

サムタス点滴静注用 8 mg

サムタス点滴静注用 16 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

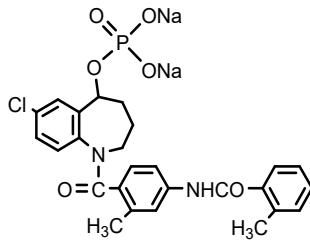
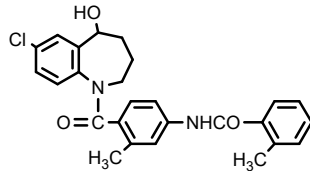
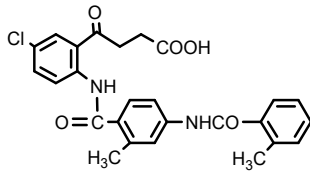
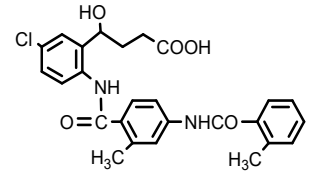
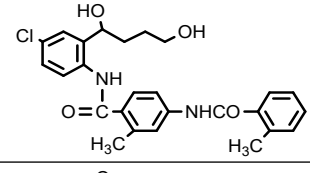
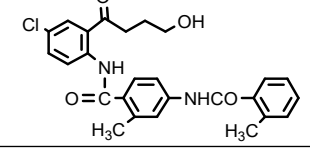
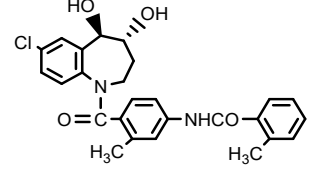
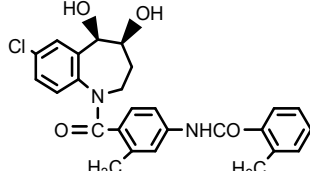
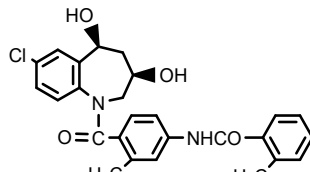
大塚製薬株式会社

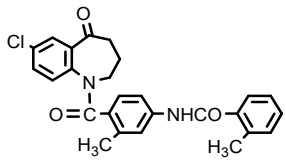
# 目次

目次 .....	2
略号一覧 .....	3
2.4 非臨床試験の概括評価 .....	6
2.4.1 非臨床試験計画概略 .....	6
2.4.2 薬理試験 .....	6
2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験 .....	6
2.4.2.1.1 バソプレシン受容体拮抗作用 .....	6
2.4.2.1.2 覚醒ラット及び覚醒イヌにおける水利尿作用 .....	7
2.4.2.1.3 浮腫モデルにおける作用 .....	7
2.4.2.1.4 その他の薬理作用 .....	8
2.4.2.2 安全性薬理試験 .....	8
2.4.3 薬物動態試験 .....	9
2.4.3.1 吸収 .....	9
2.4.3.2 分布 .....	9
2.4.3.3 代謝 .....	9
2.4.3.4 排泄 .....	11
2.4.4 毒性試験 .....	11
2.4.4.1 単回投与毒性試験 .....	11
2.4.4.2 反復投与毒性試験 .....	11
2.4.4.3 遺伝毒性試験 .....	12
2.4.4.4 がん原性試験 .....	12
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 .....	12
2.4.4.6 幼若動物を用いた試験 .....	13
2.4.4.7 局所刺激性試験 .....	13
2.4.4.8 その他の毒性試験 .....	13
2.4.5 総括及び結論 .....	13
2.4.6 参考文献 .....	17

## 略号一覧

略号	省略していない表現
AUC	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC <sub>∞</sub>	投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC <sub>24h</sub>	投与終了後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
cAMP	サイクリック AMP
C <sub>0</sub>	時間 0 に外挿した初期血漿中薬物濃度
C <sub>0h</sub>	投与終了直後における血漿中濃度
C <sub>0.083h</sub>	投与終了後 5 分における血漿中濃度
C <sub>max</sub>	最高血漿（又は組織）中濃度
CYP	チトクローム P450
GLP	Good Laboratory Practice
HeLa 細胞	ヒト子宮頸癌由来の細胞株
hERG	Human Ether-a-go-go Related Gene
MRHD	最大推奨臨床用量
S9	9000 × g 上清画分

名称 (由来)	構造式
<p>OPC-61815 (OPC-263) トルバプタンリン酸エステルナトリウム (JAN) トルバプタン (INN)</p>	 <p>The structure shows a 7-chloro-8-(4-methylphenyl)-8-oxo-5-phenyl-1,8-diazabicyclo[7.1.1]undecane-2-carboxamide sodium phosphate ester. It features a bicyclic core with a chlorine atom, a methyl group, and a phosphate group, and is linked via an amide bond to a 4-methylphenyl group, which is further linked to a 3-methylphenyl group.</p>
<p>トルバプタン (JAN) OPC-41061 (活性本体)</p>	 <p>The structure is identical to OPC-61815 but lacks the phosphate group, representing the active moiety.</p>
<p>DM-4103 開環ケトカルボン酸体 (主要代謝物)</p>	 <p>The structure shows the ring-opened keto-carboxylic acid metabolite of OPC-41061, where the bicyclic core is replaced by a 2-(4-chlorophenyl)propanoic acid moiety.</p>
<p>DM-4107 開環ヒドロキシカルボン酸体 (主要代謝物)</p>	 <p>The structure shows the ring-opened hydroxy-carboxylic acid metabolite of OPC-41061, where the bicyclic core is replaced by a 2-(4-chlorophenyl)propanoic acid moiety with a hydroxyl group at the 2-position.</p>
<p>DM-4104 開環ジオール体 (代謝物)</p>	 <p>The structure shows the ring-opened diol metabolite of OPC-41061, where the bicyclic core is replaced by a 2-(4-chlorophenyl)propanoic acid moiety with hydroxyl groups at both the 2 and 3 positions.</p>
<p>DM-4105 開環ヒドロキシケトン体 (代謝物)</p>	 <p>The structure shows the ring-opened hydroxy-ketone metabolite of OPC-41061, where the bicyclic core is replaced by a 2-(4-chlorophenyl)propanoic acid moiety with a hydroxyl group at the 2-position and a methyl group at the 3-position.</p>
<p>DM-4110 4,5-トランスジオール体 (代謝物)</p>	 <p>The structure shows the 4,5-trans-diol metabolite of OPC-41061, where the bicyclic core is replaced by a 2-(4-chlorophenyl)propanoic acid moiety with hydroxyl groups at the 4 and 5 positions in a trans configuration.</p> <p style="text-align: right;">及び鏡像異性体</p>
<p>DM-4111 4,5-シスジオール体 (代謝物)</p>	 <p>The structure shows the 4,5-cis-diol metabolite of OPC-41061, where the bicyclic core is replaced by a 2-(4-chlorophenyl)propanoic acid moiety with hydroxyl groups at the 4 and 5 positions in a cis configuration.</p> <p style="text-align: right;">及び鏡像異性体</p>
<p>DM-4119 3,5-シスジオール体 (代謝物)</p>	 <p>The structure shows the 3,5-cis-diol metabolite of OPC-41061, where the bicyclic core is replaced by a 2-(4-chlorophenyl)propanoic acid moiety with hydroxyl groups at the 3 and 5 positions in a cis configuration.</p> <p style="text-align: right;">及び鏡像異性体</p>

