クレセンバカプセル 100mg
クレセンバ点滴静注用 200mg

イサブコナゾニウム硫酸塩

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

旭化成ファーマ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion（吸収、分布、代謝、排泄）
AMPH-B	amphotericin B（アムホテリシン B）
ASA	active systemic anaphylaxis（能動的全身性アナフィラキシー）
AUC	area under the plasma concentration-time curve（薬物血漿中濃度－時間曲線下面積）
CCDS	company core data sheet（企業中核データシート）
CHO 細胞	Chinese hamster ovary 細胞（チャイニーズハムスター卵巣細胞）
C_{max}	maximum plasma concentration（最高血漿中濃度）
CYP	cytochrome P450（チトクローム P450）
DNA	deoxyribonucleic acid（デオキシリボ核酸）
EFD	embryo-fetal developmental toxicity study（胚・胎児発生に関する試験）
F_a	fraction absorbed（吸収率）
FEED	fertility and early embryonic development study（受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験）
F_{oral}	oral bioavailability（経口バイオアベイラビリティ）
GLP	good laboratory practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
HEK293 細胞	human embryonic kidney 293 細胞（ヒト胎児腎細胞 293）
hERG	human ether-a-go-go related gene（ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子）
IC_{50}	50% inhibitory concentration（50%阻害濃度）
ICH	international council for harmonization of technical requirements for pharmaceuticals for human use（医薬品規制調和国際会議）
ITCZ	itraconazole（イトラコナゾール）
L-AMB	liposomal amphotericin B（アムホテリシン B リポソーム製剤）
M4	BAL8728 のカルバメート開裂産物
M15	4-シアノ安息香酸のグリシン抱合体
M17	2-（4-シアノフェニル）エタノールの *O*-グルクロン酸抱合体
M18	水酸化（4-カルバモイルフェニル）酢酸
M20	M4 のアシルグルクロニド
M22	BAL8728 のシステイン抱合体
M49	水酸化 2-（4-シアノフェニル）エタノールのグルクロン酸抱合体
M55	イサブコナゾール還元体のグルタチオン抱合体
M62	（4-カルバモイルフェニル）酢酸の *N*-硫酸抱合体
M63	水酸化 2-（4 シアノフェニル）エタノールの *N*-アセチルシステイン抱合体
M73	脱トリアゾールイサブコナゾールのグルクロン酸抱合体
M74	水酸化イサブコナゾールのグルクロン酸抱合体
M75	二水酸化イサブコナゾールのグルクロン酸抱合体

（続く）

略号一覧（続き）

略号	省略していない表現
MCFG	micafungin（ミカファンギン）
MFC	minimum fungicidal concentration（最小殺真菌濃度）
MFC_{50}	50% minimum fungicidal concentration（50%の菌株を殺菌した MFC）
MFC_{90}	90% minimum fungicidal concentration（90%の菌株を殺菌した MFC）
MIC	minimum inhibitory concentration（最小発育阻止濃度）
MIC_{50}	50% minimum inhibitory concentration（50%の菌株の発育を阻止した MIC）
MIC_{90}	90% minimum inhibitory concentration（90%の菌株の発育を阻止した MIC）
$P450_{14DM}$	cytochrome P450 dependent lanosterol-14 alpha-demethylase（チトクローム P450 依存性ラノステロール-14α-脱メチル化酵素）
PCA	passive cutaneous anaphylaxis（受動的皮膚アナフィラキシー）
PD	pharmacodynamics（薬力学）
PK	pharmacokinetics（薬物動態学）
PPND	pre- and postnatal developmental toxicity study（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）
PSCZ	posaconazole（ポサコナゾール）
QTc	QT interval corrected for heart rate（corrected QT：補正した QT 間隔）
SD	Sprague-Dawley（ラットの系統名）
SmPC	summary of product characteristics（欧州連合における添付文書）
$t_{1/2}$	terminal elimination half-life of plasma concentration-time profile（終末相の消失半減期）
TK[a)]	toxicokinetics（トキシコキネティクス）
t_{max}	time of the observed maximum plasma concentration（最高血漿中濃度到達時間）
TTC	threshold of toxicological concern（毒性学的懸念の閾値）
VRCZ	voriconazole（ボリコナゾール）
バジリア社	Basilea Pharmaceutica International Ltd.
臨床曝露量	ヒトにイサブコナゾニウム硫酸塩の臨床維持用量（イサブコナゾールとして 200 mg）を反復投与した際のイサブコナゾールの曝露量

a) マウスリンフォーマ TK 試験を除く

目次

1. 非臨床試験計画概略 5
1.1 非臨床開発計画の概略 5
1.1.1 薬理試験の計画 6
1.1.2 薬物動態試験の計画 6
1.1.3 毒性試験の計画 6
2. 薬理試験 7
2.1 効力を裏付ける試験 7
2.1.1 作用機序 7
2.1.2 薬剤耐性機序 7
2.1.3 *In vitro* 抗真菌作用 7
2.1.4 *In vivo* 抗真菌作用 8
2.2 副次的薬理試験 9
2.3 安全性薬理試験 9
2.4 薬力学的薬物相互作用試験 10
3. 薬物動態試験 11
3.1 吸収 11
3.2 分布 11
3.3 代謝 12
3.4 排泄 13
3.5 薬物動態学的薬物相互作用 14
3.6 その他の薬物動態試験 14
4. 毒性試験 15
4.1 単回投与毒性試験 15
4.2 反復投与毒性試験 16
4.3 遺伝毒性試験 22
4.4 がん原性試験 23
4.5 生殖発生毒性試験 25
4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 25
4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 26
4.5.3 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 26
4.6 新生児を用いた試験 27
4.7 局所刺激性試験 28
4.8 その他の毒性試験 28
4.8.1 抗原性試験 28
4.8.2 不純物の毒性試験 29
4.8.3 その他の試験 29
5. 総括および結論 30
5.1 薬理試験の総括 30
5.2 薬物動態試験の総括 30
5.3 毒性試験の総括 31
5.4 結論 31

1. 非臨床試験計画概略

1.1 非臨床開発計画の概略

イサブコナゾニウム硫酸塩は、真菌のエルゴステロール生合成に不可欠な CYP 依存性ラノステロール-14α-脱メチル化酵素 ($P450_{14DM}$) に阻害作用を示すアゾール系抗真菌薬である。イサブコナゾニウムは、静脈内投与の場合は血漿エステラーゼ、経口投与の場合は消化管における加水分解により、それぞれ、活性本体イサブコナゾールおよび不活性分解生成物 BAL8728 に速やかに変換されることから、経口および静注製剤として開発を進めた（図 1-1）。

イサブコナゾニウムは当初、F. Hoffmann-La Roche Ltd.により開発名 Ro 09-8557 として開発された。その後、Basilea Pharmaceutica International Ltd.（以下、バジリア社）が同化合物を取得し、BAL8557 に改名した。イサブコナゾニウム硫酸塩は、海外では、バジリア社およびその導出先である Astellas Pharma Inc.によって共同開発され、米国では 2015 年 3 月、欧州では同年 10 月に承認された。本邦では、2016 年に旭化成ファーマ株式会社が独占的開発権および販売権を取得し、開発コード番号として AK1820 を付与した。

最初の原薬はイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩であった。イサブコナゾールの単位投与量 200 mg はイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の 361 mg に相当した。塩化物塩酸塩の分解生成物である BAL19715 の生成を避けるため、20[redacted] 年に現在のイサブコナゾニウム硫酸塩へと変更した。イサブコナゾールの単位投与量 200 mg はイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg に相当する。

主要な薬理試験、薬物動態試験および毒性試験は、「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン」（平成 10 年 11 月 13 日医薬審第 1019 号、ICH M3 ガイドライン）に準拠し、欧米における製造販売承認申請までに実施された。本申請では、これらの試験に国内臨床分離株における感受性試験、マウスおよびラットのがん原性試験、ならびに幼若ラットを用いた反復投与毒性試験を追加した。

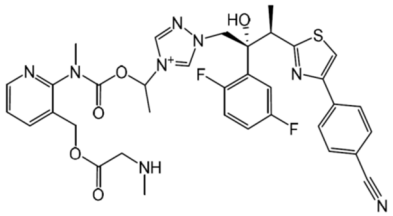
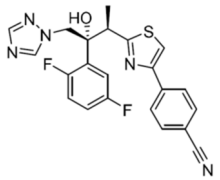
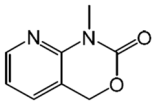
イサブコナゾニウム	
イサブコナゾール	
BAL8728	

図 1-1 構造式

1.1.1 薬理試験の計画

効力を裏付ける試験において、*in vitro* 試験にはイサブコナゾールを、*in vivo* 試験にはイサブコナゾニウム硫酸塩を用いてその薬理作用を評価した。*In vitro* 試験では、真菌のエルゴステロール生成に対する阻害作用を評価した。また、全身性、皮下および表在性真菌症に関与するアゾール耐性真菌株を含む国内外で分離された様々な真菌（*Aspergillus* 属、ムーコル目、*Cryptococcus* 属、*Candida* 属およびその他の真菌）に対する *in vitro* 抗真菌作用を評価した。*In vivo* 試験では、播種性および侵襲性肺アスペルギルス症、ムーコル症、ならびに播種性カンジダ症の動物モデルの生存率および臓器内生菌数に対する作用を評価した。また、各モデルにおける PK/PD 解析を実施し、イサブコナゾニウム硫酸塩の治療結果と最もよく関連する PK/PD パラメータを探索した。

副次的薬理試験において、44 種類の受容体、イオンチャネル、トランスポーターおよび酵素に対するイサブコナゾールの作用を評価した。安全性薬理試験において、「新医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な一般薬理試験のガイドラインについて」（平成 3 年 1 月 29 日薬新薬第 4 号厚生省薬務局新医薬品課長通知）に準じてイサブコナゾニウムの一般薬理試験を実施した。また、「安全性薬理試験ガイドラインについて」（平成 13 年 6 月 21 日医薬審発第 902 号厚生労働省医薬局審査管理課長通知）の発出後、イサブコナゾールの hERG 試験を GLP 適用下にて実施した。さらに、臨床試験（9766-CL-0004 試験）で QTc のわずかな短縮がみられたため、イサブコナゾールの各種心臓イオンチャネルに及ぼす影響を GLP 非適用下にて検討した。

