グラアルファ配合点眼液

第２部（モジュール２）

2.4

非臨床試験の概括評価

興和株式会社

目次

2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 4
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 4
2.4.2.1.1 リパスジル塩酸塩水和物 4
2.4.2.1.2 ブリモニジン酒石酸塩 4
2.4.2.1.3 本剤 5
2.4.3 薬物動態試験 5
2.4.3.1 分析法 5
2.4.3.2 吸収 5
2.4.4 毒性試験 6
2.4.4.1 局所刺激性試験 6
2.4.4.1.1 ウサギ眼粘膜一次刺激性試験 6
2.4.4.1.2 ウサギ眼粘膜累積刺激性試験 6
2.4.4.1.3 その他の毒性試験 6
2.4.4.1.3.1 不純物の毒性試験 6
2.4.4.1.3.2 ウサギ充血評価試験 7
2.4.5 総括及び結論 7
2.4.6 参考文献 7

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC_{0-t}	Area under the curve up to time t	最終測定時間までの濃度-時間曲線下面積
CAI	Carbonic anhydrase inhibitor	炭酸脱水酵素阻害薬
Cmax	Maximum concentration	最高濃度
hERG	Human ether-a-go-go related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
Impurity G	[redacted]	-
Ki	Inhibition constant	阻害定数
LC-MS/MS	Liquid chromatograph - mass spectrometry	液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析装置
M1	1-Hydroxy-K-115	リパスジルの代謝物（イソキノリン環 1 位の水酸化体）
PG	Prostaglandin	プロスタグランジン
POAG	Primary open angle glaucoma	原発開放隅角緑内障
(Q)SAR	(Quantitative) Structure-activity relationship	（定量的）構造活性相関
ROCK	Rho-associated coiled-coil containing protein kinase	Rho キナーゼ
tmax	Time of maximum concentration	最高濃度到達時間
α_2 作動薬	-	交感神経 α_2 受容体作動薬
β 遮断薬	-	交感神経 β 受容体遮断薬
ブリモニジン点眼液	-	ブリモニジン酒石酸塩点眼液
リパスジル点眼液 [a]	-	リパスジル塩酸塩水和物点眼液

-: 該当なし

a: 点眼液の濃度はリパスジルとしての濃度を記載

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

緑内障は適切に治療されずに高い眼圧を放置すると視野狭窄から失明に至る疾患であり、わが国の中途失明原因の上位疾患となっている。エビデンスに基づいた唯一確実な緑内障の治療法は「眼圧を下降すること」であり、薬物治療、レーザー治療、手術治療等の選択肢がある。緑内障の病期、病型及び状態に応じて治療法が選択され、POAG（広義）に対しては、薬物治療が第一選択とされている [1)]。

薬物治療は、PG 関連薬、β 遮断薬が第一選択であり、効果不十分な場合、炭酸脱水酵素阻害薬、α_2 作動薬、ROCK 阻害薬など、異なる作用機序の薬剤が併用される。しかし、併用により 1 日の総点眼回数が増加してしまい、アドヒアランスの低下につながる。そのため 1 日の点眼回数が少ないことが望まれる。

そこで、興和株式会社は ROCK 阻害薬のリパスジル塩酸塩水和物と α_2 作動薬のブリモニジン酒石酸塩を各薬剤の承認濃度（リパスジル：0.4%、ブリモニジン酒石酸塩：0.1%）で配合した点眼液の開発を開始することとした。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液（以下、本剤）の有効成分であるリパスジル塩酸塩水和物及びブリモニジン酒石酸塩の眼圧下降作用に関する試験成績を総括した。また、本剤を点眼した際のウサギ眼圧下降作用を、リパスジル点眼液 0.4%とブリモニジン点眼液 0.1%の併用点眼と比較した。

2.4.2.1.1 リパスジル塩酸塩水和物

リパスジルは Rho キナーゼのアイソフォームであるヒト ROCK-1 及び ROCK-2 を選択的に阻害することで眼圧下降作用を示す [2)]。正常眼圧白色ウサギ及びサルに対してリパスジル点眼液の単回点眼した結果、点眼後速やかに濃度依存的な眼圧下降作用を示した。また、高眼圧白色ウサギに対してリパスジル点眼液 0.4%は眼圧下降作用を示した [2)]。

リパスジルの眼圧下降作用機序を解明するために、正常眼圧白色ウサギを用い房水動態に対する作用を検討した結果、リパスジル点眼液 0.4%の点眼で房水流出率の増加を示した一方で、ぶどう膜強膜流量及び房水産生量に対して影響を示さなかったことから、眼圧下降作用機序として線維柱帯-シュレム管を介する主流出路からの房水流出増加作用を推定した [2)]。

