2.4 非臨床試験の概括評価

小野薬品工業株式会社

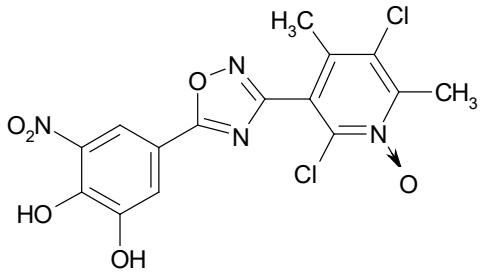
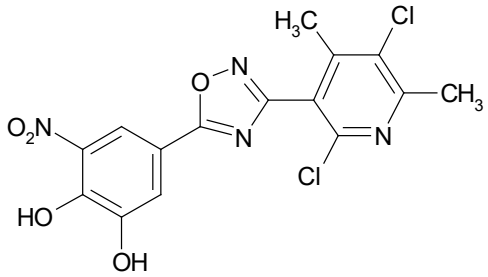
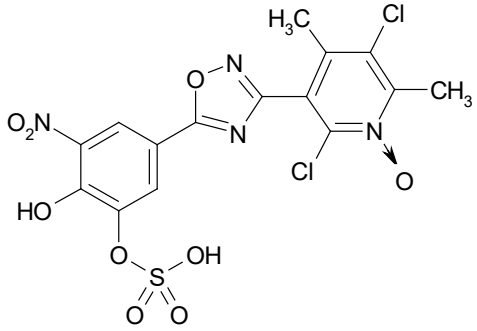
目次

2.4　非臨床試験の概括評価 5
2.4.1　非臨床試験計画概略 6
2.4.2　薬理試験 7
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2　副次的薬理試験 10
2.4.2.3　安全性薬理試験 10
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験 11
2.4.3　薬物動態試験 11
2.4.3.1　吸収 11
2.4.3.2　分布 11
2.4.3.3　代謝 11
2.4.3.4　排泄 12
2.4.3.5　薬物動態学的薬物相互作用 12
2.4.4　毒性試験 13
2.4.4.1　単回投与毒性試験 13
2.4.4.2　反復投与毒性試験 13
2.4.4.3　遺伝毒性試験 13
2.4.4.4　がん原性試験 13
2.4.4.5　生殖発生毒性試験 14
2.4.4.6　その他の毒性試験 14
2.4.5　総括及び結論 16
2.4.6　参考文献一覧 19

略号一覧

略号	略さない表現又は説明
ATP	アデノシン三リン酸
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUClast	最終定量時点までの AUC
BCRP	Breast cancer resistance protein
BIAL	BIAL-Portela & C[a]., S.A.
BSEP	Bile salt export pump
Cmax	最高血漿中濃度又は最高組織中濃度
COMT	Catechol-*O*-methyltransferase
CYP	チトクロム P450
DC	ドパ脱炭酸酵素
DCI	ドパ脱炭酸酵素阻害薬
DNA	デオキシリボ核酸
DOPAC	3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HVA	ホモバニリン酸
IC_{50}	50%阻害濃度
Ki	阻害定数
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム型質量分析
levodopa（レボドパ）	L-β-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン
LSC	液体シンチレーションカウンター
MAO	Monoamine oxidase
MATE	Multidrug and toxin extrusion
MB-COMT	膜結合型 catechol-*O*-methyltransferase
MPTP	1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
P-gp	P-糖蛋白質
pH	水素イオン濃度指数
PP2A	セリン／スレオニン脱リン酸化酵素 PP2A
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
SAM	S-アデノシルメチオニン
S-COMT	細胞質可溶型 catechol-*O*-methyltransferase
SRBC	ヒツジ赤血球
SULT	硫酸転移酵素
S9	組織ホモジネート 9000*g* 上清
Tmax	最高血漿中濃度到達時間又は最高組織中濃度到達時間
TSPO	トランスロケータープロテイン 18 kDa
TTC	Threshold of toxicological concern
UGT	ウリジン 5′-二リン酸グルクロン酸転移酵素
3-MT	3-メトキシチラミン
3-OMD	3-*O*-メチルドパ
ZAP70	チロシンリン酸化酵素 ZAP70

主な関連化合物の一覧

名称	構造	説明及びその他の名称
オピカポン		BIA 9-1067 Opicapone
BIA 9-1079		オピカポンの *N*-オキシド還元体
BIA 9-1103		オピカポンの 3-*O*-硫酸抱合体

2.4　非臨床試験の概括評価

オピカポンは，BIAL 社で創製された長時間作用型 COMT 阻害剤であり，パーキンソン病治療に用いられるレボドパの血漿中濃度を持続させ，レボドパの脳内移行の向上及び作用持続時間の延長により，パーキンソン病の進行に伴って生じる wearing-off 現象の改善に寄与する．

パーキンソン病は振戦や筋強剛，無動，姿勢反射障害などの運動症状を主要徴候とする進行性の神経変性疾患である[1)]．パーキンソン病の症状は，中脳の黒質緻密部を中心とするドパミン神経細胞の変性脱落と，これに基づく線条体のドパミン不足で大脳皮質及び大脳基底核の機能が障害されることによって生じる[1)]．パーキンソン病の治療には黒質線条体系のドパミン低下を補う必要があるが，ドパミンは血液脳関門を通過しないため，全身投与されても中枢に到達できない．一方，ドパミン前駆体のレボドパは，血液脳関門を通過し中枢移行したのち，脳内の DC によりドパミンに代謝されることで黒質線条体系のドパミン不足を補うことに寄与するため，経口レボドパ製剤がパーキンソン病の治療に用いられる[2)]．レボドパは末梢の DC 及び COMT でも代謝されるため[3)]，脳移行率が低く作用持続時間も短い[4)]．そのため，通常，末梢の DC を阻害する薬剤（末梢性 DCI：ベンセラジド又はカルビドパ）との配合剤として臨床使用される．しかし，これら配合剤を使用しても，治療を長時間継続しているとレボドパの薬効時間の短縮による wearing-off 現象が生じることがあり，レボドパの薬効を更に持続させる薬剤が求められている．末梢性 DCI により DC が阻害されると，COMT が末梢においてレボドパの主たる代謝酵素となる．そのため，末梢の DC 及び COMT の両方のレボドパ代謝酵素を阻害し，脳内へのレボドパの移行を更に高める目的で，COMT 阻害剤の開発が行われている．日本で初の COMT 阻害剤であるエンタカポンは，作用持続時間が短くレボドパ/DCI 配合剤の服薬タイミングに合わせて 1 日複数回の服薬を必要とする．海外では，服薬回数を 1 日 3 回にまで低減可能にし，更には末梢だけでなく中枢でも作用する COMT 阻害剤として，トルカポンが使用できるが，肝障害が問題で臨床使用に制限がある[5)，6)]．以上のことから，COMT 阻害作用の持続性と安全性を兼ね備えた新規な COMT 阻害剤の創製が望まれており，オピカポンはその検討の中で見いだされた．