名称（由来）	構造式
MOP-21826 5-ケトン体 （代謝物）	

## 2.4 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1 非臨床試験計画概略

トルバプタンリン酸エステルナトリウム（以下、OPC-61815）は、バソプレシン V<sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるトルバプタンの水酸基をリン酸エステル化し、水溶性を向上することで静脈内投与可能としたトルバプタンのプロドラッグである。生体においてはリン酸エステルがホスファターゼにより加水分解され、活性本体であるトルバプタンを生成することで薬理作用を発揮する。

**薬理試験：** OPC-61815 の薬理作用を、一連の *in vitro* 及び *in vivo* の試験系を用いて検討した。また、必要に応じて活性本体であるトルバプタンの試験成績を再掲した。効力を裏付ける試験としては、バソプレシン受容体拮抗作用、覚醒ラット及び覚醒イヌにおける水利尿作用、抗浮腫作用及びその他の薬理作用を検討した。加えて、OPC-61815 の生命維持に関わる機能への影響を検討するために安全性薬理試験を実施した。

**薬物動態試験：** マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いて OPC-61815 の薬物動態を明らかにする目的で、吸収、分布、代謝及び排泄について検討した。また、*in vitro* での血清蛋白結合率及びヒト由来の生体試料による代謝についても試験を実施した。

**毒性試験：** OPC-61815 の非臨床安全性評価のため、単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験、血管刺激性試験、溶血性試験並びに光安全性試験を実施した。

### 2.4.2 薬理試験

#### 2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験

OPC-61815 は非ペプチド性のバソプレシン V<sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるトルバプタンの水溶性プロドラッグである。OPC-61815 の予定する効能・効果に対する効力を裏付ける試験として、一連の *in vitro* 及び *in vivo* の試験を実施した。OPC-61815 及び活性本体であるトルバプタンのヒト及びラットバソプレシン受容体サブタイプに対する親和性を検討するとともに、バソプレシン刺激により産生される細胞内 cAMP 量を指標として V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用を評価した。また、OPC-61815 の主薬理作用である水利尿作用については、覚醒ラット及びイヌを用いて静脈内投与にて検討し、従来の塩類排泄型利尿薬（フロセミド）と利尿作用を比較した。OPC-61815 の抗浮腫作用については、ヒスタミン誘発及びカラゲニン誘発の浮腫モデルを作製して評価した。また、OPC-61815 のトルバプタン以外の代謝物についてもバソプレシン受容体拮抗作用を検討した。

##### 2.4.2.1.1 バソプレシン受容体拮抗作用

OPC-61815 のバソプレシン受容体に対する親和性を、<sup>3</sup>H-バソプレシンを標識リガンドとして用いた受容体結合試験で検討した。さらに、バソプレシンによる V<sub>2</sub> 受容体刺激により産生される cAMP 量を指標に V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用を検討した。OPC-61815 はヒト V<sub>2</sub> 受容体に対して親和性（K<sub>i</sub> 値：6.13 ± 1.34 nmol/L，平均値 ± 標準誤差：以下同様）を示したが、その作用は活性本体であるトルバプタンのバソプレシン V<sub>2</sub> 受容体に対する親和性（K<sub>i</sub> 値：0.43 ± 0.06 nmol/L）の約 1/14 であった。OPC-61815 はヒト V<sub>1a</sub> 受容体に対しても弱い親和性（K<sub>i</sub> 値：54.2 ± 16.8 nmol/L）を示したが、その作用はトルバプタンの V<sub>2</sub> 受容体に対する親和性（K<sub>i</sub> 値：0.43 ± 0.06

nmol/L) の約 1/126 であった。また、OPC-61815 はヒトバソプレシン V<sub>1b</sub> 受容体に親和性を示さなかった。OPC-61815 はヒト V<sub>2</sub> 受容体を安定して発現している HeLa 細胞において、バソプレシン刺激による細胞内 cAMP 産生の増加を抑制し、それ自身では cAMP 産生量を増加させなかった。これらの結果から、OPC-61815 はアゴニスト作用のない V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用を示すものの、V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用はトルバプタンの 1/14 と弱いことから、生体ではトルバプタンが主に V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用に寄与していると考えられた。

#### 2.4.2.1.2 覚醒ラット及び覚醒イヌにおける水利尿作用

OPC-61815 の静脈内投与時の利尿作用を、覚醒ラット及びイヌを用いて検討した。OPC-61815 の単回静脈内投与 (ラット :0.1275~12.75 mg/kg, イヌ :0.1275~3.825 mg/kg) により、いずれの動物種においても用量依存的な尿量の増加と尿浸透圧の低下がみられた。また、イヌにおいては用量依存的に自由水クリアランスを増加させ、正の値に転じさせたことから、OPC-61815 の利尿作用は従来の塩類排泄型利尿薬とは異なり、選択的に自由水の排泄を増加させる水利尿作用であることが示された。また、OPC-61815 の水利尿作用はラットに 2 週間反復静脈内投与 (1.275 及び 12.75 mg/kg) しても維持された。血漿ホルモンに対しては、OPC-61815 (単回静脈内投与) の水利尿作用による血漿浸透圧の上昇を反映して、イヌにおいて血中のバソプレシン濃度の上昇がみられたが、フロセミドとは異なり血漿レニン活性の上昇はみられなかった。

