD	ブデソニド
BGF	ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物
cAMP	環状アデノシン一リン酸
CHO 細胞	チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞
COPD	慢性閉塞性肺疾患
ED_{50}	50%有効量
FF	ホルモテロールフマル酸塩水和物
GFF	グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GP	グリコピロニウム臭化物
HR	心拍数
IC_{50}	50%阻害濃度
ICS	吸入ステロイド薬
K_d	解離定数
K_i	阻害定数
k_{off}	解離速度定数
k_{on}	結合速度定数
LABA	長時間作用性 β_2 刺激薬
LAMA	長時間作用性抗コリン薬
MDI	定量噴霧式吸入剤
NMS	N-メチルスコポラミン（ムスカリン受容体のリガンド）
pA_2	メサコリンの濃度反応曲線を高濃度側に 2 倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数
$t_{½}$	解離半減期

2.6.2.1 まとめ

ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤（社内製品コード PT010、以下 BGF 定量噴霧式吸入剤［MDI］）は、吸入ステロイド薬（ICS）であるブデソニド、吸入長時間作用性抗コリン薬（LAMA）であるグリコピロニウム臭化物（以下、グリコピロニウム）、及び吸入長時間作用性 β_2 刺激薬（LABA）であるホルモテロールフマル酸塩水和物（以下、ホルモテロール）から成る固定用量 3 剤配合剤であり、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の患者に対する長期維持治療薬として開発された。

以下、ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロール単剤をそれぞれ BD MDI、GP MDI 及び FF MDI、グリコピロニウム／ホルモテロール 2 剤配合剤を GFF MDI、並びに、ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール 3 剤配合剤を BGF MDI と示した。

ブデソニドに関して、パルミコート®タービュヘイラー®承認申請時に一連の非臨床薬理試験成績を提出し（第 1 部 13 項 パルミコート®タービュヘイラー®資料概要参照）、パルミコート®吸入液承認申請時には、ブデソニドの作用機序に関する細胞内可逆的脂肪酸エステル化による局所作用持続性の主な薬理学的知見を報告した（第 1 部 13 項 パルミコート®吸入液資料概要参照）。また、シムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時には、ブデソニド／ホルモテロール併用時の抗喘息作用について、*ex vivo* のラット肺を用いた試験に加えて、ヒト気道及び肺細胞を用いた *in vitro* 試験で得られた成績を報告した（第 1 部 13 項 シムビコート®タービュヘイラー®薬理試験の概要文参照）。したがって、本概要文では、主に既提出の申請資料概要に基づいた要約を記載した。ブデソニドは、特有の動態学的特性を示す強力な糖質コルチコイドで、非臨床薬理試験において各種の抗アレルギー作用及び抗炎症作用を示した。吸入ブデソニドは、主に気道組織で不活性な脂肪酸エステルとして保持され、細胞内リパーゼによってブデソニドが徐々に遊離されるため、長時間持続性の局所抗炎症作用を示すと考えられた。副次的薬理試験の結果から、ブデソニドはプロピオン酸ベクロメタゾン（BDP）等の類薬に比して、局所抗炎症作用と全身性副作用との分離に優れていると考えられた。

ホルモテロールに関して、薬理試験データはシムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時に提出済みである。このため、本薬理試験の概要文では主として先に提出した申請資料に基づいた概略を記載する（第 1 部 13 項シムビコート®タービュヘイラー® 薬理試験の概要文参照）。摘出気管及び気管支では、ホルモテロールは気管支収縮剤の刺激により誘発された気管支収縮に対し、サルブタモール及びサルメテロールと比較して強力な弛緩作用を示す。ホルモテロールは、作用発現がサルメテロールも速やかにみられ、気管支拡張に関連したこれらの作用の持続時間がサルブタモールよりも長い。副次的薬理試験の結果から、ホルモテロールは、他のよく知られた β_2 刺激薬と同様の副次的薬理プロファイルを有することが示されている。

グリコピロニウムに関して、効力を裏付ける試験データは社内試験結果及び査読付き学術論文に基づき、副次的薬理試験データは査読付き学術論文を基に記載した。ムスカリン受容体を発現させたチャイニーズ・ハムスター卵巣（CHO）細胞における競合結合データから、他のムスカリン受容体サブタイプに比較して M_2 受容体に対する選択性がわずかに低いことが示唆されている（試験 SR-[redacted]、SR-[redacted] 及び SR-[redacted]、並びにSykes et al 2012）。M_3 受容体発現 CHO-K1 細胞で、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制作用はアトロピンより約 10 倍強力であった。モルモット摘出気管のメサコリン誘発収縮に対する作用の評価で、グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった（pA_2：メサコリンの

濃度反応曲線を高濃度側に 2 倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数）。また、麻酔下ラットに気管内投与した場合、グリコピロニウムはメサコリン誘発気管支収縮を用量依存的に阻害した。低血圧及び徐脈に対する安全域（治療係数）がグリコピロニウムではチオトロピウムよりも大きいことが確認された。

ホルモテロールとグリコピロニウムでは上記のように作用機序が異なることが知られており、薬力学的薬物相互作用が生じないと考えられる。このため、ホルモテロール／グリコピロニウム併用時の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験を実施していないが、作用機序が異なるこれら 2 剤の気管支拡張薬を配合することにより、各成分を単独で使用した場合と比較して、肺機能に対して相加的な有効性が得られる可能性があると考えられた（Cazzola et al 2010）。摘出ヒト気管支を用いた *in vitro* 試験で、グリコピロニウムと LABA であるインダカテロールの併用投与の効果について検討したところ（Cazzola et al 2016）、グリコピロニウム／インダカテロール併用では、いずれの成分を単独使用した場合と比較して、相加的効果より強い気管支拡張作用が示された。この効果は、気道平滑筋及び気管支上皮細胞における環状アデノシン一リン酸（cAMP）依存性経路の刺激、並びに上皮からのアセチルコリン放出の減少が関与している（Cazzola et al 2016）。また、LAMA であるアクリジニウム臭化物とホルモテロールのヒト気道平滑筋の弛緩に対しても相加的効果より強い効果が得られたことも明らかにされている（Cazzola et al 2014）。これらのデータから、LABA と LAMA の配合剤は、COPD 患者の治療において、気道平滑筋弛緩に対する相加的なベネフィットを得る上で妥当であると考えられた。

BGF MDI の有効成分であるブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールのうちの 1 成分又は 2 成分を含む吸入剤は既に市販され、それぞれ臨床経験が十分蓄積されているため、ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール併用時の非臨床薬理試験を実施していないが、それぞれ固有の作用機序を有するホルモテロール及びグリコピロニウム等の気管支拡張薬に加え、ブデソニド等の抗炎症薬を併用することにより、気管支作用薬のみと比較して臨床において肺機能や症状により大きな改善が得られると推察された。

BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI について、ラット又はイヌを用いた 14 日間、3 カ月間及び 6 カ月間（GP MDI のみ）の反復吸入投与毒性試験の一部として安全性薬理に関連した項目を評価した。その結果、安全性薬理に関する新たな作用及び異常な作用のいずれも認められなかった。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　ブデソニド

パルミコート®タービュヘイラー®及びパルミコート®吸入液の概要

ブデソニドの薬効薬理試験の成績について、パルミコートタービュヘイラー及びパルミコート吸入液の承認申請時に報告したため、本項では既提出の申請資料概要に基づき要約を示した。

ブデソニドは、各種動物喘息モデルにおいて、吸入又は気管内投与により、抗原誘発後の即時型及び遅発型喘息反応時の気道抵抗増加、並びに気管過敏反応を抑制した。遅発型喘息反応における気道抵抗増加に対して、BDP とほぼ同程度の抑制を示した。また、*in vitro* 試験系及び各種動物モデルへの局所投与により、炎症細胞からの種々のメディエータ及びサイトカイン産生及び遊離、気道好酸球増加、血管透過性増加、並びに炎症性肺浮腫を抑制した。吸入ブデソニドは、

気道組織細胞内で不活性な脂肪酸エステルを生成する。不活性なエステル体は気道内局所に長時間保持される。細胞内リパーゼの作用によって活性のあるブデソニドが徐々に遊離され、その結果として、局所での抗炎症作用が持続化し、気道選択性が増加すると考えられた。