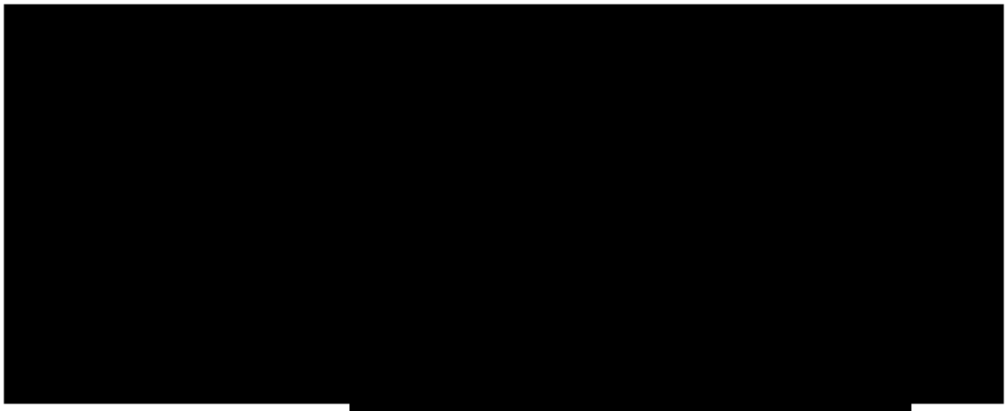


図 2.4-1　レボドパの輸送と代謝

2.4.1　　非臨床試験計画概略

オピカポンの薬理学的，薬物動態学的及び毒性学的特徴を明らかにするため，以下の非臨床試験を実施した．また，代謝物及び不純物についても一部の非臨床試験を実施した．特に，ヒトの主代謝物である BIA 9-1103 及びヒトでの曝露は低いが開発初期段階の原薬に含まれる不純物で動物の血漿中主代謝物の 1 つである BIA 9-1079 については，種々の非臨床試験を実施した．

薬理試験

効力を裏付ける薬理試験は，*in vitro* 試験として，ヒト及びラットの S-COMT に対する阻害作用並びに阻害様式について，ヒト S-COMT によるオピカポンのメチル化修飾反応も含めて検討した．*In vivo* 試験として，ラットにおけるオピカポン経口投与による COMT 阻害及び発現に対する作用，サルにおけるオピカポン経口投与による COMT 阻害作用を検討した．また，臨床においてオピカポンは，レボドパ及び DCI とともにパーキンソン病患者に対して併用で使用されることから，ラット及びサルにオピカポンとレボドパ及び DCI の 1 つであるベンセラジドとを併用投与し，レボドパ代謝に対する作用及び MPTP 誘発サルパーキンソン病モデルに対する有効性を検討した．

副次的薬理試験として，各種受容体，輸送体及び酵素に対するオピカポンの結合親和性，又は阻害活性を検討した．

安全性薬理試験として，ラットあるいはイヌにおける中枢神経系，心血管系，呼吸系，腎／泌尿器系及び胃腸管系に対する作用を検討した．心血管系については，*in vitro* で hERG チャネル電流及びイヌ摘出心筋の活動電位に対する作用も検討した．いずれの試験も GLP を遵守して実施した．

薬物動態試験

薬物動態試験として，放射性標識体及び非標識体を用いた種々の *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した．*In vivo* 試験は，有効性薬理試験及び毒性試験で用いた動物種と同じラット及びサルを使用し，静脈内投与で評価した一部の試験を除き，臨床投与経路と同じ経口投与で評価した．オピカポン及びその代謝物の分析には LC/MS/MS を用いた．生体試料中の放射能濃度は LSC で測定し，組織分布試験における放射能濃度は QWBA で測定した．

毒性試験

毒性試験として，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験及びその他の毒性試験を実施した．反復投与毒性試験では，げっ歯類はラットを用いて最長 26 週間，非げっ歯類はサルを用いて最長 52 週間の反復投与を行った．ラット及びサルは，オピカポンが COMT 阻害作用を示す動物種であることが薬理試験で確認されていることから，毒性評価に適した動物種として選択した．主な毒性試験の投与経路は，静脈内投与で評価した一部の単回投与毒性試験を除き，臨床投与経路と同じ経口投与で評価した．上記のうち，重要な毒性試験は，いずれも GLP を遵守して実施した．

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

オピカポンと他の COMT 阻害剤との比較検討のため，一部の試験ではエンタカポン及びトルカポンを用いた．

2.4.2.1.1 *In vitro* 試験

COMT は細胞質可溶型の S-COMT と膜結合型の MB-COMT の 2 つの分子種が存在する．細胞膜への固定を担う N 末端アミノ酸配列の有無が両者の相違点であるが，メチル基供与体である SAM への親和性やマグネシウムへの依存性は同程度である．また，末梢におけるタンパク発現量及び酵素活性は S-COMT の方が MB-COMT よりも高く，レボドパの代謝には主として S-COMT が寄与すると考えられている [7]．そのため，オピカポンの COMT 阻害作用は，すべてヒト又はラット由来の S-COMT を用いて評価した．