これらのラット及びイヌにおける水利尿作用の特徴は V<sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるトルバプタンの経口投与時の水利尿作用<sup>1, 2</sup>に一致していること、さらに OPC-61815 自身の V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用はトルバプタンよりも弱いことから、OPC-61815 は静脈内投与後に加水分解され、トルバプタンを生成することで V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用に基づく水利尿作用を示すと考えられた。

#### 2.4.2.1.3 浮腫モデルにおける作用

OPC-61815 の抗浮腫作用を、2 種類の浮腫モデルラットを用いて検討した。ヒスタミン誘発血管透過性亢進モデルにおいて、OPC-61815 の単回静脈内投与 (0.3825~3.825 mg/kg) により、用量依存的な利尿作用が認められ、ヒスタミンによる血管透過性の亢進を抑制した。カラゲニン誘発足浮腫モデルにおいて、OPC-61815 の単回静脈内投与 (1.275~12.75 mg/kg) によりカラゲニンによる足浮腫の増大を用量依存的に抑制した。

これらの 2 種の浮腫モデルにおける浮腫改善作用は V<sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるトルバプタンの経口投与時にも認められており<sup>3</sup>、OPC-61815 は静脈内投与後にトルバプタンに加水分解され、トルバプタンと同様の抗浮腫作用を示すと考えられた。

うっ血性心不全では心機能の低下に伴い、細胞外液量、血漿量及び血液量が共に増大しており、体液過剰状態にある。心性浮腫に対する治療目的は体液過剰状態による浮腫などの症状の改善であり、現在の治療の第一選択薬は塩類排泄型利尿薬である。OPC-61815 は、塩類排泄型利尿薬と作用機序は異なるものの、水利尿作用により、浮腫モデルにおいて抗浮腫作用を示した。以上の結果から、OPC-61815 はトルバプタンと同様に水利尿作用により体液過剰状態を是正することで心不全に伴う浮腫を改善するものと考えられた。

#### 2.4.2.1.4 その他の薬理作用

うっ血性心不全では、体液貯留や塩類排泄型の利尿薬の使用により、しばしば低ナトリウム血症がみられる。そこで、低ナトリウム血症モデルを作製し、OPC-61815 の作用を評価した。

低ナトリウム血症モデルにおいて、OPC-61815 を低用量より漸増的に反復静脈内投与（0.255～5.1 mg/kg）すると、血漿ナトリウム濃度は用量の増加に伴い上昇した。一方、フロセミドの反復静脈内投与（30 mg/kg）では、血漿ナトリウム濃度は回復せず、むしろ低下した。

OPC-61815 と活性本体であるトルバプタン及び主要代謝物（DM-4103 及び DM-4107）のバソプレシン受容体以外の受容体（31 種）及びイオンチャネル（4 種）に対する結合親和性を、*in vitro* における受容体結合試験で検討した。その結果、OPC-61815 及び主要代謝物（DM-4103 及び DM-4107）には特筆すべき作用は見られなかった。活性本体であるトルバプタンではオキシトシン受容体（ $K_i$  値：431 ± 63 nmol/L）に弱い親和性が認められたが、ヒト  $V_2$  受容体に対する親和性（ $K_i$  値：0.43 ± 0.06 nmol/L）の約 1/1000 であった。また、その他の受容体及びイオンチャネルに対しては特筆すべき作用はみられなかった。

OPC-61815 にはトルバプタン以外にもヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験において、8 種類の代謝物が確認されている。これら代謝物のバソプレシン受容体に対する作用を検討した。ヒトバソプレシン受容体（ $V_2$ 、 $V_{1a}$  及び  $V_{1b}$ ）に対して、いずれの代謝物も活性本体であるトルバプタンのヒト  $V_2$  受容体親和性（ $K_i$  値：0.43 ± 0.06 nmol/L）より高い受容体親和性は認められなかった。以上の結果から、OPC-61815 投与後の水利尿作用には、活性本体であるトルバプタンの  $V_2$  受容体拮抗作用が、主に寄与しているものと考えられた。

#### 2.4.2.2 安全性薬理試験

OPC-61815 の安全性薬理コアバッテリー試験として、一般症状及び行動に対する作用並びに呼吸及び心血管系に対する作用、hERG チャネル電流に対する作用を検討した。また、呼吸及び心血管系に対する作用試験で認められた血圧下降に対するフォローアップ試験として、麻酔下イヌの血圧下降機序について検討した。

一般症状及び行動（Irwin 変法による観察）に対する作用については、ラットに OPC-61815 を静脈内投与して観察した。12.75 mg/kg 以上で尿量の増加が、さらに 255 mg/kg では自発運動、触反応及び身体緊張度の低下、呼吸数の減少並びに体姿勢の異常が認められた。

呼吸及び心血管系に及ぼす作用については、覚醒下のイヌに OPC-61815 を静脈内投与して検討した。12.75 mg/kg 以上で尿量の増加、血漿中ナトリウム及びクロールの上昇と、血漿中ナトリウム上昇が原因と考えられる T 波振幅の減少が認められた。38.25 mg/kg 以上で心拍数の増加が、127.5 mg/kg で呼吸数の増加、平均血圧の下降及び PR 時間の短縮が認められた。また、hERG チャネル電流に対する作用では、100  $\mu$ mol/L まで影響を及ぼさなかった。

血圧下降に対する機序検討として、関連性が考えられた血漿中ヒスタミンの影響を麻酔下のイヌに静脈内投与して検討した結果、OPC-61815 投与による血圧下降は内因性ヒスタミンレベルの上昇と関連しないと考えられた。

### 2.4.3 薬物動態試験

OPC-61815 の吸収、分布、代謝及び排泄について検討した。薬物動態試験は、放射性標識体及び非標識体を用いて薬効薬理及び安全性評価に使用された動物種（ラット、ウサギ及びイヌ）において実施した。なお、メラニン結合性の検討は有色ラットで行い、その他は白色ラットを用いた。また、各動物及びヒト由来の生体試料を用いて *in vitro* 試験を実施した。