2.6.2.2.2 ホルモテロール

シムビコート®タービュヘイラー®の概要

ホルモテロールの効力を裏付ける試験データは、シムビコート®タービュヘイラー®の承認を支持するために同製剤の承認申請時に提出済みである（第 1 部 13 項参照）。このため、本薬理試験の概要文では主として先に提出した申請資料に基づいた概略を記載する。

ホルモテロールは、強力な選択的かつ有効な LABA であり、吸入投与すると作用発現が速やかにみられ、作用の持続時間が長い。ホルモテロールは、β_2 受容体においてほぼフルアゴニスト作用を示し、細胞内 cAMP 濃度を増加させ、これが平滑筋弛緩及び気管支拡張につながる。ホルモテロールの主要な薬理作用は、気道平滑筋の弛緩である。ホルモテロールはβ_2 選択性が高いことから、心血管作用よりも気管支拡張作用の方が強い。摘出気管及び気管支において、ホルモテロールは、気管支収縮剤の刺激により誘発された気管支収縮に対し、サルブタモール及びサルメテロールと比較して強力な弛緩作用を示す。ホルモテロールは、作用発現がサルメテロールも速やかにみられ、気管支拡張に関連したこれらの作用の持続時間がサルブタモールよりも長い。また、ホルモテロールは、*in vivo* でサルブタモール及びサルメテロールよりも効果が高く、効果持続時間がサルブタモールよりも長い。喘息の動物モデルにおいて、ホルモテロールを吸入投与すると、経口投与よりも低用量で気管支拡張作用がみられる。一部の喘息モデルにおいて、ホルモテロールは、投与経路を問わず、サルブタモールより強力な気管支拡張作用を示し、その持続時間もサルブタモールより長かった。

2.6.2.2.3 グリコピロニウム

グリコピロニウムは LAMA であり、気道平滑筋細胞上に発現するムスカリン M_3 受容体のアセチルコリンによる活性化を介する気道収縮を抑制し、COPD の治療に広く使用されている。グリコピロニウムの効力を裏付ける試験データは社内試験結果及び査読付き学術論文に基づいて記載した。

2.6.2.2.3.1 *In vitro* 活性及びムスカリン受容体サブタイプに対する選択性

公表文献の要約

吸入抗コリン薬の主たる標的は、気道に存在するムスカリン受容体である。ムスカリン受容体には、M_1～M_5 の 5 種類のサブタイプがある。この 5 つのサブタイプのうち M_1、M_2 及び M_3 のみが肺に対する生理作用を示すことが確認されている（Lee et al 2001）。これらの受容体サブタイプは気道にそれぞれ特異的に分布している（Haddad et al 1994）、ほとんどは平滑筋に局在し、末梢気道よりも太い気道に密度高く分布する（Mak et al 1990）。また、ムスカリン受容体は気道上皮及び粘膜下腺にも局在し、粘液分泌に対するアセチルコリンの刺激作用と一致する（Mak et al 1990）。

気道平滑筋及び粘液腺に存在する興奮性ムスカリン M_3 受容体は主に気管収縮に関与する。これらの受容体を抑制することにより平滑筋が弛緩する。また、粘液分泌はムスカリン M_1 受容体

を介すると考えられており、M_1 受容体を阻害すると粘液分泌が抑制される。一部の薬理試験から、末梢気道での気道平滑筋収縮には M_2 受容体が関与していることが示唆されている（Roffel et al 1993, Struckmann et al 2003）。このため、M_2 受容体と比較して M_3 受容体及び M_1 受容体を選択的に阻害する抗コリン薬では、高い治療効果が得られ、シナプス前膜の M_2（抑制性）自己受容体を阻害することにより起こり得る悪影響を回避することができると考えられる。

グリコピロニウムは、M_2 受容体及び M_3 受容体に対する結合に選択性を示さなかったという研究結果がある一方（Gomez et al 1995）、他の研究では M_3 受容体に対し M_1 受容体及び M_2 受容体に比べて 3～5 倍高い親和性が認められた（Haddad et al 1999）。また、チャイニーズ・ハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた試験では、M_1 受容体及び M_3 受容体に対する結合親和性は同程度であり、M_2 受容体に対するよりもわずかに高い（Casarosa et al 2009）。機能的な親和性の評価において、グリコピロニウムは、M_3 受容体に対し M_2 受容体に比べて高い親和性を示すことが明らかにされている（Fuder et al 1993）。

肺に対する生理作用を示すヒト M_1、M_2 及び M_3 受容体に対する選択性に関して、ムスカリン受容体を発現させた CHO 細胞における競合結合データから、グリコピロニウムは、M_3 受容体及び M_1 受容体に対する選択性が M_2 受容体に対するよりもわずかに高いことが示唆されている（表 1及び表 2）（試験 SR-[redacted]、SR-[redacted] 及び SR-[redacted]、並びにSykes et al 2012）。一方、アトロピンは M_3 受容体よりも M_2 受容体に対する選択性がわずかに高く（表 1）（試験 SR-[redacted]、SR-[redacted] 及び SR-[redacted]）、チオトロピウムはこの 3 種類の受容体サブタイプ間で差はみられないことが示唆されている（表 2）（Sykes et al 2012）。同様の試験条件下、グリコピロニウムのモルモット M_3 受容体に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）の負の対数（pIC_{50}）は 9.3±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった（試験 SR-[redacted]）。また、メサコリン誘発[^{35}S] GTPγS 結合に対する阻害活性により測定したグリコピロニウムのヒト M_2 受容体に対する pIC_{50} 値は 8.6（平均値、n=2）であった（試験 SR-[redacted]）。

表 1　　ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 及び M_5 受容体に対するグリコピロニウムの阻害活性

被験薬	M_1 受容体	M_2 受容体	M_3 受容体	M_4 受容体	M_5 受容体
グリコピロニウム	9.9 (n=2)	9.3±0.1 (n=3)	9.5±0.1 (n=8)	9.8±0.1 (n=3)	9.7±0.1 (n=3)
アトロピン	9.1 (n=2)	9.0±0.2 (n=3)	8.7±0.1 (n=8)	9.0±0.1 (n=3)	8.9±0.03 (n=3)

結果は、ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 又は M_5 受容体を発現させたチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞の膜画分における[^{3}H] N-メチルスコポラミン結合に対する非標識グリコピロニウム又はアトロピンの 50%阻害濃度（IC_{50}）の負の対数（pIC_{50}）を示す。データは平均値±標準誤差を示す。
ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 及び M_5 受容体に対する阻害活性は、それぞれ試験 SR-[redacted]、SR-[redacted]、SR-[redacted]、SR-[redacted]及び SR-[redacted] の結果を示す。

表 2　　ヒト M_1、M_2 及び M_3 受容体に対するチオトロピウム及びグリコピロニウムの結合親和性

被験薬	M_1 受容体	M_2 受容体	M_3 受容体
グリコピロニウム	9.60 ± 0.03	8.70 ± 0.04	9.59 ± 0.05
チオトロピウム	10.34 ± 0.04	10.05 ± 0.03	10.37 ± 0.04

チオトロピウム又はグリコピロニウムの阻害定数の負の対数（pK_i）は、生理条件下にてヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させたチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞の膜画分を用いて、[^{3}H] N-メチルスコポラミン結合に対する IC_{50} 値から算出した。データ（Sykes et al 2012一部改変）は平均値 ± 標準誤差を示す（n=3 以上）。

M_3 受容体及び M_2 受容体からの解離半減期の比（$t_{½}$比 M_3/M_2）から、グリコピロニウムの M_3 受容体選択性は、チオトロピウム、イプラトロピウム及びアクリジニウムに比して高いことが裏付けられている（Casarosa et al 2009）。また、グリコピロニウムの M_2 受容体に対する解離定数及び解離半減期は M_1 受容体及び M_3 受容体よりも速いことが示されている（Casarosa et al 2009）。この所見は、生理学的ナトリウム濃度下で、グリコピロニウムの M_3 受容体に対する平衡結合及び動的選択性は M_2 受容体と比較して高いことからも裏付けられている。したがって、グリコピロニウムの M_3 受容体と比較した M_2 受容体からの解離速度はチオトロピウムよりも速いことから、チオトロピウムより望ましい安全域（治療係数）が得られるものと期待される（表 2、表 3及び表 4）（Sykes et al 2012）。

