目次

1. 緒言 2
2. 有効成分に関する情報 2
3. 薬剤クラス及び科学的背景 3
4. 申請する効能又は効果、用法及び用量 3
5. 参考文献 3

非臨床試験に関する緒言

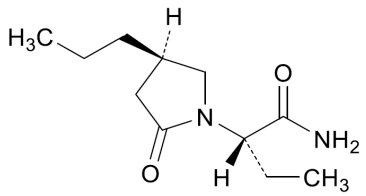
1.　緒言

ブリーバラセタム（開発コード：ucb 34714）は、分子量 212.29 の 2-ピロリドン誘導体(2*S*)-2-[(4*R*)-2-オキソ-4-プロピルピロリジン-1-イル]ブタンアミドである。ブリーバラセタムは中枢神経系（CNS）に作用する物質であり、UCB Pharma S.A.により、16 歳以上のてんかん患者の二次性全般化発作を伴う又は伴わない部分発作に対する併用療法として開発されている。経口投与を主要投与経路とする予定である。静脈内投与は、一時的に経口投与ができない患者のための代替投与経路である。

ブリーバラセタムが最初に合成されたのは、シナプス小胞たん白質 2A（SV2A）として同定されたレベチラセタム結合部位への選択的かつ高親和性のリガンドを特定することを目的とした UCB Pharma S.A.の創薬プログラムにおいてである。

てんかんは、直接的で明確な原因のない、再発性（2 回以上）のてんかん発作を特徴とする病態と定義され（Berg et al, 2010）、世界で約 7000 万人が罹患している最も一般的な脳の神経障害の一つである（Ngugi et al, 2010）。部分発作（POS）を含むてんかんの主な治療法は薬物療法であり、てんかん患者のほとんどが長期薬物療法を必要とする。てんかんは、抗てんかん薬（AED）で治療されることが最も多く、現在、20 種類以上の AED が利用可能である（Perucca and Tomson, 2011）。しかし、てんかん患者の 30～40%では、いくつかの異なる AED による単剤療法又は 2 種類以上の AED による併用療法を行っても、発作がコントロールされず継続する（Kwan and Brodie, 2000; Brodie and Kwan, 2001）。よって、さらなる AED の選択肢に対する明らかなアンメットメディカルニーズが存在する。

2.　有効成分に関する情報

JAN:	（日本名）：ブリーバラセタム、（英 名）：Brivaracetam
INN:	Brivaracetam
化学名：	(2*S*)-2-[(4*R*)-2-oxo-4-propylpyrrolidin-1-yl]butanamide
社内コード：	ucb 34714
CAS 登録番号：	357336-20-0
分子式：	$C_{11}H_{20}N_2O_2$
分子量：	212.29
構造式：	

3. 薬剤クラス及び科学的背景

非臨床試験及び臨床試験の結果から、ブリーバラセタムは、世界保健機関（WHO）の解剖治療化学分類法により抗てんかん薬に分類される。

ブリーバラセタムは、てんかんの治療において幅広い可能性を持つと考えられている。このことは、部分てんかん、薬剤耐性てんかん、全般てんかんの動物モデルで認められた強力かつ有意な発作抑制効果、及びレベチラセタムにより既に臨床的に検証済みの主要な SV2A を介した作用機序により裏付けられている。1 種類の微量な代謝産物が非常に弱い抗けいれん作用を示すのみであることから、ブリーバラセタムの発作抑制効果は、未変化体によるものと考えられる。

4. 申請する効能又は効果、用法及び用量

ブリィビアクト錠 25mg、同錠 50mg	【効能又は効果】 てんかん患者の部分発作（二次性全般化発作を含む） 【用法及び用量】 通常、成人にはブリーバラセタムとして 1 日 50mg を 1 日 2 回に分けて経口投与する。なお、症状により 1 日 200mg を超えない範囲で適宜増減できる。
ブリィビアクト静注 25mg	【効能又は効果】 一時的に経口投与ができない患者における、下記の治療に対するブリーバラセタム経口製剤の代替療法 　てんかん患者の部分発作（二次性全般化発作を含む） 【用法及び用量】 ブリーバラセタムの経口投与から本剤に切り替える場合： 　通常、ブリーバラセタム経口投与と同じ 1 日用量及び投与回数にて、1 回量を 2 分から 15 分かけて静脈内投与する。 ブリーバラセタムの経口投与に先立ち本剤を投与する場合： 　通常、成人にはブリーバラセタムとして 1 日 50mg を 1 日 2 回に分け、1 回量を 2 分から 15 分かけて静脈内投与する。 いずれの場合においても、症状により適宜増減できるが、1 日最高投与量は 200mg とする。

5. 参考文献

Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. Epilepsia. 2010;51(4):676-85 (available upon request).

Brodie MJ, Kwan P. The star systems: overview and use in determining antiepileptic drug choice. CNS Drugs. 2001;15(1):1-12; discussion 13-5 (available upon request).

Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. N Engl J Med. 2000;342(5):314-9 (available upon request).

Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. Epilepsia. 2010;51(5):883-90 (available upon request).

Perucca E, Tomson T. The pharmacological treatment of epilepsy in adults. Lancet Neurol. 2011 May;10(5):446-56 (available upon request).

目次

1. まとめ 7
2. 効力を裏付ける試験 9
2.1 *In vivo* 薬理試験 9
2.1.1 薬物スクリーニング用の急性発作モデル 9
2.1.1.1 マウスでの最大電気ショック発作に対する効果 9
2.1.1.2 マウスでの最大ペンチレンテトラゾール投与誘発発作に対する効果 10
2.1.2 化学物質誘発けいれん発作モデル 10
2.1.2.1 マウスの 6,7 -ジメトキシ-4-エチル-β-カルボリン-3-カルボン酸メチル（DMCM）誘発発作に対する効果 10
2.1.2.2 マウスの 3-メルカプトプロピオン酸誘発発作に対する効果 10
2.1.2.3 マウスのピクロトキシン誘発発作に対する効果 10
2.1.2.4 マウスのビククリン誘発発作に対する効果 11
2.1.2.5 マウスのピロカルピン誘発発作に対する効果 11
2.1.2.6 マウスのカフェイン誘発発作に対する効果 11
2.1.2.7 マウスの 4-アミノピリジン誘発発作に対する効果 12
2.1.2.8 マウスの NMDA 誘発発作に対する効果 12
2.1.2.9 マウスのカイニン酸誘発発作に対する効果 12
2.1.2.10 マウスの AMPA 誘発発作に対する効果 12
2.1.3 部分発作モデル 13
2.1.3.1 マウスの完成 6 Hz キンドリング発作に対する効果 13
2.1.3.2 マウスの完成角膜キンドリング発作に対する効果 14
2.1.3.3 完成扁桃核キンドリングラットの後発射閾値及び発作閾値に対する効果 15
2.1.3.4 ラットの閾上刺激により誘発した完成扁桃核キンドリング発作に対する効果 16
2.1.3.5 マウスの 6 Hz 電気刺激により誘発した発作に対する効果 17
2.1.3.6 フェニトイン抵抗性扁桃核キンドリングマウスの発作に対する効果 17
2.1.4 全般発作モデル 19
2.1.4.1 ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット（GAERS）の自発性棘徐波発射に対する効果 20
2.1.4.2 マウスの聴原性発作に対する効果 21
2.1.5 てんかん重積状態モデル 21
2.1.5.1 ラットの自己持続性てんかん重積状態の発作に対する効果 21
2.1.6 ミオクローヌスモデル 21
2.1.6.1 ラットの低酸素後発作及びミオクローヌスに対する効果 22
2.1.7 抗てんかん原性作用 22
2.1.7.1 マウスの角膜キンドリングの形成に対する効果 22
2.1.8 代謝物の薬理試験 23
2.1.8.1 マウスの聴原性発作に対するブリーバラセタムの主要代謝物の効果 23
2.1.8.2 マウスの聴原性発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果 24
2.1.8.3 マウスの最大電気ショック発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果 24
2.1.8.4 マウスの最大ペンチレンテトラゾール投与誘発発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果 24

2.1.8.5 ラットの閾上刺激により誘発した扁桃核キンドリング完成発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果 24
2.2 作用機序 25
2.2.1 結合試験 25
2.2.1.1 様々な受容体、取り込み系及びイオンチャネルに特異的な放射性リガンドの結合に及ぼす影響 25
2.2.1.2 ラット脳の SV2A 及び遺伝子組換えたん白質発現 CHO 細胞に対する *in vitro* 親和性 25
2.2.1.3 マウスへの全身投与後の中枢 SV2A への *in vivo* 結合 26
2.2.2 Na^+チャネルに対する影響 27
2.2.2.1 培養ラット皮質神経細胞の Na^+電流に対する影響 27
2.2.2.2 神経芽腫細胞株に発現する天然 Na^+電流に対する影響 27
2.2.2.3 ピロカルピン投与によりてんかんを誘発したマウスの嗅内皮質神経細胞における Na^+電流及び持続的連続発火に対する影響 28
2.2.2.4 ラット胚初代皮質神経細胞の Na^+電流及び持続的連続発火に対する影響 28
2.2.2.5 成熟マウスの CA1 錐体神経細胞の Na^+電流及び持続的連続発火に対する影響 28
2.2.2.6 ラット海馬スライスの CA1 錐体神経細胞における持続性 Na^+電流に対する影響 29
2.2.3 Ca^{2+}チャネルに対する影響 29
2.2.3.1 ラット CA1 海馬神経細胞及び後根神経節神経細胞の高電位及び低電位依存性 Ca^{2+}電流に対する影響 29
2.2.4 K^+チャネルに対する影響 29
2.2.4.1 培養マウス海馬神経細胞の電位依存性 K^+電流に対する影響 29
2.2.5 リガンド依存性の興奮性及び抑制性電流に対する影響 29
2.2.5.1 培養マウス海馬神経細胞の興奮性アミノ酸誘発電流に対する影響 30
2.2.5.2 培養マウス海馬神経細胞の抑制性アミノ酸誘発電流に対する影響 30
2.2.6 *in vitro* でのてんかん様活性に対する影響 30
2.2.6.1 ラット海馬スライスのてんかん様活動に対する影響 30
2.2.7 ヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の *in vitro* プロファイル 31
3. 副次的薬理試験 31
3.1 疼痛 31
3.1.1 ラットのテールフリックモデル及びホットプレートモデルにおける急性疼痛に対する効果 31
3.1.2 ラットのホルマリンモデルにおける連続的炎症性疼痛に対する効果 32
3.1.3 神経障害性疼痛の糖尿病ラットモデルにおける機械的痛覚過敏に対する効果 32
3.1.4 神経障害性疼痛のラット単神経障害モデルにおける機械的痛覚過敏に対する効果 32
3.1.5 神経障害性疼痛のラット脊髄神経結紮モデルにおける機械的異痛症及び熱的痛覚過敏に対する効果 32
3.2 本態性振戦 33
3.2.1 ラットのハルマリン誘発性振戦に対する効果 33
3.3 片頭痛 33
3.3.1 *In vitro* ラット新皮質スライスモデルでの拡延性抑制に対する効果 33
3.4 躁病 34
3.4.1 ラットにおけるデキサンフェタミン及びクロルジアゼポキシドの混合物により誘発された Y 字型迷路での過活動に対する効果 34
4. 安全性薬理試験 34

4.1 中枢神経系 35
4.1.1.1 マウス及びラットにおけるロータロッド試験の成績低下 35
4.1.1.2 ラットの自発歩行運動への影響 36
4.1.1.3 Wistar ラットを用いた単回経口投与後の神経行動学的（Irwin）試験 36
4.1.1.4 空腹時及び非空腹時に単回経口投与を受けた雄 Wistar ラットを用いた神経行動学的（Irwin）試験 37
4.1.2 認知機能 37
4.1.2.1 ラット海馬スライスにおける長期増強への影響 37
4.1.2.2 正常ラット及び扁桃核キンドリング完成ラットにおける Morris 水迷路試験での空間参照記憶に対する影響 37
4.2 循環器系 38
4.2.1 *In vitro* 38
4.2.1.1 イヌから単離されたプルキンエ線維における心臓活動電位 38
4.2.1.2 クローン hERG カリウムチャネルへの影響 38
4.2.1.3 ヒト心臓ナトリウムチャネル（hNav1.5）に対する影響 39
4.2.1.4 ヒト心臓 L 型カルシウムチャネル（hCav1.2）に対する影響 39
4.2.2 *In vivo* 40
4.2.2.1 麻酔下のビーグル犬への静脈内投与後の全身血行動態及び呼吸機能 40
4.2.2.2 麻酔下のビーグル犬への静脈内投与後の血行動態に対する影響 40
4.2.2.3 テレメター装着覚醒下ビーグル犬に単回（強制）経口投与後の循環器に対する影響の評価 41
4.3 呼吸器系 42
4.3.1 雄の Wistar ラットへの経口投与後の呼吸に対する影響 42
4.4 消化器系 42
4.4.1 Wistar ラットへの単回経口投与後のチャコールミールの消化管通過 42
4.5 腎/尿路系 43
4.6 代謝物、立体異性体、及び不純物の薬理学的プロファイル 43
4.6.1 代謝物の薬理学的プロファイル 43
4.6.1.1 ucb-107092-1：雄 Sprague-Dawley ラットにおける静脈内投与後の神経行動学的影響に関する安全性薬理試験 43
4.6.1.2 イヌから単離された心臓プルキンエ線維の活動電位パラメータに対する ucb-107092-1 の影響 43
4.6.1.3 ヒト hERG 遺伝子を安定導入した HEK293 細胞を用いた hERG テール電流に対する ucb-107092-1 の影響 44
4.6.1.4 ucb-107092-1：テレメター装着覚醒下ビーグル犬に静脈内投与したときの循環器への影響に関する安全性薬理試験 44
4.6.1.5 ucb-107092-1：雄 SD ラットに静脈内投与したときの呼吸への影響に関する安全性薬理試験 45
4.6.1.6 ucb-107092-1：雄 SD ラットへの投与後の消化管通過への影響に関する安全性薬理試験 45
4.6.2 立体異性体の薬理学的プロファイル 46
4.6.3 不純物の薬理学的プロファイル 46
4.6.3.1 ucb 34713：イヌから単離された心臓プルキンエ線維の活動電位パラメータに対する影響 46

4.6.3.2 ucb 34713：ヒト hERG 遺伝子を安定導入した HEK293 細胞を用いた hERG テール電流に対する影響 46
5. 薬理学的薬物相互作用試験 47
6. 考察及び結論 47
7. 参考文献 48

表

表 1-1 後天性及び遺伝性てんかんのげっ歯類モデルでの結果 7
表 2-1 扁桃体キンドリング完成ラットの二次性全般化運動発作に対するブリーバラセタム及びレベチラセタムの効果 17
表 4-1 安全性薬理試験の一覧 35

図

図 2-1 低頻度長期電気刺激により得られたキンドリング完成マウスにおける発作重症度スコアに対するブリーバラセタム（腹腔内投与、30 分前）の影響 14
図 2-2 扁桃核キンドリング完成ラットにおいて後発射閾値（ADT）電流で記録された発作パラメータに対するブリーバラセタム（腹腔内投与、60 分前）の影響 15
図 2-3 扁桃核キンドリング完成ラットにおいて全般発作誘発閾値（GST）電流で記録された発作パラメータに対するブリーバラセタム（腹腔内投与、60 分前）の影響 16
図 2-4 ブリーバラセタム（腹腔内投与、30 分前）が、キンドリング完成マウスにおいて閾値上刺激で記録された発作パラメータに及ぼす影響 19
図 2-5 ブリーバラセタム（腹腔内投与）によるストラスブール遺伝性欠神てんかんラットの自発性 SWD に対する効果 20
図 2-6 ブリーバラセタム（腹腔内投与、30 分前）の長期投与がマウスにおける角膜キンドリング形成に及ぼす影響 23
図 2-7 CHO 細胞に発現したヒト SV2A に対する ucb 34713、ブリーバラセタム及びレベチラセタムの親和性 26
図 2-8 マウスへの腹腔内投与から 60 分後のブリーバラセタムによる *in vivo* SV2A 占有率 27

略語及び名称一覧表

略語（略称）	内容	
AMPA	α-amino-3-hydroxy-5 -methylisoxazole-4 -propionate hydrobromide	α-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチルイソオキサゾール-4-プロピオン酸臭化水素酸塩
APD	action potential duration	活動電位持続時間
APD_{60}	action potential duration at 60% repolarization	60%再分極時の活動電位持続時間
APD_{90}	action potential duration at 90% repolarization	90%再分極時の活動電位持続時間
$AUC_{(0-t)}$	area under the plasma concentration-time curve, from 0 to time t	時間 t までの血漿中濃度－時間曲線下面積
bpm	beat per minute	1 分間の拍動数
C_0	plasma concentration at t_0	開始時血漿中濃度
CA1	cortical area 1	皮質領域 1
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid	相補的デオキシリボ核酸
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
dB	decibel	デシベル
DMCM	methyl-6,7 -dimethoxy-4-ethyl-β -carboline-3-carboxylate	6,7 -ジメトキシ-4-エチル-β-カルボリン-3-カルボン酸メチル
DMSO	dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
dP/dt	rate of rise of left ventricular pressure	左室圧上昇率
dP/dt_{max}	maximal rate of rise of left ventricular pressure	最大左室圧上昇率
ECG	electrocardiogram	心電図
ED_{50}	dose resulting in 50% of the effect	50%有効用量
EEG	electroencephalogram	脳波図
GABA	gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
GAERS	genetic absence epilepsy rats from Strasbourg	ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット
GLP	good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HB-PS	HEPES-buffered physiological saline	HEPES 緩衝生理食塩水
HEK293	human embryonic kidney 293 cells	ヒト胎児腎細胞 293
HEPES	N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'[2-ethanesulfonic acid]	N-[2-ヒドロキシエチル]ピペラジン-N'-[2-エタンスルホン酸]
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
hNav1.5	human cardiac sodium channels	ヒト心臓ナトリウムチャネル
Hz	hertz	ヘルツ
IC_{50}	concentration causing 50% inhibition	50%阻害濃度
$I_{Ca,L}$	L-type calcium current	L 型カルシウム電流
ICH	International Conference on Harmonization of the Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
ip	intraperitoneal	腹腔内
iv	intravenous	静脈内
kHz	kilo Hertz	キロヘルツ
mA	milliAmper	ミリアンペア

略語（略称）	内容	
MRD	maximum rate of depolarization	最大脱分極速度
MRDH	maximum recommended human dose	最高臨床推奨用量
NMDA	N-methyl-D-aspartate	N-メチル-D-アスパラギン酸
pH	negative logarithm of hydrogen ion-concentration	水素イオン濃度の負の対数
pIC_{50}	log of the concentration causing 50% inhibition	50%阻害濃度の対数
po	(per os) orally	経口
PR	P-R interval	P-R 間隔
QRS	deflections in electrocardiogram that represent electrical activity	電気的活動を表す心電図の波
QT	QT interval	QT 間隔
QTc	QT interval corrected for heart rate	心拍数で補正した QT 間隔
QTcB	QT interval corrected for heart rate using Bazett's formula	Bazett 式を用いて心拍数で補正した QT 間隔
QTcF	QT interval corrected for heart rate using Fridericia's formula	Fridericia 式を用いて心拍数で補正した QT 間隔
QTcQ	QT interval corrected for heart rate using Quintiles formula	Quintiles 式を用いて心拍数で補正した QT 間隔
QTcV	QT interval corrected for heart rate using Van de Water's fomula	Van de Water 式を用いて心拍数で補正した QT 間隔
RMP	resting membrane potential	制止膜電位
RR	R-R interval	R-R 間隔
sc	subcutaneous	皮下
SD	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley
SD	standard deviation	標準偏差
SV2A	synaptic vesicle protein 2A	シナプス小胞たん白質 2A
UA	upstroke amplitude	立ち上がり振幅
V2	anterior lead in ECG	心電図の前誘導

薬理試験の概要文

1.　まとめ

ブリーバラセタムの薬理作用は、多くの発作及びてんかんのげっ歯類モデル試験で評価されている。様々なてんかんモデルで代謝物を試験したところ、弱い抗けいれん作用を持つ代謝物が 1 種類のみ特定され、その作用の強さはブリーバラセタムの約 1/20 であったことから、ブリーバラセタムの主な薬理作用は未変化体によるものと考えられる。

ブリーバラセタムでは、主薬理作用の検討に使用したモデル間で、作用プロファイルに大きな差が示された。いくつかの発作モデルでは、発作抑制作用は高用量投与でしか得られなかった。一方、部分てんかん及び全般てんかんの動物モデルでは、いずれも強く幅広い抑制作用が認められた。