#### 2.4.3.1 吸収

ラット及びイヌにおいて OPC-61815 を単回静脈内投与したところ、血漿中の OPC-61815（フリー体）〔試験に用いた OPC-61815 は 2 ナトリウム塩であり、OPC-61815（フリー体）は、2 ナトリウムが外れたフリー体を示す〕及び活性本体であるトルバプタンの濃度推移は投与量の増加に伴って増加した（ラット：1.275～38.25 mg/kg，イヌ：0.3825～12.75 mg/kg）。OPC-61815（フリー体）の  $C_0$  及び  $AUC_{\infty}$  は、雄性ラットの方が雌性ラットより共に 1.6 倍高く、雄性イヌは雌性イヌの 0.6 倍であった。

トルバプタンの  $C_{max}$  及び  $AUC_{\infty}$  は、ラットにおいて雌性の方が雄性より高く性差が認められたが、イヌにおいて明らかな性差は認められなかった。ラットにおける性差は、トルバプタンの代謝物の血漿中濃度推移に性差が認められていることから、OPC-61815 の加水分解後、トルバプタンが更に代謝される過程の違いに起因すると考えられた。

また、両動物種共に投与 5 分後よりトルバプタンが血漿中で検出され、OPC-61815 からトルバプタンへと速やかに加水分解されていることが示唆された。ラット及びイヌの  $AUC_{\infty}$  から算出した OPC-61815 投与時のトルバプタンへの変換率は、それぞれ 57.7%及び 50.7%であった。

#### 2.4.3.2 分布

ラットに  $^{14}C$ -OPC-61815 を単回静脈内投与（12.75 mg/kg）したとき、雄性において、肝臓、小腸、腎臓及び副腎に高い放射能の分布が認められ、その他の組織は血漿の  $C_{max}$  と同程度又は低い値を示した。雌性の血漿中放射能濃度は雄性よりも低かったが、その他の組織における放射能濃度について性差は認められなかった。雌雄ラットともに投与後 168 時間で、ほとんどの組織の放射能濃度は検出下限未満となった。

有色ラットに  $^{14}C$ -OPC-61815 を単回静脈内投与（12.75 mg/kg）したとき、放射能のメラニン含有組織への分布は白色動物での結果と同様であったことから、OPC-61815 及び代謝物のメラニンへの結合性は低いと考えられた。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血清における  $^{14}C$ -OPC-61815（0.25～25  $\mu$ g/mL）の *in vitro* 蛋白結合率は、マウス：88.1%～89.8%，ラット：94.8%～95.1%，ウサギ：93.8%～94.4%，イヌ：92.1%～93.6%及びヒト：97.9%～98.3%であり、動物及びヒト血清蛋白に対する結合率は高かった。

妊娠ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィーの結果、すべての胎児組織で放射能濃度は母動物血液内濃度よりも低く、胎児移行性が低いことが示唆された。

#### 2.4.3.3 代謝

$^{14}C$ -OPC-61815 はヒト生体試料を用いた *in vitro* 代謝において、肝臓、腎臓、肺及び小腸の S9 中で加水分解され、血清中では加水分解されなかった。また、腎臓 S9 にホスファターゼ阻害剤カ

クテルを添加すると完全に加水分解が抑えられたことから、OPC-61815 はアルカリホスファターゼ、酸性ホスファターゼといったホスファターゼにより加水分解され、活性本体のトルバプタンが生成する。トルバプタンの主要な代謝反応は、DM-4110、DM-4111 及び DM-4119 を生成するベンゾアゼピン環の水酸化反応、MOP-21826 を生成するベンゾアゼピン環の 5 位水酸基の酸化反応及びベンゾアゼピン環の開裂反応により DM-4103、DM-4104、DM-4105 及び DM-4107 を生成する反応である (図 2.4.3-1)。