グリコピロニウムの解離速度定数がチオトロピウムと比べて高いことが、M_3 受容体に対する親和性が相対的に低いことを決定する重要な因子であると考えられる（Sykes et al 2012）。両リガンドは 8 時間未満で M_3 受容体から完全に解離すること、また、M_3 受容体におけるチオトロピウムの作用発現までの時間は、グリコピロニウムに比べて 4～5 倍長いことが確認されたことから、単に受容体への滞留時間だけでは LAMA の臨床的作用持続時間を説明できないことが示唆された（Sykes et al 2012）。

表 3　　ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するチオトロピウムの結合パラメータ

ムスカリン受容体	k_{off} (min^{-1})	k_{on} ($M^{-1}\cdot min^{-1}$)	pK_d	$t_{½}$ (min)
M_1	0.0193 ± 0.002	3.37 ± 0.20 $\times 10^8$	10.23 ± 0.02	35.9
M_2	0.064 ± 0.006	8.03 ± 1 $\times 10^8$	10.13 ± 0.08	10.8
M_3	0.015 ± 0.002	2.29 ± 0.05 $\times 10^8$	10.20 ± 0.03	46.2

CHO 細胞 = チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞、k_{off} = 解離速度定数、k_{on} = 結合速度定数、pK_d = 解離定数の負の対数、NMS = N-メチルスコポラミン（ムスカリン受容体のリガンド）、$t_{½}$ = 解離半減期。データ（Sykes et al 2012一部改変）は平均値 ± 標準誤差を示す（n=3 以上）。

表 4　ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するグリコピロニウムの結合パラメータ

ムスカリン受容体	k_{off} (min^{-1})	k_{on} ($M^{-1}\cdot min^{-1}$)	pK_d	$t_{½}$ (min)
M_1	0.05 ± 0.002	1.16 ± 0.14 $\times 10^8$	9.46 ± 0.09	13.9
M_2	0.646 ± 0.04	6.03 ± 1 $\times 10^8$	8.72 ± 0.09	1.07
M_3	0.061 ± 0.003	1.94 ± 0.21 $\times 10^8$	9.50 ± 0.04	11.4

CHO 細胞 = チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞、k_{off} = 解離速度定数、k_{on} = 結合速度定数、pK_d = 解離定数の負の対数、NMS = N-メチルスコポラミン（ムスカリン受容体のリガンド）、$t_{½}$ = 解離半減期。データ（Sykes et al 2012一部改変）は平均値 ± 標準誤差を示す（n=3 以上）。

2.6.2.2.3.2　メサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する作用（試験 SR-[redacted]）

ヒト M_3 受容体を発現させた CHO-K1 細胞を用いて、被験薬の存在下及び非存在下で、メサコリン（0.1 nM～30 μM）に対する濃度反応曲線を作成し、ヒト M_3 受容体を介したメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対するグリコピロニウム（0.3、1、3 及び 10 nM）及びアトロピン（1、3 及び 10 nM）の作用を評価した。グリコピロニウム及びアトロピンの pA_2 値（平均値±標準誤差）は、それぞれ 10.3±0.1（n=4）及び 9.2±0.05（n=3）であり、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制は、アトロピンに比較して約 10 倍強力であった。

2.6.2.2.3.3　モルモット摘出気管のメサコリン誘発気管収縮に対する作用（試験 SR-[redacted]）

雄 Dunkin-Hartley モルモット（250～300 g）摘出気管を用いて、メサコリン誘発モルモット摘出気管の収縮に対するグリコピロニウムの作用を評価した。グリコピロニウム（3 nM）の存在下及び非存在下で、メサコリン（3 nM～1 mM）に対する濃度反応曲線を作成した。グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった。

2.6.2.2.3.4　気管内投与時の *in vivo* 活性及び効果持続時間

公表文献の要約

ムスカリン作動薬であるメサコリン 30 μg/kg 静脈内投与の 1 時間前又は 6 時間前に、麻酔下の Brown Norway ラットにグリコピロニウム及びチオトロピウムをそれぞれ気管内投与してメサコリン誘発気管支収縮に対する作用を評価した。グリコピロニウム及びチオトロピウムはいずれも気管内投与によりメサコリン誘発気管支収縮を用量依存的に抑制した（表 5）（Trifilieff et al 2015）。

表 5　　ラットにおけるグリコピロニウム及びチオトロピウムの効力及び治療係数

被験薬（メサコリン投与までの時間［h］）	気管支収縮抑制	血圧低下抑制		徐脈抑制	
	ED_{50} (μg/kg)	ED_{50} (μg/kg)	TI	ED_{50} (μg/kg)	TI
グリコピロニウム（1 h）	0.31 ± 0.02	6.04 ± 1.39	19.5	8.70 ± 1.72	28.5
チオトロピウム（1 h）	0.55 ± 0.03	0.83 ± 0.03	1.5	2.32 ± 0.09	4.2
グリコピロニウム（6 h）	0.41 ± 0.03	>100	>250	>100	>250
チオトロピウム（6 h）	0.29 ± 0.01	4.57 ± 1.49	16.0	5.45 ± 0.20	19.1

h = 時間、ED_{50} = 50%有効量、TI = 治療係数（血圧低下抑制又は徐脈抑制の ED_{50}／気管支収縮抑制の ED_{50}）（2.6.2.3.3項参照）。
データ（Trifilieff et al 2015一部改変）は平均値 ± 標準誤差を示す（n=3 以上）。

チオトロピウム、イプラトロピウム及びグリコピロニウムは、ラットに気管内投与したとき、ラットの膀胱組織及び顎下腺組織と比較して選択的に肺組織のムスカリン受容体に結合し、チオトロピウム及びグリコピロニウムの作用は 24 時間以上持続するのに対し、イプラトロピウムの作用は 2 時間の時点では検出されたが、12 時間の時点では検出されなかった（Ogoda et al 2011）。

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　ブデソニド

パルミコート®タービュヘイラー®の概要

ブデソニドの副次的薬理試験の成績については、パルミコート®タービュヘイラー®の承認申請時に報告したため、本項では既提出の申請資料に基づいた概略を示した（第 1 部 13 項参照）。

ブデソニドは BDP 等の類薬に比して、局所投与時の抗炎症作用が強く、下垂体-副腎機能抑制作用を含む全身作用が単回及び反復投与いずれの場合も弱く、局所抗炎症作用と全身性副作用との分離に優れていると考えられた。

2.6.2.3.2　ホルモテロール

シムビコート®タービュヘイラー®の概要

ホルモテロールの副次的薬理試験データは、シムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時に提出済みである（第 1 部 13 項参照）。このため、本薬理試験の概要文では主として先に提出した申請資料に基づいた概略を記載する。

ホルモテロールは 1986 年以来、臨床使用されており、広範な非臨床の副次的薬理試験が実施されている。ホルモテロールは、副次的薬理試験に関する公表文献の成績から、用量依存的な血圧低下、反射性頻脈、骨格筋振戦、低カリウム血症及び高血糖が報告されている。これらの全身作用は、β_2 刺激薬の薬理作用から予想されるもので、一般に他のβ_2 刺激薬でもみられ、気管平滑筋弛緩作用を示す用量よりも高い用量でのみ認められた。これらの試験の結果から、ホルモテロールは、他の既存のβ_2刺激薬と共通の副次的薬理プロファイルを有することが示されている。

2.6.2.3.3 グリコピロニウム

公表文献の要約

ムスカリン性アセチルコリン受容体 M_2（ムスカリン M_2 受容体）は、心臓における主たるムスカリン受容体サブタイプであり、ペースメーカー活性及び心房収縮能の調節を介して心血管機能の生理的制御に極めて重要な役割を果たす（Abrams et al 2006）。このため、ラットを用いて、メサコリン 30 μg/kg 静脈内投与の 1 時間前又は 6 時間前にグリコピロニウム及びチオトロピウムを麻酔下で気管内投与して血圧低下及び徐脈に対する影響を検討した。気道抵抗及び心血管機能の変化を記録し、メサコリン誘発気管支収縮抑制の 50%有効量（ED_{50}）値に対し治療係数を算出した。グリコピロニウム及びチオトロピウムはいずれもメサコリン誘発徐脈を抑制した。検討した両時点で、血圧低下及び徐脈に対する治療係数は、グリコピロニウム（1 時間の時点：19.5 倍及び 28.5 倍、6 時間の時点：いずれも 250 倍超）の方がチオトロピウム（1 時間の時点：1.5 倍及び 4.2 倍、6 時間の時点：16.0 倍及び 19.1 倍）よりも高かった（表 5）（Trifilieff et al 2015）。