In vitro 試験において，オピカポンは遺伝子組み換えヒト S-COMT 及びラット肝臓由来 S-COMT を阻害し，その Ki 値はそれぞれ 0.02 及び 0.2 nmol/L であった．また，オピカポンのヒト S-COMT に対する阻害は，トルカポンに比べて 10 倍強かった．S-COMT 濃度に対する反応速度の解析から，オピカポンは tight-binding 様式でヒト及びラット S-COMT を阻害することが明らかとなった．一方，オピカポンと S-COMT を反応させると，オピカポンのカテ

コール骨格の水酸基がメチル化されたことから，オピカポンは COMT の阻害剤であると同時に，自らがメチル化修飾を受ける基質であった．

ヒトの主代謝物である BIA 9-1103 は S-COMT を阻害しなかったが，動物の主代謝物の 1 つである BIA 9-1079 は S-COMT を阻害し，IC_{50} 値はオピカポンの約 2 倍弱かった．ラットにオピカポンを経口投与したときの BIA 9-1079 の Cmax は，オピカポンに比べて低かったことから［2.6.4.5.2］，オピカポンの COMT 阻害作用に対する寄与は低いと考えられた．一方，サルにオピカポンを経口投与したときの BIA 9-1079 の Cmax は，オピカポンと同程度であり［2.6.4.3.3.2］，オピカポンの COMT 阻害作用に対して BIA 9-1079 は部分的に寄与すると考えられた．ヒトにおける血漿中 BIA 9-1079 濃度は多くの時点で定量下限未満と低かったため［2.7.6.15］，臨床におけるオピカポンの COMT 阻害作用に BIA 9-1079 は寄与しないと考えられた．

2.4.2.1.2 *In vivo* 試験

2.4.2.1.2.1 COMT 阻害作用

オピカポンの *in vivo* における COMT 阻害作用を，ラット及びサルを用いて検討した．

ラットにおいて，オピカポンは投与量に応じて肝臓の COMT 活性を阻害し，3 mg/kg では単回経口投与後 8 時間においても阻害作用が持続していた．一方，トルカポンやエンタカポンは，3 mg/kg の単回経口投与後 0.5～1 時間で肝臓の COMT 活性を強く阻害したが，投与後 9 時間には阻害作用が消失していた．したがって，オピカポンはトルカポンやエンタカポンよりも COMT 阻害の作用持続時間が長いと推察された．また，オピカポンは 3 mg/kg の単回経口投与においてラット脳組織中の COMT 活性を阻害せず，ラットにおける薬物動態試験において，^{14}C-オピカポンを 10 mg/kg で単回経口投与した際の脳中放射能濃度はすべての時点で定量下限未満であった［2.6.4.4.1］．これらのことから，オピカポンは脳に移行しにくいため中枢の COMT 活性には影響しないと考えられた．オピカポンを 5 日間反復経口投与したとき，最終投与後 1 日でも肝臓中の COMT 活性低下が認められたが，肝臓中の COMT 遺伝子及びタンパク発現量には変化がなかった．したがって，オピカポンによる持続的な COMT 活性の低下は，COMT 遺伝子及びタンパク発現量の低下によるものでなく，直接的な酵素阻害作用の持続によると考えられた．

サルにオピカポンを 14 日間反復経口投与した試験において，オピカポンは初回投与後 1 時間から投与量に応じて赤血球の COMT 活性を阻害した．また，最終投与後 24 時間でも投与量に応じて阻害作用が持続し，100 mg/kg/日での阻害率は 75%であった．異なる試験でサルにオピカポン 100 mg/kg/日を 14 日間反復経口投与したとき，最終投与後 24 時間の血漿中オピカポン濃度は定量下限未満であったが，COMT 阻害率は 72%であった．これらのこと

から，オピカポンは tight-binding 様式で COMT 活性阻害を発揮するため，血漿中からオピカポンが消失しても，COMT 阻害活性が持続すると考えられた．

2.4.2.1.2.2 レボドパ代謝に対する作用

オピカポンとレボドパ及び DCI の 1 つであるベンセラジドとを併用投与したときの，血漿中及び脳内レボドパ濃度に及ぼす影響を，ラット及びサルを用いて検討した．

ラットにおいて，オピカポンを 3 mg/kg の投与量で単回経口投与した後，レボドパ／ベンセラジド（12/3 mg/kg）を経口投与すると，媒体投与群と比較して血漿中及び脳内レボドパ濃度が増加し，その作用はオピカポン投与後 24 時間まで持続した．一方，トルカポンでは，レボドパ／ベンセラジド投与前 24 時間に投与しても作用の持続が認められなかった．

サルにおいて，オピカポンを 100 mg/kg/日の投与量で 14 日間反復経口投与し，最終投与後 23 時間にレボドパ／ベンセラジドを経口投与すると，媒体投与群と比較して血漿中レボドパ濃度が増加するとともに，線条体，黒質及び前頭前皮質中のレボドパ濃度も増加した．血漿中レボドパ濃度の AUC6h は，媒体投与群と比較して 2.0 倍に増加し，線条体中レボドパ濃度の AUC6h も同様に増加傾向にあった．また，赤血球 COMT 活性は，オピカポン投与開始前の 30%未満にまで低下した．したがって，オピカポンは末梢の COMT を持続的に阻害することで血漿中レボドパ濃度を持続させ，その結果，パーキンソン病の運動症状改善に重要な線条体へのレボドパの移行を向上させると考えられた．