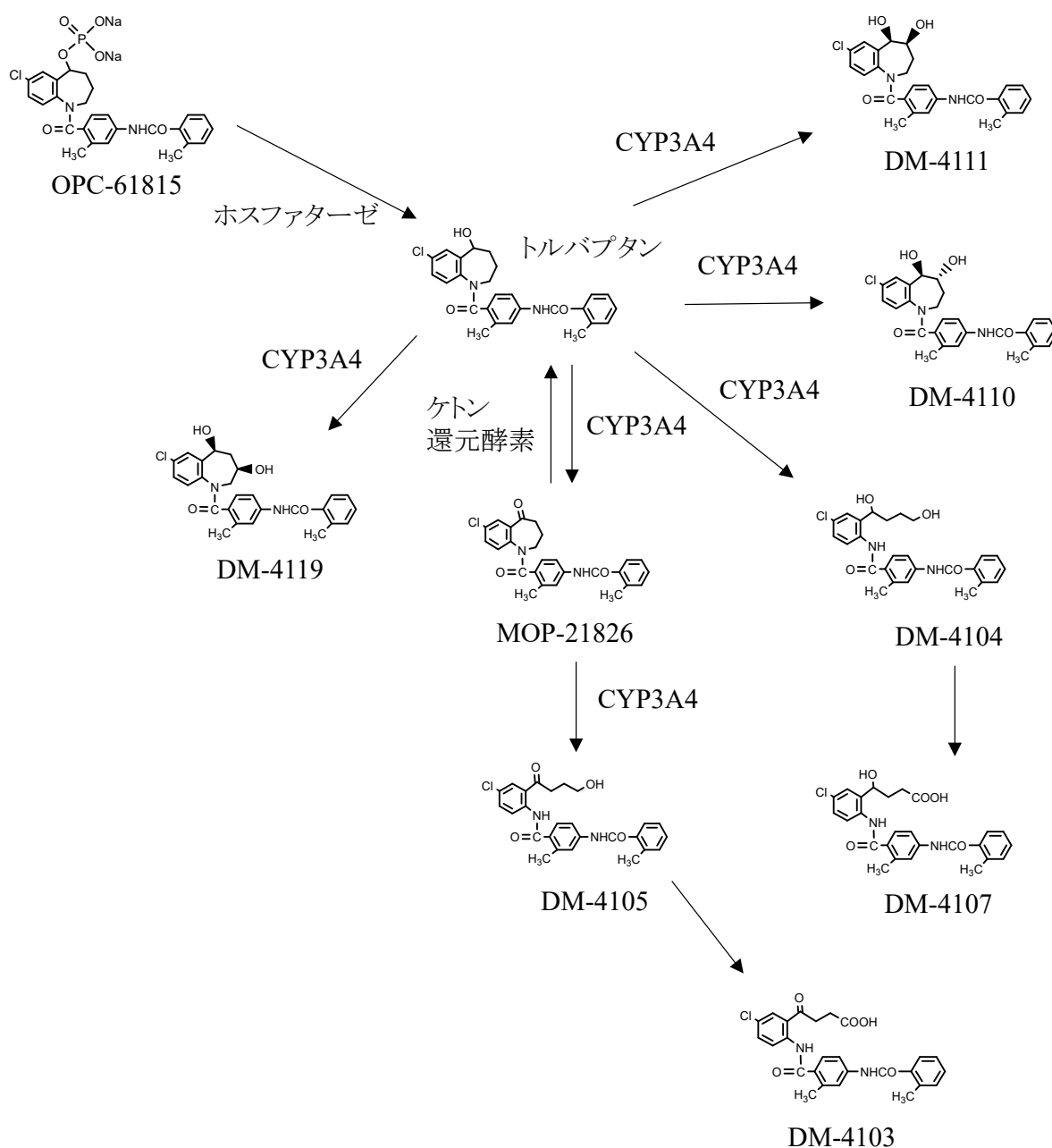


図 2.4.3-1 OPC-61815 の推定代謝経路

<資料番号: 4.2.2.4-05, 4.2.2.4-01, 4.2.2.4-02, 4.2.2.4-03, 既承認サムスカ錠 15 mg の初回承認申請時 CTD 図 2.6.4-7 及び図 2.7.2.2-1 より作成>

ヒト肝臓 S9 及びヒト初代肝細胞を  $^{14}\text{C}$ -OPC-61815 と反応させた結果、代謝物としてトルバプタン、DM-4104、DM-4110 及び DM-4119 が検出された。検出された代謝物はすべてトルバプタン及びトルバプタンを代謝させたときにみられる代謝物であり、リン酸エステル部位を有した代謝物は検出されなかった。

#### 2.4.3.4 排泄

$^{14}\text{C}$ -OPC-61815 を雌雄ラット (12.75 mg/kg) 及び雄性イヌ (3.825 mg/kg) に単回静脈内投与したところ、投与後 168 時間までに放射能の尿及び糞中排泄率はそれぞれ 4.59%~5.32%及び 89.50%~91.08%であり、投与された放射能のほとんどが体外に排泄された。ラットでの胆汁中放射能排泄率は 91.5%~92.2%であり、腸肝循環による再吸収も認められた。OPC-61815 のラット及びイヌにおける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。授乳ラットに  $^{14}\text{C}$ -OPC-61815 を単回静脈内投与 (12.75 mg/kg) したとき、乳汁中への排泄が認められ、血液に対する乳汁の  $\text{AUC}_{\infty}$  比は 5.7 倍であった。

#### 2.4.4 毒性試験

OPC-61815 の非臨床安全性評価のため、単回投与毒性 (ラット及びイヌ)、反復投与毒性 (ラット及びイヌ)、遺伝毒性 (*in vitro* 及び *in vivo*)、生殖発生毒性 (ラット及びウサギ)、血管刺激性 (ウサギ)、光安全性 (*in vitro*) 及び溶血性 (ヒト血液) に関する試験を実施した。重要な試験は全て GLP に準拠して実施した。

各毒性試験のトキシコキネティクス評価に用いた動物種 (ラット、イヌ及びウサギ) における血漿中 OPC-61815 及び代謝物 [トルバプタン (活性本体)、DM-4103 及び DM-4107] の濃度測定法はいずれもガイドラインに従ってバリデーションを実施し、各評価項目の判定基準を満たした。また、バリデーションの一環として、毒性試験の残余試料を用いて incurred sample reanalysis (ラット及びウサギ) を実施したところ、どの動物種も判定基準以内であった。

##### 2.4.4.1 単回投与毒性試験

単回静脈内投与による概略の致死量は、雄ラットで 510 mg/kg を超え、雌ラットで 510 mg/kg であった。雌雄イヌでは 255 mg/kg を超える量であった。

##### 2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラットを用いた 2 及び 4 週間反復静脈内投与毒性試験では、12.75 mg/kg/日以上で薬理作用に基づく尿量及び摂水量の増加並びに尿浸透圧の低下が認められた。63.75 mg/kg/日以上で自発運動の低下、尿による腹部の濡れ、流涎及び流涙等の一般状態観察における異常が共通して認められたが、投与期間の延長により増悪することはなく、4 週間投与で投与部位における局所毒性も認められなかった。また、特異的な臓器毒性はみられなかった。4 週間投与試験における無毒性量は、雄で 63.75 mg/kg/日、雌で 12.75 mg/kg/日と判断した。

イヌを用いた 2 及び 4 週間反復静脈内投与毒性試験では、12.75 mg/kg/日以上で薬理作用に基づく尿量及び摂水量の増加並びに尿浸透圧の低下が認められた。127.5 mg/kg/日では投与中から投与直後に流涎及び嘔吐が、投与初日のみに心拍数の増加が共通して認められたが、投与期間の延長

により増悪することはなく、4週間投与で投与部位における局所毒性も認められなかった。また、特異的な臓器毒性はみられなかった。4週間投与試験における無毒性量は、雌雄とも38.25 mg/kg/日と判断した。

#### 2.4.4.3 遺伝毒性試験

ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験では5000 µg/plateまで、マウスリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験では代謝活性化有り及び無しの3時間曝露条件下で3000 µg/mLまで、代謝活性化無しの24時間曝露条件下で1000 µg/mLまで評価したが、いずれも突然変異誘発性は示さなかった。

ラットを用いた骨髄小核試験では、雌雄ともに255 mg/kg/日まで2日間反復静脈内投与しても、染色体損傷誘発性を示さなかった。

#### 2.4.4.4 がん原性試験

平成9年4月14日薬審第315号「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンスについて」では、がん原性試験は臨床使用期間が少なくとも6か月継続されるような医薬品について実施するよう求められており、曝露期間が短い医薬品は発がんの懸念がなければ必要としない旨が記載されている。OPC-61815の臨床使用は短期間であり、OPC-61815の遺伝毒性試験の結果からはがん原性を示唆する変化は認められておらず、既に実施されている活性本体であるトルバプタンのマウス及びラットを用いたがん原性試験の結果、いずれもがん原性を示さなかった(2.4.4.3及び既承認サムスカ錠15 mgの初回承認申請時資料番号4.2.3.4.1.-01及び4.2.3.4.1.-02参照)。したがって、OPC-61815のがん原性試験は実施しなかった。