グリコピロニウムは臨床麻酔下で使用される有効な抗コリン薬であり、心拍数に対するアセチルコリン又はネオスチグミンのムスカリン性作用と拮抗する。グリコピロニウムがアトラクリウム誘発神経筋遮断を増強するかどうかを明らかにするために、ラット横隔神経/横隔膜摘出標本を用いてアトラクリウム誘発神経筋遮断に対するグリコピロニウム及びネオスチグミンの影響を検討した。グリコピロニウムはラット横隔神経／横隔膜摘出標本においてアトラクリウム誘発神経筋遮断を増強し、グリコピロニウムとネオスチグミンを同時に処置した際には、ネオスチグミン単独の場合と比較してアトラクリウム誘発神経筋遮断をわずかに回復させるに留まった（Wali et al 1987）。別の試験では、ラット横隔膜摘出標本においてアトロピンは神経筋伝達を増強したが、グリコピロニウムは神経筋伝達を抑制した。このような作用はシナプス前神経終末部で起きたものと考えられる（Wali et al 1988）。

抗コリン薬が麻酔薬、鎮痛薬及び鎮静薬と相互作用を生じる可能性があるため、グリコピロニウム及びアトロピンの血漿コリンエステラーゼに対する影響を検討した（Zsigmond et al 1985）。グリコピロニウムは血液脳関門を通過しないことから、グリコピロニウムの脳コリンエステラーゼに対する影響は検討されていない。グリコピロニウム及びアトロピンは、健康被験者の血清から得たヒト血漿コリンエステラーゼに対し、弱い阻害作用を有する。著者らは、*in vivo* でサクシニルコリン又は他の局所麻酔薬の加水分解を妨げる程度まで血漿コリンエステラーゼが阻害されるとは考えにくいとの結論を下した（Zsigmond et al 1985）。

2.6.2.4 安全性薬理試験

独立した安全性薬理試験を実施していないが、安全性薬理に関連した項目について、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）条件下で、ラット又はイヌを用いた BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI の反復吸入投与毒性試験において評価した（表 6）。

表 6　　安全性薬理に関連した項目を評価した試験

薬剤	試験	評価項目	試験番号
BD MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY14-035
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY14-036B
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY14-148B
FF MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY09-039
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY09-038
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY10-129
GP MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY08-076
	ラット 6 カ月間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY10-120
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY08-077
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY10-129
	イヌ 6 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY12-073
GFF MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY09-086
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY09-087
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY10-129
BGF MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY14-033
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY14-036A
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY14-148A

BD MDI = ブデソニド定量噴霧式吸入剤、FF MDI = ホルモテロールフマル酸塩定量噴霧式吸入剤、GP MDI = グリコピロニウム定量噴霧式吸入剤、GFF MDI = グリコピロニウム／ホルモテロールフマル酸塩定量噴霧式吸入剤、BGF MDI = ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロールフマル酸塩定量噴霧式吸入剤。
*)　中枢神経系に対する影響を評価するために一般状態観察所見のみ評価

2.6.2.4.1　中枢神経系に対する作用

2.6.2.4.1.1　BD MDI

BD MDI に関する中枢神経系安全性薬理の評価は、ラット（14 日間：試験番号 FY14-035、以下「試験番号」の記載は省略する）又はイヌ（14 日間：FY14-036B、3 カ月間：FY14-148B）を用いた 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験における一般状態の観察所見により実施した（表 6）。いずれの試験においても中枢神経系の変化を示す徴候は認められなかった。14 日間吸入投与試験の高用量投与群の雌イヌ 1 例、及び、3 カ月間吸入投与試験の投与 6～8 日目に高用量群の雄イヌ 1 例に傾眠が認められたが、この反応は神経系それ自体というよりも糖質コルチコイドの下垂体-副腎系（内分泌系）に対する影響と考えられた。

2.6.2.4.1.2　FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI

中枢神経系安全性薬理の評価は、ラット又はイヌを用いた FF MDI（ラット 14 日間：FY09-039、イヌ 14 日間：FY09-038 及び 3 カ月間：FY10-129）、GP MDI（ラット 14 日間：FY08-076）及び GFF MDI（ラット 14 日間：FY09-086、イヌ 14 日間：FY09-087 及び 3 カ月間：FY10-129）に関する 14 日間及び 3 カ月間、並びに GP MDI（ラット 14 日間：FY08-076、イヌ 14 日間：FY08-077 及び 3 カ月間：FY10-129）に関する 6 カ月間（ラット：FY10-120、イヌ：FY12-073）の反復

吸入投与毒性試験において一般状態の観察所見により評価した（表 6）。いずれの試験においても中枢神経系の変化を示す徴候は認められなかった。

2.6.2.4.1.3 BGF MDI

BGF MDI に関する中枢神経系安全性薬理の評価は、ラット（14 日間：FY14-033）又はイヌ（14 日間：FY14-036A、3 カ月間：FY14-148A）を用いた 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験における一般状態の観察所見により実施した（表 6）。いずれの試験においても中枢神経系の変化を示す徴候は認められなかった。14 日間の吸入投与試験で、高用量群の雌ラット 3 例で投与 9 日目以降、及び、中用量群の雌イヌ 1 例に傾眠が認められたが、この反応は神経系それ自体というよりも糖質コルチコイドの下垂体-副腎系（内分泌系）に対する影響と考えられた。

2.6.2.4.2 心血管系に対する作用

2.6.2.4.2.1 BD MDI

BD MDI に関する心血管系安全性薬理の評価は、イヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した（14 日間：FY14-036B、3 カ月間：FY14-148B）（表 6）。心電図は、全てのイヌについて初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に評価した。I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導の心電図を心臓専門獣医が心臓リズム、心電図波形及び明らかな機能の変化について評価した。いずれの試験においても心電図への影響は認められなかった。14 日間吸入投与試験では心拍数への影響は認められなかったが、3 カ月間吸入投与試験の投与 90 日目において、低用量群及び高用量群で対照群に比較して心拍数が減少した。

2.6.2.4.2.2 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI

心血管系安全性薬理の評価は、イヌを用いた FF MDI（14 日間：FY09-038、3 カ月間：FY10-129）、GP MDI（14 日間：FY08-077、3 カ月間：FY10-129）及び GFF MDI（14 日間：FY09-087、3 カ月間：FY10-129）に関する 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した（表 6）。心電図は、全てのイヌについて初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に評価した。GP MDI に関してイヌを用いた 6 カ月間吸入投与試験も行い（FY12-073）、GP MDI、空気のみ及び溶媒対照を用いて実施した（表 6）。心血管系の評価は、試験開始前、投与 1 日目及び試験終了時（投与 180 日目）に実施した。I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導の心電図を心臓専門獣医が心臓リズム、心電図波形及び明らかな機能の変化について評価した。

投与前後の心電図記録を比較したところ、いずれの用量においても心臓リズム及び心電図波形に異常は認められなかった。3 カ月間吸入投与試験では、初回曝露後、投与 45 日目及び最終曝露後に全ての被験物質群の雌雄において、溶媒又は空気のみと比べ、平均心拍数（HR）の変化率（%）が増加したものの、投与 45 日目及び最終曝露の後の FF MDI 及び GFF MDI の低用量、中用量及び高用量群での心拍数の増加量はほとんど増加しなかった。平均心拍数の増加量は全て基準値の範囲内であり、投与後の洞性頻脈を示す平均値はなかった。FF MDI 又は GFF MDI の投与に起因すると思われるその他の心電図所見は特に認められなかった。心拍数の増加は、FF MDI はβ_2 刺激薬であり、副作用として心拍数の増加が知られていることから予測された反応である。グリコピロニウムもまた心拍数を増加させることが知られている。