1.1.2 薬物動態試験の計画

イサブコナゾニウムの薬物動態学的特性を明らかにするため、$^{14}C/^{3}H$ 標識体あるいは ^{14}C 標識体および非標識のイサブコナゾニウムならびに ^{14}C 標識体および非標識体のイサブコナゾールを用いて一連の *in vitro* および *in vivo* 非臨床薬物動態試験を実施した。

1.1.3 毒性試験の計画

主要な毒性試験は GLP を遵守して実施した。ラットおよびサルの代謝プロファイルは、*in vitro* におけるヒトの代謝プロファイルと同程度であったことから、一般毒性試験で用いる動物種としてラットおよびサルを選択した。毒性試験では、イサブコナゾニウム（塩化物塩酸塩または硫酸塩）、イサブコナゾールおよび BAL8728 の安全性を評価した。イサブコナゾニウムの単回投与毒性試験は、ラットおよびサルを用いて経口および静脈内投与で実施した。イサブコナゾニウムの反復経口投与毒性試験はマウス（最長 13 週間）、ラット（最長 26 週間）およびサル（最長 39 週間）を用いて、反復静脈内投与毒性試験はラット（最長 6 週間）およびサル（最長 6 週間）を用いて、それぞれ実施した。イサブコナゾニウム、イサブコナゾールあるいは BAL8728 の遺伝毒性を、細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類の培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（マウスリンフォーマ TK 試験）、ほ乳類の培養細胞を用いた *in vitro* 小核試験あるいはラット骨髄小核試験で評価した。イサブコナゾニウムのがん原性はマウスおよびラット、生殖発生毒性はラットおよびウサギを用いて、それぞれ評価した。イサブコナゾニウムの幼若ラットを用いた反復投与毒性試験（最長 13 週間）を実施した。その他、ウサギを用いた局所刺激性試験（眼および皮膚）、モルモットを用いた抗原性試験、マウスを用いた皮膚感作性試験、不純物の毒性試験ならびに *in vitro* の光毒性試験および溶血性試験を実施した。

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

2.1.1 作用機序

イサブコナゾールのエルゴステロール生成に対する阻害作用を評価した。コレスチラミン処理により $P450_{14DM}$ を誘導したラット肝臓抽出液または *Candida albicans* 抽出液にイサブコナゾールを添加して反応させ、反応液中のエルゴステロール生成経路の中間産物である 4,4-デスメチルステロールを測定し、イサブコナゾールのエルゴステロール生成に対する IC_{50} を算出した。イサブコナゾールは、*Candida albicans* およびラット肝臓から抽出した反応液における 4,4-デスメチルステロール生成を阻害した。イサブコナゾールの *Candida albicans* 抽出液を含む反応液における IC_{50} は、ラット肝臓抽出液を含む反応液における IC_{50} と比較して低値であった。

以上の結果から、イサブコナゾールは、他のアゾール系抗真菌薬と同様に真菌の $P450_{14DM}$ を選択的に阻害することでエルゴステロール生成を阻害すると考えられた。

2.1.2 薬剤耐性機序

イサブコナゾール耐性 *Aspergillus fumigatus* 変異株の薬剤耐性機序を検討した。イサブコナゾール含有培地で *Aspergillus fumigatus* を培養することにより、イサブコナゾール MIC が 4～> 16 μg/mL のイサブコナゾール耐性 *Aspergillus fumigatus* 変異株を取得した。これらの変異株の遺伝子を解析したところ、*CYP51A* または *CYP51B* の遺伝子変異は認められなかった。また、すべての変異株で *MDR1*～*4* の遺伝子発現に変動は認められなかった。

各変異株における ITCZ および VRCZ の MIC はいずれも 2 μg/mL 以上であり、野生株における各 MIC と比較して高値であった。一方、各変異株における AMPH-B の MIC は、野生株における MIC と比較して明らかな差は認めなかった。

以上の結果から、実験的に取得したイサブコナゾール耐性 *Aspergillus fumigatus* 変異株では、野生株と比較して *CYP51A* および *CYP51B* 遺伝子変異および薬物排出トランスポーターの発現変動は認められず、その薬剤耐性機序を明らかにすることはできなかった。しかし、アゾール交叉耐性が認められたことから、アゾール系抗真菌薬共通の耐性機構が関与している可能性が考えられた。

2.1.3 *In vitro* 抗真菌作用

全身性、皮下および表在性真菌症に関与するアゾール耐性真菌株を含む国内外で分離された様々な真菌（*Aspergillus* 属、ムーコル目、*Cryptococcus* 属、*Candida* 属およびその他の真菌）に対するイサブコナゾールの *in vitro* 抗真菌作用を評価した。イサブコナゾールは、国内外の臨床検体から分離された *Aspergillus* 属、ムーコル目、*Cryptococcus* 属および *Candida* 属の真菌に対して抗真菌作用を示した。これらの菌種において、イサブコナゾールの国内臨床分離株に対する MIC は、海外臨床分離株の試験成績と比較して同程度またはやや低値であった。したがって、これらの真菌に対するイサブコナゾールの抗真菌作用は、国内と海外で明らかな差はないと考えられた。

アゾール耐性に関連する CYP51A 変異を有する *Aspergillus fumigatus* に対するイサブコナゾールの *in vitro* 抗真菌作用を評価した。CYP51A 変異株および野生株におけるイサブコナゾール MIC 範囲はそれぞれ 0.5～16 μg/mL および 0.5～2 μg/mL であった。CYP51A 変異株である

L98H、G138C、Y431C、G434C および G448S 株では、野生株と比較してイサブコナゾールを含むアゾール系抗真菌薬の MIC が上昇した。一方、G54 変異株では野生株と比較して ITCZ および PSCZ の MIC は上昇したのに対し、イサブコナゾールおよび VRCZ の MIC に明らかな上昇は認められなかった。M220 変異株では、ITCZ および PSCZ の明らかな MIC 上昇が認められたのに対し、イサブコナゾールおよび VRCZ の MIC は上昇傾向が認められたもののその程度は小さかった。したがって、イサブコナゾールは ITCZ や PSCZ に低感受性の CYP51A 変異を有する一部の *Aspergillus fumigatus* に対しても強い抗真菌作用を発揮することが期待された。

Aspergillus 属におけるイサブコナゾールの MFC_{50} および MFC_{90} は、MIC_{50} および MIC_{90} とそれぞれ一致した。一方、接合菌、*Scedosporium* 属および *Candida* 属におけるイサブコナゾールの MFC は、MIC と比較して明らかに高値であった。したがって、イサブコナゾールは *Aspergillus* 属に対して殺真菌的に、接合菌、*Scedosporium* 属および *Candida* 属に対して静真菌的に作用を示すと考えられた。

Aspergillus 属、ムーコル目および *Fusarium* 属に対するイサブコナゾールと AMPH-B または MCFG との併用による *in vitro* 抗真菌作用を評価した。イサブコナゾールと AMPH-B の併用は明らかな相乗的な抗真菌作用は認められなかったが、イサブコナゾールと MCFG の併用は *Aspergillus* 属およびムーコル目の一部の菌種に対して相乗的に抗真菌作用を示した。

以上より、イサブコナゾールは深在性真菌症の原因となるアゾール耐性株を含む真菌（*Aspergillus* 属、ムーコル目、*Cryptococcus* 属および *Candida* 属）に対して抗真菌作用を示すことが期待された。

2.1.4 *In vivo* 抗真菌作用

播種性および侵襲性肺アスペルギルス症、ムーコル症、ならびに播種性カンジダ症の動物モデルに対するイサブコナゾニウム硫酸塩の有効性を評価した。

イサブコナゾニウム硫酸塩は、予防投与および治療投与においてマウス播種性アスペルギルス症モデルの腎臓内生菌数を低下させ、生存率を改善した。マウス播種性アスペルギルス症モデルに対し、同じ 1 日総投与量のイサブコナゾニウム硫酸塩を 1 日 1 回、2 回または 3 回に分割投与した結果、分割投与による有効性の差は認められなかった。したがって、当該モデルにおけるイサブコナゾニウム硫酸塩の有効性は 1 日総投与量に依存しており、分割投与による有効性に及ぼす影響はない、または極めて小さいと考えられた。

イサブコナゾニウム硫酸塩は、*Aspergillus fumigatus* 野生株および CYP51 変異株によるマウス播種性アスペルギルス症モデルの腎臓内生菌数を用量依存的に低下させ、生存率を改善した。当該モデルにおけるイサブコナゾニウム硫酸塩の有効性と関連する主な PK/PD パラメータは、AUC/MIC であった。したがって、イサブコナゾニウム硫酸塩は播種性アスペルギルス症に対して有効であり、その有効性には曝露と MIC の両方が影響を及ぼすパラメータであることが示唆された。また、*in vitro* でイサブコナゾールに対する感受性が低い真菌に生体が感染した場合、イサブコナゾニウム硫酸塩が生体内で抗真菌作用を示すためにはより高い用量の薬剤投与が必要になることが示唆された。

イサブコナゾニウム硫酸塩は、ウサギ侵襲性肺アスペルギルス症モデルの肺内生菌数を低下させ、肺組織傷害および生存率を改善した。また、イサブコナゾニウム硫酸塩は、同モデルのガラクトマンナン抗原および血漿 (1→3)-β-D-グルカン濃度の上昇を抑制した。マウス侵襲性肺アスペルギルス症モデルにおいても、イサブコナゾニウム硫酸塩は用量依存的に肺内生菌数

を減少させた。このイサブコナゾニウム硫酸塩の有効性は、イサブコナゾールの AUC/MIC と関連していた。したがって、イサブコナゾニウム硫酸塩は侵襲性肺アスペルギルス症に対しても有効であり、その有効性と関連する主な PK/PD パラメータは AUC/MIC であると考えられた。