2.4.2.1.2 ブリモニジン酒石酸塩

ブリモニジンは交感神経 α_2 アドレナリン受容体を選択性に作動させることで眼圧下降作用を示す [3)]。正常眼圧ウサギ及びサルにブリモニジン酒石酸塩を単回点眼投与した結果、濃

度依存的な眼圧下降作用を示した[4]。また、飲水負荷によるウサギ高眼圧モデルに対してブリモニジン酒石酸塩は眼圧下降作用を示した[5]。

ウサギを用いて房水動態に及ぼす影響を検討した結果、ブリモニジン酒石酸塩の点眼で房水産生を抑制した[5]。また、高眼圧症患者の片眼に0.2%ブリモニジン酒石酸塩を点眼した試験では、フルオロフォトメトリー法で房水産生の抑制及びぶどう膜強膜流出路からの房水流出の促進が認められた[6]。

2.4.2.1.3 本剤

眼圧下降作用

本剤を点眼した際のウサギ眼圧下降作用を、リパスジル点眼液0.4%とブリモニジン点眼液0.1%の併用点眼と比較したところ、本剤点眼群及び併用点眼群のいずれも、点眼1時間後をピークとした眼圧下降作用を示した。また、本剤点眼群と併用点眼群の眼圧推移の比較では、いずれの時点でも両群間で有意な差は認められなかった（2.6.2.2）。

安全性薬理試験

配合剤の安全性薬理試験は、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（平成22年2月19日、薬食審査発0219第4号）」で「遺伝毒性、安全性薬理、がん原性について、個々の成分を用いた試験が現在の標準的な試験方法で実施されている場合には、臨床試験の実施や製造販売承認のための配合剤を用いた試験の実施は必要ない」とされている。また、本剤の有効成分であるリパスジル塩酸塩水和物及びブリモニジン酒石酸塩の薬理作用は既に明らかになっており、両薬剤を配合した本剤の使用に安全性上の懸念事項はないと判断したため、安全性薬理試験は実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

ウサギ血漿、眼房水及び虹彩・毛様体中リパスジル及びブリモニジン濃度はLC-MS/MS法で測定した（2.6.4.2）。

2.4.3.2 吸収

有色ウサギに本剤を単回点眼した際の血漿、眼房水及び虹彩・毛様体中薬物濃度を各単剤（リパスジル点眼液 0.4%又はブリモニジン点眼液 0.1%）を単回点眼した際と比較した（2.6.4.3）。血漿中リパスジル濃度は同程度であった。血漿中ブリモニジン濃度はブリモニジン点眼液0.1%を点眼した際と比較して、tmaxの短縮及びCmaxの高値が認められた。眼房水中リパスジル濃度はリパスジル点眼液0.4%を点眼した際と比較して、$AUC_{0\text{-}t}$の高値が認められ、眼房水中ブリモニジン濃度はブリモニジン点眼液 0.1%を点眼した際と比較して、Cmax及び$AUC_{0\text{-}t}$の低値が認められた。虹彩・毛様体中リパスジル濃度はリパスジル点眼液 0.4%

を点眼した際と比較して、Cmax の高値が認められ、虹彩・毛様体中ブリモニジン濃度はブリモニジン点眼液 0.1%を点眼した際と比較して、Cmax 及び AUC_{0-t} の低値が認められた。

2.4.4 毒性試験

本剤は「臨床での十分な併用投与経験がある後期開発ステージの 2 つの被験薬による配合剤」であり、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（平成 22 年 2 月 19 日、薬食審査発 0219 第 4 号）」に従うと非臨床安全性試験の実施は不要であったが、局所刺激性は製剤ごとに確認が必要と判断したため、ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験及び眼粘膜累積刺激性試験を実施した。また、リパスジル点眼液 0.4%の副作用として充血が認められるため、ウサギを用いた充血評価試験を実施した。また、「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（平成 30 年 6 月 27 日、薬食審査発 0627 第 1 号）」に基づいて、相補的な 2 種類の(Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価を実施した。

2.4.4.1 局所刺激性試験

2.4.4.1.1 ウサギ眼粘膜一次刺激性試験

本剤をウサギに 2 回/日又は 8 回/日点眼投与し眼粘膜に対する一次刺激性を評価した。その結果、前眼部刺激性の観察では、2 回/日、8 回/日点眼投与共に、投与後 1 時間に結膜の発赤が 4 例で認められたが、それ以降の観察では消失し、眼粘膜刺激性は「実際上刺激性なし」に分類された。また、特記すべき瞬目反応や角膜上皮障害は認められなかった（2.6.6.7.1）。