2.4.2.1.2.3 パーキンソン病モデルに対する作用

パーキンソン病の運動症状に対するオピカポンの作用を検討するため，サルの MPTP 誘発パーキンソン病モデルに，オピカポンを 100 mg/kg/日の投与量で 14 日間反復経口投与し，経日的にパーキンソン様症状及び自発運動量を評価した．また，レボドパ／ベンセラジドの有効性に対するオピカポンの上乗せ効果を検討するため，レボドパ／ベンセラジド投与前 12 時間にオピカポンを投与した．オピカポンは，パーキンソン様症状及び自発運動量に対して単独投与では効果を示さなかったが，レボドパ／ベンセラジド（18/4.5 mg/kg 及び 24/6 mg/kg）のパーキンソン様症状及び自発運動量に対する改善作用を有意に増強した．本作用は，オピカポンが COMT 阻害によりレボドパの血漿中濃度を持続させ，脳内へのレボドパの移行を向上させた結果と考えられた．

以上の有効性薬理試験の結果から，オピカポンは，1 日 1 回の経口投与により末梢の COMT を既存の COMT 阻害剤よりも強力かつ持続的に阻害し，併用するレボドパの末梢血

中濃度を持続させ，線条体へのレボドパの移行を向上させることによりパーキンソン病に対するレボドパの治療効果を改善すると考えられた．

2.4.2.2 副次的薬理試験

受容体，輸送体及び酵素の計 113 標的に対するオピカポンの結合親和性及び各種酵素に対する阻害活性を検討した．オピカポンは PP2A 及び ZAP70 をそれぞれ 45 及び 17 μmol/L（18.54 及び 7.18 μg/mL）の IC_{50} 値で阻害した．また，オピカポンは 10 μmol/L（4.13 μg/mL）の濃度で TSPO の標識リガンドとの結合を 82%阻害した．しかし，阻害の認められた濃度はヒトにオピカポン 25 mg/日を投与したときの Cmax である 0.97 μg/mL［2.7.1.2.1.3］より高く，またオピカポンの蛋白結合率が 99.9%（2.4.3.2）と高いことを加味すると生体では更に乖離幅が広がると考えられた．したがって，これらの副次的薬理作用が臨床で問題となる可能性は低いと推察された．

2.4.2.3 安全性薬理試験

中枢神経系では，ラットの一般症状及び行動観察において 30 mg/kg で活動性亢進などの軽度な興奮作用，300 mg/kg 以上で活動性低下や筋緊張低下などの鎮静作用及び頭部攣縮が認められ，その無影響量は 30 mg/kg 未満であった．呼吸系では，ラットにおいて 300 mg/kg 以上で呼吸数の減少，吸気時間，呼気時間及び弛緩時間の延長が認められ，その無影響量は 30 mg/kg であった．オピカポンの中枢移行性は低く，ラットを用いた 26 週間までの反復投与毒性試験では最高投与量の 1000 mg/kg まで中枢神経系及び呼吸系への影響を示唆する変化は認められていないことから，これらの中枢神経系及び呼吸系への影響はごく軽度であり，臨床において問題となる可能性は低いと考えられた．心血管系では，オピカポンの hERG チャネル電流に対する IC_{50} 値は 160.7 μg/mL であり，イヌの摘出心筋の活動電位に対する影響は最高濃度の 10 μg/mL まで認められなかった．また，オピカポンは最高投与量の 600 mg/kg まで覚醒イヌの血圧，心拍数及び心電図に影響しなかった．その他，腎／泌尿器系及び胃腸管に対する作用を検討した結果，オピカポンはラットにおいて最高投与量の 1000 mg/kg まで尿量，尿 pH，尿中クレアチニン及び尿中電解質，並びに消化管輸送能に対する影響を示さなかった．

ヒトの主代謝物である BIA 9-1103 は，30 μg/mL まで hERG チャネル電流に影響しなかったが，10 μg/mL でイヌ摘出心筋の活動電位持続時間を延長し，その無影響量は 3 μg/mL であった．BIA 9-1079 についても各種の安全性薬理試験を実施したが，ヒトにオピカポン 25 mg/日を投与したときの血漿中 BIA 9-1079 濃度は多くの時点で定量下限未満であったことから［2.7.6.15］，臨床における BIA 9-1079 の安全性の懸念はないと考えられた．

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

ラット及びサルにオピカポンとレボドパ及びベンセラジドとを併用した薬理試験を実施し，その概括評価は効力を裏付ける試験に記載した（2.4.2.1）．

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

ラット及びサルにオピカポンを経口投与したとき，血漿中オピカポン濃度の Cmax 及び AUC は投与量に応じて増加した．ラット及びサルに ^{14}C-オピカポンを単回経口投与したとき，血漿中放射能濃度の Tmax は 4 及び 0.25 時間であり，吸収は速やかであった．

2.4.3.2 分布

ラットに ^{14}C-オピカポンを経口投与したとき，多くの組織中放射能濃度の Tmax は 4 時間であった．肝臓及び腎臓での組織中放射能濃度は血液より高かった．脳組織中の放射能濃度はすべての時点で定量下限未満であった．妊娠ラットに ^{14}C-オピカポンを経口投与したとき，放射能が胎児に移行した．^{14}C-オピカポンの血漿蛋白結合率はラットで 99.5～99.8%，サルで 99.4～99.6%，ヒトで 99.9%であった．オピカポンのヒト血漿蛋白結合率は 99.9%と高かったものの，ワルファリン，ジアゼパム，ジゴキシン又はトルブタミドの共存下でも，お互いの血漿蛋白結合率に影響を及ぼさなかった．したがって，臨床において蛋白結合の置換による相互作用が生じる可能性は低いと考えられた．