GP MDI 投与による 6 カ月間吸入投与試験では投与群への割付け前に、全動物を対象に心電図検査を実施し、初回曝露（投与 1 日目）後、及び最終曝露後（投与 180 日目）にも実施した。I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導の心電図を、心臓リズム、心電図波形及び明らかな機能の変化について定性的に評価した。投与前後の心電図記録を比較したところ、いずれの用量においても心臓リズム及び心電図波形に異常は認められなかった。投与前後の群平均値と対照値を比較したところ、PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔又は QTc 間隔のいずれについても被験物質に関連した影響は認められなかった。GP MDI に関連した心拍数の変化はわずかな程度で基準値の範囲内であり、用量依存性を示し、有害とは判断されなかった。GP MDI に関連した心電図パラメータの変化に異常な変化は認められず、本試験で検討した心電図は全て、イヌにおいて定性的及び定量的に正常と判断された。イヌを用いた毒性試験で得られた心血管系に関するデータのほか、グリコピロニウムの心血管系作用に関する詳細なヒト臨床試験データが得られている（臨床に関する概括評価 2.5.5 項参照）。

2.6.2.4.2.3 BGF MDI

BGF MDI の心血管系安全性薬理の評価は、イヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した（14 日間：FY14-036A、3 カ月間：FY14-148A）（表 6）。心電図は、全てのイヌについて初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に評価した。I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導の心電図を心臓専門獣医が心臓リズム、心電図波形及び明らかな機能の変化について評価した。3 カ月間吸入投与試験では、いずれの用量においても心電図への影響は認められなかった。14 日間吸入投与試験では心拍数の増加に伴う影響のみが認められた。いずれの試験においても、投与 1 日目の心拍数の増加が観察されたが、軽度かつ正常範囲内であり、有害な影響ではないと判断された。投与 1 日目と比較して投与 14 日目では、すべての用量において平均心拍数の変化は減衰した。しかしながら、3 カ月間吸入投与試験では、高用量群で投与 90 日目においても平均心拍数の変化が認められた。

2.6.2.4.3 呼吸器系に対する作用

2.6.2.4.3.1 BD MDI

BD MDI に関する呼吸器系安全性薬理の評価は、イヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した（14 日間：FY14-036B、3 カ月間：FY14-148B）（表 6）。全てのイヌから自発呼吸測定値を、初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に収集し、分時換気量、一回換気量及び呼吸数を測定した。いずれの試験においても、呼吸器系に対し統計学的に有意な影響は認められなかった。

2.6.2.4.3.2 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI

呼吸器系安全性薬理の評価は、イヌを用いた GP MDI（14 日間：FY08-077、3 カ月間：FY10-129）、FF MDI（14 日間：FY09-038、3 カ月間：FY10-129）及び GFF MDI（14 日間：FY09-087、3 カ月間：FY10-129）に関する 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した（表 6）。全てのイヌから自発呼吸測定値を、初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に収集し、分時換気量、一回換気量及び呼吸数を測定した。GP MDI に関してイヌを用いた 6 カ月間吸入投与試験も行い（FY12-073）、GP MDI、空気の

み及び溶媒対照を用いて実施した（表 6）。呼吸器系の評価は、試験開始前、投与 1 日目及び試験終了時（投与 180 日目）に実施した。

3 カ月間吸入投与試験ではいずれの時点においても、雄では呼吸数及び一回換気量に有意な群間差は認められなかった。GFF MDI 高用量群では本試験期間中を通じて、溶媒曝露後と比較して分時換気量が少ない傾向がみられた。総体的にみて、曝露した動物全体を溶媒投与動物と比較して評価すると、呼吸数は、投与 45 日目及び投与 90 日目のデータではベースラインと比較して統計学的に増加する傾向が認められ、一回換気量は投与 1 日目、投与 45 日目及び投与 90 日目に有意に低かった。雌ではいずれの測定時点においても、呼吸数及び分時換気量に有意な群間差は認められなかった。GFF MDI の中用量群及び高用量群では、溶媒対照群と比較して一回換気量が有意に高い傾向がみられた。また、曝露した動物全体を溶媒投与動物と比較して評価すると、呼吸数は、投与 90 日目に高い傾向が認められ、一回換気量は投与 1 日目及び投与 90 日目に有意に低かった。呼吸機能パラメータのこれらの変化の生物学的意義は限定的である。GP MDI 投与に伴う影響は認められなかった。

GP MDI の 6 カ月間吸入投与試験では全てのイヌから自発呼吸測定値（呼吸数、分時換気量及び一回換気量）を、各群への割付け前、投与 1 日目及び投与 180 日目に収集した。雄では溶媒対照群と比較して、3 つの評価項目（呼吸数、一回換気量及び分時換気量）全てに関して有意な群間差は認められなかった。呼吸数に関してベースライン値は投与 1 日目及び投与 180 日目と比較して有意に高く、投与 1 日目も投与 180 日目と比較して有意に高かった。一回換気量については、ベースライン値は投与 1 日目及び投与 180 日目と比較して有意に低く、投与 1 日目も投与 180 日目と比較して有意に低かった。雌では溶媒対照群と比較して、3 つの評価項目（呼吸数、一回換気量及び分時換気量）全てに関して有意な群間差は認められなかった。呼吸数に関してベースライン値は投与 180 日目と比較して有意に高かった。一回換気量については、ベースライン値は投与 1 日目及び投与 180 日目と比較して有意に低く、投与 1 日目も投与 180 日目と比較して有意に低かった。軽微な所見については生物学的意義はないと判断した。

2.6.2.4.3.3 BGF MDI

BGF MDI の呼吸器系安全性薬理の評価は、イヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与試験（14 日間：FY14-036A、3 カ月間：FY14-148A）の一部として実施した。全てのイヌから自発呼吸測定値を、初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に収集し、分時換気量、一回換気量及び呼吸数を測定した。14 日間吸入投与試験において、雄では低用量群、中用量群、高用量群で分時換気量が有意に高くなる群効果が認められたが、雌では同様の効果は認められなかった。3 カ月間吸入投与試験では、測定 3 時点において、雌と雄を個別に分析した 3 項目全てについて投与群と対照群間に統計学的に有意な所見は認められなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

ブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムの個々の薬剤又は配合剤と他の薬物との特定の薬物相互作用試験を実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

BGF MDI は、ICS であるブデソニド、LAMA であるグリコピロニウム及び LABA であるホルモテロールから成る固定用量 3 剤配合剤であり、COPD 患者に対する長期維持治療薬として開発された。

ブデソニドは、特有の動態学的特性を示す強力な糖質コルチコイドで、非臨床薬理試験において各種の抗アレルギー作用及び抗炎症作用を示した。吸入ブデソニドは、主に気道組織で不活性な脂肪酸エステルとして保持され、細胞内リパーゼによってブデソニドが徐々に再生されるため、長時間持続性の局所抗炎症作用を示すと考えられた。副次的薬理試験の結果から、ブデソニドは BDP 等の類薬に比して、局所抗炎症作用と全身性副作用との分離に優れていると考えられた。

ホルモテロールは強力な選択的かつ有効な LABA であり、吸入投与すると作用発現が速やかにみられ、作用の持続時間が長い。摘出気管及び気管支において、ホルモテロールは、気管支収縮剤の刺激により誘発された気管支収縮に対し、サルブタモール及びサルメテロールと比較して強力な弛緩作用を示す。ホルモテロールは、作用発現がサルメテロールも速やかにみられ、気管支拡張に関連したこれらの作用の持続時間がサルブタモールよりも長い。副次的薬理試験の結果から、ホルモテロールは、他の既存のβ_2 刺激薬と共通の副次的薬理プロファイルを有することが示されている。

グリコピロニウムは LAMA であり、気道平滑筋細胞上に発現するムスカリン M_3 受容体のアセチルコリンによる活性化を介する気道収縮を抑制する。ムスカリン受容体を発現させたチャイ CHO 細胞における競合結合データから、他のムスカリン受容体サブタイプに比較して M_2 受容体に対する選択性がわずかに低いことが示唆された。ヒト M_3 受容体発現 CHO 細胞で、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制作用はアトロピンより約 10 倍強力であった。モルモット摘出気管のメサコリン誘発収縮に対する作用の評価で、グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった。また、麻酔下ラットに気管内投与した場合、グリコピロニウムはメサコリン誘発気管支収縮を用量依存的に抑制した。このときの気管支収縮抑制作用とメサコリン誘発血圧低下又は徐脈に対する抑制作用から算出した安全域（治療係数）はグリコピロニウムではチオトロピウムよりも大きいことが確認された。