ブリーバラセタムの高用量投与は、電気ショック（最大電気ショック）発作モデル並びにいくつかの化学物質誘発けいれん［ペンチレンテトラゾール、6,7 -ジメトキシ-4-エチル-β-カルボリン-3-カルボン酸メチル（DMCM）、N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）、カイニン酸、及び α-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチルイソオキサゾール-4-プロピオン酸臭化水素酸塩（AMPA）］発作モデルにおいて、有意な発作抑制作用を示した。一方、部分てんかんのげっ歯類動物モデル（6 Hz、角膜及び扁桃核キンドリング）では、強力な発作抑制作用が認められた。またブリーバラセタムは、これらの 6 Hz マウスモデル及びフェニトイン抵抗性の扁桃核キンドリング発作の、2 種類の薬剤抵抗性てんかんモデルに対しても発作抑制作用をもたらした。また、全般てんかんの動物モデルにおいても、強い発作抑制作用が認められた。ブリーバラセタムは、聴原性発作マウスの発作の抑制、ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット（GAERS）の皮質の棘徐波発射の抑制、ラットの低酸素後の発作及びミオクローヌスの抑制をもたらした。

ブリーバラセタムの単剤療法及び併用療法は、ラットの自発性てんかん重積状態の持続時間を短縮する顕著な効果を示し、ジアゼパムとの著しい薬理学的相互作用を示した。

部分発作、全般発作、ミオクローヌス、及びてんかん重積状態の迅速な抑制作用に加え、ブリーバラセタムはマウスでの角膜キンドリングの発生を有意かつ持続的に抑制する抗てんかん原性作用を示した。後天性及び遺伝性のげっ歯類てんかんモデルにおけるブリーバラセタムの作用の検討結果を表 1-1 に示す。

表 1-1　後天性及び遺伝性てんかんのげっ歯類モデルでの結果

2.1.3.2	結果	CTD	参照資料
部分てんかんのげっ歯類モデル			
マウスの角膜キンドリング（二次性全般化発作）	ED_{50}：1.2 mg/kg（測定 30 分前に腹腔内投与）	2.1.3.2 項	RRLE01E0701
ラットの扁桃核キンドリング（閾刺激）	用量 2.1 mg/kg 以上では、後発射閾値電流で記録された発作の重症度が低下（測定 60 分前に腹腔内投与）	2.1.3.3 項	RRLE01E3002
ラットの扁桃核キンドリング（閾上刺激）	ED_{50}：44 mg/kg（測定 60 分前に経口投与）、45 mg/kg（測定 60 分前に腹腔内投与）	2.1.3.4 項	RRLE01E0702
薬剤耐性部分てんかんのげっ歯類モデル			
マウスの 6 Hz 発作	ED_{50}：4.4 mg/kg（測定 30 分前に腹腔内投与）	2.1.3.5 項	RRLE08H1901
マウスの扁桃核キンドリング（二次性全般化発作）	ED_{50}：68 mg/kg（測定 30 分前に腹腔内投与）	2.1.3.6 項	CNS09004
全般てんかんのげっ歯類モデル			
GAERS	ED_{50}：2.6 mg/kg（腹腔内投与）	2.1.4.1 項	RRLE01F0602
マウスの聴原性発作（間代性けいれん）	ED_{50}：2.4 mg/kg（測定 30 分前に腹腔内投与）	2.1.4.2 項	RRLE01E0701

ブリーバラセタムの作用機序はまだ完全には解明されていないが、主な機序としては、シナプス小胞たん白質 2A（SV2A）への高い親和性が関係していると考えられる。このことは、抗けいれん作用を示す用量で全身投与したマウスにおいて、中枢 SV2A のブリーバラセタムによる占有率が有意に高いことからも裏付けられる。このような SV2A への高い親和性による結合は選択的であると考えられ、ブリーバラセタムは 50 種類の異なる受容体、取り込み系及びイオンチャネルに対しては、いずれにも有意な結合を示さなかった。ブリーバラセタムには、様々な試験系で認められた急速 Na^+電流に対する中程度の阻害作用に関連する機序もあると考えられる。しかし、持続的連続発火がブリーバラセタムにより緩和されないことから、急速 Na^+電流の阻害の程度は、臨床効果を得るには不十分であると考えられる。ブリーバラセタムは、亜鉛や DMCM による γ-アミノ酪酸（GABA）及びグリシン電流の抑制を回復させる作用も示すが、この知見の臨床的意義もまだ不明確である。

他のいくつかの試験では、ヒトに対する治療効果濃度のブリーバラセタムが、持続性 Na^+電流、高電位及び低電電位依存性 Ca^{2+}電流、電位依存性 K^+電流、興奮性の NMDA、カイニン酸及び AMPA 電流、並びに抑制性の GABA 及びグリシン電流に影響を及ぼさないことが示されている。

副次的薬理試験では、神経障害性慢性疼痛の動物モデルにおいて、ブリーバラセタムの鎮痛作用が示された。また、*in vivo* モデルを用いた試験では、抗振戦及び抗躁効果も示され、*in vitro* 試験の結果は、抗片頭痛効果の可能性を示されている。

安全性薬理試験では、中枢神経系（CNS）、循環器、呼吸器、及び胃腸の機能に対するブリーバラセタムの影響の可能性が検討された。

ヒトの部分てんかん及び全般てんかん両方の動物モデルである角膜キンドリングマウス、扁桃核キンドリングラット、GAERS ラットにおいて、ブリーバラセタムの発作抑制作用用量と運動関連有害事象（ロータロッド試験の成績低下）を誘発する用量との安全域は、それぞれ 46、3.7 及び 26 であった。

ラットにブリーバラセタムを腹腔内投与したところ、118 mg/kg 以上で自発運動の低下が認められた。ラットの行動評価（Irwin 試験）では、ブリーバラセタムの経口投与により、用量依存的な中枢神経系抑制（100 及び 300 mg/kg で軽度、600 mg/kg で中等度、1000 及び 1500 mg/kg で高度）が認められ、300 mg/kg 以上では自律神経系機能、感覚運動機能、神経筋機能の変化を伴った。また、用量 1000 mg/kg 及び 1500 mg/kg では、運動失調、呼吸異常及び死亡が誘導された。これらの中枢神経系の徴候の発現率及び持続時間は、食後投与に比べて空腹時投与で高かった。最後に、*in vitro* 及び *in vivo* 試験では、学習及び記憶に関する実験パラメータに影響が認められなかったことから、ブリーバラセタムが認知機能に悪影響を与えないことが示唆された。

循環器機能に影響する可能性については、多くのモデルで検討されている。*In vitro* 試験では、ブリーバラセタムは最高 200 μg/mL まで、イヌ心臓プルキンエ線維の再分極の過程に影響を及ぼさなかった。ブリーバラセタムは *in vitro* 試験で、最高 100 μmol/L まで、ヒト心臓のナトリウム、カルシウム及びカリウムチャネルに影響しなかった。これらのデータから、予定されるヒト推奨 1 日最高用量（MRDH）（100 mg の 1 日 2 回投与時の C_{max} は 3.5 μg/mL つまり 16 μmol/L）で、ブリーバラセタムが心臓の伝導、脱分極及び再分極に影響を与える可能性が低いことが示された。*In vivo* 試験では、イヌに 50 mg/kg 以上（対応する C_{max} は 61 μg/mL 以上）を経口又は静脈内投与した際に、循環器系への影響がいくつか認められ、これには、血圧（-21～-31%）、心拍数（静脈内投与後-11～-21%、経口投与後+66%）、心収縮力（静脈内投与後-39%）、心拍数で補正した QT 間隔

（QTc）（経口投与後+21%）への一過性の影響が含まれた。しかし、これらの影響は用量依存的ではなく、雌雄間で一貫せず、反復投与毒性試験では認められなかった。

呼吸器系及び胃腸系では、軽微な影響が認められた。ブリーバラセタムは、100 mg/kg 以上でわずかな極めて小さい呼吸刺激作用を示し、300 mg/kg 及び 600 mg/kg では、用量依存性の消化管通過及び胃排出能の低下を誘導した。

ブリーバラセタムのヒドロキシ酸代謝物である ucb-107092-1 については、ブリーバラセタムの開発過程において、重度の腎機能障害を持つ被験者に対する本代謝物の安全性データが不十分であることが判明したため、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 安全性薬理試験を実施した。ucb-107092-1 の *in vitro* 選択性プロファイルは、受容体、取り込み系、イオンチャネル及び酵素を含む多様な標的（69 種類）との有意な相互作用がないことを示した。ucb-107092-1 は、ラットの行動に影響せず、hERG カリウムチャネルに干渉せず、イヌ心臓プルキンエ線維の再分極過程にも影響しなかった。ucb-107092-1 を静脈内投与したところ、イヌでは循環器系の機能に、ラットでは呼吸器系機能及び消化管運動に対する薬理作用を示さなかった。

ブリーバラセタムのロットに不純物として含まれるブリーバラセタムのジアステレオマーである ucb 34713 は、*in vitro* の循環器系安全性試験で評価されたが、hERG の遮断及びイヌプルキンエ線維への影響はなく、循環器系への影響を示さなかった。

2. 効力を裏付ける試験

2.1 *In vivo* 薬理試験

ブリーバラセタムの効力は、発作及びてんかんの広範な *in vitro* 及び *in vivo* モデルにより評価されている。これには、化学的又は電気的にけいれんを誘発したげっ歯類急性発作モデル、並びにいくつかの後天性及び遺伝性てんかんモデルが含まれる。

2.1.1 薬物スクリーニング用の急性発作モデル

げっ歯類を用いて、最大電気ショック又はペンチレンテトラゾールの最大ボーラス投与により誘発した発作に対するブリーバラセタムの抑制作用を評価した。これら 2 種類の *in vivo* モデルは、数十年にわたり、新規抗てんかん薬の探索に伝統的なスクリーニングモデルとして用いられてきた。

2.1.1.1 マウスでの最大電気ショック発作に対する効果（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に、角膜電極により最大電気ショック強度（50 mA、50 Hz、0.2 秒）で電気刺激を与え、後肢の強直性伸展発作を誘発した。電気刺激の 30 分前にブリーバラセタム 6.8～212 mg/kg を腹腔内投与した。刺激後、マウスを 10 秒間観察し、後肢の強直性伸展発作の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムの最大電気ショック発作に対する ED_{50} 値は、113 mg/kg であった。

2.1.1.2 マウスでの最大ペンチレンテトラゾール投与誘発発作に対する効果（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）にペンチレンテトラゾール（83 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97}値］に等しい）を皮下投与し、間代性けいれんを誘発した。ペンチレンテトラゾールを投与する 30 分前にブリーバラセタム 0.68～382 mg/kg を腹腔内投与した。ペンチレンテトラゾール投与後、60 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50}値を算出した。

ブリーバラセタムのペンチレンテトラゾールにより誘発した間代性けいれんに対する ED_{50}値は、30 mg/kg であった。

2.1.2 化学物質誘発けいれん発作モデル

様々な神経伝達物質の受容体及び電位依存性イオンチャネルの活性を変化させる様々なけいれん誘発物質を用いて、化学物質誘発けいれん発作に対するブリーバラセタムの抑制作用を検討した。

2.1.2.1 マウスの 6,7 -ジメトキシ-4-エチル-β-カルボリン-3-カルボン酸メチル（DMCM）誘発発作に対する効果（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に DMCM（15 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97}値］に等しい）を腹腔内投与し、間代性けいれんを誘発した。DMCM 投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 2.1～212 mg/kg を腹腔内投与した。DMCM 投与後、30 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50}値を算出した。

ブリーバラセタムの DMCM 誘発間代性けいれんに対する ED_{50}値は、30 mg/kg であった。

2.1.2.2 マウスの 3-メルカプトプロピオン酸誘発発作に対する効果（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に 3-メルカプトプロピオン酸（31.5 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97}値］に等しい）を腹腔内投与し、間代性けいれんを誘発した。3-メルカプトプロピオン酸投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 21～382 mg/kg を腹腔内投与した。3-メルカプトプロピオン酸投与後、30 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50}値を算出した。

ブリーバラセタムの 3-メルカプトプロピオン酸誘発間代性けいれんに対する ED_{50}値は、254 mg/kg であった。

2.1.2.3 マウスのピクロトキシン誘発発作に対する効果（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）にピクロトキシン（4.3 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97}値］に等しい）を皮下投与し、間代性けいれんを誘発した。ピ

クロトキシン投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 21～382 mg/kg を腹腔内投与した。ピクロトキシン投与後、60 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムは 382 mg/kg までの用量で、ピクロトキシン誘発間代性けいれんに対する ED_{50} 値に達しなかった。

2.1.2.4 マウスのビククリン誘発発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）にビククリン（3 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97} 値］に等しい）を皮下投与し、間代性けいれんを誘発した。ビククリン投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 21～382 mg/kg を腹腔内投与した。ビククリン投与後、60 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムは 382 mg/kg までの用量で、ビククリン誘発間代性けいれんに対する ED_{50} 値に達しなかった。

2.1.2.5 マウスのピロカルピン誘発発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）にピロカルピン（373 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97} 値］に等しい）を腹腔内投与し、間代性けいれんを誘発した。ピロカルピン投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 6.8～382 mg/kg 及びメチルスコポラミン 1 mg/kg をそれぞれ腹腔内投与した。ピロカルピン投与後、60 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムは 382 mg/kg までの用量で、ピロカルピン誘発間代性けいれんに対する ED_{50} 値に達しなかった。

2.1.2.6 マウスのカフェイン誘発発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）にカフェイン（283 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97} 値］に等しい）を腹腔内投与し、間代性けいれんを誘発した。カフェイン投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 21～382 mg/kg を腹腔内投与した。カフェイン投与後、60 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムは 382 mg/kg までの用量で、カフェイン誘発間代性けいれんに対する ED_{50} 値に達しなかった。

2.1.2.7 マウスの 4-アミノピリジン誘発発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に 4-アミノピリジン（10.2 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD_{97}値］に等しい）を皮下投与し、間代性けいれんを誘発した。4-アミノピリジン投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 21～382 mg/kg を腹腔内投与した。4-アミノピリジン投与後、60 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50}値を算出した。

ブリーバラセタムは 382 mg/kg までの用量で、4-アミノピリジン誘発間代性けいれんに対する ED_{50}値に達しなかった。

2.1.2.8 マウスの NMDA 誘発発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に、生理食塩水投与群の 100%で 60 秒以内に間代性けいれんを誘発した濃度の NMDA を側脳室に微量注入（1 nmol/min）することにより、間代性けいれんを誘発した。NMDA 注入の 30 分前に、ブリーバラセタム 6.8～212 mg/kg を腹腔内投与した。NMDA の注入開始後、150 秒間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50}値を算出した。

ブリーバラセタムの NMDA 誘発間代性けいれんに対する ED_{50}値は、76 mg/kg であった。

2.1.2.9 マウスのカイニン酸誘発発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に、生理食塩水投与群の 100%で 60 秒以内に間代性けいれんを誘発した濃度のカイニン酸を側脳室に微量注入（3 nmol/min）することにより、間代性けいれんを誘発した。カイニン酸注入の 30 分前に、ブリーバラセタム 6.8～382 mg/kg を腹腔内投与した。カイニン酸の注入開始後、150 秒間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50}値を算出した。

ブリーバラセタムのカイニン酸誘発間代性けいれんに対する ED_{50}値は、89 mg/kg であった。

2.1.2.10 マウスの AMPA 誘発発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に、生理食塩水投与群の 100%で 60 秒以内に間代性けいれんを誘発した濃度の AMPA を側脳室に微量注入（3 nmol/min）することにより、間代性けいれんを誘発した。AMPA 注入の 30 分前に、ブリーバラセタム 6.8～382 mg/kg を腹腔内投与した。AMPA の注入開始後、150 秒間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50}値を算出した。

ブリーバラセタムの AMPA 誘発間代性けいれんに対する ED_{50}値は、42 mg/kg であった。

2.1.3 部分発作モデル

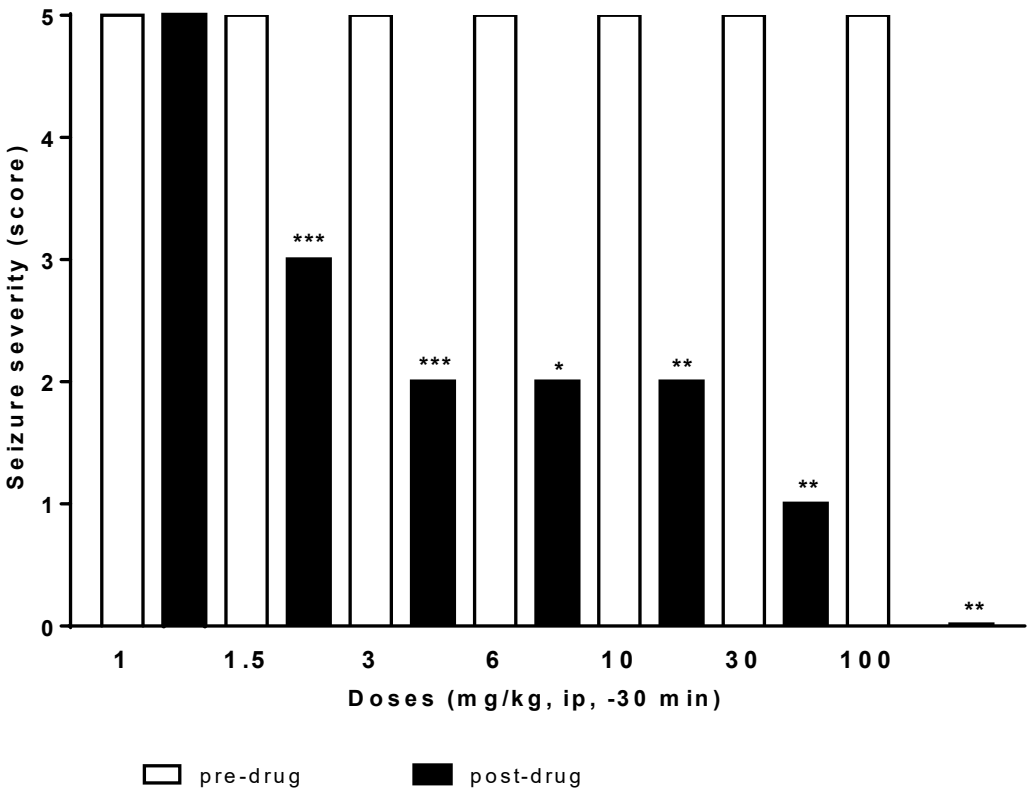
ブリーバラセタムによる部分発作に対する抑制作用を、げっ歯類の 6 Hz、角膜及び扁桃核キンドリングモデルで調査した。さらに、薬剤抵抗性てんかんの 6 Hz キンドリングマウスモデル及びフェニトイン抵抗性扁桃核キンドリングマウスモデルでも、発作抑制作用を評価した。

2.1.3.1 マウスの完成 6 Hz キンドリング発作に対する効果（試験番号 CNS13001）

雄 NMRI マウス（9～19 例/群）において、角膜電極から 1 日 2 回、週 5 日、3 週間連続、電流強度 44 mA、6 Hz での 0.2 ミリ秒の単極性パルス、3 秒間の電気ショックによりキンドリングを誘発した。マウスは、10 回以上連続して二次性運動発作（Racine スケールでグレード 3～5）を示し、毎週 2 日、1 日 2 回の刺激でキンドリング状態が維持されたとき、キンドリング完成と見なされた。ブリーバラセタムを試験する前に、キンドリング完成マウスを午前中に刺激し、30 秒間の運動発作の発現をスコア化した。午後にも、生理食塩水又はブリーバラセタム 1～100 mg/kg を事前に腹腔内投与した後、30 分後に午前と同じ手順を再度実施した。部分発作及び二次性全般化運動発作の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムの二次性全般化運動発作に対する ED_{50} 値は、3.5 mg/kg であった。部分発作（Racine スケールでグレード 1 及び 2）に対する ED_{50} 値は、52 mg/kg であった。

図 2-1　低頻度長期電気刺激により得られたキンドリング完成マウスにおける発作重症度スコアに対するブリーバラセタム（腹腔内投与、30 分前）の影響



値は中央値（各群 9～10 例、ただし 1.5 及び 3 mg/kg 群ではそれぞれ 19 例）。
個々の対照記録と薬剤投与後記録との発作スコアの差の有意性は、繰り返しのペアについての Wilcoxon の片側符号順位検定により算出した（有意水準：*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001）。

2.1.3.2　マウスの完成角膜キンドリング発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄 NMRI マウス（9～10 例/群）において、角膜電極から 1 日 2 回、12 日間、電流強度 3 mA、3 秒間、50 Hz の一定パルス周波数の電気ショックによりキンドリングを誘発した。2 日間刺激なしで過ごした後、再び 1 日 2 回の刺激を行い、4 回連続して二次性全般化発作（Racine スケールでグレード 3 以上）が出現した場合を、キンドリング完成と定義した。ブリーバラセタムを試験する前に、キンドリング完成マウスに午前中、生理食塩水を前投与し、それから刺激して 1 分間の運動発作の発現をスコア化した。午後、生理食塩水又はブリーバラセタム 0.21～6.8 mg/kg を事前に腹腔内投与し、30 分後に午前と同じ手順を再度実施した。部分及び全般運動発作の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