#### 2.4.4.5 生殖発生毒性試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：ラットに12.75、63.75及び255 mg/kg/日を反復静脈内投与し、同群内の雌雄で交配させた。255 mg/kg/日の雌で死亡(2例)が認められた。255 mg/kg/日で雌に発情回数の減少が認められたが、雌雄とも受胎能に影響はみられなかった。初期胚発生に関しては、いずれの用量においても影響はみられなかった。無毒性量について、一般毒性に関しては雌雄で12.75 mg/kg/日、雄の生殖機能に関しては255 mg/kg/日、雌の生殖機能に関しては63.75 mg/kg/日、初期胚発生に関しては255 mg/kg/日と判断した。

胚・胎児発生に関する試験：ラットに12.75、63.75及び255 mg/kg/日を反復静脈内投与して検討した。255 mg/kg/日で母動物に死亡(1例)が認められた。母動物の生殖機能に関しては、いずれの用量においても影響は認められなかった。胚・胎児発生に関しては、255 mg/kg/日で着床後死亡率の増加、生存胎児数の減少傾向、胎児体重の減少、骨化遅延及び骨化遅延に関連すると考えられる骨格変異の増加が認められた。無毒性量について、母動物の一般毒性に関しては12.75 mg/kg/日、母動物の生殖(妊娠の維持)に関しては255 mg/kg/日、胚・胎児発生に関しては63.75 mg/kg/日と判断した。

ウサギに12.75、63.75及び255 mg/kg/日を反復静脈内投与して検討した。255 mg/kg/日で母動物に死亡(1例)、切迫屠殺(1例)及び流産(2例)が認められた。胚・胎児発生に関しては、着床後死亡率の増加、胎児体重の減少及び骨化遅延が認められた。無毒性量について、母動物の一般

毒性に関しては 12.75 mg/kg/日未満，母動物の生殖（妊娠の維持）及び胚・胎児発生に関しては 63.75 mg/kg/日と判断した。

**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：**ラットに 12.75, 63.75 及び 255 mg/kg/日を反復静脈内投与して検討した。母動物に関しては，63.75 mg/kg/日で未分娩（1 例），63.75 mg/kg/日以上で授乳期間中の全児死亡（63.75 mg/kg/日で 3 例，127.5 mg/kg/日で 2 例），127.5 mg/kg/日で難産及び難産によると考えられる死亡（1 例），出産時全児死亡（3 腹），妊娠期間の軽度延長及び出産率の減少が認められた。出生児に関しては，63.75 mg/kg/日以上で体重低値及び生存率（生後 0 日及び/又は生後 4 日）の低下が認められた。無毒性量は，母動物の一般毒性及び生殖，並びに出生児に関して 12.75 mg/kg/日と判断した。

#### 2.4.4.6 幼若動物を用いた試験

OPC-61815 は，幼若動物を用いた試験を実施していない。

#### 2.4.4.7 局所刺激性試験

**血管刺激性試験：**ウサギに 0.6375%及び 2.55%注射液を，府川らの方法<sup>4</sup>に準じて血管内に注入し，血管刺激性を判定した。2.55%投与で軽度な刺激性が認められたものの，0.6375%投与では血管刺激性を示さなかった。

#### 2.4.4.8 その他の毒性試験

**光安全性試験：**BALB/3T3 細胞を用いた *in vitro* 光細胞毒性試験では，1000 µg/mL まで光細胞毒性を示さなかった。

**溶血性試験：**ヒト血液を用いた溶血性試験では，2.55%まで溶血性は認められなかった。

### 2.4.5 総括及び結論

#### 【薬理試験】

OPC-61815 は，バソプレシン V<sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるトルバプタンの水酸基をリン酸エステル化し水溶性を向上させたトルバプタンのプロドラッグであり，経口薬であるトルバプタンの静脈内投与可能な注射薬として開発された。

*In vitro* 受容体結合試験において，OPC-61815 はバソプレシン V<sub>2</sub> 受容体に対して親和性 (K<sub>i</sub> 値: 6.13 ± 1.34 nmol/L) を示したが，その作用はトルバプタンの V<sub>2</sub> 受容体に対する親和性 (K<sub>i</sub> 値: 0.43 ± 0.06 nmol/L) の約 1/14 と非常に弱かった。OPC-61815 を覚醒ラット及びイヌに単回静脈内投与すると，トルバプタンの経口投与で報告された作用と同様の用量依存的な水利尿作用が認められ，OPC-61815 は生体内でトルバプタンに加水分解され，トルバプタンを生成することで V<sub>2</sub> 受容体拮抗作用に基づく水利尿を発現するものと考えられた。この水利尿作用による循環体液量の減少に伴って，ヒスタミン誘発血管透過性モデルとカラゲニン誘発足浮腫モデルにおいて抗浮腫作用が認められた。以上より，OPC-61815 は水利尿作用により体液過剰状態を是正することで心不全に伴う浮腫を改善するものと考えられた。

安全性薬理試験として，一般症状及び行動への影響はラットを用いて評価した。12.75 mg/kg 以上で尿量の増加が，さらに 255 mg/kg では自発運動，触反応及び身体緊張度の低下，呼吸数の減

少並びに体姿勢の異常が認められた。12.75 及び 255 mg/kg における OPC-61815 (フリー体) 及びトルバプタンの  $C_{max}$  (12.75 mg/kg : 12.31 及び 0.7924  $\mu\text{g/mL}$ , 255 mg/kg : 709.1 及び 38.64  $\mu\text{g/mL}$ ) は, MRHD (16 mg) 投与時のヒトにおける OPC-61815 (フリー体) 及びトルバプタンの  $C_{max}$  (1840 ng/mL 及び 282 ng/mL) と比較すると, それぞれ 7 及び 3 倍並びに 385 及び 137 倍であった (資料番号 5.3.3.2-01)。