イサブコナゾニウム硫酸塩は、好中球減少マウスムーコル症モデルの肺内および脳内生菌数を低下させ、生存率を改善した。同モデルにおけるイサブコナゾニウム硫酸塩の有効性は、L-AMB の有効性と同等であった。また、イサブコナゾニウム硫酸塩は糖尿病性ケトアシドーシスマウスムーコル症モデルの生存率を改善する傾向が認められた。ただし、計 2 回の試験のうち 1 試験ではイサブコナゾニウム硫酸塩による生存率の改善は認められなかった。当該試験では、非感染動物でも生存率の低下が認められたことから、感染に起因しない死亡の影響によりイサブコナゾニウム硫酸塩の明確な薬効が得られなかったと考えられた。2 種類の異なるマウスムーコル症モデルにおける試験結果から、イサブコナゾニウム硫酸塩はムーコル症に対しても有効であり、その効果は L-AMB と同等であることが期待された。

イサブコナゾニウム硫酸塩は、マウス播種性カンジダ症モデルの腎臓内生菌数を低下させた。当該モデルにおけるイサブコナゾニウム硫酸塩の有効性は 1 日総投与量と相関があり、分割投与による影響を受けなかった。また、イサブコナゾニウム硫酸塩の有効性に最も関連する PK/PD パラメータは AUC/MIC であった。したがって、イサブコナゾニウム硫酸塩は播種性カンジダ症に対しても有効であり、その有効性と関連する主な PK/PD パラメータは AUC/MIC であると考えられた。

以上の結果は、イサブコナゾニウム硫酸塩の深在性真菌症患者における有効性を裏付けるものであると考えられた。

2.2 副次的薬理試験

44 種類の受容体、イオンチャネル、トランスポーターおよび酵素に対するイサブコナゾールの作用を評価した。20 μmol/L で 50%以上の結合阻害活性を示したのは、L 型 Ca イオンチャネル (52.8%)、Na イオンチャネル (77.9%)、アンドロゲン受容体 (54.3%) であった。

2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験の一覧を表 2-1 に示した。

イサブコナゾールの安全性薬理学的プロファイルは他のアゾール系抗真菌薬と同様であった。hERG カリウムイオンチャネルに対するイサブコナゾールの IC_{50} は 5.82 μmol/L であり、ケトコナゾールと同程度であった。また L 型カルシウムチャネル (hCav1.2) に対するイサブコナゾールの IC_{50} は 6.57 μmol/L であった。麻酔下サルでは静脈内投与時に一過性の血圧低下および心拍数増加が認められた。呼吸数、大腿動脈血流量および心電図に対する影響は認められなかった。マウスを用いたペントバルビタール誘発睡眠試験では、イサブコナゾニウムは他のアゾール系抗真菌薬と同様、睡眠時間を延長させた。この作用はペントバルビタールの代謝阻害によるものと考えられた。モルモット摘出回腸を用いた *in vitro* 試験では、検討した最高濃度 (10 μmol/L) で消化管の自発運動に対する抑制作用が認められたが、マウスを用いた *in vivo* 試験では活性炭の腸管内輸送能に対する影響は認められなかった。以上の試験成績から、イサブコナゾニウム硫酸塩が臨床推奨用法・用量の範囲内で問題となる作用を惹起する可能性は低いと考えられた。

表 2-1 安全性薬理試験の一覧

試験の種類	試験系	投与量 (mg/kg) または処理濃度	GLP	試験番号
hERG 試験	hERG 導入 HEK293 細胞	イサブコナゾール：0、1、3、10、30 (μmol/L)	適	9766-PT-0001
各種心臓イオンチャネルへの影響	hCav1.2、hERG、hKir2.1、hKir3.1/hKir3.4、Kir6.2/SUR2A、hKv1.5、hKv4.3/KChiP2.2、hKvLQT1/hminK あるいは hNav1.5 チャンネルを発現させた CHO 細胞または HEK293 細胞	イサブコナゾール：1、3、10、30 (μmol/L)	非適	9766-PT-0003
一般薬理試験				
一般症状および行動 中枢神経系（自発運動量、痙攣、麻酔、痛覚） 消化器系	マウス／CD-1	イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩：0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.5、17、50）	非適	9766-PT-0002
中枢神経系（体温） 水および電解質代謝	ラット／SD			
呼吸・循環器系	カニクイザル	イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩：0、2.5、7.5、22.5（イサブコナゾールとして、0、1.4、4.2、12）		
自律神経系および平滑筋	モルモット摘出回腸	イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩：0、0.1、1、10 (μmol/L)		

2.4 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なかった。

3. 薬物動態試験

3.1 吸収

雄性ラット (5 mg/kg) およびサル (3 mg/kg) に（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩を単回静脈内および経口投与したとき、血漿中放射能濃度から算出した Fa は、ラットで 82.7%、サルで 100.6%であった。

雄性ラット (5 mg/kg) およびサル (3 mg/kg) に（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩を単回静脈内投与および経口投与したとき両投与経路の血漿中放射能濃度から算出した Fa はラットで 83.0%、サルで 66.5%であった。

雄性ラット (5 mg/kg) および雌性サル (3 mg/kg) にイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩を単回静脈内投与したとき、イサブコナゾニウムの $t_{1/2}$ はラットでは 0.12 時間、サルでは 0.083 時間であった。イサブコナゾールはラットで 5.07 時間、サルで 9.84 時間の $t_{1/2}$ で排泄された。BAL8728 はラットでは 0.46 時間、サルでは 0.395 時間の $t_{1/2}$ で比較的速やかに消失し、イサブコナゾールよりもはるかに低い血漿中曝露を示した。

雄性ラット (10 mg/kg) および雌性サル (3 mg/kg) にイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩を単回経口投与したとき、イサブコナゾールの t_{max} はラットで 2.00 時間、サルで 3.33 時間であり、ラットで 3.47 時間、サルで 12.8 時間の $t_{1/2}$ で消失した。イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の F_{oral} はラットで 61.9%、サルで 86.9%であり、良好な経口吸収性が示唆された。

雌雄ラットおよびサルにイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩 10、30 および 60 mg/kg/日、2 時間の静脈内持続投与を 2 週間反復したとき、イサブコナゾニウムの血漿中濃度は静脈内持続投与中に低値を示し、両動物種ともに投与終了後速やかに低下した。両動物種ともにイサブコナゾニウムの蓄積、減少および性差について大きな差は観察されなかった。イサブコナゾールは 2 時間の投与中に血漿中で急速に生成され､その AUC は両種でほぼ用量に比例して増加した。10 および 30 mg/kg/日の反復静脈内持続投与では、イサブコナゾールの大きな蓄積は認められなかった。ラットにおけるイサブコナゾールの AUC に関しては性差が観察されたが、サルでは大きな性差は見られなかった。BAL8728 は 2 時間の投与中に血漿中で急速に形成され、BAL8728 の蓄積、減少および性差について両種とも大きな差は観察されなかった。

雌雄ラットにイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩 10、30 および 90 mg/kg/日を 4 週間反復経口投与したとき、血漿中にイサブコナゾニウムは検出されなかった。イサブコナゾールおよび BAL8728 の AUC は投与量の増加に伴い増加した｡雌雄ともに 10 mg/kg/日で反復経口投与後にイサブコナゾールのわずかな蓄積が認められたが、30 および 90 mg/kg/日では蓄積性は認められなかった。ラットにおけるイサブコナゾールの AUC は性差があり、雌は雄よりも高い AUC を示した。雌雄サルにイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩 10、30 および 90 mg/kg/日を 4 週間反復経口投与したとき、イサブコナゾールの AUC は投与量に比例して増加した。サルでは、イサブコナゾールの蓄積、減少および性差について大きな差は観察されなかった。

3.2 分布

雄性有色ラットに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩を単回経口投与、ならびに（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩を単回静脈内投与したときの放射能の組織内分布を検討した。ブドウ膜および有色皮膚中の（シアノ-^{14}C）標識体由来放射能は投与 144 時間後に定量限界未満に低下したことから、イサブコナゾール関連物質にメラニン親和性はない

と考えられた。一方、（ピリジニルメチル-^{14}C）標識体由来放射能は、投与 672 時間後にブドウ膜に存在し、BAL8728 関連物質のメラニン親和性が示唆された。

雄性アルビノラットに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩 30 mg/kg/日を 21 日間反復経口投与したとき、組織に分布した放射能は、単回投与時、7、14 および 20 回反復投与時と概ね同様であった。（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩の反復投与では、組織への放射能の蓄積は認められないことが示唆された。組織中放射能最高濃度は、本試験では一貫して肝臓と副腎（皮質と髄質を含む）で認められた。21 日間反復経口投与後、放射能はほとんどの組織から、投与後 168 時間までに消失した。

妊娠 14 日目の雌性ラットに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩 5 mg/kg を静脈内投与したとき、胎児中放射能濃度は投与 0.5 時間後では母体の血漿中放射能濃度と同程度であり、投与 48 時間後までに最高濃度の 4%まで速やかに低下した。妊娠 14 日目の雌性ラットに（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩 5 mg/kg を静脈内投与したとき、胎児中放射能濃度は投与 0.5 時間後に母体の血漿中放射能濃度の 0.31 倍となり、投与 48 時間後には検出限界以下に速やかに低下した。イサブコナゾニウム由来成分は胎盤関門を通過して胎児に移行することが示されたが、胎児に移行した放射能は 2 種類の ^{14}C 標識イサブコナゾニウム硫酸塩間で異なっていた。

イサブコナゾールの *in vitro* 血漿蛋白結合率は、試験した各動物種において 0.2～20 µg/mL の濃度範囲でほぼ一定であった。マウスで 98.7～99.1%、Wistar ラットで 97.3～97.9%、SD ラットで 97.3～97.8%、モルモットで 96.4～97.2%、ウサギで 97.3～98.0%、サルで 99.0%、ヒトで 99.2～99.4%であった。