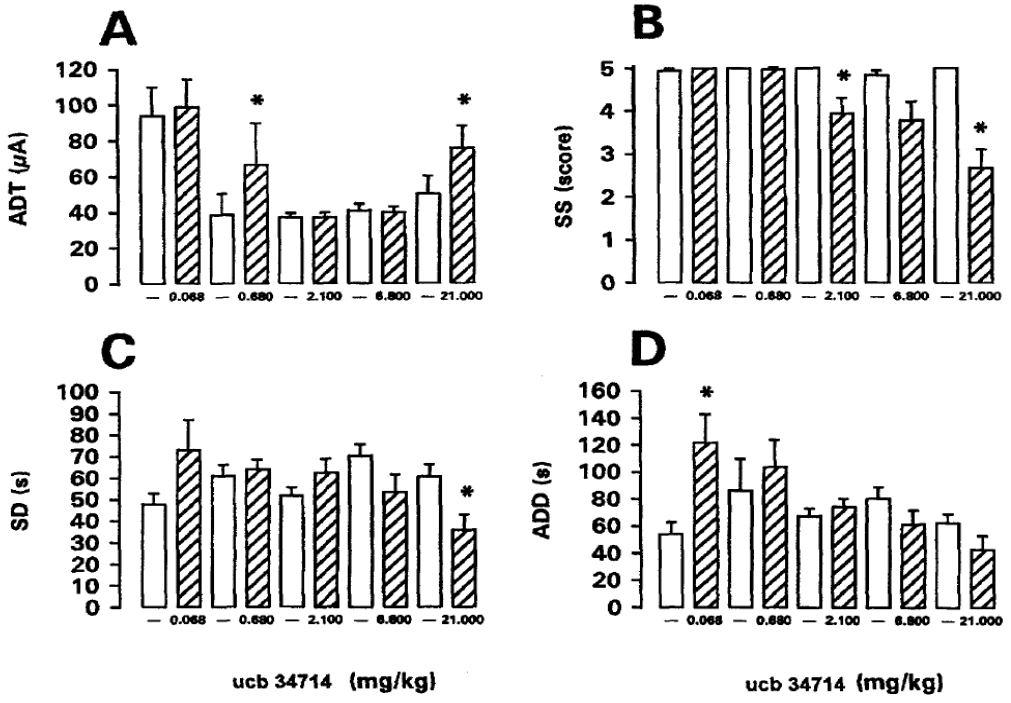
ブリーバラセタムの二次性全般化運動発作に対する ED_{50} 値は、1.2 mg/kg であった。部分発作（Racine スケールでグレード 1 及び 2）に対しても、用量 6.8 mg/kg で有意な抑制作用が認められた（P<0.05、Fisher 検定）。

2.1.3.3　完成扁桃核キンドリングラットの後発射閾値及び発作閾値に対する効果（試験番号 RRLE01E3002）

雌 Wistar ラット（9 例/群）において、右扁桃核基底外側部に双極電極を埋め込んだ 2 週後に、1 日 1 回（週 5 日）、500 μA、1 ミリ秒の単相性矩形波パルス、50 Hz、1 秒間の刺激によるキンドリングを開始した。発作の重症度は、Racine スケールにより、部分発作（グレード 1 及び 2）又は二次性全般化発作（グレード 3～5）としてスコア化した。ラットに 10 回以上連続でグレード 5 の二次性全般化運動発作が発現した場合をキンドリング完成と定義した。後発射閾値及び二次性全般化運動発作閾値は、キンドリング完成ラットを用いて、電流強度を 20%ずつ連続して増加させて決定し、5 秒以上持続する後発射及び二次性全般化運動発作をもたらす電流の最小値とした。キンドリング完成ラットには刺激前にまず生理食塩水を投与し、閾値に満たない弱い電流で刺激を開始した後、後発射及び運動発作を記録した。その 2 日後、ブリーバラセタム 0.068～21 mg/kg の腹腔内投与の 60 分後に、2 日前と同じ手順を再度実施した。レベチラセタムを比較薬として使用した。

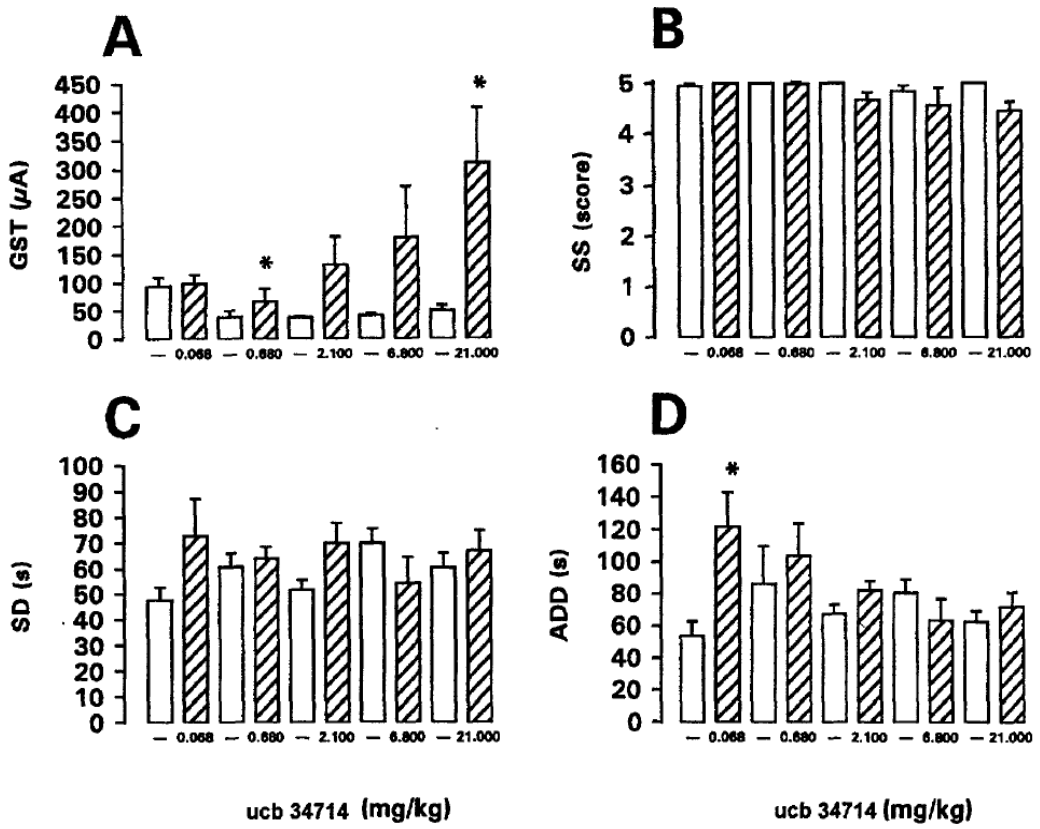
ブリーバラセタムは、用量 0.68 mg/kg 及び 21 mg/kg で後発射閾値電流をそれぞれ 73%及び 51%有意に増加させたが、用量 2.1 mg/kg 及び 6.8 mg/kg では効果が認められなかった。またブリーバラセタムは、用量依存的に全般発作の閾値電流を著しく増加させ、試験した最高用量（21 mg/kg）では 623%の増加をもたらした。

図 2-2　扁桃核キンドリング完成ラットにおいて後発射閾値（ADT）電流で記録された発作パラメータに対するブリーバラセタム（腹腔内投与、60 分前）の影響



データは平均値±標準誤差（各群 9 例）。グラフはそれぞれ、溶媒（無地の棒）及びブリーバラセタム（斜線が引かれた棒、ucb34714）投与後の後発射閾値（ADT、A）、発作重症度（SS、B）、発作持続時間（SD、C）及び後発射持続時間（ADD、D）の結果を示す。溶媒及び被験物質の実験間での有意差をアスタリスクで示す（P<0.05、Wilcoxon 符号順位検定）。

図 2-3　扁桃核キンドリング完成ラットにおいて全般発作誘発閾値（GST）電流で記録された発作パラメータに対するブリーバラセタム（腹腔内投与、60 分前）の影響



データは平均値±標準誤差（各群 9 例）。グラフはそれぞれ、溶媒（無地の棒）及びブリーバラセタム（斜線が引かれた棒、ucb34714）投与後の全般発作誘発閾値（GST、A）、発作重症度（SS、B）、発作持続時間（SD、C）及び後発射持続時間（ADD、D）の結果を示す。溶媒及び被験物質の実験間での有意差をアスタリスクで示す（P<0.05、Wilcoxon 符号順位検定）。

レベチラセタム（腹腔内投与、60 分前）投与は、それぞれの対照値と比較して用量 1.25 mg/kg では 40%、用量 50 mg/kg では 16%、後発射閾値電流を有意に増加させた。用量 12.5 mg/kg 及び 25 mg/kg では、後発射閾値への影響は認められなかった。レベチラセタムは、試験したすべての用量で全般発作誘発閾値電流を増加させ、用量 50 mg/kg で最も顕著な影響を示した（対照値の 501%）。

2.1.3.4　ラットの閾上刺激により誘発した完成扁桃核キンドリング発作に対する効果（試験番号 RRLE01E0702）

雄 Sprague-Dawley（SD）ラット（8 例/群）において、右扁桃核基底外側部に双極電極を埋め込んだ 2 週後に、1 日 1 回（週 5 日）、500 μA、1 ミリ秒の単相性矩形波パルス、50 Hz、1 秒間の刺激によるキンドリングを開始した。発作の重症度は、Racine スケールにより、部分発作（グレード 1 及び 2）及び二次性全般化発作（グレード 3～5）としてスコア化した。後発射の持続時間は、刺激前に記録された振幅の 2 倍以上の振幅及び 1 Hz 超の周波数を示す脳波活動が出現している時間と定義した。ラットに 10 回以上連続でグレード 4 又は 5 の二次性全般化運動発作が発現した場合をキンドリング完成と定義した。キンドリング完成ラットでは、まず生理食塩水を投与し、それから閾値上電流により刺激した後、後発射及び運動発作を記録した。その 2 日後、生理食塩水又はブ

リーバラセタム 6.8～382 mg/kg の腹腔内投与又は経口投与の 60 分後に、2 日前と同じ手順を再度実施した。部分運動発作及び全般運動発作の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。レベチラセタムを比較薬として使用した。

ブリーバラセタムの腹腔内投与及び経口投与の二次性全般化運動発作に対する ED_{50} 値は、それぞれ 44 mg/kg 及び 45 mg/kg であった。またブリーバラセタムは、最高用量 212 mg/kg の腹腔内投与を受けたすべてのラットで、部分運動発作の重症度スコアを有意に 1 まで減少させ、用量 212 mg/kg 以上の腹腔内投与及び経口投与で、後発射の持続時間を有意に減少させた。レベチラセタムと比較して、ブリーバラセタムは著しく高い効力を示した（レベチラセタムの腹腔内投与及び経口投与での ED_{50} 値は、それぞれ 571 mg/kg 及び 1009 mg/kg）。

表 2-1 扁桃体キンドリング完成ラットの二次性全般化運動発作に対するブリーバラセタム及びレベチラセタムの効果

化合物	投与経路	ED_{50} 値(mg/kg)
ブリーバラセタム	腹腔内	44(24 – 84)
	経口	45(30 – 73)
レベチラセタム	腹腔内	571 (288 – 1315)
	経口	1009 (392 – 3028)

両化合物は試験の 60 分前に投与された。カッコ内の値は 95%信頼区間である。

2.1.3.5 マウスの 6 Hz 電気刺激により誘発した発作に対する効果
（試験番号 RRLE08H1901）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に、角膜電極から電流強度 44 mA、0.2 ミリ秒単極性パルス、6 Hz、持続時間 3 秒間の電気ショックを与え、発作を誘発した。これにより、常同行動、挙尾、失神姿勢のほか、時には軽度のミオクローヌスもみられる等、様々な行動が誘発された。電気刺激の 30 分前、ブリーバラセタム 0.21～67.9 mg/kg を腹腔内投与した。刺激後、7 秒間マウスを観察し、無動の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムの 6 Hz 部分発作に対する ED_{50} 値は、4.4 mg/kg であった。

2.1.3.6 フェニトイン抵抗性扁桃核キンドリングマウスの発作に対する効果
（試験番号 CNS09004）

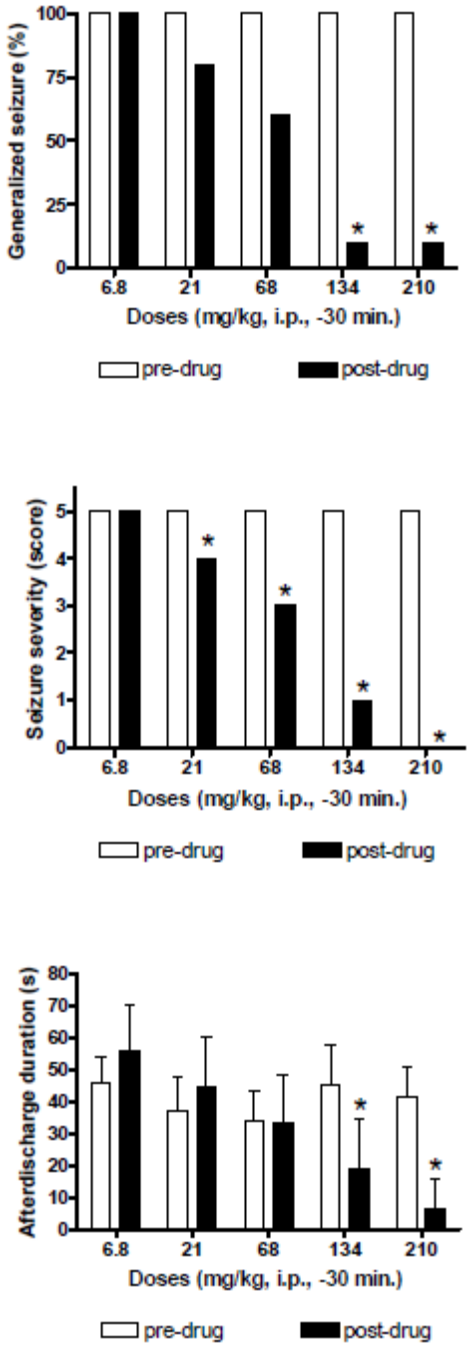
雄 C57B16 Jico マウス（9～10 例/群）において、右扁桃核に双極電極を埋め込んだ 10 日後に、1 日 1 回（週 5 日）、250 μA の閾上刺激、単相性矩形波パルス、50 Hz、1 秒間でのキンドリングを開始した。発作の重症度は、Racine スケールにより、部分発作（グレード 1 及び 2）及び二次性全般化発作（グレード 3～5）としてスコア化した。後発射の持続時間は、刺激前に記録された振幅の 2 倍以上の振幅及び 1 Hz 超の周波数を示す脳波活動が出現している時間と定義した。マウスに 5 回以上連続でグレード 5 の二次性全般化運動発作が発現した場合をキンドリング完成と定義した。キンドリング完成マウスには、生理食塩水を投与した後刺激し、後発射と運動発作の記録を実施した。その 2 日後、ブリーバラセタム 6.8～210 mg/kg の腹腔内投与の 30 分後に、2 日前と同じ手順を再度実施した。二次性全般化運動発作の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。フェニトインとレベチラセタムを比較薬として使用した。

フェニトインは、二次性全般化運動発作の発現を抑制できず、発作の重症度をグレード 5 から 4 に、後発射の持続時間を 20%減少させるにとどまった。レベチラセタム（腹腔内投与、60 分前）

は、全般発作に対し中程度の有効性を示した。試験した最高用量（540 mg/kg）では、60%の動物でのみ発作が抑制された。発作重症度スコアの中央値に対する影響も限定的であった。最低用量（17 mg/kg）では後発射持続時間が延長したが、より高用量では本パラメータへの有意な影響はなかった。

ブリーバラセタムの二次性全般化運動発作に対する抑制作用の ED_{50} 値は、68 mg/kg であった。また、発作の重症度及び後発射の持続時間の用量依存的かつ有意な減少も認められ、試験した最高用量（210 mg/kg）で最大の効果が示され、発作重症度スコアを 0 に、後発射の持続時間を 85%減少させた。

図 2-4　ブリーバラセタム（腹腔内投与、30 分前）が、キンドリング完成マウスにおいて閾値上刺激で記録された発作パラメータに及ぼす影響



上段：全般発作（スコア≥3、Fisher の直接確立検定）の割合。中段：発作重症度スコアの中央値（Wilcoxon の符号付順位検定）。下段：後発射持続時間（平均値±S.D.）。対照（無地の棒）は、ブリーバラセタム（塗りつぶされた棒）の試験の 48 時間前に記録した。ブリーバラセタムと対照の記録間の有意差をアスタリスクで示す（P<0. 05、Mann- Whitney U 検定）。

2.1.4　　全般発作モデル

遺伝性欠神てんかんラット及び聴原性発作マウスを用いて、ブリーバラセタムによる全般発作に対する抑制作用を調査した。

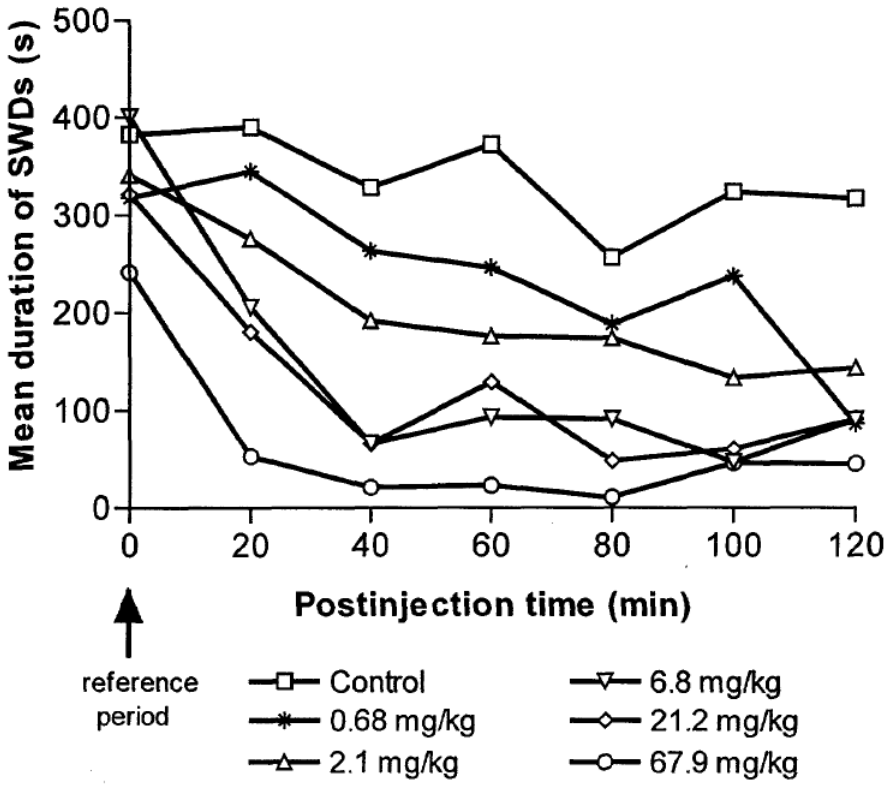
2.1.4.1　ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット（GAERS）の自発性棘徐波発射に対する効果

（試験番号 RRLE01F0602）

雄 Wistar GAERS ラット（5 例/群）に、4 つの白金皮質電極（左右前頭皮質及び後頭皮質）並びに 1 つの白金参照電極（前前頭蓋）を埋め込んだ。電極を埋め込んでから 2 週後、20 分間の馴化時間中に皮質脳波を記録し、その後、生理食塩水及びブリーバラセタム 0.68～67.9 mg/kg を腹腔内投与し、脳波を 20 分間ずつ連続して合計 120 分間記録した。20 分間ごとの自発性棘徐波発射の累積持続時間を測定・検証し、それに基づき棘徐波発射の総持続時間の抑制作用の ED_{50} 値を算出した。レベチラセタムを比較薬として使用した。

ブリーバラセタムは、用量依存的に自発性棘徐波発射を抑制し、その効果は最初の 20 分間で既に認められ、120 分間の全記録時間を通じて持続した。統計的に有意な抑制は、用量 6.8 mg/kg 以上で認められ、試験した最高用量（68 mg/kg）ではほぼ完全な抑制が認められた。ブリーバラセタムの自発性棘徐波発射の総持続時間に対する抑制作用の ED_{50} 値は、2.6 mg/kg であった。一方、レベチラセタムの腹腔内投与では、用量 5.4 mg/kg 以上で自発性棘徐波発射（SWD）が有意に抑制されたが、試験した最高用量（170 mg/kg）までの用量ではこれらの SWD が完全には抑制されなかった。