2.4.3.3 代謝

ヒト及び動物の *in vitro* 又は *in vivo* 試料において検出されたオピカポンの代謝物は，硫酸抱合体，グルクロン酸抱合体，還元体及びメチル化体であったことから，オピカポンの代謝には SULT，UGT，還元酵素及び COMT が関与していると考えられた．また，オピカポンはヒト CYP 発現系ミクロソームにより代謝されたことから，CYP も代謝に関与していると考えられた．ヒト肝 S9 による *in vitro* 代謝試験で検出された代謝物はラット及びサル血漿中でも検出され，ヒト特異的な代謝物は認められなかった．オピカポンの主な推定代謝経路を図 2.4.3.3-1 に示した．BIA 9-1103 はヒトの血漿中主代謝物であり［2.7.6.10］，動物の血漿中でも認められた．BIA 9-1079 は動物の血漿中主代謝物の 1 つであったが，ヒト血漿中濃度は低く，多くの時点で定量下限未満であった［2.7.6.15］．

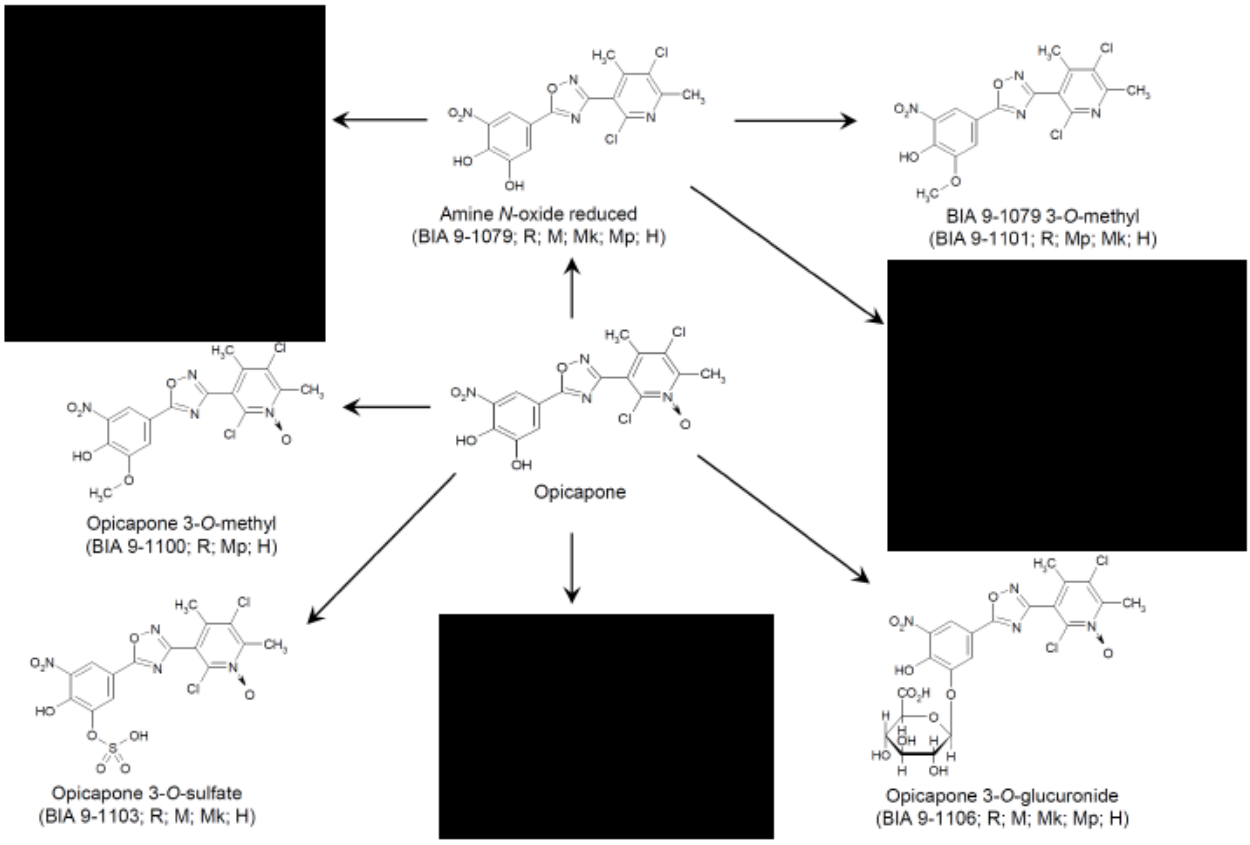


図 2.4.3.3-1　オピカポンの推定代謝経路
H: ヒト，M: マウス，Mk：サル，Mp：ミニブタ，R：ラット

2.4.3.4　　排泄

ラット及びサルに ^{14}C-オピカポンを経口投与又は静脈内投与したとき，放射能は主に糞中へ排泄されたことから，吸収された放射能の主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であると考えられた．授乳中雌ラットに ^{14}C-オピカポンを経口投与したとき，放射能が乳汁中に排泄された．

2.4.3.5　　薬物動態学的薬物相互作用

オピカポンは CYP2C8 及び CYP2C9 を阻害し，Ki 値はそれぞれ 0.9 及び 18 μg/mL であった．BIA 9-1103 及び BIA 9-1079 も同様に CYP2C8 及び CYP2C9 を阻害した．臨床において，オピカポンと CYP2C8 の基質であるレパグリニド及び CYP2C9 の基質であるワルファリンとの薬物相互作用試験を実施した結果，レパグリニドの血漿中濃度はオピカポン（50 mg）の併用による影響を受けなかった［2.7.2.2.5.18］．ワルファリンの血漿中濃度はオピカポン（25 mg）の併用による影響を受けなかった［2.7.2.2.5.15］．

オピカポンは OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，MATE2-K 及び BSEP を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 0.45，1.40，9.18，4.36，約 30 及び 12.28 μg/mL であった．

Caco-2 細胞及び各種トランスポーターの発現細胞を用いて基質認識性を評価した結果，オピカポンはヒトの OATP1B3，BCRP 及び P-gp の基質であった．

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

オピカポンのマウス及びラットにおける単回経口投与では，ともに 2000 mg/kg まで，サルでは 1000 mg/kg まで死亡例は認められなかった．ラットにおける単回静脈内投与では 10 mg/kg で虚脱，努力性呼吸及び痙攣を呈して投与直後に死亡し，概略の致死量は 10 mg/kg であった．その他，イヌ及びミニブタにおける単回経口投与では，ともに 1000 mg/kg まで死亡例は認められなかった．