3.3 代謝

イサブコナゾニウムはラット、ウサギ、サルおよびヒト *in vitro* 血漿中では半減期 2 分未満でイサブコナゾールに変換された。一方、イヌ血漿中における 5 分間での変換率は 20%未満だった。ラット、サルおよびヒト血漿中におけるイサブコナゾニウムからイサブコナゾールへの変換は、エステラーゼ阻害剤（1 mmol/L パラオキソン）の添加により完全に阻害されたことから、血漿中エステラーゼの関与が示唆された。

イサブコナゾールを凍結肝細胞とインキュベートした場合、ラット肝細胞では少なくとも 13 種の代謝物、サル肝細胞では 7 種の代謝物およびヒト肝細胞では 6 種の代謝物が観察された。代謝パターンはサルとヒト肝細胞で類似していた。また、ヒト肝細胞により形成された代謝物のピークはいずれもラットおよびサル肝細胞のいずれにおいても検出され、毒性評価動物種が適切であったことが示された。

（シアノ-^{14}C）-または（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩をラット、サルおよびヒトに静脈内または経口投与したときの血漿、尿、胆汁または糞試料を用いて代謝物を同定した。種々の分析法に基づいて、全部で 77 の代謝物の構造を推定した。

血漿中では、ヒトを含むすべての試験種において（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム由来の主成分はイサブコナゾールであった。一方、ヒトを含むすべての試験種において（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム由来の主成分は M4 であった。また、BAL8728 はすべての種で副成分として検出された。イサブコナゾールおよび M4 はそれぞれ（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウムおよび（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム投与後のヒト血漿中総薬物関

連物質の 10%以上を占めたが、その曝露量は、毒性試験に用いられた動物種の 1 種で担保された。

尿中では、イサブコナゾール由来物質として、主にラットで M17 と M18 の混合ピークおよび M15 と M49 の混合ピークが検出された。また、サルでは主に M17 と M62 および M63 の混合ピークが検出された。BAL8728 関連物質としては、ヒトを含むすべての試験種で M4 および M20 が主に検出された。

胆汁中では、イサブコナゾール関連物質として、ラットで主にイサブコナゾールおよび M55 が検出され、サルで主に M73、M74 および M75 の混合ピークが検出された。また、BAL8728 関連物質として、ラットで主に BAL8728 が検出され、サルで主に BAL8728 および M22 が検出された。

ラットおよびサルにおけるイサブコナゾニウムの主な代謝経路は、イサブコナゾニウムの切断、次いでイサブコナゾールおよび BAL8728 の生成であった。ラットおよびサルにおいてはイサブコナゾニウムのチアゾール環切断後、酸化およびその後のグルクロン酸抱合、アセチルシステイン抱合、シアノ基の加水分解およびカルバモイル体の酸化により代謝物が形成された。また、イサブコナゾールは、ラットでは酸化およびその後のグルクロン酸抱合、またはグルタチオン抱合、次にシステイニルグリシン抱合により加水分解を介して代謝され、サルではグルクロン酸抱合、酸化およびその後のグルクロン酸抱合、シアノ基の加水分解、カルバモイル体の酸化またはシステイニルグリシン抱合、次いで加水分解を介してシステイン抱合により代謝された。BAL8728 のカルバモイル基は、ラットおよびサルにおいて酸化またはグルクロン酸抱合により切断・代謝された。また、BAL8728 は、ラットではグルタチオン抱合、次いで加水分解を介したシステイン抱合、サルではシステインおよびアセチルシステイン抱合により代謝された。

3.4 排泄

雄性ラットに ($^{14}C/^{3}H$) -イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩を単回静脈内投与および単回経口投与したとき、投与後 96 時間後までに、投与した ^{14}C 標識体由来放射能の 15.6～18.2%が尿中に、81.3%以上が糞中に排泄された。一方、投与後 96 時間までに、投与した ^{3}H 標識体由来放射能の 83.9%以上が尿中に、6.7～10.9%が糞中に排泄された。

雄性サルに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩または（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩を単回静脈内および単回経口投与したとき、（シアノ-^{14}C）標識体由来放射能は投与後 168 時間までに 37.7～42.9%が尿中に、55.0～58.2%が糞中に排泄された。また、（ピリジニルメチル-^{14}C）標識体由来放射能は投与後 168 時間までに 86.5%以上が尿中に、9.6～10.0%が糞中に排泄された。

ラットにおけるイサブコナゾール関連物質の放射能の主な消失経路は糞中排泄であったが、サルでは、尿中および糞中にほぼ同程度の放射能が排泄された。一方、ラットおよびサルにおける BAL8728 関連物質の放射能の主な消失経路は、いずれの種でも尿中排泄であった。

胆管カニュレーションを施したラットに ($^{14}C/^{3}H$) -イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩を静脈内投与したときの胆汁中排泄率は、イサブコナゾール関連物質では 81.4%、BAL8728 関連物質では 18.8%であった。また、胆管カニュレーションを施したサルに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩または（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩を静脈内投与したときの胆汁中排泄率は、イサブコナゾール関連物質では 55.7%、BAL8728 関連物質では 17.7%

であった。ラットにおいて、イサブコナゾールおよびBAL8728関連物質のいずれにおいても、放射能の腸肝循環が観察された。

分娩後14日目の授乳ラットに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩または（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウム硫酸塩を単回静脈内投与したとき、乳汁中の（シアノ-^{14}C）標識体由来放射能濃度は母体血液中より数倍高かったのに対し、乳汁中の（ピリジニルメチル-^{14}C）標識体由来放射能濃度は母体血液中よりも低かった。また、（シアノ-^{14}C）および（ピリジニルメチル-^{14}C）標識体由来放射能は哺育児組織および胃内乳汁中にも検出されたことから、イサブコナゾニウム由来成分、特にイサブコナゾール由来成分が乳汁を介して哺育児の組織に吸収・分布した可能性が高いと考えられる。

3.5 薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用については、臨床に関する概括評価に記載した［2.5.3.1.11］。

3.6 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

4. 毒性試験

開発初期の段階ではイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩、後期の段階ではイサブコナゾニウム硫酸塩を用いた。いずれの塩フォームを用いてもイサブコナゾールの全身曝露に差は認められなかった。

4.1 単回投与毒性試験

イサブコナゾニウムの単回投与毒性試験の一覧を表 4-1 に示した。

表 4-1 単回投与毒性試験の一覧

動物種／系統	塩	投与方法	投与量 (mg/kg)	GLP	試験番号
ラット／SD	塩化物塩酸	経口	0、500、1000、2000（イサブコナゾールとして 0、277、554、1108）	適	9766-TX-0001
		静脈内 (1 mL/min)	0、5、10、20（イサブコナゾールとして 0、2.8、5.5、11）		
		静脈内 (0.1 mL/min)	10、20、40（イサブコナゾールとして 5.5、11、22）		
カニクイザル	塩化物塩酸	経口	500、1000、2000（イサブコナゾールとして 277、554、1108）	適	9766-TX-0002
		静脈内ボーラス	4、8、16、32、64（イサブコナゾールとして 2.2、4.4、9、18、35）		
		静脈内持続（2 時間）	90、120（イサブコナゾールとして 50、66）		

雌雄ラットにイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩を単回経口投与したときの概略の致死量は 1000 mg/kg（イサブコナゾールとし 554 mg/kg）であった。雄性カニクイザルにイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の 2000 mg/kg（イサブコナゾールとし 1108 mg/kg）を単回経口投与したとき 1/2 例が死亡した。

雌雄ラットにイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩を 1 mL/min の速度で単回静脈内投与したときの概略の致死量は 10 mg/kg（イサブコナゾールとして 5.5 mg/kg）、0.1 mL/min の速度で単回静脈内投与したときの概略の致死量は 40 mg/kg（イサブコナゾールとして 22 mg/kg）であった。雄性カニクイザルにイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の 64 mg/kg（イサブコナゾールとして 35 mg/kg）を単回静脈内ボーラス投与したとき 2/2 例が死亡したが、90 および 120 mg/kg（イサブコナゾールとして 50 および 66 mg/kg）を単回静脈内持続投与（2 時間）したときの死亡は、それぞれ 0/2 および 1/2 例であった。ラット、サル共にイサブコナゾニウムを静脈内投与したときの急性毒性は、投与速度に大きく依存した。

4.2 反復投与毒性試験

イサブコナゾニウムの反復投与毒性試験の一覧を表 4-2 に、イサブコナゾールの反復投与毒性試験の一覧を表 4-3 に、BAL8728 の反復投与毒性試験の一覧を表 4-4 に示した。

表 4-2 イサブコナゾニウムの反復投与毒性試験の一覧 (1)

動物種／系統	塩	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP	試験番号
マウス／CD-1	硫酸	経口	2 週間	0、30、90、180（イサブコナゾールとして 0、16、48、97）	非適	9766-TX-0004
マウス／CD-1	硫酸	経口	13 週間	0、30、90、300（イサブコナゾールとして 0、16、48、161）	適	9766-TX-0005
ラット／Wistar	塩化物塩酸	経口	2 週間	0、30、90（イサブコナゾールとして 0、17、50）	適	9766-TX-0014
ラット／SD	塩化物塩酸	静脈内持続（2 時間）	2 週間	0、10、30、60（イサブコナゾールとして 0、5.5、17、33）	適	9766-TX-0006
ラット／Wistar	塩化物塩酸	静脈内持続（2 時間）	2 週間	0、10、60/30[a)]（イサブコナゾールとして 0、5.5、33/17）	適	9766-TX-0007
ラット／Wistar	硫酸	静脈内持続（24 時間）	2 週間	0、60（イサブコナゾールとして 0、32）	適	9766-TX-0008
ラット／SD	塩酸	経口	4 週間	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.5、17、50）	適	9766-TX-0013
ラット／Wistar	硫酸	静脈内持続（2 または 4 時間）	6 週間	0、10、20、40/30[b)]（イサブコナゾールとして 0、5.4、11、21/16）	適	9766-TX-0009
ラット／SD	硫酸	経口	13 週間	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.4、16、48）	適	9766-TX-0015
ラット／SD	硫酸	経口	26 週間	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.4、16、48）	適	9766-TX-0016