図 2-5　ブリーバラセタム（腹腔内投与）によるストラスブール遺伝性欠神てんかんラットの自発性 SWD に対する効果



値は平均値（各群 5 例）。標準偏差及び統計的有意性は、図を見やすくするため示していない。

2.1.4.2 マウスの聴原性発作に対する効果
（試験番号 RRLE01E0701）

雄の聴原性発作マウス（10 例/群）を使用した。木製の防音室に入れたマウスに、90 dB、周波数 10～20 kHz の音刺激を 30 秒間与えたところ、暴走及び間代性・強直性けいれんが誘発された。音刺激の 30 分前に、ブリーバラセタム 0.21～212 mg/kg を腹腔内投与した。音刺激を与えている間、マウスを 30 秒間観察し、間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムのマウスでの聴原性発作の間代性けいれんに対する抑制作用の ED_{50} 値は、2.4 mg/kg であった。

2.1.5 てんかん重積状態モデル

自己持続性てんかん重積状態ラットモデルを用いて、ブリーバラセタム単剤療法及びジアゼパムとの併用療法のてんかん重積状態に対する抑制作用を調査した。

2.1.5.1 ラットの自己持続性てんかん重積状態の発作に対する効果
（試験番号 RRLE01L0601 及び 試験番号 RRLE08B1107）

覚醒した雄 Wistar ラット（3～8 例/群）において、貫通路の角束に埋め込んだ双極電極を介して、毎分 10 秒間の 20 Hz の刺激と 2 Hz の連続刺激とを 30 分間与え、自己持続性てんかん重積状態を誘発した。脳波活動は、同側歯状回に設置した双極記録電極を用いて、貫通路刺激中及び刺激後 24 時間にわたりモニターした。投与を開始する前に、貫通路刺激後に脳波を 10 分間慎重にモニターし、自己持続性てんかん重積状態が発現することを確認した。投与開始後の総発作持続時間、発作回数、棘波の頻度、及び自己持続性てんかん重積状態の持続時間を算出し、最後の発作事象が出現したときを自己持続性てんかん重積状態の終了と定義した。行動発作の重症度は、Racine スケールを用いて評価した。ブリーバラセタムの単剤療法（10～300 mg/kg）及び固定量のジアゼパム（1 mg/kg）との併用療法（0.3～10 mg/kg）を、いずれも貫通路刺激終了の 10 分後に静脈内投与により実施した。

ブリーバラセタムの単剤投与では、自己持続性てんかん重積状態の持続時間が 50～98%（RRLE01L0601 試験、 time in seizure）短縮されたのに対し、様々な用量のブリーバラセタムと固定用量のジアゼパムとを併用した場合の持続時間短縮効果は 71～92%（RRLE08B1107 試験、total duration of status epilepticus）であった。この相互作用は、最高用量のブリーバラセタム（10 mg/kg）とジアゼパム（1 mg/kg）とを併用した場合に最も顕著（92%）であり、これらを単独で投与した場合の自己持続性てんかん重積状態の持続時間の短縮は、それぞれ 26%及び 48%であった。

2.1.6 ミオクローヌスモデル

低酸素後ミオクローヌスのラットモデルを用いて、ブリーバラセタムによるミオクローヌスに対する抑制作用を評価した。

2.1.6.1 ラットの低酸素後発作及びミオクローヌスに対する効果（試験番号 RRLE05J1201）

雄 SD ラット（4 例/群）において、心臓の主要血管すべての閉塞及び胸部圧迫により機械的心停止を行い、9 分 30 秒後に蘇生を開始することにより、低酸素脳症を誘発した。その後、ラットは聴覚刺激に反応してミオクローヌス性けいれん及び発作活動を示すようになった。心停止術の 24 時間後、ブリーバラセタム 0.03～30 mg/kg を腹腔内投与した。聴覚刺激は、0、30、60、90、120、150 分時点に、メトロノームのクリック音 45 回、音強度 96 dB、持続時間 40 ミリ秒、周波数 0.75 Hz により行った。不随意の筋肉けいれん及び発作活動の強度を評価した。

ブリーバラセタム 0.3 mg/kg 以上の投与により、試験開始の 30 分後以降のミオクローヌス及び発作のスコアが有意に減少した。

2.1.7 抗てんかん原性作用

ブリーバラセタムによるキンドリング獲得に対する抑制作用を、マウス角膜キンドリングモデルで評価した。

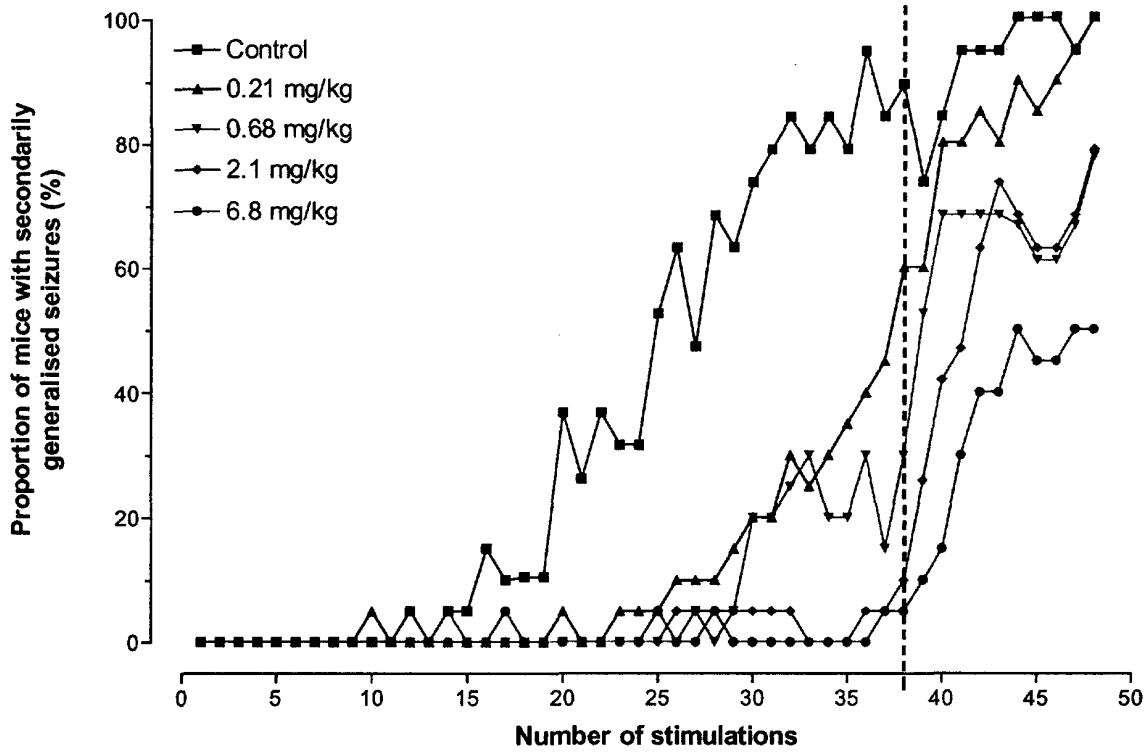
2.1.7.1 マウスの角膜キンドリングの形成に対する効果（試験番号 RRLE01E3003）

雄 NMRI マウス（20 例/群）に、1 日 2 回、角膜電極から電流強度 3 mA、3 秒間、50 Hz の一定パルス周波数での電気ショックによりキンドリングを誘発した。4 時間以上の間隔をおいた各刺激の後 1 分間、運動発作の発現についてマウスを観察した。Racine スケールをやや修正したスコアによりこれらを分類した。各刺激の 30 分前に、生理食塩水、ブリーバラセタム 0.21～6.8 mg/kg を腹腔内投与した。レベチラセタムを比較薬として使用した。1 日 2 回の長期間の角膜刺激及び投与は、19 日で終了した。その後、2 日間のウォッシュアウト期間を経て、1 日 2 回の角膜刺激をさらに 5 日間継続したが、ブリーバラセタムは投与しなかった。

ブリーバラセタムは角膜キンドリングの形成を著しく遅らせた。長期生理食塩水投与群で、1 日 2 回の刺激を 19 日間受けた後に二次性全般化運動発作を発現したマウスの割合は 89%であったのに対し、長期ブリーバラセタム投与群では、その割合は用量が 0.21 から 6.8 mg/kg にかけて増えるにつれ、60%から 5%に減少した。レベチラセタムも試験したすべての用量で、マウスの角膜キンドリングの形成を遅延させる高い効果を示したが、その用量はブリーバラセタムに使用した用量範囲に比べて約 10 倍高かった。

ブリーバラセタム投与により、2 日間のウォッシュアウト期間後の、1 日 2 回、5 日間の再刺激によるキンドリング誘発効果も抑制された。以前に生理食塩水を投与されたマウスで二次性全般化運動発作を発現した割合は、実験終了時には 100%であったのに対し、以前に最高用量のブリーバラセタム（6.8 mg/kg）を投与された群では、この割合が 50%にとどまった。レベチラセタムを投与されたいずれの群でも、このような効果の持続は認められなかった 。

図 2-6　ブリーバラセタム（腹腔内投与、30 分前）の長期投与がマウスにおける角膜キンドリング形成に及ぼす影響



2.1.8　　代謝物の薬理試験

聴原性発作マウス及び扁桃核キンドリング完成ラットで誘発される発作、並びにマウスへの最大電気ショックとペンチレンテトラゾールのボーラス投与によって誘発される発作に対するブリーバラセタムの主要代謝物による抑制作用を調査した。

2.1.8.1　　マウスの聴原性発作に対するブリーバラセタムの主要代謝物の効果（試験番号 RRLE01F2201）

雄の聴原性発作マウス（10 例/群、ucb 47074、ucb-100406-1、ucb-100023-1 を用いた試験）及び雌の聴原性発作マウス（10 例/群、ucb 42145 を用いた試験）を、木製の防音室に入れ、周波数 10～20 kHz の 90 dB の音刺激を 30 秒間与えたところ、暴走、間代性及び強直性けいれんが誘発された。音刺激の 60 分前に、ucb 47074（ケトン代謝物、2.3～226 mg/kg）、ucb-100406-1（ヒドロキシ代謝物、228 mg/kg）、ucb-100023-1（ヒドロキシ代謝物 ucb-100406-1 のジアステレオマー、23～228 mg/kg）、及び ucb 42145（酸代謝物、21～213 mg/kg）を腹腔内投与した。音刺激の間、マウスを 30 秒間観察し、間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ucb 47074 の聴原性発作マウスでの間代性けいれんに対する抑制作用の ED_{50} 値は、52 mg/kg であった。これに対し、対応するブリーバラセタムの ED_{50} 値は、2.4 mg/kg である（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）。ucb-100023-1、ucb-100406 及び ucb 42145 は、不活性であった。

2.1.8.2 マウスの聴原性発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果（試験番号 RRLE05E2306）

雄 DBA マウス（10 例/群）を、木製の防音室に入れ、周波数 10～20 kHz の 90 dB の音刺激を 30 秒間与えたところ、暴走、間代性及び強直性けいれんが誘発された。音刺激の 60 分前に、ucb-107092-1 を用量 22.9～229.3 mg/kg で腹腔内投与した。音刺激の間、マウスを 30 秒間観察し、間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ucb-107092-1 は、試験した最高用量（229 mg/kg）まで不活性であった。これに対し、聴原性発作マウスの間代性けいれんに対するブリーバラセタムの ED_{50} 値は、2.4 mg/kg である（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）。

2.1.8.3 マウスの最大電気ショック発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果（試験番号 RRLE07C3019）

雄 NMRI マウス（10 例/群）に、角膜電極により最大電気ショック強度（50 mA、50 Hz、0.2 秒）で電気刺激を与え、後肢の強直性伸展発作を誘発した。電気刺激の 60 分前に ucb-107092-1 を用量 22.9～412.7 mg/kg で腹腔内投与した。刺激後、マウスを 10 秒間観察し、後肢の強直性伸展発作の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ucb-107092-1 は、試験した最高用量（412.7 mg/kg）まで不活性であった。これに対し、ブリーバラセタムの最大電気ショック発作に対する ED_{50} 値は、113 mg/kg であった（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）。

2.1.8.4 マウスの最大ペンチレンテトラゾール投与誘発発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果（試験番号 RRLE07C3019）

雄 NMRI マウス（10 例/群）にペンチレンテトラゾール（89 mg/kg：生理食塩水投与群の 97%で間代性けいれんを誘発した最大用量［CD97 値］に等しい）を皮下投与し、間代性けいれんを誘発した。ペンチレンテトラゾールを投与する 60 分前に ucb-107092-1 を用量 22.9～229.3 mg/kg で腹腔内投与した。ペンチレンテトラゾール投与後、60 分間マウスを観察し、四肢すべての間代性けいれんの発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ucb-107092-1 は、試験した最高用量（229.3 mg/kg）まで不活性であった。これに対し、ブリーバラセタムのペンチレンテトラゾールによる間代性けいれんに対する ED_{50} 値は、30 mg/kg であった（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）。

2.1.8.5 ラットの閾上刺激により誘発した扁桃核キンドリング完成発作に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の効果（試験番号 RRLE07C3019）

雄 SD ラット（8 例/群）において、右扁桃核基底外側部に双極電極を埋め込んだ 2 週後に、1 日 1 回（週 5 日）、500 µA、1 ミリ秒の単相性矩形波パルス、50 Hz、1 秒間の刺激によるキンドリングを開始した。発作の重症度は、Racine スケールにより、部分発作（グレード 1 及び 2）及び二次

性全般化発作（グレード 3～5）としてスコア化した。後発射の持続時間は、刺激前に記録された振幅の 2 倍以上の振幅及び 1 Hz 超の周波数を示す脳波活動が出現している時間と定義した。ラットに 10 回以上連続でグレード 4 又は 5 の二次性全般化運動発作が発現した場合をキンドリング完成と定義した。キンドリング完成ラットには、まず生理食塩水を投与し、閾値上電流による刺激後、後発射及び運動発作を記録した。その 2 日後、生理食塩水又は ucb-107092-1 の用量 22.9～229 mg/kg の腹腔内投与の 60 分後に、2 日前と同じ手順を再度実施した。部分運動発作及び全般運動発作の発現を記録し、それに基づき抑制作用の ED_{50} 値を算出した。

ucb-107092-1 は、試験した最高用量（229.3 mg/kg）まで不活性であった。これに対し、ブリーバラセタムの腹腔内投与の二次性全般化運動発作に対する ED_{50} 値は、44 mg/kg であった（M2.6.3.2.2、RRLE01E0702）。

2.2 作用機序

2.2.1 結合試験

様々な既知の及び推定される薬物標的、並びにラット及びヒトの SV2A に対するブリーバラセタムの *in vitro* 親和性を評価した。マウスにおける全身投与後の中枢 SV2A のブリーバラセタムによる占有率も算出した。

2.2.1.1 様々な受容体、取り込み系及びイオンチャネルに特異的な放射性リガンドの結合に及ぼす影響

（試験番号 RRLE01E1509）

50 種類の受容体、取り込み系及びイオンチャネルに特異的な放射性リガンドを置換する能力について、ブリーバラセタムを濃度 10 µmol/L で 2 回試験した。実験は膜画分又は細胞培養液を用いて行い、置換の測定はシンチレーションカウンティングで行った。

ブリーバラセタムは、50 種類の様々な受容体、取り込み系及びイオンチャネルに特異的な放射性リガンドのいずれに対しても、50%超の結合阻害を示さなかった（RRLE01E1509 の Table 4:1 及び Table 4:2 参照）。

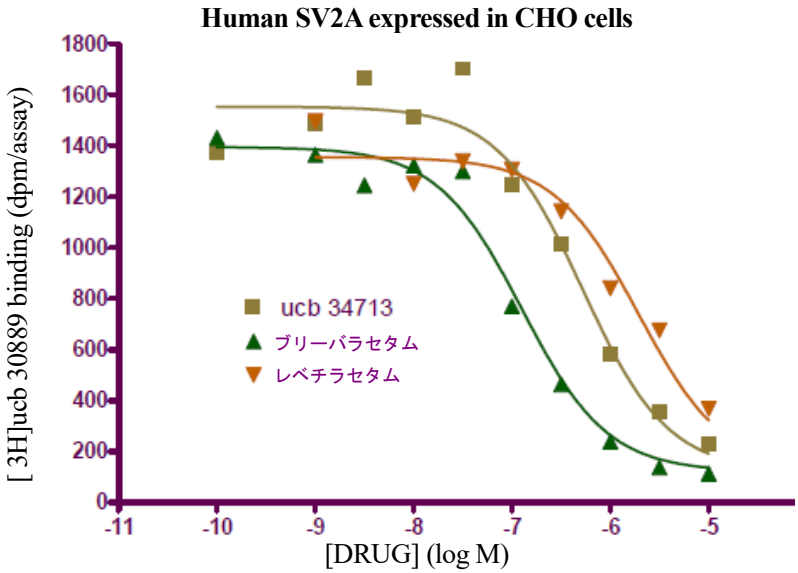
2.2.1.2 ラット脳の SV2A 及び遺伝子組換えたん白質発現 CHO 細胞に対する *in vitro* 親和性

（試験番号 RRLE07L0605）

ヒト SV2A を、胎児 cDNA ライブラリーからクローニングした後、CHO 細胞で安定的に発現させた。雄 SD ラットの大脳皮質からラット脳膜を採取した。放射性標識した ucb 30889（特異的 SV2A リガンド）及びブリーバラセタムの濃度系列と共に、膜たん白質を 120 分間インキュベートする 2 つの独立した結合実験を実施した。インキュベーション終了後、膜に結合した放射性リガンドを急速ろ過法により回収した。フィルターを乾燥させ、液体シンチレーションにより放射能を測定した。ucb 30889 の結合を競合曲線で表し、pIC_{50} 値を算出した。

ブリーバラセタムは SV2A に親和性を示し、ラット及びヒトの SV2A に対する pIC_{50} 値はそれぞれ 7.1 及び 7.0 であった。CHO 細胞の試験結果を図 2-7 に示した。

図 2-7　CHO 細胞に発現したヒト SV2A に対する ucb 34713、ブリーバラセタム及びレベチラセタムの親和性



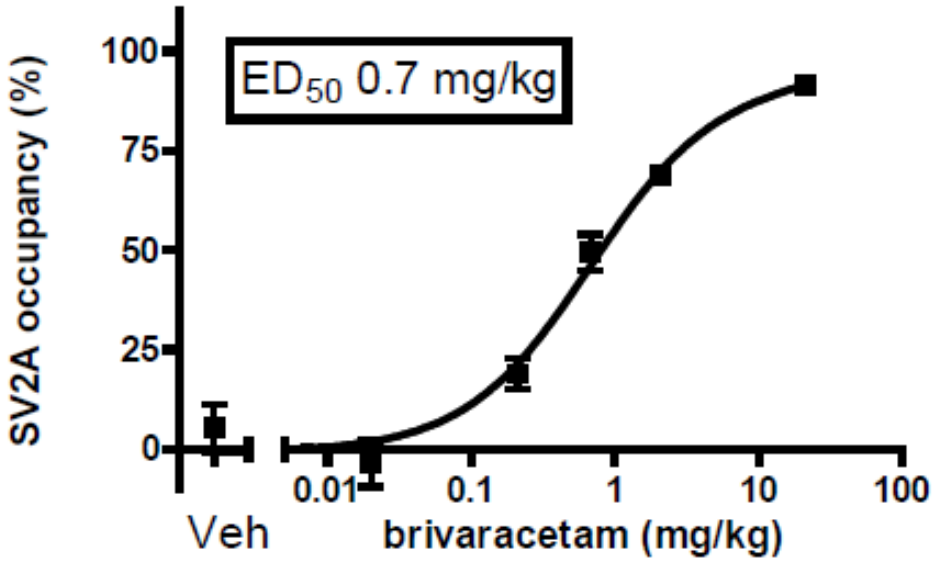
2 回の実験のうち 1 回の結果を示す。

2.2.1.3　マウスへの全身投与後の中枢 SV2A への *in vivo* 結合（試験番号 CNS11024）

雄 NMRI マウス（6 例/群）にブリーバラセタム 0.1～100 µmol/kg を屠殺 60 分前に腹腔内投与した。57 分後、放射性標識した ucb 30889 をマウスの尾静脈に注射した。3 分後、マウスを屠殺し、脳を速やかに取り出し、重量を測定し、ホモジナイズした。ホモジネートをろ過し、ろ過物を洗浄した。残留放射能を液体シンチレーションにより計数した。

ブリーバラセタムは、全身投与後、用量依存的に中枢 SV2A 結合部位を占有することが示された。これは、放射性標識した ucb 30889（特異的 SV2A 放射性リガンド）の結合の置換により確認された。用量 3.3 µmol/kg（0.7 mg/kg）で、中枢 SV2A 結合部位の占有率が 50%となった。ブリーバラセタムによる SV2A 占有率の結果を図 2-8 に示した。

図 2-8 マウスへの腹腔内投与から 60 分後のブリーバラセタムによる *in vivo* SV2A 占有率



データは、用量あたり 6 例の異なる動物から得られた平均値±標準誤差、及び算出された近似曲線として示した。Veh＝溶媒

2.2.2 Na^+チャネルに対する影響

培養神経細胞、神経芽腫細胞株、CA1 錐体神経細胞、及び非てんかんマウス及びてんかんマウス由来の嗅内皮質神経細胞において、電位依存性の急速かつ持続的 Na^+電流を修飾するブリーバラセタムの能力を評価した。