ホルモテロールとグリコピロニウムでは上記のように作用機序が異なることが知られており、薬力学的薬物相互作用が生じないと考えられる。このため、ホルモテロール／グリコピロニウム併用時の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験を実施していないが、作用機序が異なるこれら 2 剤の気管支拡張薬を配合することにより、各成分を単独で使用した場合と比較して、肺機能に対して相加的な有効性が得られる可能性があると考えられた（Cazzola et al 2010）。摘出ヒト気管支を用いた *in vitro* 試験で、グリコピロニウムと LABA であるインダカテロールの併用投与の効果について検討したところ（Cazzola et al 2016）、グリコピロニウム／インダカテロール併用では、いずれの成分を単独使用した場合と比較して、相加的効果より強い気管支拡張作用が示された。この効果は、気道平滑筋及び気管支上皮細胞における cAMP 依存性経路の刺激、並びに上皮からのアセチルコリン放出の減少が関与している（Cazzola et al 2016）。また、LAMA であるアクリジニウム臭化物とホルモテロールのヒト気道平滑筋の弛緩に対しても相加的効果より強い効果が得られたことも明らかにされている（Cazzola et al 2014）。これらのデータから、LABA と LAMA との併用は、COPD 患者の治療において、気道平滑筋弛緩に対する相加的なベネフィットを得る上で妥当であると考えられた。さらに、臨床現場では、LAMA と LABA による併用療法が本邦及び海外のガイドラインに記載されており、その臨床的意義についてもコンセンサスが既に得られ、併用投与の臨床経験が十分蓄積されている（JRS 2013, GOLD 2018）。

BGF MDI の有効成分であるブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールのうちの 1 成分又は 2 成分を含む吸入剤は既に市販され、それぞれ臨床経験が十分蓄積され、安全性プロファイルが確認されている。そのため、ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール併用時の薬理試験を実施していないが、それぞれ固有の作用機序を有するホルモテロール及びグリコピロニウム等の気管支拡張薬に加え、ブデソニド等の抗炎症薬を併用することにより、気管支作用薬のみと比較すると臨床において肺機能や症状により大きな改善が得られると推察された。

安全性薬理に関連した項目について、GLP 条件下でラット又はイヌを用いた BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI に関する反復吸入投与毒性試験において評価した。その結果、ラット又はイヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間（BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI）並びに 6 カ月間（GP MDI）の反復投与試験における一般状態の観察所見で、いずれの試験においても中枢神経系の変化を示す徴候は認められなかった。また、イヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間（FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI）の反復投与試験では、心拍数の増加及び呼吸数の増加など、ホルモテロール投与に伴う周知の呼吸器系又は心血管系の安全性薬理所見が、FF MDI 及び GFF MDI 投与により認められた。呼吸器系及び心血管系のいずれの安全性薬理に関連した項目に対しても BD MDI、GP MDI 又は BGF MDI 投与による有意な作用は認められなかった。したがって、ラット又はイヌを用いた BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI に関する 14 日間、3 カ月間及び 6 カ月間（GP MDI のみ）の反復吸入投与毒性試験において、中枢系、心血管系及び呼吸器系に対する新たな作用及び異常な作用のいずれも認められなかった。無毒性量は確認されており、これらの用量は臨床で想定される用量を大幅に上回る用量である。

2.6.2.7　参考文献

Abrams et al 2006

Abrams P., Andersson K.E., Buccafusco J.J., Chapple C., de Groat W.C., Fryer A.D., et al.　Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder.　Br J Pharmacol. 2006 Jul; 148(5): 565-578.

Casarosa et al 2009

Casarosa P, Bouyssou T, Germeyer S, Schnapp A, Gantner F, Pieper M.　Preclinical Evaluation of Long-Acting Muscarinic Antagonists: Comparison of Tiotropium and Investigational Drugs.　J Pharmacol Exp Ther. 2009 Aug; 330: 660-668.

Cazzola et al 2010

Cazzola M, Molimard M.　The scientific rationale for combining long-acting beta2-agonists and muscarinic antagonists in COPD.　Pulm Pharmacol Ther. 2010 Aug; 23(4): 257-267.

Cazzola et al 2014

Cazzola M, Calzetta L, Page CP, Rogliani P, Facciolo F, Gavaldà A, et al.　Pharmacological characterization of the interaction between aclidinium bromide and formoterol fumarate on human isolated bronchi.　Eur J Pharmacol. 2014 Dec 15; 745: 135-143.

Cazzola et al 2016

Cazzola M, Calzetta L, Puxeddu E, Ora J, Facciolo F, Rogliani P, et al.　Pharmacological characterisation of the interaction between glycopyrronium bromide and indacaterol fumarate in human isolated bronchi, small airways and bronchial epithelial cells.　Respir Res. 2016; 17: 70, 1-15.

Fuder et al 1993

Fuder H, Meincke M.　Glycopyrronium bromide blocks differentially responses mediated by muscarinic receptor subtypes.　Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1993 Jun; 347(6): 591-595.

GOLD 2018

GOLD. (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD. Updated 2018.　Available from: http://www.goldcopd.org/.

Gomez et al 1995

Gomez A, Bellido I, Sanchez de la Cuesta F.　Atropine and glycopyrronium show similar binding patterns to M2 (cardiac) and M3 (submandibular gland) muscarinic receptor subtypes in the rat.　Br J Anaesth. 1995 May; 74(5): 549-552.

Haddad et al 1994

Haddad EB, Mak JC, Hislop A, Haworth SG, Barnes PJ.　Characterization of muscarinic receptor subtypes in pig airways: radioligand binding and northern blotting studies.　Am J Physiol. 1994 Jun; 266(6 Pt 1): L642-L648.

Haddad et al 1999

Haddad EB, Patel H, Keeling JE, Yacoub MH, Barnes PJ, Belvisi MG. Pharmacological characterization of the muscarinic receptor antagonist, glycopyrrolate, in human and guinea-pig airways.　Br J Pharmacol. 1999 May; 127(2): 413-420.

JRS 2013

COPD（慢性閉塞性肺疾患）診断と治療のためのガイドライン 2013 年版（第 4 版）、日本呼吸器学会.

Lee et al 2001

Lee AM, Jacoby DB, Fryer AD.　Selective muscarinic receptor antagonists for airway diseases.　Curr Opin Pharmacol. 2001 Jun; 1(3): 223-229.

Mak et al 1990

Mak JC, Barnes PJ.　Autoradiographic visualization of muscarinic receptor subtypes in human and guinea pig lung.　Am Rev Respir Dis. 1990 Jun; 141(6): 1559-1568.

Ogoda et al 2011

Ogoda M, Niiya R, Koshika T, Yamada S.　Comparative characterization of lung muscarinic receptor binding after intratracheal administration of tiotropium, ipratropium, and glycopyrrolate.　J Pharmacol Sci. 2011; 115(3): 374-382.

Roffel et al 1993

Roffel AF, Elzinga CR, Zaagsma J.　Cholinergic contraction of the guinea pig lung strip is mediated by muscarinic M2-like receptors.　Eur J Pharmacol. 1993 Dec 7; 250(2): 267-279.

Struckmann et al 2003

Struckmann N, Schwering S, Wiegand S, Gschnell A, Yamada M, Kummer W, et al.　Role of muscarinic receptor subtypes in the constriction of peripheral airways: studies on receptor-deficient mice.　Mol Pharmacol. 2003 Dec; 64(6): 1444-1451.

Sykes et al 2012

Sykes DA, Dowling MR, Leighton-Davies J, Kent TC, Fawcett L, Renard E, et al.　The influence of receptor kinetics on the onset and duration of action and the therapeutic index of NVA237 and tiotropium.　J Pharmacol Exp Ther. 2012 Nov; 343(2): 520-528.

Trifilieff et al 2015

Trifilieff A, Ethell BT, Sykes DA, Watson KJ, Collingwood S, Charlton SJ, et al.　Comparing the cardiovascular therapeutic indices of glycopyrronium and tiotropium in an integrated rat pharmacokinetic, pharmacodynamic and safety model.　Toxicol Appl Pharmacol. 2015 Aug 15; 287(1): 9-16.

Wali et al 1987

Wali FA, Dark CH, Altinel A, Jones CJ.　Glycopyrrolate intensifies neuromuscular blockade produced by atracurium in the rat diaphragm preparation.　Pharmacol Res Commun. 1987 Nov; 19(11): 827-835.