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラットでは最長 26 週間まで，サルでは最長 52 週間までの反復経口投与による毒性試験を実施した．

ラットにおける 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験では，最高投与量の 1000 mg/kg/日まで明らかな毒性変化は認められなかった．ラットにおける 26 週間反復投与毒性試験では，1000 mg/kg/日でプロトロンビン時間の延長並びに投与液の刺激性に起因すると考えられる胃の棘細胞増生，錯角化症及び前胃のびらんなどが認められ，無毒性量は雌雄ともに 500 mg/kg/日と判断した．

サルにおける 4 週間，13 週間及び 52 週間反復投与毒性試験では，最高投与量の 1000 mg/kg/日まで毒性変化は認められず，無毒性量はいずれも雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した．

2.4.4.3 遺伝毒性試験

オピカポンは細菌を用いた復帰突然変異試験において陰性を示した．また，オピカポンはヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験において染色体の数的異常を誘発したが，構造異常を誘発せず，マウスを用いた小核試験において陰性を示した．以上のことから，オピカポンは遺伝毒性を有さないと判断した．

2.4.4.4 がん原性試験

マウス及びラットにおいて 104 週間反復経口投与によるがん原性試験を実施した．いずれの試験においても最大耐量あるいは投与可能最大量まで投与したが，オピカポン投与に起因すると考えられる腫瘍性病変は認められず，オピカポンはがん原性を示さなかった．

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラットにおいて受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響を検討した結果，雌雄の受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められず，無毒性量は雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した.

ラット及びウサギにおいて胚・胎児発生に対する影響を検討した結果，ラットでは母動物及び胚・胎児に対する影響は認められず，無毒性量はいずれも 1000 mg/kg/日と判断した．ウサギでは母動物に対して 175 mg/kg/日以上で体重及び摂餌量の減少が認められたが，胚・胎児に対する影響は認められず，母動物に対する無毒性量は 100 mg/kg/日，胚・胎児に対する無毒性量は 225 mg/kg/日と判断した.

ラットにおいて出生前及び出生後の発生並びに母体機能に対する影響を検討した結果，母動物の機能及び離乳までの出生児に対する影響は認められず，これら無毒性量はともに 1000 mg/kg/日と判断した．一方，1000 mg/kg/日で離乳後の出生児に状態悪化による切迫剖検例が認められたことから，離乳後の出生児に対する無毒性量は 375 mg/kg/日と判断した.

2.4.4.6 その他の毒性試験

2.4.4.6.1 免疫毒性

ラットの 4 週間反復投与毒性試験において，免疫細胞フェノタイプ及び SRBC に対する抗体産生能を評価した結果，オピカポン投与に起因すると考えられる免疫細胞フェノタイプの変動や抗体産生能に及ぼす影響は認められなかった.

2.4.4.6.2 代謝物の毒性試験

ヒトの主代謝物である BIA 9-1103 は，ラットの毒性試験において臨床での曝露量を上回って曝露されていたことから，ラットを用いた反復投与毒性，がん原性及び胚・胎児発生毒性において BIA 9-1103 の安全性は評価されていると考えられた．また，BIA 9-1103 は，細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験において，遺伝毒性を示さなかった.

2.4.4.6.3 不純物の毒性試験

オピカポンの原薬及び製剤の不純物について，ICH Q3A(R2)「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」及び ICH Q3B(R2)「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」の安全性の確認が必要な閾値を超える規格限度値は設定されておらず，不純物の毒性試験は実施していない.

オピカポンの不純物について，ICH M7「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドラインに基づく *in silico* 構造活性相関による変異原性予測を実施した．*In silico* の変異原性予測において陽性を示した不純物のうち，一部の不純物は細菌を用いた復帰突然変異試験において陽性であったが，いずれもTTCに基づく許容限度値以下に管理されている［3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.S.3.2（[redacted]）］．

以上より，オピカポンの不純物による安全性の懸念はないと考えられた．

2.4.4.6.4 依存性試験

オピカポンの中枢移行性は低く，経口投与されたオピカポンが直接的に中枢神経系に作用して依存性を発現する可能性は低いと考えられた．また，オピカポンは末梢でのレボドパ濃度を持続させ，脳内ドパミン濃度を上昇させる作用を有するが，レボドパの長期間の臨床使用実績[8)]からレボドパによる依存性の懸念はない．したがって，オピカポンの依存性の懸念はなく，依存性試験は実施しなかった．

2.4.4.6.5 光毒性試験

オピカポンはBalb/c 3T3細胞を用いた光毒性試験において光毒性を示さず，モルモットを用いた皮膚光感作性試験では，皮膚光感作性，皮膚感作性，皮膚光刺激性及び皮膚刺激性を示さなかった．

2.4.4.6.6 細胞毒性試験

肝細胞を用いた細胞毒性試験を実施し，オピカポン，エンタカポン及びトルカポンの細胞毒性を比較した．ヒト肝細胞におけるミトコンドリア膜電位及びATP含量の低下作用は，オピカポンに比べて，エンタカポン及びトルカポンで強かった．HepaRG細胞におけるミトコンドリア膜電位，ATP含量及びグルタチオン濃度の低下作用は，オピカポン，エンタカポンに比べ，トルカポンで強かった．新鮮ヒト肝細胞における細胞形態及び細胞生存率に対し，オピカポンは影響を及ぼさなかったが，トルカポンでは前アポトーシス性の変化及び細胞生存率の低下を示した．以上より，オピカポンの細胞毒性はトルカポンに比べ低いことが示された．

2.4.4.6.7 併用毒性試験

オピカポンをレボドパ／カルビドパと併用投与したときの毒性について，ラットにおける13週間反復投与により検討した．オピカポン1000 mg/kg/日及びレボドパ／カルビドパとの