2.2.2.1 培養ラット皮質神経細胞の Na^+電流に対する影響
（試験番号 RRLE03F2702）

Wistar ラットの 14 日目の胚から取り出し、解離細胞培養で 15～24 日間培養した新皮質神経細胞を用いて、実験（1～15 神経細胞/群）を実施した。ホールセルパッチクランプ法により膜電流を細胞体から記録した。ブリーバラセタムを目標最終濃度となるように生理食塩水に溶解し、濃度 0.15～1000 µmol/L の溶液を調製した。パッチ細胞から 0.2 cm 未満の距離に設置された小さな管を用いた重力灌流システムにより、様々な濃度で試験した。

ブリーバラセタムは、培養したラット皮質神経細胞の速い Na^+電流に対し、濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50}値は 7 µmol/L であった。さらにブリーバラセタム（30 µmol/L）は、Na^+電流の定常状態活性化の電位依存性を正方向にシフトさせ（-37.00 mV から-33.60 mV）、減衰時定数の電位定数を 37.67 mV から 17.98 mV に低下させ、その速い不活性化の速度を増した。

2.2.2.2 神経芽腫細胞株に発現する天然 Na^+電流に対する影響
（試験番号 CNS10032）

培養した N1E-115 マウス神経芽腫細胞を用いて実験（5～8 細胞/群）を行った。ホールセルパッチクランプ法により膜電流を記録した。濃度 1～100 µmol/L のブリーバラセタムを灌流させた。

ブリーバラセタムは、定常状態の不活性化曲線を電位値が過分極となる方向に有意にシフトさせ（-3 mV から-7 mV）、Na^+チャネルが不活性化状態から活性化されたときにNa^+電流を抑制し（19～30%）、弱いながらも有意にNa^+電流を頻度依存性に遮断した。一方、ブリーバラセタムは静止状態のNa^+チャネルに影響を与えず、活性化及び遅い不活性化の電位依存性も変化させなかった。

2.2.2.3 ピロカルピン投与によりてんかんを誘発したマウスの嗅内皮質神経細胞におけるNa^+電流及び持続的連続発火に対する影響
（試験番号 CNS13004）

雄 NMRI マウス（5～8 神経細胞/群）に生理食塩水又はピロカルピン（300 mg/kg）を腹腔内投与した。最初の 1 時間以内に、ピロカルピン投与群の 45%がてんかん重積状態を発現したが、これは、ジアゼパム（10 mg/kg、腹腔内）投与により 3 時間後に終息した。4 週後、これらのマウスの 90～95%で自然に発作が再発した。その時点でマウスを麻酔下で断頭し、迅速に脳を摘出した。嗅内皮質及び海馬を含む水平腹側スライスを調製し、ホールセルパッチクランプ法により膜電流を記録した。スライスに濃度 300 µmol/L のブリーバラセタムを灌流したところ、嗅内皮質神経細胞からNa^+電流及び持続的連続発火が得られた。

ブリーバラセタムは、被験神経細胞で誘発されたNa^+電流及び持続的連続発火に影響を及ぼさなかった。

2.2.2.4 ラット胚初代皮質神経細胞のNa^+電流及び持続的連続発火に対する影響
（試験番号 CNS13005）

Wistar ラットの 17～18 日齢胚（6～9 神経細胞/群）から単離し、カバーグラス上で増殖した初代培養神経皮質細胞を用いて実験を実施した。ホールセルパッチクランプ法により膜電流を記録した。300 µmol/L のブリーバラセタム及び 100 µmol/L のカルバマゼピンを灌流し、神経皮質細胞の速い電位依存性Na^+電流及び持続的連続発火に対するこれら 2 種類の化合物の影響を比較した。

対照群に対して標準化したブリーバラセタムによるNa^+電流の抑制率は 22%にとどまり、持続的連続発火は抑制されなかった。一方、カルバマゼピンはNa^+電流を 47%抑制し、持続的連続発火を 75%減少させた。

2.2.2.5 成熟マウスの CA1 錐体神経細胞のNa^+電流及び持続的連続発火に対する影響
（試験番号 CNS13006）

Na^+電流及び持続的連続発火についての試験のため、それぞれ 4 週齢又は 8～10 週齢の雄 C57 ブラックマウスから海馬スライス（各群 4～8 の CA1 領域神経細胞）を調製した。Na^+電流及び持続的連続発火の試験では、それぞれホールセルパッチクランプ記録及び細胞内微小電極法による細胞内記録を用いて実験を行った。100 µmol/L 及び 300 µmol/L のブリーバラセタム及び 100 µmol/L のカルバマゼピンを灌流し、CA1 海馬神経細胞の速い電位依存性Na^+電流及び持続的連続発火に対するこれら 2 種類の化合物の影響を比較した。

ブリーバラセタムは、Na^+電流及び持続的連続発火に影響しなかった。一方、カルバマゼピンは、Na^+電流を 33%抑制し、持続的連続発火を 93%減少させた。

2.2.2.6 ラット海馬スライスの CA1 錐体神経細胞における持続性 Na^+電流に対する影響（試験番号 RRLE04D0703）

雄（生後 8～20 日）SD ラット（6 神経細胞/群）を使用した。脳を取り出した後、150 μm 厚のスライスを調製し、顕微鏡チャンバーに入れるまで酸素供給を続けた。膜電流は、ホールセルパッチクランプ法により記録した。ブリーバラセタムを濃度 2 及び 20 μmol/L で灌流し、60 分間の灌流中、10 分ごとに繰り返し記録した。

ブリーバラセタムは、持続性 Na^+電流に影響しなかった。

2.2.3 Ca^{2+}チャネルに対する影響

ラット CA1 海馬神経細胞及び後根神経節神経細胞を用いて、電位依存性 Ca^{2+}電流を修飾するブリーバラセタムの能力を評価した。

2.2.3.1 ラット CA1 海馬神経細胞及び後根神経節神経細胞の高電位及び低電位依存性 Ca^{2+}電流に対する影響（試験番号 RRLE03G0701）

雄（生後 14 日又は 1～2 ヵ月）Wistar ラット（1～8 神経細胞/群）を使用した。高電位依存性 Ca^{2+}電流を測定する実験は、14 日齢のラットの海馬 CA1 領域から摘出した神経細胞を用いて行った。低電位依存性 Ca^{2+}電流を測定する実験は、1～2 ヵ月齢のラットの後根神経節から摘出した神経細胞を用いて行った。膜電流は、ホールセルパッチクランプ法により記録した。ブリーバラセタムを濃度 0.1～2000 μmol/L で灌流した。

ブリーバラセタムは、高電位及び低電位依存性 Ca^{2+}電流を修飾しなかった。

2.2.4 K^+チャネルに対する影響

海馬神経細胞において、電位依存性の A 型 K^+電流及び遅延整流性 K^+電流を修飾するブリーバラセタムの能力を評価した。

2.2.4.1 培養マウス海馬神経細胞の電位依存性 K^+電流に対する影響（試験番号 RRLE02G0304）

出生後（生後 0～1 日）の雄 C57B16J マウス（3～7 神経細胞/群）を使用した。実験は、10～21 日間培養した海馬神経細胞で実施した。膜電流は、ホールセルパッチクランプ法で、A 型及び遅延整流性 K^+電流を記録した。ブリーバラセタムは、濃度 1～100 μmol/L で灌流した。

ブリーバラセタムは、K^+電流に影響しなかった。

2.2.5 リガンド依存性の興奮性及び抑制性電流に対する影響

海馬の神経細胞において、興奮性の NMDA 電流、カイニン酸電流、AMPA 電流、及び抑制性の GABA 電流、グリシン電流を修飾するブリーバラセタムの能力を評価した。

2.2.5.1 培養マウス海馬神経細胞の興奮性アミノ酸誘発電流に対する影響（試験番号 RRLE04B1602）

雄マウスから得られた海馬神経細胞を培養して実験を実施した（2～38 神経細胞/群）。膜電流は、ホールセルパッチクランプ法で記録した。電流は、NMDA（50 µmol/L）、カイニン酸（100 µmol/L）及び AMPA（3 µmol/L）のいずれかを適用して誘発した。ブリーバラセタムを濃度 1～300 µmol/L で急速微小灌流法により適用した。

ブリーバラセタムは濃度 100 µmol/L 以上で、NMDA により誘発された電流のピーク及びプラトーを両方有意に低下させ、濃度 300 µmol/L で最大の 34%の抑制効果を示した。一方、ブリーバラセタムの濃度 300 µmol/L 及び 100 µmol/L までの試験では、それぞれカイニン酸及び AMPA により誘発した電流は修飾されなかった。

2.2.5.2 培養マウス海馬神経細胞の抑制性アミノ酸誘発電流に対する影響（試験番号 RRLE04B1601）

雄マウスから得られた海馬神経細胞を培養して実験を実施した（2～20 神経細胞/群）。膜電流は、ホールセルパッチクランプ法で記録した。電流は、GABA（20 µmol/L）又はグリシン（100 µmol/L）のいずれかを適用して誘発した。これらの電流を、亜鉛（15 及び 500 µmol/L）及び DMCM（15 µmol/L）を適用して抑制した。ブリーバラセタムを濃度 1～300 µmol/L で急速微小灌流法により適用した。

ブリーバラセタムの濃度 100 µmol/L 及び 300 µmol/L までの試験では、それぞれ GABA 及びグリシンにより誘発した電流を修飾しなかった。一方、ブリーバラセタムは、亜鉛及び DMCM により誘発された GABA 電流の抑制を、試験したすべての濃度（1～100 µmol/L）で有意に回復させ、亜鉛及び DMCM により誘発されたグリシン電流の抑制を、それぞれ濃度 3 及び 10 µmol/L 以上で回復させた。

2.2.6 *in vitro* でのてんかん様活性に対する影響

高濃度の K^+及び低濃度の Ca^{2+}を含むてんかん誘発液を海馬スライスに灌流し、*in vitro* で誘発した及び自然に発生したてんかん様活性を抑制するブリーバラセタムの能力を評価した。

2.2.6.1 ラット海馬スライスのてんかん様活動に対する影響（試験番号 RRLE01D0202）

雄 SD ラットから得た海馬スライス（10 スライス/群）の CA3 領域のフィールド電位を細胞外記録した。高濃度の K^+（7.5 mmol/L）と低濃度の Ca^{2+}（0.5 mmol/L）を含む液を灌流する 20 分前に、ブリーバラセタムを濃度 0.1～10 µmol/L でスライスの浴液に添加した。誘発されたフィールド電位を、10 分ごとに 80 分間記録した。自然に発生した活性は、各 10 分間の途中で 2 分間ずつ記録した。

ブリーバラセタムは、1 回目に誘発された集合スパイク及び 2 回目に再度誘発された集合スパイクの振幅、並びに誘発された集合スパイクの数をいずれも有意に減少させた。ブリーバラセタム（3.2 µmol/L）は、自然に発生する群発放電の数も有意に減らした。

2.2.7 ヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の *in vitro* プロファイル（試験番号 RRLE07F1207）

ucb-107092-1 の選択性を *in vitro* で評価した。

遺伝子導入細胞株（ヒト又はラットの遺伝子組み換え標的）、ラット又はモルモットの組織膜試料（脳、皮質）、ラット又はブタの肝臓試料のいずれかで発現する一連の受容体、取り込み系、イオンチャネル及び酵素を含む 69 の異なる結合部位に対する ucb-107092-1 の結合性を選択的なリガンドとの競合試験で評価した。各実験で、標的たん白質又は酵素を発現した膜を、10 µmol/L の ucb-107092-1 を含む 1% DMSO 溶液（又はラット SV2A たん白質に対しては 0.1 nmol/L から 10 µmol/L までの濃度系列）、あるいは参照物質と共に、4ºC、22ºC、25ºC 又は 37ºC で 5～180 分間インキュベートした。結果は、ucb-107092-1 存在下での対照物質の特異的結合の阻害率（%）で表した。

ブリーバラセタム（M2.6.3.2.1、RRLE01E1509）とは対照的に、ucb-107092-1 は試験した最大濃度の 10 µmol/L まで、ラット大脳皮質の SV2A に結合しなかった。このことは、CHO 細胞で発現したヒト SV2A タンパク質でも確認された。また、ucb-107092-1 は、今回試験した受容体、取り込み系、イオンチャネル、酵素等、68 の標的のいずれとも有意な相互作用を示さなかった（10 µmol/L で 40%超の阻害は認められなかった）。

3. 副次的薬理試験

ブリーバラセタムの副次的薬理は、鎮痛作用のほか、振戦、躁病及び片頭痛に対する効果、並びに認知機能への影響を明らかにするため、様々な *in vitro* 及び *in vivo* モデルで評価された。

3.1 疼痛

急性疼痛（ラットのテールフリックモデル及びホットプレートモデル）、連続的炎症性疼痛（ラットのホルマリンモデル）、並びに慢性疼痛（ラットの糖尿病モデル、単神経障害モデル及び脊髄神経結紮モデル）に対するブリーバラセタムの鎮痛作用を調査した。

3.1.1 ラットのテールフリックモデル及びホットプレートモデルにおける急性疼痛に対する効果（試験番号 RRLE01C2305）

雄 SD ラット（8 例/群）に、尾部に向けて放射される熱（テールフリック試験）、又は 55ºC に加熱されたプレート（ホットプレート試験）により、侵害性熱刺激を与えた。これら 2 試験における抗侵害受容作用は、尾を動かすまで及び足を舐めるまでの潜時として測定した。試験の 30 分前に、ブリーバラセタム 21～212 mg/kg を腹腔内投与した。

ブリーバラセタムは、テールフリック試験では尾の反射までの潜時をわずかではあるが有意に増加させる効果を示したが（68 及び 212 mg/kg）、ホットプレート試験では無効であった。

3.1.2 ラットのホルマリンモデルにおける連続的炎症性疼痛に対する効果（試験番号 RRLE01C2101）

雄 SD ラット（10 例/群）の右後足底面に、5%（v/v）ホルマリン溶液 0.05 mL を皮下注射した。ホルマリンを注射した直後、ラットを 35 分間観察し、「引っ込め」行動を伴うエピソードが二段階で認められた。この行動は、まず初期段階（0～5 分）、次に後期段階（10～35 分）で認められ、両段階は「無症状」段階で区切られていた。試験の 30 分前に、ブリーバラセタム 7～118 mg/kg を腹腔内投与した。

ブリーバラセタムは、初期及び後期段階のいずれでも、引っ込め行動を伴うエピソードの回数を変化させなかった。

3.1.3 神経障害性疼痛の糖尿病ラットモデルにおける機械的痛覚過敏に対する効果（試験番号 RRLE01D1801）

雄 SD ラット（6～8 例/群）にストレプトゾシン（75 mg/kg）を腹腔内投与することにより糖尿病を誘発した（血糖値 ＞14 mmol/L）。3 週後、発声又はあがきが現れるまで右後足に加える圧力を増加させることによる機械的刺激に対する発声閾値（単位：グラム）により機械的痛覚過敏を測定した。ブリーバラセタム 2.1～68 mg/kg を腹腔内投与し、投与直前、15 分、30 分、45 分、60 分、120 分、180 分後に発声閾値を測定した。

ブリーバラセタムは、用量依存的に機械的痛覚過敏を回復させた。その効果は、21 及び 68 mg/kg で、注射の 15～90 分後の間に有意であった。

3.1.4 神経障害性疼痛のラット単神経障害モデルにおける機械的痛覚過敏に対する効果（試験番号 RRLE01E0401）

雄 SD ラット（8～9 例/群）において、右後肢の総坐骨神経を 4 箇所結紮し、単神経障害を引き起こした。2 週後、発声又はあがきが現れるまで右後足に加える圧力を増加させることによる機械的刺激に対する発声閾値（単位：グラム）により機械的痛覚過敏を測定した。ブリーバラセタム 0.7～21 mg/kg を腹腔内投与し、投与直前、並びに 15 分、30 分、45 分、60 分、120 分及び 180 分後に発声閾値を測定した。

ブリーバラセタムは、試験した最高用量（21 mg/kg）で、投与の 15～60 分後の間、機械的痛覚過敏を有意に抑制した。

3.1.5 神経障害性疼痛のラット脊髄神経結紮モデルにおける機械的異痛症及び熱的痛覚過敏に対する効果（試験番号 CNS09025）

雄 SD ラット（10 例/群）において、分離した左 L5 及び L6 脊髄神経を結紮し、単神経障害を引き起こした。4 日以上経過後、左後足底面に von Frey filament を当て、機械的異痛症を測定した。逃避閾値（単位：グラム）は、後足の逃避反射を誘発した力の最低値と定義した。熱的痛覚過敏の測定では、赤外線輻射熱源を足底面に下から当てて、逃避までの潜時（単位：秒）を測定した。ブリーバラセタム 7～68 mg/kg を腹腔内投与し、投与直前、並びに 30 分及び 60 分後に逃避閾値及び潜時を測定した。

ブリーバラセタムは、21 及び 68 mg/kg で、機械的異痛症を有意に回復させたが、熱的痛覚過敏に対しては効果を示さなかった。

3.2 本態性振戦

ラットのハルマリン誘発性振戦モデルを用いて、振戦に対するブリーバラセタムの抑制作用を評価した。

3.2.1 ラットのハルマリン誘発性振戦に対する効果（試験番号 RRLE04B1605）

雄 SD ラット（9～20 例/群）にハルマリン塩酸塩 20 mg/kg を腹腔内投与して振戦を誘発した。ハルマリン塩酸塩は、最長 3 時間の振戦及び鎮静をもたらす。誘発された振戦は、pick-up 試験、imposed posture 試験及び tilting grid 試験により測定し、これら全てで 5 箇所の身体部位（首、胴体、前肢、後肢及び尾）における振戦スコアを求めた。振戦を誘発した直後に、ラットを静置して 3 分間観察し、20 秒ごとに頭部及び身体の自発振戦をスコア化した。ハルマリン塩酸塩投与の 30 分前に、ブリーバラセタム 21～119 mg/kg を腹腔内投与した。誘発及び自発振戦を、ブリーバラセタム投与の 5 分前、並びに 15 分、30 分及び 60 分後に評価した。

ブリーバラセタムは、誘発及び自発振戦の両方を用量依存的に抑制し、その効果は用量 38 mg/kg 以上で有意であった。

3.3 片頭痛

皮質拡延性抑制の *in vitro* モデルを用いて、片頭痛に対するブリーバラセタムによる抑制作用を評価した。

3.3.1 *In vitro* ラット新皮質スライスモデルでの拡延性抑制に対する効果（試験番号 RRLE05D1101）

雄 SD ラット（8 スライス/群）を使用した。所定量の KCl（3 mol/L）を局所に滴下しながら、新皮質スライスの拡延性抑制事象を繰り返し誘発した。スライスの皮質 I～II 層に 2.5 mm の間隔を置いて配置した 2 つのマイクロピペット電極を用いて記録を取った。反応の均一性及び安定性を確認し、投与後の値を投与前の値に対する割合として表せるように、まず、3 回の連続する投与前の拡延性抑制エピソードを 20 分間隔で記録した。ブリーバラセタムを灌流液に添加し、濃度を 3.2～32 µmol/L とし、薬物投与前の最後の拡延性抑制エピソードの 40 分後に、20 分間隔でさらに 5 回のエピソードを誘発した。すべてのスライスについて、拡延性抑制エピソードの振幅及び片振幅時間を取得した。

ブリーバラセタム（10 及び 32 µmol/L）は、いくつかの拡延性抑制エピソードの振幅及び持続時間をやや抑制し、その効果は 10 µmol/L で複数試験のいくつかで有意であった。

3.4 躁病

ラットにおいて、デキサンフェタミン及びクロルジアゼポキシドの併用により誘発された過活動に対するブリーバラセタムによる抑制作用を評価した。

3.4.1 ラットにおけるデキサンフェタミン及びクロルジアゼポキシドの混合物により誘発されたＹ字型迷路での過活動に対する効果
（試験番号 RRLE01C2603）

雄 SD ラット（10 例/群）において、クロルジアゼポキシド（12.5 mg/kg、皮下）及びデキサンフェタミン硫酸塩（1.18 mg/kg、皮下）の併用投与により、過活動を誘発した。35 分後、ラットを Y 字型迷路の中央に置き、5 分間での迷路のアームに入った回数として活動性を測定した。試験の 30 分前に、ブリーバラセタム 2.1～21 mg/kg を腹腔内投与した。

ブリーバラセタムは、デキサンフェタミン及びクロルジアゼポキシドにより誘発された過活動を用量依存的に抑制し、試験した最高用量（21 mg/kg）では有意な効果を示した。