無毒性量に下線を施した

a) 60 mg/kg 投与群で死亡が認められたことから、投与 2 日より投与量を 30 mg/kg に減量

b) 40 mg/kg 投与群で死亡が認められたことから、投与 5 日より投与量を 30 mg/kg に減量

表 4-2 イサブコナゾニウムの反復投与毒性試験の一覧 (2)

動物種／系統	塩	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP	試験番号
カニクイザル	塩化物塩酸	静脈内持続（2 時間）	2 週間	0、10、30、60（イサブコナゾールとして 0、5.5、17、33）	非適	9766-TX-0010
カニクイザル	塩化物塩酸	静脈内持続（2 時間）	2 週間	0、10、30、60（イサブコナゾールとして 0、5.5、17、33）	適	9766-TX-0011
カニクイザル	塩化物塩酸	経口	4 週間	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.5、17、50）	適	9766-TX-0017
カニクイザル	硫酸	静脈内持続（2 または 4 時間）	6 週間	0、10、20、40（イサブコナゾールとして 0、5.4、11、21）	適	9766-TX-0012
カニクイザル	硫酸	経口	13 週間	0、10、20、40（イサブコナゾールとして 0、5.4、11、21）	適	9766-TX-0018
カニクイザル	硫酸	経口	39 週間	0、10、20、40（イサブコナゾールとして 0、5.4、11、21）	適	9766-TX-0019

無毒性量に下線を施した

表 4-3 イサブコナゾールの反復投与毒性試験の一覧

動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP	試験番号
ラット／SD	経口	4 週間	0、10、30、90	適	9766-TX-0020
カニクイザル	経口	2 週間	0、10、30、90	非適	9766-TX-0021

無毒性量に下線を施した

表 4-4 BAL8728 の反復投与毒性試験の一覧

動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP	試験番号
ラット／SD	静脈内ボーラス	2 週間	0、12.5、25、50	適	9766-TX-0022

無毒性量に下線を施した

マウス 13 週間反復経口投与毒性予備試験（9766-TX-0005 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 90 mg/kg（イサブコナゾールとして 48 mg/kg）以上の投与群の雌雄で肝臓重量増加および肝細胞肥大が認められた。ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（9766-TX-0015 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 90 mg/kg（イサブコナゾールとして 48 mg/kg）投与群の雌雄で肝臓重量増加および肝細胞肥大ならびに甲状腺濾胞上皮細胞肥大が認められた。ラット 26 週間反復経口投与毒性試験（9766-TX-0016 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 90 mg/kg（イサブコナゾールとして 48 mg/kg）投与群の雌雄で流涎、肝臓および甲状腺重量の増加、肝細胞肥大ならびに甲状腺濾胞上皮細胞の肥大／過形成が、雄で甲状腺の限局性濾胞上皮細胞過

形成（前がん病変）がそれぞれ認められた。30 mg/kg（イサブコナゾールとして 16 mg/kg）投与群の雌雄で流涎、雄で肝臓重量増加および肝細胞肥大がそれぞれ認められた。サル 4 週間反復経口投与毒性試験（9766-TX-0017 試験）では、イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の 90 mg/kg（イサブコナゾールとして 50 mg/kg）投与群で死亡が認められた。サル 13 週間反復経口投与毒性試験（9766-TX-0018 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 40 mg/kg（イサブコナゾールとして 21 mg/kg）投与群の雌雄で肝臓および副腎重量の増加、肝細胞肥大ならびに副腎の皮質肥大が認められた。サル 39 週間反復経口投与毒性試験（9766-TX-0019 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 40 mg/kg（イサブコナゾールとして 21 mg/kg）投与群の雌雄で肝臓重量増加、雄で副腎重量増加および副腎皮質細胞の肥大を伴う空胞化がそれぞれ認められた。ラットおよびサルの 6 週間反復静脈内持続投与毒性試験（9766-TX-0009 試験および 9766-TX-0012 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 40 mg/kg（イサブコナゾールとして 21 mg/kg）投与群で投与部位の重度の刺激性がみられ、4 週間を越える忍容性は認められなかった。ラット 6 週間反復静脈内持続投与毒性試験では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 40/30 mg/kg（イサブコナゾールとして 21/16 mg/kg）投与群で死亡が認められた。

ラットおよびサル反復投与毒性試験でみられた肝臓の所見は、肝薬物代謝酵素誘導に伴う適応性変化であり、臨床使用時に重篤な肝毒性が発現する可能性は低いと判断された。ラット反復投与毒性試験でみられた甲状腺の所見は、肝臓における適応反応の二次的変化によるげっ歯類に特異的な変化であり、ヒトへの外挿性はないと判断された。サル反復投与毒性試験において、ステロイド合成に関与する CYP に対するイサブコナゾニウムの干渉作用に関連すると考えられる副腎の所見がみられたものの、萎縮や壊死は認められなかったことから、臨床使用において重篤な副作用が発現する可能性は低いと考えられた。ラットおよびサル反復静脈内持続投与毒性試験でみられた投与部位の重度の刺激性は、技術的困難を伴うカテーテル等を用いた実験動物の末梢静脈への反復投与に起因するものと考えられた。

反復投与毒性試験で認められた変化は、概して投与量に依存し、休薬により回復性が認められた。イサブコナゾニウムは、血漿エステラーゼによって活性本体であるイサブコナゾールおよび不活性分解生成物 BAL8728 に迅速かつ完全に加水分解されるプロドラッグである。ラットとサルでは、血漿中にイサブコナゾニウムはほとんどまたは全く認められなかったものの、イサブコナゾールと BAL8728 は認められた。イサブコナゾールの曝露量はラットおよびサルにおいて投与量に応じて増加したが、BAL8728 の曝露量はラットのみで投与量に応じて増加した（9766-TX-0016 試験および 9766-TX-0019 試験）。イサブコナゾニウムを用いた毒性試験では、イサブコナゾールおよび BAL8728 の両方の毒性が評価されたが、それぞれの寄与を明らかにするためにイサブコナゾールまたは BAL8728 単独の毒性試験を実施した（9766-TX-0020 試験および 9766-TX-0021 試験）。その結果、ラットおよびサルにおけるイサブコナゾールの毒性はイサブコナゾニウムの毒性と同様であったが、ラットにおける BAL8728 の毒性は、投与した最高用量まで認められなかった（9766-TX-0022 試験）。以上の結果から、イサブコナゾニウムの毒性は、生体内で速やかに加水分解されて生じたイサブコナゾールに起因すると考えられた。イサブコナゾールの非結合型の曝露量が毒性発現に寄与していると考えられることから、CCDS や SmPC と同様にイサブコナゾールの非結合型の曝露量を用いて考察した。イサブコナゾールの血漿蛋白結合率および非結合型分率を表 4-5 に示した。

表 4-5 イサブコナゾールの血漿蛋白結合率および非結合型分率

動物種	血漿蛋白結合率 (%)				血漿蛋白非結合型分率 (%)
	イサブコナゾールの濃度			平均	
	0.2 µg/mL	2 µg/mL	20 µg/mL		
マウス	99.1	99.0	98.7	98.9	1.1
Wistar ラット	97.7	97.9	97.3	97.6	2.4
SD ラット	97.8	97.8	97.3	97.6	2.4
ウサギ	98.0	97.5	97.3	97.6	2.4
カニクイザル	99.0	99.0	99.0	99.0	1.0
ヒト	99.2	99.4	99.3	99.3	0.7

9766-ME-1011 試験［4.2.2.3-6］の Table 18 を改変

重要な毒性試験におけるイサブコナゾールの曝露量とヒトにイサブコナゾニウム硫酸塩の臨床維持用量を反復投与した際のイサブコナゾールの曝露量（以下、臨床曝露量）の比を、静脈内投与については表 4-6 に、経口投与については表 4-7 に示した。

表 4-6 毒性試験におけるイサブコナゾールの曝露量と臨床曝露量の比（静脈内投与）

試験番号 試験の種類	投与量 (mg/kg/日)	性別	C_{max} (ng/mL)		AUC (ng·hr/mL)		特記事項	曝露量比 [a]	
			Total	非結合型	Total	非結合型		C_{max}	AUC
9766-TX-0009 ラット 6 週間 静脈内投与	20 （無毒性量）	雄	1180	28.3	算出せず	算出せず	投与部位における局所刺激性を指標として無毒性量を設定	0.5 倍	算出せず
		雌	1440	34.6				0.7 倍	
	40/30[b] （最小毒性量）	雄	2730[c]	65.5				1.2 倍	
		雌	1761[d]	42.3				0.8 倍	
9766-TX-0012 サル 6 週間 静脈内投与	10 （無毒性量）	雄	2610	26.1	13600	136	投与部位における局所刺激性、肝臓の大型化、肝細胞肥大を指標として無毒性量を設定	0.5 倍	0.2 倍
		雌	2150	21.5	13600	136		0.4 倍	0.2 倍
	20 （最小毒性量）	雄	4460	44.6	31100	311		0.8 倍	0.4 倍
		雌	15300	153	56100	561		2.9 倍	0.7 倍

a) 各毒性試験の最終投与週のイサブコナゾール（非結合型）の C_{max} あるいは AUC／9766-CL-0017 試験（2.7.2.2.5.2）でイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg（イサブコナゾールとして 200 mg）を健康成人に 13 日間反復経口投与した際のイサブコナゾール（非結合型）の C_{max} (52.5 ng/mL) および AUC (850 ng·hr/mL)