2.4.4.1.2 ウサギ眼粘膜累積刺激性試験

本剤をウサギに 2 週間（4 回/日）反復点眼投与し、眼粘膜に対する累積刺激性を評価した。その結果、前眼部刺激性の観察では、投与期間を通して結膜の発赤が認められたが、累積刺激性は認められなかった。また、特記すべき瞬目反応の異常や角膜上皮障害は認められず、眼球（含．視神経）及び眼球付属器に対する器質的変化も認められなかった（2.6.6.7.2）。

2.4.4.1.3 その他の毒性試験

2.4.4.1.3.1 不純物の毒性試験

(1)　(Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価

本剤の実際の分解生成物である Impurity G を対象とし、相補的な 2 種類の(Q)SAR 法を用いて不純物の変異原性評価を実施した結果、クラス 4 に分類され非変異原性不純物と判断した（2.6.6.8.1.1）。

2.4.4.1.3.2 ウサギ充血評価試験

本剤をウサギに 2 回/日点眼投与し、眼球結膜に対する充血誘発作用を評価した。その結果、1 回目の点眼投与では、投与後 5 分に「数本の血管拡張」又は「多数の血管拡張」が認められたが、その後は時間と共に弱まり、「多数の血管拡張」は投与後 15 分までに、「数本の血管拡張」は投与後 180 分までに消失した。2 回目の点眼投与では、投与後 5 分に「数本の血管拡張」が認められたが、その後は時間と共に弱まり、投与後 120 分までに消失した。また、充血の程度及び発現時間は、ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与とおおむね同じであった（2.6.6.8.2）。

2.4.5 総括及び結論

本剤を点眼した際のウサギ眼圧下降作用をリパスジル点眼液 0.4%とブリモニジン点眼液 0.1%の併用点眼と比較したところ、いずれも点眼 1 時間後をピークとした眼圧下降作用を示した。また、本剤点眼群と併用点眼群の眼圧推移の比較では、いずれの時点でも両群間で有意な差は認められなかった。

本剤の点眼投与での薬物動態を確認する目的で、ウサギを用いた吸収試験を実施した。本剤と各単剤の血漿中濃度の差はリパスジル及びブリモニジンの薬理作用によるものと考えられ、眼房水及び虹彩・毛様体中濃度の差は製剤間の pH の違いによるものと考えられた。

本剤の眼局所での安全性を確認するため、ウサギを用いて局所刺激性試験を実施した結果、一過性の充血が誘発されたが、2 週間の反復投与でも特記すべき瞬目反応の異常や角膜上皮障害は認められず、眼球（含．視神経）及び眼球付属器に対する器質的変化も認められなかった。また、ウサギを用いて本剤の充血誘発作用をブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与と比較した結果、充血の程度及び発現時間はおおむね同じであった。また、(Q)SAR 法を用いて本剤の不純物の変異原性評価を実施した結果、非変異原性不純物であることが確認された。

以上より、本剤は各単剤を併用した場合と同程度の眼圧下降作用を示すことが確認され、患者の利便性を高め、治療アドヒアランスを向上させることが期待された。また、本剤の臨床使用で問題となる副作用を誘発する可能性は低いことが確認されたことから、本剤は緑内障・高眼圧症の治療に有用であると判断した。

2.4.6 参考文献

1) 日本緑内障学会. 緑内障診療ガイドライン(第 5 版). 日眼会誌. 2022;126(2):85-177.
2) 興和株式会社. グラナテック点眼液 0.4% 申請資料概要: 非臨床試験 薬理試験(2014 年 9 月 26 日承認, 2.6.2.1-8).
3) Burke J, Schwartz M. Preclinical evaluation of brimonidine. Surv Ophthalmol. 1996;41 Suppl 1:S9-18.

4) Burke J, Kharlamb A, Shan T, et al. Adrenergic and imidazoline receptor-mediated responses to UK-14,304-18 (brimonidine) in rabbits and monkeys. A species difference. Ann NY Acad Sci. 1995;763:78-95.

5) Burke JA, Potter DE. Ocular effects of a relatively selective alpha 2 agonist (UK-14, 304-18) in cats, rabbits and monkeys. Curr Eye Res. 1986;5:665-76.

6) Toris CB, Gleason ML, Camras CB, et al. Effects of brimonidine on aqueous humor dynamics in human eyes. Arch Ophthalmol. 1995;113:1514-7.