呼吸及び心血管系への影響は覚醒下のイヌを用いて評価した。12.75 mg/kg 以上で尿量の増加, 血漿中ナトリウム及びクロールの上昇と, 血漿中ナトリウム上昇が原因と考えられる T 波振幅の減少が認められた。38.25 mg/kg 以上で心拍数の増加が, 127.5 mg/kg で呼吸数の増加, 平均血圧の下降及び PR 間隔の短縮が認められた。12.75, 38.25 及び 127.5 mg/kg における OPC-61815 (フリー体) 及びトルバプタンの  $C_{max}$  (12.75 mg/kg : 39.95 及び 1.218  $\mu\text{g/mL}$ , 38.25 mg/kg : 130.5 及び 4.263  $\mu\text{g/mL}$ , 127.5 mg/kg : 481.3 及び 24.09  $\mu\text{g/mL}$ ) は, MRHD 投与時のヒトにおける OPC-61815 (フリー体) 及びトルバプタンの  $C_{max}$  と比較すると, それぞれ 22 及び 4 倍, 71 及び 15 倍並びに 262 及び 85 倍であった (資料番号 5.3.3.2-01)。QT 延長リスクを評価した *in vitro* 試験では, hERG チャネル発現細胞において 100  $\mu\text{mol/L}$  まで影響を及ぼさなかった。さらに血圧下降に対する機序検討として, 血漿中ヒスタミン濃度及び抗ヒスタミン薬前処置による影響を, 麻酔下イヌに静脈内投与して検討した結果, OPC-61815 投与による血圧下降は内因性ヒスタミンレベルの上昇と関連しないと考えられた。

#### 【薬物動態試験】

OPC-61815 の薬物動態試験は, 薬理試験及び毒性試験で使用した動物種及び *in vitro* 試験で評価した。動物に単回静脈内投与したところ, 投与 5 分後より活性本体であるトルバプタンが血漿中で検出され, OPC-61815 からトルバプタンへと速やかに加水分解されていることが示唆された。*in vitro* 代謝試験より OPC-61815 はアルカリホスファターゼ, 酸性ホスファターゼといったホスファターゼにより加水分解される。動物及びヒト試料においてリン酸エステル部位を有した代謝物は検出されなかった。また, OPC-61815 及び代謝物のメラニンへの結合性は低かった。*in vitro* 蛋白結合率はいずれの動物種でもヒト同様に高かった (88.1%以上)。胎盤通過性及び胎児への移行性は低かった。一方, 乳汁排泄が認められた。主排泄経路は胆汁を介した糞中への排泄であった。以上の結果より, 非臨床薬物動態試験は, 臨床試験における結果をサポートするのに十分なものであり, 毒性試験の評価動物は OPC-61815 及び代謝物の安全性評価に適切であったと考えられた。

#### 【毒性試験】

単回静脈内投与による概略の致死量は, 雄ラットで 510 mg/kg を超え, 雌ラットで 510 mg/kg であった。雌雄イヌでは 255 mg/kg を超える量であった。

反復投与毒性試験では, 臨床適用経路である静脈内投与により, ラット及びイヌを用いて毒性を評価した。ラットでは, 薬理作用に基づく尿量及び摂水量の増加並びに尿浸透圧の低下等が認められた。自発運動の低下, 尿による腹部の濡れ, 流涎及び流涙等の一般状態観察における異常が共通して認められたが, 投与期間の延長により増悪することはなく, 4 週間投与で投与部位における局所毒性も認められなかった。また, 特異的な臓器毒性はみられなかった。4 週間投与試験における無毒性量は, 雄で 63.75 mg/kg/日, 雌で 12.75 mg/kg/日と判断された。

イヌでは, 薬理作用に基づく尿量及び摂水量の増加並びに尿浸透圧の低下が認められた。投与

中から投与直後に流涎及び嘔吐が、投与初日のみに心拍数の増加が共通して認められたが、投与期間の延長により増悪することはなく、4週間投与で投与部位における局所毒性も認められなかった。また、特異的な臓器毒性はみられなかった。4週間投与試験における無毒性量は、雌雄とも 38.25 mg/kg/日と判断された。

無毒性量の曝露と MRHD におけるヒトの曝露量との比較を表 2.4.5-1 に示した。無毒性量における OPC-61815 (フリー体) 及びトルバプタンの曝露量は、MRHD の曝露量と同等以上であった。DM-4103 及び DM-4107 の曝露量が MRHD の曝露量に満たない試験が一部みられたが、これら代謝物はトルバプタン由来の代謝物であり、トルバプタンの経口投与による毒性試験において MRHD と同等以上の曝露量が確認されていることから、既に評価されていると判断した(既承認サムスカ錠 15 mg の初回承認申請時における 2.6.6 毒性試験の概要文参照)。

表 2.4.5-1 反復投与毒性試験の無毒性量と MRHD<sup>a)</sup>における曝露量比較

測定対象	パラメータ	MRHD 投与時の曝露	ラット 4 週		イス 4 週	
			雄	雌	雄	雌
OPC-61815 (フリー体)	C <sub>max</sub> 又は C <sub>0.083h</sub> (µg/mL)	1.840	104.9 (57.0)	13.47 (7.32)	116.6 (63.4)	134.1 (72.9)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	3.400	35.86 (10.5)	3.687 (1.08)	68.49 (20.1)	73.98 (21.8)
トルバプタン	C <sub>max</sub> (µg/mL)	0.282	6.287 (22.3)	2.419 (8.58)	5.029 (17.8)	6.288 (22.3)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	2.400	13.65 (5.69)	6.455 (2.69)	19.65 (8.19)	22.92 (9.55)
DM-4103	C <sub>max</sub> (µg/mL)	0.0715	5.094 (71.2)	0.08213 (1.15)	0.5757 (8.05)	0.7214 (10.1)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	1.160	44.28 (38.2)	0.5736 (0.494)	5.602 (4.83)	9.461 (8.16)
DM-4107	C <sub>max</sub> (µg/mL)	0.0479	2.612 (54.5)	0.1197 (2.50)	0.1861 (3.89)	0.3045 (6.36)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	0.860	11.59 (13.5)	0.4454 (0.518)	0.7466 (0.868)	1.429 (1.66)

カッコ内の数字は MRHD における曝露量 (資料番号 5.3.3.2-01) との比を表す。

a) 第II相試験 (263-102-00001) における心性浮腫患者での曝露

遺伝毒性試験 (*in vitro* 及び *in vivo*) において、OPC-61815 は遺伝毒性を示さなかった。

生殖発生毒性に関しては、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (ラット)、胚・胎児発生に関する試験 (ラット及びウサギ)、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 (ラット) を実施した。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、255 mg/kg/日で雌において発情回数の減少 (発情休止期の延長) が認められたが、雌雄とも受胎能に影響は認められず、初期胚発生に関しても、いずれの用量においても影響は認められなかった。雄の生殖機能及び初期胚発生に関する無毒性量は 255 mg/kg/日、雌の生殖機能は 63.75 mg/kg/日と判断された。