b) 40 mg/kg 投与群で死亡が認められたことから、投与 5 日より投与量を 30 mg/kg に減量

c) Day 28 の値

d) Day 14 の値

表 4-7 毒性試験におけるイサブコナゾールの曝露量と臨床曝露量の比（経口投与）

試験番号 試験の種類	投与量 (mg/kg/日)	性別	C_{max} (ng/mL)		AUC (ng·hr/mL)		特記事項	曝露量比 a)	
			Total	非結合型	Total	非結合型		C_{max}	AUC
9766-TX-0015 ラット 13 週間 経口投与	30 （無毒性量）	雄	1810	43.4	10500	252	肝臓重量増加、肝細胞肥大、甲状腺濾胞上皮細胞肥大を指標として無毒性量を設定	0.8 倍	0.3 倍
		雌	2620	62.9	21900	526		1.2 倍	0.6 倍
	90 （最小毒性量）	雄	3580	85.9	25200	605		1.6 倍	0.7 倍
		雌	8380	201	56900	1370		3.8 倍	1.6 倍
9766-TX-0016 ラット 26 週間 経口投与	10 （無毒性量）	雄	497	11.9	2770	66.5	肝臓重量増加を指標として無毒性量を設定	0.2 倍	0.1 倍
		雌	1300	31.2	11500	276		0.6 倍	0.3 倍
	30 （最小毒性量）	雄	1780	42.7	12600	302		0.8 倍	0.4 倍
		雌	7890	189	35400	850		3.6 倍	1.0 倍
9766-TX-0018 サル 13 週間 経口投与	20 （無毒性量）	雄	3070	30.7	24300	243	肝臓重量増加、肝細胞肥大、副腎重量増加、副腎の皮質肥大を指標として無毒性量を設定	0.6 倍	0.3 倍
		雌	2170	21.7	24100	241		0.4 倍	0.3 倍
	40 （最小毒性量）	雄	7360	73.6	94600	946		1.4 倍	1.1 倍
		雌	7570	75.7	89900	899		1.4 倍	1.1 倍
9766-TX-0019 サル 39 週間 経口投与	20 （無毒性量）	雄	2840	28.4	36000	360	肝臓重量増加、副腎重量増加、副腎皮質細胞の肥大を伴う空胞化を指標として無毒性量を設定	0.5 倍	0.4 倍
		雌	2580	25.8	30400	304		0.5 倍	0.4 倍
	40 （最小毒性量）	雄	6700	67.0	87800	878		1.3 倍	1.0 倍
		雌	7930	79.3	98100	981		1.5 倍	1.2 倍

a) 各毒性試験の最終投与週のイサブコナゾール（非結合型）の C_{max} および AUC／9766-CL-0017 試験（2.7.2.2.5.2）でイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg（イサブコナゾールとして 200 mg）を健康成人に 13 日間反復経口投与した際のイサブコナゾール（非結合型）の C_{max} (52.5 ng/mL) および AUC (850 ng·hr/mL)

4.3 遺伝毒性試験

[1] イサブコナゾニウム

イサブコナゾニウムの主な遺伝毒性試験の一覧を表 4-8 に示した。

表 4-8 イサブコナゾニウムの主な遺伝毒性試験の一覧

試験の種類	試験系	塩	投与方法	投与量 (mg/kg) または処理量	GLP	試験番号
復帰突然変異（Ames）	ネズミチフス菌	塩化物塩酸	*in vitro*	0、0.316～1000 μg/plate	適	9766-TX-0023
遺伝子突然変異（マウスリンフォーマ TK）	マウスリンパ腫細胞	塩化物塩酸	*in vitro*	0、5～140 μg/mL	適	9766-TX-0027
骨髄小核	ラット／Wistar	塩化物塩酸	単回静脈内	0、6.25、12.5、25（イサブコナゾールとして 0、3.5、7、14）	適	9766-TX-0030

細菌を用いた復帰突然変異試験（9766-TX-0023 試験）では、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。ほ乳類の培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（9766-TX-0027 試験）では、細胞毒性がみられる用量で突然変異頻度のわずかな増加が認められた。ラット骨髄小核試験（9766-TX-0030 試験）では、用量設定試験において、イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の静脈内投与による最大非致死量は 25 mg/kg と結論された。最大非致死量であるイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の 25 mg/kg（イサブコナゾールとして 14 mg/kg）をラットに単回静脈内投与したとき、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の増加は認められなかった。

[2] イサブコナゾール

イサブコナゾールはアゾール環を有することから、イサブコナゾールの遺伝毒性試験も実施した。イサブコナゾールの遺伝毒性試験の一覧を表 4-9 に示した。

表 4-9 イサブコナゾールの遺伝毒性試験の一覧

試験の種類	試験系	投与方法	処理量	GLP	試験番号
復帰突然変異（Ames II™） a)	ネズミチフス菌	*in vitro*	0、4.9～5000 μg/mL	非適	9766-TX-0031
In vitro 小核	マウスリンパ腫細胞	*in vitro*	0、8.9～157.8 μg/mL	非適	9766-TX-0032

a) 細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）の変法

イサブコナゾールの Ames II™ 試験（9766-TX-0031 試験）では、復帰変異コロニー数の増加は認められず、また、*in vitro* 小核試験（9766-TX-0032 試験）において小核を有する細胞の増加は認められなかった。

以上の結果より、イサブコナゾニウムおよびイサブコナゾールは遺伝毒性を有さないと考えられた。また、イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩を用いたラット骨髄小核試験（9766-TX-0030試験）の TK 試験において BAL8728 の全身曝露が確認されたことから、BAL8728 も本試験系で検出可能な遺伝毒性を有さないと考えられた。この考察は、DEREK Nexus v2.0.0 を用いた *in silico* 解析の結果、BAL8728 の構造が遺伝毒性警告を有さなかったことからも支持されると考えられた。

4.4 がん原性試験

イサブコナゾニウムのがん原性試験の一覧を表 4-10 に示した。

表 4-10 がん原性試験の一覧

試験の種類	動物種／系統	塩	投与方法	投与量（mg/kg/日）	GLP	試験番号
2 年間がん原性	マウス／B6C3F1	硫酸	経口	雄：0、10、30、100（イサブコナゾールとして 0、5.4、16、54） 雌：0、30、100、300/200[a)]（イサブコナゾールとして 0、16、54、161/107）	適	9766-TX-0073
2 年間がん原性	ラット／Wistar	硫酸	経口	雄：0、20、60、300（イサブコナゾールとして 0、11、32、161） 雌：0、15、45、200（イサブコナゾールとして 0、8、24、107）	適	9766-TX-0072

a) 300 mg/kg 投与群で死亡が認められたことから、投与 81 週より投与量を 200 mg/kg に減量

マウス 2 年間がん原性試験（9766-TX-0073 試験）では、肝臓（雌雄）に対する発がん性が認められた。10 mg/kg（イサブコナゾールとして 5.4 mg/kg）以上の投与群の雄および 100 mg/kg（イサブコナゾールとして 54 mg/kg）以上の投与群の雌で肝細胞腺腫の発生頻度の統計学的に有意な増加が認められた。100 mg/kg 投与群の雄および 300/200 mg/kg（イサブコナゾールとして 161/107 mg/kg）投与群の雌で肝細胞癌の発生頻度の有意な増加が認められた。100 mg/kg 投与群の雄で肝芽細胞腫の発生頻度の有意な増加が認められた。100 mg/kg 以上の投与群の雌の肝臓で血管腫の発生頻度の有意な増加が認められた。

ラット 2 年間がん原性試験（9766-TX-0072 試験）では、皮膚（雄）、肝臓（雄）、甲状腺（雌雄）および子宮に対する発がん性が認められた。皮膚（皮下組織を含む）では、300 mg/kg（イサブコナゾールとして 161 mg/kg）投与群の雄で良性の線維腫の発生頻度の統計学的に有意な増加が認められた。なお、対照群を含む各群で皮膚（皮下組織を含む）、腹腔あるいは体幹に線維肉腫の発生が散見されたが、皮膚および全身組織における線維肉腫の発生頻度のいずれにも統計学的に有意な増加はなかった。肝臓では、300 mg/kg 投与群の雄で肝細胞腺腫および肝細胞癌の発生頻度の有意な増加が認められた。甲状腺では、60 mg/kg（イサブコナゾールとし

て 32 mg/kg）以上の投与群の雄および 200 mg/kg（イサブコナゾールとして 107 mg/kg）投与群の雌で濾胞上皮細胞腺腫の発生頻度の有意な増加が認められた。子宮では、200 mg/kg 投与群の雌で子宮内膜腺癌の発生頻度の有意な増加が認められた。なお、45 mg/kg（イサブコナゾールとして 24 mg/kg）投与群の雌で子宮内膜腺腫が 2 例、子宮内膜腺癌が 1 例みられたが、その発生頻度について統計学的有意差は認められないこと、本試験で用いた系統のラットにおいて子宮内膜腺腫および子宮内膜腺癌は自然発生することから、45 mg/kg 投与群でみられた子宮の腫瘍はイサブコナゾニウム硫酸塩投与の影響ではないと考えられた。

最小発がん量におけるイサブコナゾールの曝露量と臨床曝露量の比を表 4-11 に示した。

表 4-11 最小発がん量におけるイサブコナゾールの曝露量と臨床曝露量の比

器官	腫瘍所見	マウス		ラット	
		最小発がん量（mg/kg/日）	マウスとヒトの曝露量の比 a)	最小発がん量（mg/kg/日）	ラットとヒトの曝露量の比 b)
肝臓	肝細胞腺腫	雄：10 雌：100	雄：0.1 倍 雌：1.0 倍	雄：300 雌：−	雄：2.6 倍 雌：−
	肝細胞癌	雄：100 雌：300/200	雄：0.6 倍 雌：1.9 倍	雄：300 雌：−	雄：2.6 倍 雌：−
	血管腫	雄：− 雌：100	雄：− 雌：1.0 倍	雄：− 雌：−	雄：− 雌：−
	肝芽細胞腫	雄：100 雌：−	雄：0.6 倍 雌：−	雄：− 雌：−	雄：− 雌：−
甲状腺	濾胞上皮細胞腺腫	雄：− 雌：−	雄：− 雌：−	雄：60 雌：200	雄：0.8 倍 雌：3.8 倍
皮膚	皮膚線維腫	雄：− 雌：−	雄：− 雌：−	雄：300 雌：−	雄：2.6 倍 雌：−
子宮	子宮内膜腺癌	雄：− 雌：−	雄：− 雌：−	雄：− 雌：200	雄：− 雌：3.8 倍