4. 安全性薬理試験

ICH S7A（2000 年）及び S7B（2005 年）ガイドラインに基づき、中枢神経系、循環器系、呼吸器系についての安全性薬理試験を実施した。コアバッテリー試験に加え、消化器系の補足的安全性薬理試験も実施した。安全性薬理試験の大部分は GLP に準拠して実施した。しかし、初期の CNS に関する試験の多くは、GLP に準拠して実施しなかった。これらの試験は、より包括的な試験を補足する情報を提供するために実施された。

ブリーバラセタム、ucb-107092-1（代謝物）及び ucb 34713（不純物）を用いて実施した安全性薬理試験を表 4-1 に示す。

表 4-1 安全性薬理試験の一覧

試験の種類及び試験方式	動物種	GLP 適合性	参照
ブリーバラセタム			
ロータロッド試験	マウス、ラット	非適合	RRLE01F0603
歩行運動	ラット	非適合	RRLE01C2304
Irwin 試験	ラット	適合	TA0680
Irwin 試験（空腹時/食後）	ラット	適合	TA0716
長期増強	ラット海馬スライス	非適合	CNS09002
Morris 水迷路試験（空間参照記憶）	ラット（正常及び扁桃核キンドリング完成）	非適合	CNS09003
活動電位パラメータ	イヌプルキンエ線維	適合	TA0679
hERG テール電流	*in vitro*	適合	NCD2011
ヒトナトリウム（hNav1.5）チャネル電流	*in vitro*	適合	NCD2071
ヒトカルシウム（$I_{Ca,L}$）チャネル電流	*in vitro*	適合	NCD2072
全身血行動態及び呼吸機能	麻酔下のイヌ	適合	TA0685
麻酔下のイヌの血行動態への影響	麻酔下のイヌ	適合	PSM0885
循環器系への影響	テレメター装着覚醒イヌ	適合	TA0671
呼吸機能	ラット	適合	PSM0874
消化器機能	ラット	適合	TA0678
ucb-107092-1（ヒドロキシ酸代謝物）			
Irwin 試験	ラット	適合	NCD1774
活動電位パラメータ	イヌプルキンエ線維	適合	NCD1768
hERG テール電流	*in vitro*	適合	NCD1765
循環器系への影響	テレメター装着覚醒イヌ	適合	NCD1817
呼吸機能	ラット	適合	NCD1773
消化器機能	ラット	適合	NCD1775
ucb 34713			
活動電位パラメータ	イヌプルキンエ線維	適合	NCD1767
hERG テール電流	*in vitro*	適合	NCD1766

4.1 中枢神経系

4.1.1.1 マウス及びラットにおけるロータロッド試験の成績低下（試験番号 RRLE01F0603）

キンドリング完成マウス及びラット、並びに GAERS を用いて、ブリーバラセタムによるロータロッド試験の成績への影響を評価した。

角膜キンドリング完成雄 NMRI マウス（各群 n=10、6.8～382.1 mg/kg）及び扁桃核キンドリング完成雄 SD ラット又は雄 Wistar GAERS（各群 n=8、21.2～382.1 mg/kg）にブリーバラセタムを単回腹腔内投与した。投与の 30 分又は 60 分後、運動機能への悪影響をロータロッドで評価した。試験動物の 50%にロータロッド試験の成績低下を誘発する有効量（ED_{50}）とその 95%信頼区間を、対数プロビット解析により算出した。

ブリーバラセタムは、角膜キンドリング完成マウス、扁桃核キンドリング完成ラット、及び GAERS のロータロッド試験成績を用量依存的に低下させ、その ED_{50} 値はそれぞれ 55 mg/kg、163 mg/kg 及び 177 mg/kg であった。

ブリーバラセタムは用量 382.1 mg/kg で、角膜キンドリングマウスの 1/10、扁桃核キンドリングラットの 1/8、GAERS の 3/8 の死亡を誘発した。GAERS では、ブリーバラセタム 212.3 mg/kg の投与後にも 1/8 のラットが死亡した。

ヒトの部分てんかん及び全般てんかん両方の動物モデルである角膜キンドリングマウス、扁桃核キンドリングラット、GAERS において、ブリーバラセタムの発作抑制作用用量と運動関連有害

事象（ロータロッド試験の成績低下）を誘発する用量との安全域は、それぞれ 46、3.7 及び 26 であった。

4.1.1.2 ラットの自発歩行運動への影響
（試験番号 RRLE01C2304）

ラットの自発歩行運動に対するブリーバラセタムの影響を検討するため、雄 SD ラット（n=8～12/群）に対し、試験 30 分前にブリーバラセタム（2.1、6.8、21、68、118 及び 212 mg/kg）を単回腹腔内投与した。行動計測ケージを用いて、ビデオトラッキングシステムにより 30 分間の水平方向の移動量を記録し、歩行運動を評価した。

118 及び 212 mg/kg 群で自発歩行運動の統計的に有意な減少が認められた（それぞれ 46 及び 66%の減少）。これらの結果から、ブリーバラセタムは用量 118 mg/kg 以上で、若干の鎮静作用又は運動への影響をもたらすと考えられる。

4.1.1.3 Wistar ラットを用いた単回経口投与後の神経行動学的（Irwin）試験
（試験番号 TA0680）

空腹時の Wistar Han ラット（6 例/性/群）に、ブリーバラセタム 0（1%メチルセルロース水溶液）、100（雌雄）、300（雌雄）、600（雌のみ）、1000（雄のみ）及び 1500 mg/kg（雄のみ）を単回経口投与した。参照物質としてクロルプロマジン 20 mg/kg を経口投与した。投与の 0.5、1、3、6 及び 24 時間後、Irwin 試験により一般的行動へのあらゆる影響を観察した。

用量 100 mg/kg 及び 300 mg/kg では、中枢神経系抑制の徴候（無気力、注意力の低下、グルーミングの減少）が誘発されたが、これらは概ね軽度かつ低頻度であった。また、用量 300 mg/kg では、軽度の変化が神経筋機能（雌の握力低下）、感覚運動機能（雌雄ともに驚愕反応の低下）、自律機能（雄の瞳孔径の増大）に認められた。これらの徴候は、一般的に投与 1 時間後に発生し、100 mg/kg 群及び 300 mg/kg 群でそれぞれ最長で投与後 3 時間及び 6 時間持続した。

600 mg/kg 群の雌では、中程度の中枢神経系抑制の徴候（無気力、消極性、注意力の低下、グルーミングの減少）が認められ、それに伴う変化が感覚運動機能（驚愕反応及び接触反応の低下）、神経筋機能（体緊張度及び握力の低下）、自律機能（眼瞼下垂、瞳孔径の増大）に認められた。これらの変化は、一般的に投与 0.5 又は 1 時間後に発生し、24 時間後に消失した。

1000 mg/kg 及び 1500 mg/kg 群の雄では、より顕著な中枢神経系抑制の徴候（無気力、消極性、注意力の低下、グルーミングの減少）が発現し、これらが最初に認められたのは投与 30 分後であった。また、両群で感覚運動機能（驚愕反応、接触反応、痛覚反応の低下）、神経筋機能（体緊張度及び握力の低下）、自律機能（眼瞼下垂、流涎、瞳孔径の増大）に変化が認められ、加えて運動失調及び呼吸異常（あえぎ、徐呼吸）もみられた。1000 mg/kg 群では、1/6 が投与の約 4.5 時間後に人道的理由により安楽死させられ、1500 mg/kg 群では、ラットの 1/6 が投与の約 3.5 時間後に死亡した。1000 及び 1500 mg/kg 群で認められた影響の重大性を考慮し、両群で投与を受けたラットは、それぞれ投与の約 5 時間後及び 4 時間後に安楽死させられた。

参照物質であるクロルプロマジンの投与後に認められた影響は、その既知の薬理作用と一致していたことから、本試験で用いた方法の妥当性が確認された。

4.1.1.4 空腹時及び非空腹時に単回経口投与を受けた雄 Wistar ラットを用いた神経行動学的（Irwin）試験

（試験番号 TA0716）

ブリーバラセタム 2 ロット（ロット番号 103L 及び A006）を、空腹時及び非空腹時の Wistar Han ラット（雄 6 例/群）に用量 600 mg/kg で単回経口投与した。非空腹時投与ラットの対照群には、溶媒（1%メチルセルロース水溶液）を投与した。参照物質としてクロルプロマジン（20 mg/kg）を空腹時のラットに経口投与した。投与の 0.5、1、3、6 及び 24 時間後、Irwin 試験でラットの一般的行動へのあらゆる影響を観察した。

徴候の強度は様々であり、軽度から中等度の中枢神経系抑制（消極性、注意力の低下、グルーミングの減少）の他にも、変化が神経筋機能（握力の低下）及び感覚運動機能（驚愕反応及び接触反応の低下）に認められ、運動失調もみられた。最も顕著な影響は、空腹時投与群で、とりわけロット番号 103L を投与されたラットに認められた。非空腹時投与群では、両ロットとも軽度かつ一過性の徴候を誘発したに過ぎなかった（主に注意力の低下、驚愕反応の低下、又は無気力、握力の低下及びつま先歩行）。

参照物質であるクロルプロマジンの投与後に認められた影響は、その既知の薬理作用と一致していたことから、本試験で用いた方法の妥当性が確認された。

4.1.2 認知機能

ブリーバラセタムの学習及び記憶機能への影響を、*in vitro* ではラット海馬の長期増強、*in vivo* では正常ラット及び扁桃核キンドリング完成ラットを用いた Morris 水迷路試験により評価した。

4.1.2.1 ラット海馬スライスにおける長期増強への影響

（試験番号 CNS09002）

雄 SD ラット（10 スライス/群）を使用した。スライスの海馬 CA1 領域の放線状層でのフィールド興奮性シナプス後電位を記録した。海馬 CA3 領域を双極性電極により電流強度 0.025 mA で 0.2 ミリ秒刺激すると、フィールド興奮性シナプス後電位が惹起された。2 分ごとに 30 分間記録した後、同じ刺激強度で 100 Hz のテタヌス刺激を 1 秒間実施してフィールド電位を誘発し、その後 1 分ごとに 10 分間、それからさらに 2 分ごとに 30 分間記録を継続した。濃度 3～30 µmol/L のブリーバラセタムを灌流した。フィールド興奮性シナプス後電位の傾きの平均値をテタヌス刺激前後に測定し、テタヌス刺激により誘発される増強の指標として算出した。

ブリーバラセタムは、フィールド興奮性シナプス後電位の傾きのテタヌス刺激後増強を変化させなかった。

4.1.2.2 正常ラット及び扁桃核キンドリング完成ラットにおける Morris 水迷路試験での空間参照記憶に対する影響

（試験番号 CNS09003）

雄 SD ラット（12 例/群）を使用した。扁桃核キンドリングは、前述の通り誘発及び規定された（RRLE01E0702）。連続する学習試行を通して位置が固定されている脱出プラットフォームをラットが見つける必要のある「place バージョン」の Morris 水迷路を用いて空間参照記憶を評価し

た。このプラットフォームは、直径 140 cm の「水泳プール」中の「乳白色」の液体の表面から 0.5 cm 下に隠されている。本実験では、3 回ずつの連続する水泳施行から成る学習セッションを 4 回実施した。これらのセッションは、24 時間間隔で実施した。各セッションでは、脱出プラットフォームを特定するまでの潜時、水泳距離、及び速度を記録した。最終セッションの翌日、すべてのラットで「プローブ試験」を実施した。本試験では、水中から脱出プラットフォームを取り除き、以前に脱出プラットフォームが隠されていた迷路内の全体の 1/4 に当たる目標領域内でラットが過ごした時間を記録した。試験の 60 分前に、ブリーバラセタム 2.1～21 mg/kg を腹腔内投与した。

ブリーバラセタムにより、脱出プラットフォームに到達するまでの時間及び移動距離は変化せず、全体の 1/4 に当たる目標領域に対する選好性及び学習曲線の傾きにも影響しなかった。

4.2 循環器系

4.2.1 *In vitro*

4.2.1.1 イヌから単離されたプルキンエ線維における心臓活動電位（試験番号 TA0679）

ブリーバラセタムが再分極過程に及ぼす影響をイヌ心臓プルキンエ線維で評価した。

雌ビーグル犬から単離した心室プルキンエ線維を用いて、ブリーバラセタムの電気生理学的影響を試験した。ブリーバラセタムの濃度依存的な影響（2、20 及び 200 µg/mL、各濃度で約 30 分）についてそれぞれプルキンエ線維 4 本を用いて評価した。各濃度で、刺激周波数 0.5 Hz 及び 1 Hz での活動電位パラメータを記録した。最高濃度のブリーバラセタムとインキュベーション後、刺激周波数 3 Hz での活動電位パラメータを記録した。実験の終了前に、溶媒（滅菌水）で処理したプルキンエ線維を dl-ソタロール塩酸塩（50 µmol/L）に 30 分間曝露し、活動電位延長作用のある薬剤に対する試験系の感度を確認した。

刺激周波数 1 Hz 及び 0.5 Hz で刺激したイヌの単離プルキンエ線維において、2、20 及び 200 µg/mL のブリーバラセタムは、測定したいずれの活動電位パラメータにも有意な影響を及ぼさなかった。1 Hz 及び 3 Hz で記録された脱分極の最大速度は、溶媒で処理した線維と 200 µg/mL のブリーバラセタムで処理した線維との間で有意差を示さず、ブリーバラセタムがプルキンエ線維のナトリウムチャネルに影響を与えないことが判明した。これらのデータは、血漿中濃度 200 µg/mL まで、ブリーバラセタムが心電図の QRS 時間及び QT 間隔に直接影響する可能性が低いことを示している。

参照物質である dl-ソタロール塩酸塩は活動電位の持続時間を延長させた。この影響は、dl-ソタロールの I_{Kr} 電流に対する既知の活性と一致していることから、本試験系の感度が確認された。

4.2.1.2 クローン hERG カリウムチャネルへの影響（試験番号 NCD2011）

hERG を介したカリウム電流に対するブリーバラセタムの *in vitro* での影響を、ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）を安定的に発現する電位固定されたヒト胎児腎（HEK293）細胞を用いて評価した。ガラス製マイクロピペットを用いたホールセルパッチクランプ法を用いて、生理的温度に近い温度（33～35ºC）で電流を記録した。

ブリーバラセタム（10 及び 100 μmol/L）は、溶媒［HEPES 緩衝生理食塩水（HB-PS）+0.3% DMSO］対照値との比較で、hERG カリウム電流を阻害しなかった（対照での 0.5 ± 0.2%に対し、10 μmol/L での最大値が 0.4 ± 0.1%）。したがって、ブリーバラセタムの hERG カリウム電流に対する阻害作用の IC_{50} は求めなかった。

陽性対照（60 nmol/L テルフェナジン）は、hERG カリウム電流を 86.5%阻害した。この結果から、本試験系の hERG 阻害に対する感度が確認された。

4.2.1.3　ヒト心臓ナトリウムチャネル（hNav1.5）に対する影響（試験番号 NCD2071）

心臓ナトリウムチャネル（hNav1.5）を安定的に発現するヒト胎児腎 293 細胞（HEK293）を用いて、ヒト心臓ナトリウムチャネルをブリーバラセタムが遮断する可能性を *in vitro* で検討した。ガラス製マイクロピペットを用いたホールセルパッチクランプ法により、15～30ºC で電流を記録した。濃度反応試験及び 2 回の連続する脱分極試験パルスを用いて phasic block を発生させる使用依存性試験の 2 種類の実験を実施した。

ブリーバラセタム（10 及び 100 μmol/L）は、溶媒（低ナトリウム生理食塩水）対照値との比較で、hNav1.5 電流を有意に阻害しなかった（対照での 0.8 ± 0.5%に対し、100 μmol/L での最大値が 1.5 ± 0.2%）。したがって、hNav1.5 電流に対するブリーバラセタムの阻害作用の IC_{50} は算出されなかった。double pulse voltage 試験により、100 μmol/L のブリーバラセタムは溶媒との比較で、hNav1.5 電流を有意に阻害せず、使用依存性ブロックは認められなかった。

陽性対照（2 mmol/L リドカイン）は、hNav1.5 電流を 91.6%阻害した。100 μmol/L リドカインでは、hNav1.5 電流の使用依存性ブロックが誘発された。この結果から、hNav1.5 の阻害に対する本試験系の感度が確認された。

4.2.1.4　ヒト心臓 L 型カルシウムチャネル（hCav1.2）に対する影響（試験番号 NCD2072）

ヒト Cav1.2（hCav1.2-β2-α2δ）カルシウムチャネルを過剰発現したチャイニーズハムスター卵巣細胞を使用し、ブリーバラセタムが L 型カルシウム電流（$I_{Ca,L}$）に及ぼす影響を *in vitro* で評価した。ガラス製マイクロピペットを用いたホールセルパッチクランプ法により、15～30ºC で電流を記録した。濃度反応試験及び 2 回の連続する脱分極試験パルスを用いて phasic block を発生させる使用依存性試験の 2 種類の実験を実施した。

ブリーバラセタム（10 及び 100 μmol/L）は、溶媒（HB-PS + 0.3% DMSO）対照値との比較で、hCav1.2 電流を有意に阻害しなかった（対照での 3.6 ± 0.8%に対し、10 μmol/L では 7.2 ± 3.2%、100 μmol/L では 7.9 ± 0.7%）。hCav1.2 電流に対するブリーバラセタムの阻害作用の IC_{50} は算出できなかった。double pulse voltage 試験により、100 μmol/L のブリーバラセタムは溶媒との比較で、hCav1.2 電流を有意に阻害せず、使用依存性阻害は認められなかった。

2 種類の陽性対照（0.1 μmol/L ニフェジピン及び 30 μmol/L ベラパミル）のいずれも hCav1.2 電流を阻害し、ベラパミルでは 2 回目の試験パルスで反応が増加し、使用依存性ブロックが認められた。この結果から、hCav1.2 の阻害に対する本試験系の感度が確認された。

4.2.2 *In vivo*

4.2.2.1 麻酔下のビーグル犬への静脈内投与後の全身血行動態及び呼吸機能（試験番号 TA0685）

麻酔下のイヌで、第 II 誘導心電図、全身血行動態及び呼吸変数に対するブリーバラセタムの影響を評価した。イヌ 4 例に 60 分間隔で 10 分間、ブリーバラセタム（5、50 及び 150 mg/kg）を累積的に静脈内点滴投与した。対照群の 4 例には、同一条件下で溶媒（5%グルコース溶液）のみを投与した。

検討したパラメータは、動脈圧（平均値、収縮期圧、拡張期圧）、左室圧変数（左室収縮期圧、陽性左室圧一次微分最高値、陰性左室圧一次微分最高値）、心拍出量と一回拍出量、大腿動脈の血流量とコンダクタンス、及び血液温度であった。ECG パラメータ［RR、PR、QT、補正 QT（Bazett、Fridericia 及び Van de Water の式によるそれぞれ QTcB、QTcF 及び QTcV）間隔、QRS 時間、及び心拍数］を標準第 II 誘導で記録した。また、呼吸変数（呼吸数、分時換気量、一回換気量、吸気時間、呼気時間、吸気流量及び呼気流量）を測定し、血液ガス分析（pCO_2、pO_2、過剰塩基、標準重炭酸塩、$\%O_2$ 飽和度、pH）のため動脈血の試料を採取した。ブリーバラセタムの血漿中濃度は、溶媒又はブリーバラセタムの各投与の開始前及び投与開始 60 分後に測定した。

用量 5 mg/kg では、循環器系及び呼吸器系への影響はなかった。

用量 50 及び 150 mg/kg では、投与開始から 2～10 分後に用量依存的な心拍数の減少（同時点の溶媒群との比較で-11～-21%）が認められた。投与開始の 2～15 分後には、呼吸数（溶媒群との比較で+40～106%）及び分時換気量（溶媒群との比較で+50～89%）に一過性の増加が認められた。両パラメータとも、投与開始から 15～30 分後に投与前の水準に戻り始めるか、戻った。用量 150 mg/kg では、呼吸数の変化に伴い、吸気時間及び呼気時間が減少した（溶媒群との比較で、10 分後にそれぞれ-45%及び-54%）。

用量 150 mg/kg では、その他の循環器系の変化として、QT の延長（溶媒群との比較で最大+21%）、QTc 間隔の延長（溶媒群との比較で最大+13%）、急速かつ一過性の動脈圧の低下（溶媒群との比較で平均値、収縮期圧及び拡張期圧がそれぞれ最大-31%、-31%及び-35%）、並びに一過性の大腿動脈血流量の低下（ベースラインとの比較で最大-25%）、左室収縮期圧の低下（溶媒群との比較で最大-31%、ベースラインとの比較で-20%）、陽性左室圧一次微分最高値及び陰性左室圧一次微分最高値の低下（それぞれベースラインとの比較で最大-44%及び-36%）が認められた。影響のピークは一般的に投与開始の 10 分後であった。

投与開始から 60 分後のブリーバラセタムの血漿中濃度は、用量 5、50 及び 150 mg/kg で、それぞれ 6.59、79.9 及び 308 µg/mL であった。