胚・胎児発生に関する試験では、ラット及びウサギにおいて 255 mg/kg/日で着床後死亡の増加、胎児体重の減少及び骨化遅延がみられ、さらにウサギでは流産が認められた。胚・胎児発生に関する無毒性量は、ラット及びウサギで 63.75 mg/kg/日と判断された。

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では、63.75 mg/kg/日で未分娩（1例）、63.75 mg/kg/日以上で授乳期間中の全児死亡、127.5 mg/kg/日で難産（1例）、出産時全児死亡（3腹）、妊娠期間の軽度延長及び出産率の減少が認められた。出生児に関しては、63.75 mg/kg/日以上で体重低値及び生存率の低下が認められた。母動物の生殖及び出生児における無毒性量は12.75 mg/kg/日と判断された。

無毒性量の曝露とMRHDにおけるヒトの曝露量との比較を表 2.4.5-2 に示した。無毒性量における OPC-61815（フリー体）及びトルバプタンの曝露量は、MRHD の曝露量と同等以上であった。DM-4103 及び DM-4107 の曝露量が MRHD の曝露量に満たない試験が一部みられたが、これら代謝物はトルバプタン由来の代謝物であり、トルバプタンの経口投与による毒性試験において MRHD と同等以上の曝露量が確認されていることから、既に評価されていると判断した（既承認サムスカ錠 15 mg の初回承認申請時における 2.6.6 毒性試験の概要文参照）。

表 2.4.5-2 生殖発生毒性試験の無毒性量と MRHD<sup>a)</sup>における曝露量比較

測定対象	パラメータ	MRHD 投与時の曝露	ラット受胎能	ラット胚・胎児	ウサギ胚・胎児	ラット出生前後
OPC-61815 (フリー体)	C <sub>max</sub> , C <sub>0.083h</sub> 又は C <sub>0h</sub> (µg/mL)	1.840	638.6 (347) 129.3 (70.3)	112.1 (60.9)	328.3 (178)	15.84 (8.61)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	3.400	319.2 (93.9) 36.48 (10.7)	30.56 (8.99)	183.9 (54.1)	4.311 (1.27)
トルバプタン	C <sub>max</sub> (µg/mL)	0.282	24.28 (86.1) 14.17 (50.2)	17.36 (61.6)	6.569 (23.3)	2.141 (7.59)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	2.400	90.74 (37.8) 41.12 (17.1)	36.26 (15.1)	14.42 (6.01)	5.583 (2.33)
DM-4103	C <sub>max</sub> (µg/mL)	0.0715	47.07 (658) 0.9745 (13.6)	0.9112 (12.7)	11.97 (167)	0.07177 (1.00)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	1.160	607.2 (523) 9.070 (7.82)	9.548 (8.23)	75.05 (64.7)	0.6342 (0.547)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	0.860	218.0 (253) 9.605 (11.2)	4.270 (4.97)	23.68 (27.5)	0.1901 (0.221)

測定対象	パラメータ	MRHD 投与 時の曝露	ラット 受胎能	ラット 胚・胎児	ウサギ 胚・胎児	ラット 出生前後
DM-4107	C <sub>max</sub> (µg/mL)	0.0479	30.10 (628) 1.237 (25.8)	0.6436 (13.4)	8.946 (187)	0.07836 (1.64)
	AUC <sub>24h</sub> (µg·h/mL)	0.860	218.0 (253) 9.605 (11.2)	4.270 (4.97)	23.68 (27.5)	0.1901 (0.221)

生殖発生毒性試験の曝露量は、次の無毒性量におけるデータを表す：ラット受胎能試験は生殖（上段が雄，下段が雌）；ラット胚・胎児試験は胚・胎児発生；ウサギ胚・胎児は生殖及び胚・胎児発生；ラット出生前後試験は生殖及び出生児。

カッコ内の数字は MRHD における曝露量（資料番号 5.3.3.2-01）との比を表す。

a) 第II相試験（263-102-00001）における心性浮腫患者での曝露

局所刺激性に関して、2.55%投与で軽度な血管刺激性が認められたものの、0.6375%投与では血管刺激性を示さなかった。また、光毒性はなく、溶血性も示さなかった。

以上、非臨床における種々の薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の結果から、OPC-61815 は、心性浮腫に対する安全で有効な治療薬となるものと考えられる。しかしながら、ラットに胚・胎児死亡の増加及び発育遅延が、ウサギに流産、胚・胎児死亡の増加及び発育遅延がみられたこと、活性本体のトルバプタンではウサギに催奇形性を含む発生毒性が確認されていることから、妊婦又は妊娠している可能性のある女性への投与は避けるべきであると考えられた。これら非臨床試験結果から得られた、臨床における適正使用のために必要な情報は添付文書に反映した。

#### 2.4.6 参考文献

- 1 Yamamura Y, Nakamura S, Itoh S, Hirano T, Onogawa T and Yamashita T, et al. OPC-41061, a highly potent human vasopressin V2-receptor antagonist: pharmacological profile and aquaretic effect by single and multiple oral dosing in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;287:860-7 (参考文献番号 4.3-01)
- 2 Miyazaki T, Fujiki H, Yamamura Y, Nakamura S and Mori T. Tolvaptan, an orally active vasopressin V2-receptor antagonist-Pharmacology and clinical trials. *Cardiovasc Drug Rev.* 2007;25:1-13 (参考文献番号 4.3-02)
- 3 Miyazaki T, Sakamoto Y, Yamashita T, Ohmoto K and Fujiki H. Anti-edematous effects of tolvaptan in experimental rodent models. *Cardiovasc Drug Ther.* 2011;25 (Suppl 1):S77-82 (参考文献番号 4.3-03)
- 4 府川 和永, 伊藤 義彦, 三崎 則幸, 野村 聡子. 静脈注射による血栓性静脈炎に関する実験的研究. *日薬理誌.* 1975 ; 71 : 307-15. (参考文献番号 4.3-04)