−：該当なし

a) マウス 2 年間がん原性試験の投与 26 週のイサブコナゾール（非結合型）の AUC／9766-CL-0017 試験（2.7.2.2.5.2）でイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg（イサブコナゾールとして 200 mg）を健康成人に 13 日間反復経口投与した際のイサブコナゾール（非結合型）の AUC (850 ng·hr/mL)

b) ラット 2 年間がん原性試験の投与 26 週のイサブコナゾール（非結合型）の AUC／9766-CL-0017 試験（2.7.2.2.5.2）でイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg（イサブコナゾールとして 200 mg）を健康成人に 13 日間反復経口投与した際のイサブコナゾール（非結合型）の AUC (850 ng·hr/mL)

臨床曝露量に対し、マウスでは 0.1～1.9 倍、ラットでは 2.6 倍で肝細胞腫瘍（腺腫／癌）が認められた。さらに、肝臓の血管腫が雌性マウスで臨床曝露量の 1.0 倍で、肝芽細胞腫が雄性マウスで臨床曝露量の 0.6 倍で認められた。肝臓の血管腫および肝芽細胞腫は、その発生部位および発生頻度から、肝細胞腫瘍に続発したものと考えられた。ラットでは甲状腺において、濾胞上皮細胞腺腫が臨床曝露量に対し、雄では 0.8 倍、雌では 3.8 倍で認められた。これら肝臓および甲状腺の腫瘍は、肝薬物代謝酵素誘導に起因する変化であり、ヒトへの外挿性はないと判断した。

雄性ラットにおいて、臨床曝露量の 2.6 倍で皮膚線維腫（良性）の発生頻度の統計学的に有意な増加が認められた。一方、雄性ラットよりも高い曝露量を示した雌性ラット（臨床曝露量の 3.8 倍）およびマウスにおいては線維腫の発生頻度の増加は認められなかった。したがって、ヒトにおいて悪性の皮膚腫瘍が発生する可能性は低いと考えられた。

雌性ラットにおいて、臨床曝露量の 3.8 倍で子宮内膜腺癌が認められた。一方、マウスでは認められず、また、サル 39 週間反復経口投与毒性試験では、最高用量（臨床曝露量の 1.2 倍）で子宮の病理組織学的所見は認められなかった。イサブコナゾニウム硫酸塩は遺伝毒性物質ではない。したがって、イサブコナゾニウム硫酸塩を臨床推奨用量・用法に従って投与した場合の発がんリスクは小さいと考えられた。

4.5 生殖発生毒性試験

イサブコナゾニウムの生殖発生毒性試験（重要な試験）の一覧を表 4-12 に示した。

表 4-12 イサブコナゾニウムの生殖発生毒性試験（重要な試験）の一覧

試験の種類	動物種／系統	塩	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP	試験番号
FEED	ラット／Wistar	硫酸	経口	雄：交配前 4 週間～剖検前日 雌：交配前 2 週間～妊娠 6 日	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.4、16、48）	適	9766-TX-0049
EFD	ラット／Wistar	塩化物塩酸	経口	妊娠 6～17 日	0、6、30、150（イサブコナゾールとして 0、3.3、17、83）	適	9766-TX-0052
EFD	ウサギ／Himalayan	塩化物塩酸	経口	妊娠 6～18 日	0、10、20、45（イサブコナゾールとして 0、5.5、11、25）	適	9766-TX-0055
PPND	ラット／Wistar	硫酸	経口	妊娠 6 日～分娩後 20 日	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.4、16、48）	適	9766-TX-0056

4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（9766-TX-0049 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 90 mg/kg 投与群の雌雄において肝臓重量の増加、母動物において妊娠期間中の体重増加抑制および摂餌量の減少が認められた。雌雄動物の生殖能力および初期胚発生に及ぼす影響は認められなかった。以上の結果より、本試験における無毒性量は、雌雄動物に及ぼす一般毒性学的影響に対しては肝臓重量ならびに母動物の体重および摂餌量への影響がみ

られない 30 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 16 mg/kg/日）、生殖能力および初期胚発生に対しては 90 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 48 mg/kg/日）と判断された。

4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラット胚・胎児発生に関する試験（9766-TX-0052 試験）では、イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の 150 mg/kg 投与群において母動物の一過性の体重増加抑制および摂餌量の減少ならびに肝臓重量の増加が認められた。妊娠末期の観察（黄体数、着床数、胚・胎児の生死、胎児重量など）ならびに胎児の外表および内臓検査では被験物質投与の影響は認められなかった。胎児の骨格検査では、6 mg/kg 以上の投与群において頸部痕跡肋骨、30 mg/kg 以上の投与群において頬骨弓癒合および短小過剰肋骨、150 mg/kg 投与群において第 4 腰椎弓の過剰化骨および完全過剰肋骨の発生率の増加がそれぞれ認められた。以上の結果より、本試験における無毒性量は、母動物に及ぼす一般毒性学的影響に対しては体重、摂餌量および肝臓重量への影響がみられない 30 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 17 mg/kg/日）、次世代の発生に対しては胎児骨格への影響がみられたため 6 mg/kg/日未満（イサブコナゾールとして 3.3 mg/kg/日未満）と判断された。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験（9766-TX-0055 試験）では、母動物、妊娠末期の観察（黄体数、着床数、胚・胎児の生死、胎児重量など）および胎児の外表検査においてイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩投与の影響は認められなかった。胎児の内臓検査では 45 mg/kg 投与群において大動脈弓過剰起始、骨格検査では 45 mg/kg 投与群において頸部痕跡肋骨の発生率の増加がそれぞれ認められた。以上の結果より、本試験における無毒性量は、母動物に及ぼす一般毒性学的影響に対しては 45 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 25 mg/kg/日）、次世代の発生に対しては胎児の内臓および骨格への影響がみられない 20 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 11 mg/kg/日）と判断された。

胎児骨格異常発生率の増加がみられた際のイサブコナゾールの曝露量のまとめを表 4-13 に示した。ラットおよびウサギにおいて、それぞれ臨床曝露量を下回る曝露量で、胎児に骨格異常（催奇形性）が認められた。催奇形性は他のアゾール系抗真菌薬においても報告されている。

表 4-13 胎児骨格異常発生率の増加がみられた際のイサブコナゾールの曝露量

動物種／試験の種類	最小毒性量（mg/kg/日）	AUC (ng·hr/mL)		曝露量比 [a)]
		Total	非結合型	非結合型
ラット／EFD	6	3790[b)]	91.0	0.1 倍
ウサギ／EFD	45	6950[c)]	167	0.2 倍

a) ラットまたはウサギ EFD 試験のイサブコナゾール（非結合型）の AUC／9766-CL-0017 試験（2.7.2.2.5.2）でイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg（イサブコナゾールとして 200 mg）を健康成人に 13 日間反復経口投与した際のイサブコナゾール（非結合型）の AUC (850 ng·hr/mL)
b) 妊娠 17 日
c) 妊娠 6 日

4.5.3 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（9766-TX-0056 試験）では、イサブコナゾニウム硫酸塩の 90 mg/kg（イサブコナゾールとして 48 mg/kg）投与群の母動物に

おいて妊娠期間中に一過性の体重増加抑制および摂餌量の減少が認められた。妊娠期間、分娩、出生率、死産児数および生存出生児数に被験物質投与の影響は認められなかった。90 mg/kg 投与群において F1 出生児の生後 4 日生存率の減少が認められた。生後 0～4 日に死亡した出生児では胃内にミルクがみられない例が多かった。生存した出生児の成長、発達および生殖能力への影響は認められなかった。以上の結果より、本試験における無毒性量は、母動物に及ぼす一般毒性学的影響に対しては体重および摂餌量に影響がみられない 30 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 16 mg/kg/日）、母動物の生殖に及ぼす影響に対しては哺育（生後 4 日生存率）への影響がみられない 30 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 16 mg/kg/日）、次世代に対しては生後 4 日生存率への影響がみられない 30 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 16 mg/kg/日）と判断された。

次世代に対する無毒性量および最小毒性量におけるイサブコナゾールの曝露量のまとめを表 4-14 に示した。ラットにおいて、臨床曝露量の 1.7 倍で周産期死亡（生後 4 日生存率の減少）が認められた。出生児生存率の減少は他のアゾール系抗真菌薬においても報告されている。

表 4-14 次世代に対する無毒性量および最小毒性量におけるイサブコナゾールの曝露量

動物種／試験の種類	投与量（mg/kg/日）	AUC (ng·hr/mL)		曝露量比 a)
		Total	非結合型	非結合型
ラット／PPND	無毒性量：30	13000	312	0.4 倍
	最小毒性量：90	59600	1430	1.7 倍

a) ラット PPND 試験の最終投与日（分娩後 20 日）のイサブコナゾール（非結合型）の AUC／9766-CL-0017 試験（2.7.2.2.5.2）でイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg（イサブコナゾールとして 200 mg）を健康成人に 13 日間反復経口投与した際のイサブコナゾール（非結合型）の AUC (850 ng·hr/mL)

4.6 新生児を用いた試験

海外においては小児適用のための開発プログラムが進められているため、新生児を用いた試験が実施された。イサブコナゾニウムの新生児を用いた試験の一覧を表 4-15 に示した。

表 4-15 新生児を用いた試験の一覧

試験の種類	動物種／系統	塩	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP	試験番号
用量設定	ラット（4 日齢）／SD	硫酸	経口	2 週間	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.4、16、48）	非適	9766-TX-0065
反復投与毒性				13 週間	0、10、30、90（イサブコナゾールとして 0、5.4、16、48）	適	9766-TX-0066

反復投与毒性試験の無毒性量に下線を施した

イサブコナゾニウム硫酸塩の 10、30 および 90 mg/kg を幼若ラット（4 日齢）に 1 日 1 回 13 週間反復経口投与したときの無毒性量は 10 mg/kg/日（イサブコナゾールとして 5.4 mg/kg/日）

であった（9766-TX-0066 試験）。幼若ラットでは、30 mg/kg（イサブコナゾールとして 16 mg/kg）以上の投与群で成熟ラットを用いた反復投与毒性試験と同様な毒性所見が肝臓および甲状腺で認められた。また、90 mg/kg（イサブコナゾールとして 48 mg/kg）投与群の雌において、赤血球数、ヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少ならびに活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。幼若ラットでみられた毒性所見は 4 週間の休薬による回復性が認められた。