4.2.2.2 麻酔下のビーグル犬への静脈内投与後の血行動態に対する影響（試験番号 PSM0885）

麻酔下のイヌを用いて、全身、心臓、腎臓及び肺の血行動態に対するブリーバラセタムの影響をさらに評価した。雄 3 例及び雌 3 例に、溶媒（5%グルコース溶液）、ブリーバラセタム 5、15 及び 45 mg/kg の漸増用量を 30 分間隔で 10 分間かけて静脈内点滴投与した。

検討したパラメータは、大動脈圧の平均値、収縮期圧及び拡張期圧、心拍出量、肺動脈圧、肺毛細管楔入圧、左室圧、左室拡張末期圧、腎血流速度等であった。ECG パラメータ及び心拍数は、標準第 II 誘導で記録した。上記の測定値に基づき、次のパラメータを算出した：dP/dt_{max}、総

末梢抵抗、腎細動脈抵抗指数、一回拍出量、収縮期駆出時間、等容収縮時間、血行動態係数、緊張時間指数、左心仕事量、PR 間隔、QT 間隔及び補正 QT 間隔（Fridericia の式による）。ブリーバラセタムの血漿中濃度は、溶媒又はブリーバラセタムの各投与の前後及び最終投与開始の 60 分後に測定した。

溶媒と比較して、ブリーバラセタム 5、15 及び 45 mg/kg の投与では、動脈圧、心拍数、dP/dt_{max}、心拍出量、一回拍出量、腎血流速度、腎細動脈抵抗指数、緊張時間指数、肺動脈血圧、肺毛細管楔入圧及び PR 間隔に対する影響は、無い又はごくわずか（ベースラインから 10%未満）であった。これらの所見から、用量 45 mg/kg までのブリーバラセタムが、心臓の後負荷、前負荷、心収縮力及び血行動態効率に影響を与えないことが示唆された。

静脈内投与開始から 10 分後及び 30 分後（45 mg/kg では 60 分後）に測定されたブリーバラセタムの雌雄合算の平均血漿中濃度は、5 mg/kg ではそれぞれ 12.0 及び 7.33 µg/mL、15 mg/kg ではそれぞれ 37.8 及び 25.6 µg/mL、45 mg/kg ではそれぞれ 131 及び 73.1 µg/mL であった。

4.2.2.3 テレメター装着覚醒下ビーグル犬に単回（強制）経口投与後の循環器に対する影響の評価

（試験番号 TA0671）

覚醒下のテレメター装着イヌを用いて、動脈圧、心拍数及び心電図に対しブリーバラセタムが影響を及ぼす可能性を評価した。

予めテレメトターを装着したビーグル犬の雄 4 例及び雌 4 例に、溶媒（1%メチルセルロース水溶液）又はブリーバラセタムの漸増用量（5、50、150 mg/kg）のいずれかを単回経口投与した。投与間隔は、少なくとも 2 日以上とした。覚醒下自由行動下のイヌを用いて、次のパラメータを測定又は算出した：大動脈収縮期圧、拡張期圧、心拍数、6 誘導心電図の連続記録（V2 誘導での PR 間隔、RR 間隔、QRS 時間及び QT 間隔を測定）、平均動脈圧、QTcF、QTcQ 間隔［個体別補正係数を用いて心拍数で補正した QT 間隔（Quintiles の式）］、ベースライン（投与の 0.25 時間前の値）からの QT 変化量算出値。データ収集は、投与の 30 分以上前に開始し、各投与の約 24 時間後に終了した。ブリーバラセタムの血漿中濃度は、投与前（データ取得前）及び投与 2 時間後に測定した。

5 mg/kg 及び 50 mg/kg を投与されたいずれのイヌにも徴候は認められなかった。150 mg/kg を投与された個体で認められた徴候は、わずかであった（流涎、嘔吐又は服用した薬物の逆流）。

5、50 及び 150 mg/kg を投与された雄、及び 5 mg/kg を投与された雌では、測定したいずれの循環器パラメータに対する影響もなかった。

50 mg/kg 及び 150 mg/kg を投与された雌では、投与の 4～6 時間後及び 150 mg/kg 投与群では 20 時間後まで、収縮期圧、拡張期圧及び平均動脈圧の低下傾向（同時点の溶媒群との比較で、それぞれ最大-24、-30 及び-27%）が認められ、また、投与の 1 時間後には、心拍数の増加［50 mg/kg 及び 150 mg/kg の投与で、溶媒群との比較でそれぞれ最大+66%（溶媒群の 80±3 bpm に対し 133±9 bpm）及び+39%］が認められた。投与の 1 時間後及び 2 時間後に RR 間隔が短縮したが、QT 間隔には影響がなかったため、QTcF 及び QTcQ 間隔が RR 間隔の短縮とほぼ同時期に延長した（溶媒群との比較でそれぞれ最大+21%及び+13%）。PR 間隔は、150 mg/kg 投与群で 0.5～4 時間後に短縮した（溶媒群との比較で最大-24%）。50 及び 150 mg/kg を投与された雌におけるこれらの変化は、明確

な用量反応関係を示さなかったものの、ブリーバラセタムの投与により起こり得る影響と考えられた。

投与 2 時間後のブリーバラセタムの血漿中濃度は、5、50 及び 150 mg/kg 投与でそれぞれ 5.44、61.2 及び 174 µg/mL であった。これらの値に性差は認められなかった。

4.3 呼吸器系

4.3.1 雄の Wistar ラットへの経口投与後の呼吸に対する影響（試験番号 PSM0874）

ラットを用いて、呼吸機能にブリーバラセタムが影響する可能性を、全身プレチスモグラフィー試験により評価した。

雄の Wistar Han ラット（8 例/群）にブリーバラセタム［0（1%メチルセルロース水溶液）、30、100、300 及び 600 mg/kg］を単回経口投与した。参照物質としてテオフィリン（100 mg/kg）を経口投与した。投与の 30～43 分前及び投与の 4 時間以上後に、覚醒下自由行動下のラットの呼吸を測定した。評価したパラメータは、吸気及び呼気時間、ピーク吸気及び呼気流量、一回換気量、呼吸数、弛緩時間、pause（(呼気時間－弛緩時間)/弛緩時間）及び enhanced pause（((呼気時間－弛緩時間)/弛緩時間)×(ピーク呼気流量/ピーク吸気流量)）等であった。

ブリーバラセタム 100、300、600 mg/kg 群では、わずかな減少が呼気時間（投与 30 分又は 60 分後に、それぞれ最大 10、15、16%減少）及び弛緩時間（投与 30 分又は 90 分後に、それぞれ最大 15、15、12%減少）に認められたが、用量相関性は認められなかった。これらの所見から、ブリーバラセタムがわずかな呼吸刺激作用を有することが示唆された。しかし、呼吸数、吸気時間、ピーク吸気及び呼気流量、pause 及び enhanced pause に大きな変化が認められないことから、この作用はごくわずかであると考えられた。

一方、テオフィリンは予想された通りの顕著かつ持続的な呼吸刺激作用を示した。

4.4 消化器系

4.4.1 Wistar ラットへの単回経口投与後のチャコールミールの消化管通過（試験番号 TA0678）

ラットを用いて、チャコールミールの消化管通過に対するブリーバラセタムの影響を評価した。

空腹時の Wistar Han ラット（雄 8 例/群）に、ブリーバラセタム 0（1%メチルセルロース水溶液）、100、300 及び 600 mg/kg を単回経口投与した。参照物質としてモルヒネ（20 mg/kg）を経口投与した。溶媒、ブリーバラセタム又はモルヒネを投与した約 30 分後、各ラットに 1 mL のチャコール懸濁液を（強制）経口投与した。チャコールミールを摂取してからさらに 30 分後、ラットを屠殺し、チャコールミールが通過した腸の距離を測定した。胃排出能の指標として胃の重量を測定した。

ブリーバラセタム 100 mg/kg は、消化管通過及び胃排出能に影響を与えなかった。300 mg/kg 及び 600 mg/kg の経口投与では、統計的に有意かつ用量依存的な消化管通過及び胃排出能両方の低下が認められた。チャコールミールが腸内を通過した距離の平均値（%）は、溶媒、300 mg/kg、600 mg/kg の各群でそれぞれ 53.2、18.6、8.3%、モルヒネ群で 26.4%であった。胃の重量は、300 mg/kg

群及び 600 mg/kg 群ではそれぞれ 4.3 及び 4.9 g であったのに対し、溶媒群では 3.0 g であった。モルヒネ群では、胃の重量への有意な影響はなかった。

4.5 腎/尿路系

ブリーバラセタムによる腎/尿路系への影響は評価していない。

4.6 代謝物、立体異性体、及び不純物の薬理学的プロファイル

4.6.1 代謝物の薬理学的プロファイル

ブリーバラセタムのヒドロキシ酸代謝物である ucb-107092-1 を、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 安全性薬理試験により評価した。ucb-107092-1 はブリーバラセタムとは異なり、SV2A に結合せず（RRLE07F1207）、マウスの聴原性発作（RRLE05E2306）、マウスの最大電気ショック発作（RRLE07C3019）、マウスの最大ペンチレンテトラゾール投与誘発発作（RRLE07C3019）、及びラットの閾上刺激により誘発した扁桃核キンドリング完成発作（RRLE07C3019）に対し、試験した最高用量（229 又は 413 mg/kg）まで不活性であった。

4.6.1.1 ucb-107092-1：雄 Sprague-Dawley ラットにおける静脈内投与後の神経行動学的影響に関する安全性薬理試験
（試験番号 NCD1774）

ucb-107092-1 がラットの肉眼的行動及び生理的状態に及ぼす影響を、Irwin 試験により評価した。

雄の SD ラット 5 群（6 例/群）に、溶媒（0.9%NaCl）、ucb-107092-1 の用量 10、30 及び 100 mg/kg、又は参照物質（クロルプロマジン塩酸塩、2 mg/kg）を単回静脈内投与した。投与の 0.25、0.5、4 及び 24 時間後に、Irwin 試験でラットの一般的行動へのあらゆる影響を観察した。雄の SD ラットのサテライト群 4 群（6 例/群）にも同一の実験条件で投与を実施し、トキシコキネティクス評価に用いた。ucb-107092-1 を投与したラットでは、投与後 24 時間までのすべての時点で、溶媒投与群との比較で、有意な肉眼的行動の変化及び生理的変化が認められなかった。単回静脈内投与後、10 mg/kg 群の投与後 24 時間時点を除き、ラットの ucb-107092-1 への曝露は持続した。ucb-107092-1 の曝露量は用量の増加に比例し、平均 C_0 値（最初の 2 時点からの外挿により推定した t_0 時点の濃度）は、10、30 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 86、209 及び 842 µg/mL であった。平均 $AUC_{(0-t)}$ の範囲は、18.6～182 µg･h/mL であった。

クロルプロマジン静脈内投与では、その中枢神経系抑制剤としての既知の薬理作用と一致する所見が得られた。

4.6.1.2 イヌから単離された心臓プルキンエ線維の活動電位パラメータに対する ucb-107092-1 の影響
（試験番号 NCD1768）

雌雄ビーグル犬から単離した心室プルキンエ線維を用いて、再分極過程に対する ucb-107092-1 の電気生理学的影響を検討した。ucb-107092-1 の濃度依存性の影響（2、20 及び 200 µg/mL、各濃度で約 30 分）をそれぞれプルキンエ線維 4 本で調査した。各 ucb-107092-1 濃度で、刺激周波数 0.5 Hz

及び 1 Hz での活動電位パラメータを記録した。最高濃度の ucb-107092-1 とインキュベーションした後、刺激周波数 3 Hz での活動電位パラメータを記録した。実験の終了前に、溶媒（0.0009% NaCl）で処理したプルキンエ線維を dl-ソタロール塩酸塩（50 µmol/L）に 30 分間曝露し、活動電位延長作用のある薬剤に対する試験系の感度を確認した。

刺激周波数が 0.5 Hz 及び 1 Hz の場合、2、20、200 µg/mL の ucb-107092-1 は、RMP、UA、MRD 及び APD（APD_{60}、APD_{90}及び三角形化）に影響を与えなかった。これらの結果から、これらの濃度で ucb107092-1 が、心臓のカリウムチャネル又はカルシウムチャネルを遮断する可能性は低いと考えられた。

刺激周波数を 1 Hz から 3 Hz に上げると、MRD のわずかな減少が溶媒群（7%）及び ucb-107092-1 群（3%）の両方に認められた。このことから、濃度 200 µg/mL の ucb-107092-1 が心臓のナトリウムチャネルを遮断する可能性は低いと考えられた。

参照物質である dl-ソタロール塩酸塩は、周波数逆依存的に APD を延長させ、これは既知の薬理作用と一致する影響であった。

これらのデータから、ucb-107092-1 は血漿中濃度 2、20、200 µg/mL で、QRS 群持続時間、QT 間隔、心収縮力、心室伝導速度を変化させるとは考えられない。

4.6.1.3 ヒト hERG 遺伝子を安定導入した HEK293 細胞を用いた hERG テール電流に対する ucb-107092-1 の影響
（試験番号 NCD1765）

hERG を介したカリウム電流に対する ucb-107092-1 の *in vitro* での影響を、hERG cDNA を安定導入した HEK293 細胞を用いて評価した。ガラス製マイクロピペットを用いたホールセルパッチクランプ法を用いて電流を記録した。ucb-107092-1（200 µg/mL）は、溶媒対照の値と比較して、hERG テール電流を有意に抑制しなかった。

陽性対照（100 nmol/L の E-4031）は、hERG カリウム電流を 94.7%阻害したため、hERG 阻害に対する本試験系の感度が確認された。

4.6.1.4 ucb-107092-1：テレメター装着覚醒下ビーグル犬に静脈内投与したときの循環器への影響に関する安全性薬理試験
（試験番号 NCD1817）

覚醒下でテレメトターを装着したイヌを用いて、ucb-107092-1 が動脈圧、心拍数及び心電図に影響する可能性を評価した。

予めテレメトターを装着したビーグル犬の雄 4 例に、溶媒（pH 5.5 に調節した 0.9% NaCl 溶液）並びに 15 及び 150 mg/kg の ucb-107092-1 のいずれかをラテン方格法で単回静脈内投与した（4 時間の点滴、4 mL/kg/h）。各投与の間隔は、少なくとも 3 日以上開けた。覚醒自由行動下のイヌを用いて、次のパラメータを測定又は算出した：動脈収縮期圧、拡張期圧、平均動脈圧、心拍数、第 II 誘導心電図の連続記録［RR 間隔、PR 間隔、QRS 時間、QT 間隔、QTcF 間隔（$QTcF = QT/\sqrt[3]{RR}$ として算出）、QTcQ 間隔（イヌごとの個体別補正係数）］。また、溶媒又は 150 mg/kg の ucb-107092-1 を投与後のすべてのイヌについて、すべての心電図波形のリズム及び形態の乱れを目視で

確認した。ucb-107092-1 の血漿中濃度を、溶媒又は ucb-107092-1 の各投与の投与前、投与開始から 0.5、1、2、4、6 及び 8 時間後に測定した。

15 mg/kg 及び 150 mg/kg の ucb-107092-1 の静脈内投与では、動脈圧（収縮期、拡張期、平均）及び心拍数への影響はなく、検討した第 II 誘導心電図パラメータ（RR、PR、QT、QTcF 及び QTcQ 間隔、又は QRS 時間）にも生物学的意義のある影響はなかった。

試験した期間（投与 30 分前～投与 6 時間後）にわたり、150 mg/kg の ucb-107092-1 投与に起因する心電図の肉眼的形態及びリズムの異常は認められなかった。

用量 15 及び 150 mg/kg での平均 C_{max} はそれぞれ 7.09 及び 84.4 µg/mL、平均 AUC はそれぞれ 28.3 及び 336 µg･h/mL、t_{max} は投与開始後 3～4 時間であった。

4.6.1.5 ucb-107092-1：雄 SD ラットに静脈内投与したときの呼吸への影響に関する安全性薬理試験

（試験番号 NCD1773）

覚醒下のラットを用いて、呼吸数及び一回換気量に対する ucb-107092-1 の影響を評価した。

雄 SD ラット 8 例/群に、ucb-107092-1（10、30 及び 100 mg/kg）を 60 秒かけて単回静脈内投与した（2 mL/kg）。その他の群には、同一実験条件下で、溶媒（0.9% NaCl）又は参照物質（モルヒネ塩酸塩、10 mg/kg）を投与した。覚醒下のラットをプレチスモグラフィーチャンバーに拘束し、呼吸パラメータ（呼吸数及び一回換気量）を測定した。

ucb-107092-1 の 10、30、100 mg/kg の静脈内投与では、いずれの時点においても、覚醒下のラットの呼吸数は溶媒群と比較して、また、一回換気量は投与前の値と比較して、有意な影響を受けなかった。

モルヒネの静脈内投与では、投与の 15 分及び 30 分後、呼吸数及び一回換気量が溶媒群又は投与前の値と比較して有意に減少した。本参照物質でみられたこれらの影響は、本物質の既知の薬理活性と一致している。

4.6.1.6 ucb-107092-1：雄 SD ラットへの投与後の消化管通過への影響に関する安全性薬理試験

（試験番号 NCD1775）

ucb-107092-1 がラットにおけるチャコールミールの消化管通過に及ぼす影響を評価した。

空腹時の雄 SD ラット 5 群（8 例/群）に、チャコール懸濁液（1 mL）を（強制）経口投与し、それから溶媒（0.9% NaCl）、ucb-107092-1（用量 10、30 及び 100 mg/kg）並びに参照物質（モルヒネ塩酸塩、2 mg/kg）を単回静脈内投与した（60 秒かけて 2 mL/kg）。チャコールミールを与えてから約 30 分後に各ラットを屠殺し、チャコールミールが通過した腸の距離を測定した。胃排出能の指標として胃の重量を測定した。

ucb-107092-1 の静脈内投与は、溶媒対照群と比較して、ラットの消化管通過及び胃排出能に影響を与えなかった。

参照物質の静脈内投与では、チャコールミールの通過距離が溶媒群と比較して有意に短縮したが、胃排出能への影響はなかった。

4.6.2 立体異性体の薬理学的プロファイル

ジアステレオマーである ucb 34713 の安全性薬理試験の報告は、4.6.3 項に記載した。

4.6.3 不純物の薬理学的プロファイル

ブリーバラセタムのロットに不純物として含まれ、ブリーバラセタムのジアステレオマーである ucb 34713 について、*in vitro* 安全性薬理試験を実施した。

4.6.3.1 ucb 34713：イヌから単離された心臓プルキンエ線維の活動電位パラメータに対する影響

（試験番号 NCD1767）

ucb 34713 が再分極過程に及ぼす影響を、雌のビーグル犬から単離したイヌ心臓プルキンエ線維で評価した。

ucb 34713 の漸増濃度での影響（0.2、2 及び 20 µg/mL、各濃度で約 30 分）をそれぞれプルキンエ線維 4 本で試験した。ucb 34713 の各濃度につき、刺激周波数 0.5 及び 1 Hz での活動電位パラメータを記録した。最高濃度でインキュベーションした後、刺激周波数 3 Hz での活動電位パラメータを記録した。実験の終了前に、溶媒（0.0009% NaCl）で処理したプルキンエ線維を dl-ソタロール塩酸塩（50 µmol/L）に 30 分間曝露し、活動電位延長作用のある薬剤に対する試験系の感度を確認した。

刺激周波数が 0.5 Hz 及び 1 Hz では、ucb 34713 は、RMP、UA、MRD 及び APD（APD_{60}、APD_{90} 及び三角形化）に影響を与えなかった。このことから、ucb 34713 がこれらの濃度で心臓のカリウム又はカルシウムチャネルを遮断する可能性は低いと考えられた。

刺激周波数を 1 Hz から 3 Hz に上げると、MRD のわずかな減少が、溶媒で処理した線維（-4%）及び 20 µg/mL の ucb 34713 で処理した線維（-10%）で認められた。この結果から、ucb 34713 がこの濃度で心臓のナトリウムチャネルを遮断する可能性は低いと考えられた。

参照物質は、周波数逆依存的に活動電位持続時間を延長させ、これは既知の作用と一致する効果であった。

4.6.3.2 ucb 34713：ヒト hERG 遺伝子を安定導入した HEK293 細胞を用いた hERG テール電流に対する影響

（試験番号 NCD1766）

hERG を介したカリウム電流に対する ucb 34713（20 µg/mL）の *in vitro* での影響を、hERG cDNA を安定導入し、電位固定したヒト胎児腎（HEK293）細胞を用いて測定した。ガラス製マイクロピペットを用いたホールセルパッチクランプ法を用いて電流を記録した。

ucb 34713（20 µg/mL）は、対照溶媒との比較で、hERG テール電流を有意に阻害しなかった。

陽性対照（100 nmol/L の E-4031）は、hERG カリウム電流を 96.4%阻害したため、hERG 阻害に対する本試験系の感度が確認された。

5. 薬理学的薬物相互作用試験

ブリーバラセタムについては、薬理学的薬物相互作用試験を実施しなかった。

6. 考察及び結論

ブリーバラセタムは、てんかんの治療において幅広い薬効範囲を持つと考えられる。このことは、部分てんかん、薬剤耐性てんかん及び全般てんかんの動物モデルで認められた強力かつ有意な発作抑制効果、並びにレベチラセタムで既に臨床的に検証済みの SV2A を介する主要な作用機序により裏付けられる。1 種類の量の少ない代謝物のみが非常に弱い抗けいれん作用を示したことから、ブリーバラセタムによる発作抑制作用は未変化体によるものと考えられる。ブリーバラセタムの主な作用機序は、SV2A への高い選択的な親和性によるものと考えられる。これは、ラット（pIC_{50}=7.1）及びヒト（pIC_{50}=7.0）の SV2A に対するブリーバラセタムの高い親和性、並びにマウスに抗けいれん作用を示す用量で全身投与したときの高い中枢 SV2A 占有率により裏付けられる。一方、ブリーバラセタム（10 µmol/L まで）は 50 種類の異なる受容体、取り込み系及びイオンチャネルに結合しないことが示されている。