併用投与群では，レボドパの薬理作用又は毒性に起因すると考えられる虚脱や体重増加抑制，膵臓の腺房細胞の空胞化，耳下腺，顎下腺及び眼窩外涙腺の腺房の肥大並びに眼窩外涙腺に隣接する部位の褐色脂肪の過形成が認められたが，オピカポン併用による新たな毒性変化は認められなかった．また，レボドパ／カルビドパと併用したことによるオピカポンの曝露量への影響も認められなかった．

2.4.5 総括及び結論

オピカポンは，末梢の COMT を持続的に阻害することでレボドパの血漿中濃度を持続させ，脳内へのレボドパの移行を向上させることで，パーキンソン病に対するレボドパの治療効果を高める薬剤である．

有効性薬理試験において，オピカポンは S-COMT に強固に結合（tight-binding 様式）し，トルカポンに比べて 10 倍強い阻害作用を示した．また，オピカポンは COMT の阻害剤であると同時に，自らが COMT によってメチル化修飾を受ける基質であった．オピカポンをラットに単回経口投与すると，肝臓の COMT 活性を強力に阻害し，エンタカポンやトルカポンよりも持続的な COMT 阻害作用を示す一方で，脳の COMT 活性を阻害しなかった．また，サルにオピカポンを 14 日間反復経口投与したとき，最終投与後 24 時間での血漿中オピカポン濃度は定量下限未満となったにもかかわらず，投与用量に応じた赤血球 COMT の阻害作用が持続して認められ，最高投与量の 100 mg/kg/日の阻害率は投与後 24 時間でも 72～75%の範囲であった．ラットにオピカポンを単回経口投与後 24 時間にレボドパ及びベンセラジドを経口投与すると，血漿中及び脳中レボドパ濃度が増加した．また，サルにオピカポンを 14 日間反復経口投与し，最終投与後 23 時間にレボドパ及びベンセラジドを経口投与したときも，血漿中レボドパ濃度及び線条体中のレボドパ量の増加が確認された．更に，MPTP 誘発のサルパーキンソン病モデルにおいて，オピカポンはレボドパ及びベンセラジド併用によるパーキンソン様症状の改善作用を増強し，自発運動量を増加させた．以上の有効性薬理試験の結果から，オピカポンは，血漿中濃度が定量下限未満となった時点においても，tight-binding 様式で COMT を持続的に阻害すると考えられた．また，既存の COMT 阻害剤よりも末梢の COMT を強力かつ持続的に阻害し，レボドパの末梢血中濃度を持続させ，線条体へのレボドパの移行を増加させることによりパーキンソン病治療効果を増強すると考えられた．

副次的薬理試験でオフターゲット作用を検討したところ，危惧すべき副次的作用はみられなかった．

安全性薬理試験の結果，中枢神経系及び呼吸系ではラットにおいて 30 mg/kg で活動性亢進などの軽度な興奮作用，300 mg/kg 以上で活動性低下，筋緊張低下や呼吸数減少などの変

化が認められたが，中枢移行性の低いオピカポンが直接的に中枢神経系に作用するとは考えにくく，ラットの反復投与毒性試験では最高投与量の 1000 mg/kg まで中枢神経系及び呼吸系への影響を示唆する変化を示さないごく軽度な影響と考えられたことから，臨床使用においてオピカポンが中枢神経系及び呼吸系に有害な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた．

薬物動態試験において，ラット及びサルに ^{14}C-オピカポンを経口投与したときの吸収は速やかであり，ラットでは多くの組織中放射能濃度の Tmax は 4 時間であったが，脳組織中の放射能濃度はすべての時点で定量下限未満であった．ラット及びサルに ^{14}C-オピカポンを経口投与又は静脈内投与したとき，放射能は主に糞中から回収されたことから，主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄と考えられた．ヒト肝 S9 による *in vitro* 代謝試験で検出された代謝物はラット及びサルでも検出され，ヒト特異的な代謝物は認められなかった．ヒトの主代謝物 BIA 9-1103 は，動物の血漿中でも認められた．COMT 阻害活性を持つ BIA 9-1079 は動物の血漿中主代謝物の 1 つであったが，ヒト血漿中濃度は多くの時点で定量下限未満であった．

オピカポンのヒト血漿蛋白結合率は 99.9%と高かったものの，ワルファリン，ジアゼパム，ジゴキシン及びトルブタミドとの共存下で，お互いの血漿蛋白結合率に影響を及ぼさなかった．したがって，臨床において蛋白結合の置換による相互作用が生じる可能性は低いと考えられた．

オピカポンの代謝には SULT，UGT，還元酵素及び COMT が関与していると考えられた．

オピカポンは *in vitro* で CYP2C8 及び CYP2C9 を阻害した．一方で，臨床試験において，オピカポンは CYP2C8 の基質であるレパグリニド及び CYP2C9 の基質であるワルファリンの血漿中濃度に影響を与えなかった．

オピカポンは OATP1B3，BCRP 及び P-gp の基質であり，臨床においてこれらトランスポーター阻害剤の影響を受ける可能性は否定できなかった．オピカポンは *in vitro* で OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，MATE2-K 及び BSEP を阻害したが，薬物相互作用ガイドライン [9] に従い検討したところ，臨床においてオピカポンがこれらトランスポーターを阻害する可能性は低いと考えられた．

毒性試験において，オピカポンの単回経口投与毒性試験は，マウス，ラット及びサルを用いて実施した．いずれの動物種でも死亡例は認められず，概略の致死量はマウス及びラットで 2000 mg/kg を超える量，サルで 1000 mg/kg を超える量であった．

反復投与毒性試験はラット及びサルを用いて毒性を評価した．無毒性量は，ラットでは 500 mg/kg/日であった．一方，サルでは最高投与量の 1000 mg/kg/日まで毒性変化は認められなかった．ラット及びサルの長期毒性試験における無毒性量での曝露量は，臨床における曝露量と比較して 6.5 倍以上の安全域があった（表 2.4.5-1）．