Wali et al 1988

Wali FA, Suer AH, McAteer E, Dark CH, Jones CJ.　Effects of atropine and glycopyrrolate on neuromuscular transmission in the rat phrenic nerve-diaphragm preparation. en Pharmacol. 1988; 19(2): 285-290.

Zsigmond et al 1985

Zsigmond EK, Winnie AP, Barabas E, Wang XY.　The inhibitory effect of glycopyrrolate on human plasma-cholinesterase.　Can Anaesth Soc J. 1985 Jan; 32(1): 20-22.

2.6.3　薬理試験概要表

PT010

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
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 7
2.6.3.2.1　グリコピロニウム臭化物 7
2.6.3.3　副次的薬理試験 10
2.6.3.4　安全性薬理試験 10
2.6.3.4.1　ブデソニド 10
2.6.3.4.2　ホルモテロールフマル酸塩水和物 12
2.6.3.4.3　グリコピロニウム臭化物 14
2.6.3.4.4　グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物併用 16
2.6.3.4.5　ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物併用 18
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 20

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
CHO 細胞	チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞
f	呼吸数
FF	ホルモテロールフマル酸塩水和物
GP	グリコピロニウム臭化物
gpM_X	モルモット遺伝子組み換えムスカリン M_X 受容体サブタイプ
HR	心拍数
huM_X	ヒト遺伝子組み換えムスカリン M_X 受容体サブタイプ
IC_{50}	50%阻害濃度
MDI	定量噴霧式吸入剤
MV	分時換気量
NMS	N-メチルスコポラミン（ムスカリン受容体のリガンド）
NS	有意差なし
pA_2	メサコリンの濃度反応曲線を高濃度側に 2 倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数
TV	一回換気量

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Budesonide / Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in Module 4
1.1 Primary pharmacodynamics					
Glycopyrrolate					
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_1 Receptors (huM_1)	huM_1-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.1
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_2 Receptors (huM_2)	huM_2-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.2
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_3 Receptors (huM_3)	huM_3-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.3
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_4 Receptors (huM_4)	huM_4-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.4
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_5 Receptors (huM_5)	huM_5-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.5
Antagonist Potency at Guinea pig Recombinant Muscarinic M_3 Receptors (gpM_3)	gpM_3-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.6
Antagonist Potency at huM_2 Assessed by Antagonism of Methacholine-Induced GTPγS Binding	huM_2-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.7
Antagonist Potency at huM_3 Assessed by Antagonism of Methacholine-Induced Intracellular Calcium Flux	huM_3-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.8

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in Module 4
Antagonist Potency at Guinea-Pig Muscarinic Receptors As Assessed by Inhibition Of Methacholine-induced Contraction of Isolated Guinea-pig Tracheal Rings	Isolated Guinea-pig Tracheal Rings	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.9
1.2 Secondary pharmacodynamics	No studies were conducted				
1.3 Safety pharmacology[1;2]					
Budesonide / Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate combination					
Nervous system	Rat / CD (Sprague-Dawley)	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY14-033	4.2.3.2.13
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY14-036A	4.2.3.2.9
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (3 months)	[redacted], USA	FY14-148A	4.2.3.2.16
Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate / combination					
Nervous system	Rat / CD (Sprague-Dawley)	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY09-086	4.2.3.2.11
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY09-087	4.2.3.2.12
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (3 months)	[redacted], USA	FY10-129	4.2.3.2.15

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in Module 4
Budesonide					
Nervous system	Rat / CD (Sprague-Dawley)	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY14-035	4.2.3.2.1
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY14-036B	4.2.3.2.2
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (3 months)	[redacted], USA	FY14-148B	4.2.3.2.14
Formoterol Fumarate					
Nervous system	Rat / CD (Sprague-Dawley)	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY09-039	4.2.3.2.3
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY09-038	4.2.3.2.4
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (3 months)	[redacted], USA	FY10-129	4.2.3.2.15
Glycopyrrolate					
Nervous system	Rat / CD (Sprague-Dawley)	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY08-076	4.2.3.2.6
Nervous system	Rat / CD (Sprague-Dawley)	Inhalation (6 months)	[redacted], USA	FY10-120	4.2.3.2.17

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in Module 4
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (14 days)	[redacted], USA	FY08-077	4.2.3.2.7
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (3 months)	[redacted], USA	FY10-129	4.2.3.2.15
Nervous system, electrocardiogram and respiratory parameters	Dog / beagle	Inhalation (6 months)	[redacted], USA	FY12-073	4.2.3.2.18
1.4 Pharmacodynamic drug interactions	No studies were conducted.				

CHO = Chinese Hamster Ovary; gpM_X = Guinea pig Recombinant Muscarinic M_X Receptors; huM_X = Human Recombinant Muscarinic M_X Receptors

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2.1 グリコピロニウム臭化物

Test Article: Glycopyrronium (GP)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Admin.	Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
CHO-K1 cells transfected with huM_1 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 1000 nM	GP: n=2 Atropine: n=2	GP and atropine bind to huM_1 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.9±0.2 and 9.1±0.1, respectively.	No	SR-[redacted]

Test Article: Glycopyrronium (GP)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Admin.	Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
CHO-K1 cells transfected with huM_2 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.03 to 1000 nM	GP: n=3 Atropine: n=3	GP and atropine bind to huM_2 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.3±0.1 and 9.0±0.2, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_3 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.03 to 1000 nM Atropine: 0.03 to 1000 nM	GP: n=8 Atropine: n=8	GP and atropine bind to huM_3 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.5±0.1 and 8.7±0.1, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_4 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 1000 nM	GP: n=3 Atropine: n=3	GP and atropine bind to huM_4 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.8±0.1 and 9.0±0.1, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_5 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 1000 nM	GP: n=3 Atropine: n=3	GP and atropine bind to huM_5 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.7±0.1. and 8.9±0.03, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with gpM_3 receptor As quantified its ability to compete with specific binding of [^{3}H]NMS	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.01 to 300 nM	GP: n=4 Atropine: n=4	GP and atropine bind to gpM_3 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM, n=4) of 9.3±0.1 and 8.9±0.03, respectively.	No	SR-[redacted]

Test Article: Glycopyrronium (GP)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Admin.	Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
CHO-K1 cells transfected with huM_2 receptor Quantified by inhibition of [^{35}S] GTPγS binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 100 nM	GP: n=2 Atropine: n=2	GP and atropine inhibit huM_2 receptors with pIC_{50} values (mean) of 8.55 and 8.01, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_3 receptor Assessed by Antagonism of Methacholine-Induced Intracellular Calcium Flux	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.3, 1, 3 and 10 nM Atropine: 1, 3 and 10 nM Concentration-effect (E/[A]) curve to methacholine (0.1 nM to 30 μM),	GP: n=4 Atropine: n=3	GP and atropine are an antagonist at the huM_3 with pA_2 estimates (mean±SEM) of 10.3±0.1 and 9.2±0.05, respectively.	No	SR-[redacted]
Guinea-pig tracheal rings Methacholine-induced contraction	Guinea-Pigs / Dunkin-Hartley	*In vitro*	GP: 3 nM Concentration effect curves to methacholine (3 nM to 1 mM final concentration)	Male n=4	GP is an inhibitor of muscarinic receptor-mediated tracheal smooth muscle contraction with a pA_2 value (mean±SEM) of 10.2±0.1.	No	SR-[redacted]

CHO=Chinese Hamster Ovary; E/[A]=Concentration-effect; GP=Glycopyrrolate; gpM_X=Guinea pig Recombinant Muscarinic M_X Receptors; huM_X=Human Recombinant Muscarinic M_X Receptors; NMS = N-methyl-scopolamine; pIC_{50}=a negative logarithm of 50% inhibition concentration; pA_2=a negative logarithm of an antagonist concentration to produce a twofold rightward shift of the concentration effect curve to methacholine

1) An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

2.6.3.3　副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない。

2.6.3.4　安全性薬理試験

2.6.3.4.1　ブデソニド

Test Article: Budesonide

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Doses (µg/kg/day)[3]	Gender[4] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
Nervous system[2]	Rat / Sprague-Dawley	Inhalation (nose only)	0, 713, 2270, 4550 (14 days)	10 M + 10 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-035
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 141, 286, 360 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-036B
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 3.4, 31, 104 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-148B

Test Article: Budesonide

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Doses (μg/kg/day)[3]	Gender[4] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
Cardiovascular	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 141, 286, 360 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-036B
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 3.4, 31, 104 (3 months)	4 M + 4 F	Heart rate was lower than controls in the low and high dose groups on Day 90 of the 3-month study.	[redacted], USA	Yes	FY14-148B
Respiratory	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 141, 286, 360 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-036B
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 3.4, 31, 104 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-148B

1. Evaluated within repeat-dose inhalation toxicology studies;
2. Evaluated from routine clinical observations;
3. Male and female doses averaged;
4. M = male, F = female.