4.7 局所刺激性試験

イサブコナゾニウムの局所刺激性試験の一覧を表 4-16 に示した。

表 4-16 局所刺激性試験の一覧

試験の種類	動物種／系統	塩	投与方法	投与液の濃度（mg/mL）	GLP	試験番号
眼刺激性（ドレーズ法）	ウサギ／日本白色種	塩化物塩酸	点眼 0.1 mL	0、0.5、1、5、10	適	9766-TX-0058
皮膚刺激性（血管透過性）			皮内 0.1 mL	0、0 (pH 3.5)、0.1、0.5、1、5、10		
皮膚刺激性（7 日間観察：ドレーズ法）						

局所刺激性試験（9766-TX-0058 試験）ではウサギを用いて眼および皮膚刺激性を検討した。5 mg/mL 以上の濃度のイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の点眼により眼刺激性が認められた。0.1、0.5 および 1 mg/mL の濃度のイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の皮内投与により血管透過性のわずかな増加が、5 mg/mL 以上の濃度では明らかな増加が認められた。ドレーズ法による肉眼的観察では 10 mg/mL の濃度のイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の皮内投与により皮膚刺激性が認められた。以上の結果より、本試験における眼および皮膚刺激性に対する無毒性量は 1 mg/mL と判断された。

4.8 その他の毒性試験

4.8.1 抗原性試験

イサブコナゾニウムの抗原性試験の一覧を表 4-17 に示した。

表 4-17 抗原性試験の一覧

試験の種類	動物種／系統	塩	投与方法	GLP	試験番号
抗原性（ASA、PCA 反応）	モルモット／Hartley	塩化物塩酸	感作：皮内、誘発：静脈内	適	9766-TX-0059
皮膚感作性（局所リンパ節増殖）	マウス／CBA	硫酸	1 日 1 回 3 日間、耳介に塗布	適	9766-TX-0062

モルモットを用いたイサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の全身性アナフィラキシー試験および受動的皮膚アナフィラキシー試験（9766-TX-0059 試験）において、ASA および PCA 反応共に陰性であった。

マウスを用いた局所リンパ節増殖試験（9766-TX-0062 試験）において、イサブコナゾニウム硫酸塩は皮膚感作性物質と判定された。

4.8.2 不純物の毒性試験

マウス単回経口投与毒性試験（9766-TX-0003 試験）における [redacted] の概略の致死量は 450 mg/kg であった。 不純物M* は、細菌を用いた復帰突然変異試験（9766-TX-0064 試験および 9766-TX-0033 試験）およびほ乳類の培養細胞を用いた *in vitro* 小核試験（9766-TX-0034 試験）において陰性であった。[redacted] は、細菌を用いた復帰突然変異試験（9766-TX-0036 試験）およびほ乳類の培養細胞を用いた *in vitro* 小核試験（9766-TX-0037 試験）において陽性を示したが、原薬中の含有量は TTC 未満で管理されている。[redacted] は、細菌を用いた復帰突然変異試験（9766-TX-0035 試験）において陽性を示したが、原薬中の含有量は TTC 未満で管理されている。[redacted]、BAL19715、 不純物E* および 不純物H* は、細菌を用いた復帰突然変異試験（9766-TX-0038 試験、9766-TX-0044 試験、9766-TX-0046 試験および 9766-TX-0047 試験）で陰性であった。BAL19715 および 不純物N* は、ほ乳類の培養細胞を用いた *in vitro* 小核試験（9766-TX-0045 試験および 9766-TX-0048 試験）において陰性であった。 不純物J* は、細菌を用いた復帰突然変異試験（9766-TX-0039 試験）において陽性を示したが、マウス用いた骨髄小核試験（9766-TX-0040 試験および 9766-TX-0041 試験）およびラットを用いた不定期 DNA 合成試験（9766-TX-0042 試験および 9766-TX-0043 試験）において陰性であったことから、*in vivo* では遺伝毒性がないことが示唆された。

4.8.3 その他の試験

イサブコナゾニウムのその他の試験の一覧を表 4-18 に示した。

表 4-18 その他の試験の一覧

試験の種類	試験系	塩	処理濃度	GLP	試験番号
光毒性	マウス 3T3 線維芽細胞	塩化物塩酸	0.49～300 µg/mL	非適	9766-TX-0061
溶血性	ヒト血液	塩化物塩酸	0、0 (pH 3.5)、0.05～10 mg/mL	適	9766-TX-0060

マウス 3T3 線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験（9766-TX-0061 試験）において、光毒性は認められなかった。

ヒト血液を用いた *in vitro* 溶血性試験（9766-TX-0060 試験）では、イサブコナゾニウム塩化物塩酸塩の 1 mg/mL 以上の濃度で溶血性が認められた。しかしながら、本試験における非溶血濃度 0.5 mg/mL（イサブコナゾールとして 0.28 mg/mL）は、AK1820-101 試験（2.7.2.6.2）でイサブコナゾニウム硫酸塩の 372.6 mg（イサブコナゾールとして 200 mg）を健康男性に 16 日間反復静脈内投与した際のイサブコナゾールの C_{max} (10969.7 ng/mL) の 26 倍に相当した。さらに、

静脈内投与による毒性試験において溶血は認められなかった。以上のことから、イサブコナゾニウムの静脈内投与による溶血リスクは小さいと考えられた。

5. 総括および結論

5.1 薬理試験の総括

- イサブコナゾールは、真菌のエルゴステロール生成を阻害し、真菌感染症の原因となる幅広い真菌に対して抗真菌作用を示した。
- 各種感染動物モデルにおけるイサブコナゾニウム硫酸塩の有効性と最も関連する PK/PD パラメータは AUC/MIC であった。
- 副次的薬理試験および安全性薬理試験の結果より、イサブコナゾニウム硫酸塩は QT 間隔の短縮に関与する可能性が考えられた。その他に問題となる作用を惹起する可能性は低いと考えられた。

5.2 薬物動態試験の総括

- ラットおよびサルにイサブコナゾニウムを静脈内および経口投与後、速やかにイサブコナゾールおよび BAL8728 に変換された。また、イサブコナゾニウムを経口投与時、良好な経口吸収性を示した。
- アルビノラットに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウムを反復経口投与したとき、組織への放射能の蓄積は認められなかった。一貫して肝臓および副腎（皮質および髄質を含む）で高放射能濃度が観察された。
- 妊娠ラットおよび授乳ラットに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウムまたは（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウムを静脈内投与したとき、イサブコナゾールおよび BAL8728 由来物質は胎盤関門を通過し、乳汁中にも排泄された。
- 肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験において、イサブコナゾールは一酸化体にわずかに代謝され、その後抱合反応を受けた。*In vitro* 代謝パターンはサルとヒトで類似していた。全ての毒性評価動物種において、ヒトで検出された代謝物がすべて検出され、ヒト特異的代謝物が存在しないことから、毒性評価動物として適切であったと判断された。
- ラット、サルおよびヒトの *in vivo* 代謝試験において、（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウムおよび（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウムのヒト血漿中総薬物関連物質のそれぞれ 10%以上であったイサブコナゾールおよび M4 の曝露量は、毒性試験に用いられた動物種の一種で担保された。
- ラットに (^{14}C/^{3}H) -イサブコナゾニウム、あるいはサルに（シアノ-^{14}C）-イサブコナゾニウムおよび（ピリジニルメチル-^{14}C）-イサブコナゾニウムを静脈内および経口投与したとき、ラットではイサブコナゾール関連物質放射能は主に糞中に排泄されたが、サルでは尿中および糞中にほぼ同程度排泄された。一方、ラットおよびサルにおける BAL8728 関連物質放射能の主な消失経路は、いずれも尿中への排泄であった。

5.3 毒性試験の総括

- 一般毒性試験
  - ラットおよびサルを用いた反復投与毒性試験でみられた肝臓の所見は、肝薬物代謝酵素誘導に伴う適応性変化であり、臨床使用時に重篤な肝毒性が発現する可能性は低いと判断された。
  - ラットを用いた反復投与毒性試験でみられた甲状腺の所見は、げっ歯類に特異的な変化であり、ヒトへの外挿性はないと判断された。
  - サルを用いた反復投与毒性試験では、ステロイド合成に関与する CYP に対するイサブコナゾニウムの干渉作用に関連すると考えられる副腎の所見がみられたものの、萎縮や壊死は認められなかったことから、臨床使用において重篤な副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

- 遺伝毒性試験
  - イサブコナゾニウムおよびイサブコナゾールは遺伝毒性を有さなかった。

- がん原性試験
  - マウスおよびラットでみられた肝臓腫瘍ならびにラットでみられた甲状腺腫瘍は、肝薬物代謝酵素誘導に起因する変化であり、ヒトにおける催腫瘍性を示唆するものではないと判断された。
  - 雄性ラットにおいて良性の皮膚線維腫の発生頻度の統計学的に有意な増加が認められたが、雄性ラットよりも高い曝露量を示した雌性ラットおよびマウスにおいては皮膚線維腫の発生頻度の増加は認められなかったことから、ヒトにおいて悪性の皮膚腫瘍が発生する可能性は低いと考えられた。
  - 雌性ラットにおいて子宮内膜腺癌の統計学的に有意な増加が認められたが、イサブコナゾニウム硫酸塩は遺伝毒性物質ではないことから、イサブコナゾニウム硫酸塩を臨床推奨用量・用法に従って投与した場合の発がんリスクは小さいと考えられた。

- 生殖発生毒性試験
  - ラットおよびウサギにおいて、それぞれ臨床曝露量を下回る曝露量で、胎児に骨格異常（催奇形性）が認められたことから、妊婦または妊娠している可能性のある女性に対して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可能と考えられた。

5.4 結論

以上の薬理学的、薬物動態学的および毒性学的検討の結果から、イサブコナゾニウム硫酸塩は安全性に大きな問題はなく、深在性真菌感染症の治療に使用できる忍容性良好かつ投与が容易で抗真菌スペクトルが広い抗真菌薬という重要なメディカルニーズを満たす薬剤として、医療現場に新たな選択肢を提供するものと判断された。