表 2.4.5-1　ラット及びサルの反復投与毒性試験の無毒性量と臨床におけるオピカポンの曝露量の比較

臨床又は動物種	投与量	AUC（μg･h/mL）[a]		安全域（倍）
		雄	雌	
臨床	25 mg/日	2.48		
ラット	500 mg/kg/日	59.2	41.6	16.8～23.9
サル	1000 mg/kg/日	20.9	16.2	6.5～8.4

a: ヒト［2.7.1.2.1.3］は単回投与後の男性被験者の AUClast（AUC24h）を，ラット［2.6.6.3.5］及びサル［2.6.6.3.9］は反復投与後の AUClast を示した．

細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験の結果，オピカポンは生体において遺伝毒性を示さないと考えられた．オピカポンはマウス及びラットのがん原性試験においてがん原性を示さず，そのときの曝露量は，臨床曝露量を上回った．

オピカポンは受胎能及び初期胚発生に対して影響を及ぼさず，催奇形性も認められなかった．母動物の機能及び離乳までの出生児に対して影響は認められなかったが，1000 mg/kg/日で離乳後の出生児に状態悪化による切迫剖検例が認められたことから，離乳後の出生児に対する無毒性量は 375 mg/kg/日であり，その曝露量における臨床曝露量に対する安全域は 4.5～16.8 倍の間であった．また，妊娠動物においてオピカポンの胎児移行が認められ，授乳期の母動物においてオピカポンの乳汁移行が認められている．その他，COMT 遺伝子を欠損させたマウスでは，胎児死亡数の増加及び胎盤重量の減少が報告されている [10]．以上から，妊婦又は妊娠している可能性のある女性には，治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与することとし，授乳婦に対しては，治療上の有益性及び母乳栄養の有益性を考慮し，授乳の継続又は中止を検討する必要がある．

オピカポンは，サルにおける反復投与毒性試験で肝毒性を示さず，ラットにおいても 26 週間反復投与毒性試験の最高投与量とした 1000 mg/kg/日において肝臓に対して重篤な毒性を示さなかった．肝細胞を用いた細胞毒性試験において，肝障害リスクにより臨床使用が制限されているトルカポンでは前アポトーシス性の変化を示唆する変化が認められたが，オピカポンでは認められなかった．また，トルカポンに比べ，オピカポンのミトコンドリア膜電位，ATP 含量及びグルタチオン濃度の低下作用は低かったことから，臨床における肝傷害のリスクは低いと考えられた．

オピカポンをレボドパ及び DCI であるカルビドパと併用投与したときの毒性について，ラットにおける 13 週間反復投与により検討した結果，オピカポンをレボドパ及び DCI と併用することによる新たな安全性の懸念はないと考えられた．

また，オピカポンの代謝物及び不純物についても安全性の懸念はみられなかった．

以上，非臨床試験の結果から，オピカポンは tight-binding 様式で COMT を阻害する薬理学的特性と中枢へ移行しにくい薬物動態学的特性を有し，末梢血中からオピカポンが消失した後も持続して末梢での COMT 阻害作用を発揮することが示された．オピカポンは，動物に 1 日 1 回投与することでレボドパ/DCI との併用において末梢血中のレボドパ濃度を維持し，脳中のレボドパ濃度の増加に寄与した．臨床試験においても，末梢血中の COMT 阻害作用はオピカポンの血漿中濃度消失後も持続し，1 日 1 回の投薬により併用されるレボドパの血中曝露を持続させることが確認され，wearing-off 現象を有するパーキンソン病患者において OFF 時間の短縮効果を示した．また，オピカポンの *in vitro* での肝細胞毒性はトルカポンに比べて弱く，毒性試験においてラット及びサルに高用量を長期間投与しても重篤な肝毒性を示唆する変化を示さなかった．また，これまで国内外で実施されたオピカポンの臨床試験及び欧州での市販後に致死的な肝障害は報告されていない．したがって，オピカポンは，トルカポンで誘発されるような重篤な肝障害を起こすことのない良好な安全性プロファイルを有するものと考えられた．以上より，長時間の COMT 阻害作用と高い安全性を特徴とするオピカポンは，既存の COMT 阻害剤の課題を克服し得る優れた治療薬である．

2.4.6 参考文献一覧

1） 武田　篤（編集），ガイドラインサポートハンドブック　パーキンソン病，医薬ジャーナル社，2011 年 5 月
2） 日本神経学会（監修），「パーキンソン病診療ガイドライン」作成委員会（編集），パーキンソン病診療ガイドライン 2018，医学書院，2018 年 5 月
3） 西川　典子，野元　正弘，新しい診断と治療の ABC　39／神経 4　パーキンソン病，最新医学社，2006 年 7 月
4） Cedarbaum JM. Clinical pharmacokinetics of anti-Parkinsonian drugs. Clin Pharmacokinet 1987;13:141-78.
5） CHMP. Tasmar®: European Public Assessment Report: Scientific Discussion. January 2006.
6） Keating GM, Lyseng-Williamson KA. Tolcapone: a review of its use in the management of Parkinson’s disease. CNS Drugs 2005;19:165-184.
7） Myöhänen TT and Männistö PT. Distribution and functions of catechol-*O*-methyltransferase proteins: do recent findings change the picture? Int Rev Neurobiol 2010;95:29-47.
8） ドパストン®カプセル 250mg ドパストン®散 98.5％ 医薬品インタビューフォーム，大原薬品工業株式会社，2016 年 4 月改訂（第 9 版）
9） 医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン，厚生労働省，2018 年 7 月

10） Kanasaki K, Palmsten K, Sugimoto H, Ahmad S, Hamano Y, Xie L, et.al. Deficiency in catechol-O-methyltransferase and 2-methoxyoestradiol is associated with pre-eclampsia. Nature.2008;453:1117-21.