2.6.3.4.2 ホルモテロールフマル酸塩水和物

Test Article: Formoterol Fumarate

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Doses (µg/kg/day) [3]	Gender4 and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
Nervous system[2]	Rat / Sprague-Dawley	Inhalation (nose only)	0, 36, 91, 158 (14 days)	10 M + 10 F	1 animal within the mid dose group and 7 in the high dose group had random, intermittent body movements documented beginning on Day 14. These movements were noted as possible diaphragmatic spasms mimicking hiccups. These may or may not have been test-article related. No other clinical signs related to effects on the nervous system were observed.	[redacted], USA	Yes	FY09-039
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 9, 13, 23.5 (14 days)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY09-038
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 4.4, 10, 14 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY10-129

Test Article: Formoterol Fumarate

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Doses (μg/kg/day) [3]	Gender4 and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
Cardiovascular	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 9, 13, 23.5 (14 days)	4 M + 4 F	Heart rate was increased in the low, mid and high dose groups on Day 1; the magnitude of the increase in heart rate had decreased on Day 14 of dosing and the heart rate had returned to the pre-study range in the recovery animals.	[redacted], USA	Yes	FY09-038
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 4.4, 10, 14 (3 months)	4 M + 4 F	Increased mean heart rate, defined as sinus tachycardia, in both males and females in all dose groups after the first exposure, and to a lesser extent after Day 45 and Day 90 exposures.	[redacted], USA	Yes	FY10-129
Respiratory	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 9, 13, 23.5 (14 days)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY09-038
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 4.4, 10, 14 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY10-129

1. Evaluated within repeat-dose inhalation toxicology studies;
2. Evaluated from routine clinical observations;
3. Male and female doses averaged;
4. M = male, F = female.

2.6.3.4.3 グリコピロニウム臭化物

Test Article: Glycopyrrolate

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Doses (µg/kg/day)[3]	Gender[4] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
Nervous system[2]	Rat / Sprague-Dawley	Inhalation (nose only)	0, 48, 267, 535 (14 days)	8 M + 8 F (10 M + 10 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY08-076
	Rat / Sprague-Dawley	Inhalation (nose only)	0, 68, 275, 548 (6 months)	15 M + 15 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY10-120
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 17, 30, 80 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY08-077
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 87 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY10-129
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 18, 58, 75 (6 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY12-073
Cardiovascular	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 17, 30, 80 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY08-077

Test Article: Glycopyrrolate

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Doses (µg/kg/day)[3]	Gender[4] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 87 (3 months)	4 M + 4 F	Increased mean heart rate, defined as sinus tachycardia, in both males and females after Day 45 and Day 90 exposures.	[redacted], USA	Yes	FY10-129
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 19, 58, 75 (6 months)	4 M + 4 F	The heart rate changes related to glycopyrrolate were of low magnitude, dose-related, and within the normal range.	[redacted], USA	Yes	FY12-073
Respiratory	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 17, 30, 80 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY08-077
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 87 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY10-129
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 19, 58, 75 (6 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY12-073

1. Evaluated within repeat-dose inhalation toxicology studies;
2. Evaluated from routine clinical observations;
3. Male and female doses averaged;
4. M = male, F = female.

2.6.3.4.4　グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物併用

Test Article: Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate combination

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Daily Doses (μg/kg)[3] [GP/FF[4]]	Gender[5] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
Nervous system[2]	Rat / Sprague-Dawley	Inhalation (nose only)	0, 74/15, 234/44, 381/71 (14 days)	10 M + 10 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY09-086
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 17/3.4, 52/8.9, 75/13 (14 days)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY09-087
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 18/4.5, 43/10, 61/14 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY10-129
Cardiovascular	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 17/3.4, 52/8.9, 75/13 (14 days)	4 M + 4 F	Heart rate was increased in both male and female dogs in a dose-related manner, returning to the pre-study range in the recovery animals	[redacted], USA	Yes	FY09-087

Test Article: Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate combination

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Daily Doses (μg/kg)[3] [GP/FF[4]]	Gender[5] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 18/4.5, 43/10, 61/14 (3 months)	4 M + 4 F	The percent change in the mean heart rate versus placebo and versus air was increased for males and females for all test article groups after the first exposure, on Day 45, and the last exposure; with less of an increase in the heart rate after Day 45 and the last exposure for the low, middle, and high dose levels. All increases in mean heart rate were within normal limits with no mean values showing a sinus tachycardia post-dose.	[redacted], USA	Yes	FY10-129
Respiratory	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 17/3.4, 52/8.9, 75/13 (14 days)	4 M + 4 F	Increase in frequency after the first exposure in low dose males only. Increases in minute volume (both males and females) and in tidal volume (males only) in all dose groups after the first exposure, and in only the low and mid doses after the final exposure. All values returned to baseline following a 14-day recovery period.	[redacted], USA	Yes	FY09-087

Test Article: Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate combination

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Daily Doses (µg/kg)[3] [GP/FF[4]]	Gender[5] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 18/4.5, 43/10, 61/14 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY10-129

1. Evaluated within repeat-dose inhalation toxicology studies;
2. Evaluated from routine clinical observations;
3. Male and female doses averaged;
4. GP = glycopyrrolate, FF = formoterol fumarate;
5. M = male, F = female.

2.6.3.4.5 ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物併用

Test Article: Budesonide / Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate combination

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Daily Doses (µg/kg)[3] [BD/GP/FF[4]]	Gender[5] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
Nervous system[2]	Rat / Sprague-Dawley	Inhalation (nose only)	0, 1885/100/58 3810/204/118 7910/421/244 (14 days)	10 M + 10 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-033
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 132/6.75/4.2 260/13.5/8.5 428/22/14 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-036A

Test Article: Budesonide / Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate combination

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Daily Doses (μg/kg)[3] [BD/GP/FF[4]]	Gender[5] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 3.3/0.2/0.1 17/1.1/0.6 60/3.5/2.0 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-148A
Cardiovascular	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 132/6.75/4.2 260/13.5/8.5 428/22/14 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	There were no effects on the ECG at any dose level other than secondary to the increase in heart rate. There were heart rate increases on Day 1 which were of low magnitude, within the normal range, and not considered adverse. The mean heart rate changes for all dose levels were attenuated on Day 14 compared to Day 1.	[redacted], USA	Yes	FY14-036A
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 3.3/0.2/0.1 17/1.1/0.6 60/3.5/2.0 (3 months)	4 M + 4 F	Elevated heart rates were observed in all test article exposed groups, however, they were low in magnitude, within normal range, and not considered adverse.	[redacted], USA	Yes	FY14-148A
Respiratory	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 132/6.75/4.2 260/13.5/8.5 428/22/14 (14 days)	3 M + 3 F (4 M + 4 F high dose)	Group effects consisted of significantly higher minute volume in low, mid and high dose groups in males but not in females.	[redacted], USA	Yes	FY14-036A

Test Article: Budesonide / Glycopyrrolate / Formoterol Fumarate combination

Organ systems evaluated[1]	Species/ strain	Method of administration	Daily Doses (μg/kg)[3] [BD/GP/FF[4]]	Gender[5] and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number
	Dog / beagle	Inhalation (face mask)	0, 3.3/0.2/0.1 17/1.1/0.6 60/3.5/2.0 (3 months)	4 M + 4 F	None.	[redacted], USA	Yes	FY14-148A

1. Evaluated within repeat-dose inhalation toxicology studies;
2. Evaluated from routine clinical observations;
3. Male and female doses averaged;
4. BD = Budesonide, GP = glycopyrrolate, FF = formoterol fumarate;
5. M = male, F = female.

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。