レベチラセタムと比較して、ブリーバラセタムは SV2A に対する選択性及び親和性が著しく高い（Kenda et al, 2004; Gillard et al 2011）。レベチラセタム（Pisani et al. 2004; Margineanu and Klitgaard, 2002）とは対照的に、ブリーバラセタムの作用機序は、高電位活性化カルシウム電流及び AMPA 誘発電流の阻害を伴わない。ブリーバラセタムは、レベチラセタムが無効であることが示された 2 種類の古典的 AED スクリーニングモデル（Klitgaard et al, 1998）である最大電気ショック及びペンチレンテトラゾール発作モデルでの発作抑制効果を示し、抑制作用 SV2A に対する親和性が選択的で、なおかつ非常に高い（Matagne et al, 2008）点もレベチラセタムと異なる。てんかんの様々な動物モデルを用いた試験では、てんかん重積状態モデル（Mazarati et al, 2004）並びに部分てんかん、薬剤耐性てんかん及び全般てんかんモデル（Matagne et al, 2008）において、レベチラセタムよりもブリーバラセタムの方がより強力で完全な発作抑制効果を発揮することが示された。また、ブリーバラセタムのキンドリング進展を抑制する抗てんかん原性作用も、特に治療中断後にも強力かつ持続的にキンドリング進展を抑制することができることから、レベチラセタムに比べて優れていると考えられる（Matagne et al, 2008）。

げっ歯類を用いたロータロッド試験では、ヒトの部分発作及び全般発作の動物モデルにおいて、ブリーバラセタムには発作抑制作用のある用量と急性の運動関連副作用を誘発する用量との間に、比較的広い安全域があることが示唆された。ラットの歩行及び行動試験で認められた主な影響は、中枢神経系に関するものであり、用量 100 mg/kg 以上で一過性の中枢神経系の抑制及び自発歩行運動の減少が認められた。これらの影響は、100 及び 300 mg/kg の経口投与では軽度であり、用量の増加に伴い段階的に増大した。また、1 日 300 mg/kg 以上では、神経筋、感覚運動及び自律神経機能の用量依存的な変化もみられた。用量 1000 mg/kg 及び 1500 mg/kg は許容されず、試験動物の早期屠殺又は死亡をもたらした。これらの所見は、非空腹時投与ラットではそれほど顕著ではなく、食後の薬物吸収速度及び量の低下と整合した。*in vitro* 及び *in vivo* 試験では、ブリーバラセタムが認知機能を変化させないことが示唆された。

ブリーバラセタムによる循環器系への影響の可能性を *in vitro* 及び *in vivo* で試験した。用量 100 µmol/L まで、ヒト心臓のナトリウム、カルシウム及びカリウムチャネルに有意な影響がなかったことから、ブリーバラセタムが予定する治療曝露量において心臓の伝導、脱分極及び再分極に影響を与える可能性は低いと考えられる。*In vivo* でブリーバラセタムは、覚醒下の雌イヌへの

50 mg/kg 以上の経口投与により血圧を低下させ、心拍数を増加させた（50 mg/kg での C_{max} は 61 μg/mL）。この影響は用量依存的ではなく、雄ではみられなかった。麻酔下の雄イヌでは 150 mg/kg の静脈内投与後、血圧、心拍数及び心臓収縮能の一過性の低下が認められたが、45 mg/kg では影響がみられなかった（10 分間の点滴投与終了時の血漿中濃度は 131 μg/mL）。雌イヌでは 150 mg/kg の単回経口投与後、心拍数で補正した QT（QTc）の延長が認められた（投与 2 時間後の血漿中濃度は 174 μg/mL）。イヌを用いた 2、4、13 及び 26 週間の反復投与毒性試験では、試験したいずれの用量でも QT 及び QTc 時間の延長は認められなかった（C_{max} の範囲は 23.5～211.8 μg/mL）。また、サルを用いた 4 及び 39 週間の毒性試験でも、1 日 900 mg/kg までの用量で、QT 及び QTc は影響を受けなかった（C_{max} は 223 μg/mL）。全体的に見て、イヌにおいて 50 mg/kg 以上の用量で（予定されている最高臨床用量である 100 mg の 1 日 2 回投与での C_{max}、すなわち 3.5 μg/mL を大きく上回る血漿中濃度で）認められた循環器系への影響は、用量依存的でなく、雌雄間の一貫性もなく、反復投与毒性試験では認められなかった。

ブリーバラセタムは、ラットへの 100 mg/kg 以上の経口投与（C_{max} 63.6 μg/mL、試験番号 TB0620）、イヌへの 50 mg/kg 以上の静脈内投与（C_{max} > 131 μg/mL）でわずかに呼吸刺激作用を示し、ラットへの 300 mg/kg の経口投与（C_{max} 103.8 μg/mL）で胃排出を遅らせ、消化管通過を低下させた。

ブリーバラセタムの代謝物の 1 つ（ucb-107092-1）及び不純物の 1 つ（ucb 34713）の安全性薬理試験では、ほとんど又は全く活性が示されなかった。

7. 参考文献

Gillard M, Fuks B, Leclercq K, Matagne A. Binding characteristics of brivaracetam, a selective, high affinity SV2A ligand in rat, mouse and human brain: Relationship to anti-convulsant properties. Eur J Pharmacol. 2011;64:36–44.

Kenda M, Matagne A, Talaga P, Pasau P, Differding E, Lallemand B, et al. Discovery of 4-Substituted Pyrrolidone Butanamides as New Agents with Significant Antiepileptic Activity. J Med Chem. 2004;47(3):530-49.

Klitgaard H, Matagne A, Gobert J, and Wülfert E. Evidence for a unique profile of levetiracetam in models of seizures and epilepsy. Eur J Pharmacol. 1998; 353:191-206.

Margineanu DG and Klitgaard H. Levetiracetam: mechanisms of action. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, Perucca E, editors. Antiepileptic drugs, 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 419-27.

Matagne A, Margineanu D-G, Kenda B, Michel P, and Klitgaard H. Anti-convulsive and anti-epileptic properties of brivaracetam (ucb 34714), a high-affinity ligand for the synaptic vesicle protein, SV2A. Br J Pharmacol 2008;154:1662-71.

Mazarati A, Baldwin R, Klitgaard H, Matagne A, and Wasterlain C. Anticonvulsant effects of levetiracetam and levetiracetam–diazepam combinations in experimental status epilepticus. Epilepsy Res. 2004;58(2-3):167-74.

Pisani A, Bonsi P, Martella G, De Persis C, Cosat C, Pisani F, et al. Intracellular Calcium Increase in Epileptiform Activity: Modulation by Levetiracetam and Lamotrigine. Epilepsia 2004; 45:719–728.

目次

1. 薬理試験の概要 2
2. 効力を裏付ける薬理試験 6
2.1 効力を裏付ける *in vitro* 薬理試験 6
2.2 効力を裏付ける *in vivo* 薬理試験 10
3. 副次的薬理試験 14
3.1 *In vivo* 副次的薬理試験 14
4. 安全性薬理試験 16

薬理試験概要表

1. 薬理試験の概要

被験物質： ブリーバラセタム

試験の種類/内容	GLP[a]	試験系	投与方法	試験施設	試験番号	参照先
効力を裏付ける試験 - *in vitro* - ブリーバラセタム						
結合プロファイル	非適合	ヒト組換え、ラット、モルモット、ウシ	*In vitro*	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01E1509	4.2.1.1
SV2A に対する親和性	非適合	SD ラット大脳皮質及びヒト組換えたん白質	該当なし	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE07L0605	4.2.1.1
In vivo 結合	非適合	NMRI マウス	腹腔内及び静脈内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS11024	4.2.1.1
ナトリウム電流への影響	非適合	Wistar ラット新皮質神経細胞	培養神経細胞の灌流液に投与	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE03F2702	4.2.1.1
ナトリウム電流への影響	非適合	マウス神経芽腫細胞	*In vitro* 細胞外灌流	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS10032	4.2.1.1
ナトリウム電流及び持続的連続発火への影響	非適合	NMRI マウス	*In vitro* 細胞外灌流	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS13004	4.2.1.1
ナトリウム電流及び持続的連続発火への影響	非適合	Wistar ラット神経細胞	*In vitro* 細胞外灌流	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS13005	4.2.1.1
ナトリウム電流及び持続的連続発火への影響	非適合	C57Bl マウス海馬スライス	*In vitro* 細胞外灌流	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS13006	4.2.1.1
ナトリウム電流への影響	非適合	SD ラット神経細胞	スライスの灌流液に投与	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE04D0703	4.2.1.1
カルシウム電流への影響	非適合	Wistar ラット神経細胞	単離神経細胞の灌流液に投与	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE03G0701	4.2.1.1
カリウム電流への影響	非適合	C57Bl6J マウス海馬神経細胞	培養神経細胞の灌流液に投与	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE02G0304	4.2.1.1
興奮性アミノ酸誘発電流への影響	非適合	マウス海馬神経細胞	急速微小灌流法	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE04B1602	4.2.1.1
抑制性アミノ酸誘発電流への影響	非適合	マウス海馬神経細胞	急速微小灌流法	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE04B1601	4.2.1.1
てんかん様活動への影響	非適合	SD ラット海馬スライス	*In vitro*	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01D0202	4.2.1.1
効力を裏付ける試験 - *in vitro* - 代謝物						
ucb-107092-1 の *in vitro* プロファイル	非適合	ヒト、ラット、モルモット、ブタ	*In vitro*	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE07F1207	4.2.1.1

1. 薬理試験の概要

被験物質： ブリーバラセタム

試験の種類/内容	GLP[a]	試験系	投与方法	試験施設	試験番号	参照先
効力を裏付ける試験 - *in vivo* - ブリーバラセタム						
抗発作プロファイル	非適合	NMRI 及び DBA マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01E0701	4.2.1.1
完成 6Hz キンドリング発作に対する効果	非適合	NMRI マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS13001	4.2.1.1
扁桃核キンドリング（閾値試験）	非適合	Wistar ラット	腹腔内	[redacted]（ドイツ）	RRLE01E3002	4.2.1.1
扁桃核キンドリング（閾上刺激）	非適合	SD ラット	経口、腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01E0702	4.2.1.1
6 Hz モデルにおける部分てんかんの抑制効果	非適合	NMRI マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE08H1901	4.2.1.1
扁桃核キンドリング（二次性全般化発作）	非適合	C57B16 Jico マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS09004	4.2.1.1
ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット（GAERS）における発作抑制	非適合	GAERS ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01F0602	4.2.1.1
自己持続性てんかん重積状態の発作	非適合	Wistar ラット	静脈内	[redacted]（米国）	RRLE01L0601	4.2.1.1
自己持続性てんかん重積状態の発作：ジアゼパムと併用	非適合	Wistar ラット	静脈内	[redacted]（米国）	RRLE08B1107	4.2.1.1
低酸素後発作	非適合	SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE05J1201	4.2.1.1
角膜キンドリングの形成に対する効果	非適合	NMRI マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01E3003	4.2.1.1
効力を裏付ける試験 - *in vivo* - 代謝物						
代謝物の聴原性発作（間代性けいれん）に対する効果	非適合	DBA マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01F2201	4.2.1.1
聴原性発作（間代性けいれん）	非適合	DBA マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE05E2306	4.2.1.1
急性発作 扁桃核キンドリング	非適合	NMRI マウス 又は SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE07C3019	4.2.1.1

1. 薬理試験の概要

被験物質： ブリーバラセタム

試験の種類/内容	GLP[a]	試験系	投与方法	試験施設	試験番号	参照先
副次的薬理試験						
急性疼痛（テールフリック及びホットプレートモデル）	非適合	SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01C2305	4.2.1.2
炎症性疼痛（ホルマリンモデル）	非適合	SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01C2101	4.2.1.2
神経障害性疼痛（糖尿病モデル）	非適合	SD ラット	腹腔内	[redacted]（フランス）	RRLE01D1801	4.2.1.2
神経障害性疼痛（単神経障害モデル）	非適合	SD ラット	腹腔内	[redacted]（フランス）	RRLE01E0401	4.2.1.2
神経障害性疼痛（脊髄神経結紮モデル）	非適合	SD ラット	溶媒：腹腔内 ブリーバラセタム：腹腔内	[redacted]（英国）	CNS09025	4.2.1.2
ハルマリン誘発性振戦	非適合	SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE04B1605	4.2.1.2
皮質拡延性抑制	非適合	SD ラット新皮質スライス	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE05D1101	4.2.1.2
Y 字型迷路における過活動	非適合	SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01C2603	4.2.1.2
安全性薬理試験 - ブリーバラセタム						
ロータロッド試験成績への影響	非適合	マウス ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01F0603	4.2.1.3
歩行運動への影響	非適合	SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	RRLE01C2304	4.2.1.3
Irwin 試験	適合	Wistar Han ラット	（強制）経口	[redacted]（英国）	TA0680	4.2.1.3
Irwin 試験	適合	Wistar Han ラット	（強制）経口	[redacted]（英国）	TA0716	4.2.1.3
ラット海馬スライスにおける長期増強	非適合	SD ラット	*In vitro*	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS09002	4.2.1.3
学習及び記憶への影響	非適合	SD ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.（ベルギー）	CNS09003	4.2.1.3
In vitro でのイヌプルキンエ線維の心臓活動電位への影響	適合	ビーグル犬	*In vitro*	[redacted]（英国）	TA0679	4.2.1.3

1. 薬理試験の概要

被験物質： ブリーバラセタム

試験の種類/内容	GLP[a]	試験系	投与方法	試験施設	試験番号	参照先
In vitro でのクローン hERG カリウムチャネルへの影響	適合	ヒト	*In vitro*	[redacted]（米国）	NCD2011	4.2.1.3
In vitro でのヒト心臓ナトリウムチャネル（hNav1.5）への影響	適合	ヒト	*In vitro*	[redacted]（米国）	NCD2071	4.2.1.3
In vitro でのヒト心臓カルシウムチャネル（hCav1.2）への影響	適合	ヒト	*In vitro*	[redacted]（米国）	NCD2072	4.2.1.3
麻酔下のイヌにおける全身血行動態及び呼吸機能への影響	適合	ビーグル犬	静脈内（10 分間点滴）	[redacted]（英国）	TA0685	4.2.1.3
麻酔下のイヌにおける血行動態への影響	適合	ビーグル犬	静脈内（10 分間点滴）	[redacted]（フランス）	PSM0885	4.2.1.3
覚醒下のテレメター装着イヌにおける循環器系への影響	適合	ビーグル犬	経口（強制）	[redacted]（英国）	TA0671	4.2.1.3
呼吸（プレチスモグラフィー）への影響	適合	Wistar Han ラット	経口（強制）	[redacted]（フランス）	PSM0874	4.2.1.3
消化管通過への影響	適合	Wistar Han ラット	経口（強制）	[redacted]（英国）	TA0678	4.2.1.3
安全性薬理試験 - 代謝物 - ucb-107092-1						
Irwin 試験	適合	SD ラット	静脈内	[redacted]（英国）	NCD1774	4.2.1.3
In vitro でのイヌプルキンエ線維の心臓活動電位への影響	適合	ビーグル犬	*In vitro*	[redacted]（英国）	NCD1768	4.2.1.3
In vitro でのクローン hERG カリウムチャネルへの影響	適合	ヒト	*In vitro*	[redacted]（英国）	NCD1765	4.2.1.3
覚醒下のテレメター装着イヌにおける循環器系への影響	適合	ビーグル犬	静脈内（4 時間点滴）	[redacted]（英国）	NCD1817	4.2.1.3
呼吸（プレチスモグラフィー）への影響	適合	SD ラット	静脈内	[redacted]（英国）	NCD1773	4.2.1.3
消化管通過への影響	適合	SD ラット	静脈内	[redacted]（英国）	NCD1775	4.2.1.3
安全性薬理試験 - 不純物 – ucb 34713						
In vitro でのイヌプルキンエ線維の心臓活動電位への影響	適合	ビーグル犬	*In vitro*	[redacted]（英国）	NCD1767	4.2.1.3
In vitro でのクローン hERG カリウムチャネルへの影響	適合	ヒト	*In vitro*	[redacted]（英国）	NCD1766	4.2.1.3

(a) 「適合」と記入されている場合、GLP 遵守の陳述書が当該試験の報告書に添付されている。

2. 効力を裏付ける薬理試験

2.1 効力を裏付ける *in vitro* 薬理試験

被験物質： ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種	投与方法	濃度	細胞試料数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
遺伝子導入細胞株及び組織膜標本（皮質、線条体、小脳、下垂体、尾状核）に発現させた受容体、イオンチャネル及び取り込み系	ヒト、ラット、モルモット、ウシ	*In vitro* インキュベーション	10 µmol/L	N=2	ブリーバラセタムは、レベチラセタムの結合部位に親和性を示し、その pKi 値は 7.1±0.3 であり、同一部位でのレベチラセタムの pKi 値 6.1±0.1 及び 5.9±0.1 よりも著しく高い。一方、ブリーバラセタムは 50 種の様々な受容体、取り込み系、イオンチャネルに対しては親和性を示さない（10 µmol/L で 50%超の阻害作用なし）。	非適合	RRLE01E1509	4.2.1.1
組織及び CHO 細胞に発現する組換えたん白質	SD ラットの大脳皮質及びヒト組換えたん白質	該当なし	該当なし	該当なし	ブリーバラセタムは、ラット脳及びヒト組換え SV2A を発現した CHO 細胞において、ucb-34713 よりも 4～5 倍高い SV2A への親和性を示した。ブリーバラセタムのラット及びヒト SV2A に対する親和性（pIC_{50}）は、それぞれ 7.1（6.9～7.3）及び 7.0（6.9～7.0）であったのに対し、ucb-34713 の親和性は、それぞれ 6.4（6.2～6.6）及び 6.4（6.3～6.4）であった。	非適合	RRLE07L0605	4.2.1.1
脳	NMRI マウス	腹腔内及び静脈内	0.1～100 µmol/kg（約 0.03～32 mg/kg）	雄、6 例	マウスを用いた *in vivo* 結合試験でブリーバラセタムは、3.3 µmol/kg（0.7 mg/kg）の腹腔内投与の 60 分後、中枢 SV2A 結合部位の占有率 50%を示した。	非適合	CNS11024	4.2.1.1
Wistar ラットの 14 日目の胚から取り出し、解離細胞培養で 15～24 日間増殖させた新皮質神経細胞（ホールセルパッチクランプ法により膜電流を細胞体から記録）	Wistar ラット	培養神経細胞の灌流液に投与	0.15～1000 µmol/L	-	ブリーバラセタムは、培養したラット皮質神経細胞において、電位依存性 Na^+電流を用量依存的に阻害し、IC_{50}値は 7 µmol/L であった。ブリーバラセタム 30 µmol/L は、Na^+電流の定常状態活性化の電位依存性を正電位方向にシフトさせ（-37 mV から-33.6 mV）、減衰時定数のポテンシャル定数を 37.67 mV から 17.98 mV に低下させ、その速い不活性化を促進した。	非適合	RRLE03F2702	4.2.1.1

2.1 効力を裏付ける *in vitro* 薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種	投与方法	濃度	細胞試料数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
N1E-115マウス神経芽腫細胞株からホールセルパッチクランプ法により記録された内因性ナトリウム電流	マウス	*In vitro* 細胞外灌流	1、10、100 µmol/L	5～8細胞/群	ブリーバラセタムは100 µmol/Lで、速い不活性化状態のN1E-115細胞で発現したNa^+電流を変化させ、最大30%抑制した。	非適合	CNS10032	4.2.1.1
ピロカルピン投与マウスの脳スライスの嗅内皮質神経細胞で記録されたナトリウム電流及び持続的連続発火	マウス	*In vitro* 細胞外灌流	300 µmol/L	5～8神経細胞/群	ブリーバラセタムは、被験神経細胞で誘発されたナトリウム電流の強度及び持続的連続発火に影響を及ぼさなかった。	非適合	CNS13004	4.2.1.1
初代皮質神経細胞で記録されたナトリウム電流及び持続的連続発火	ラット	*In vitro* 細胞外灌流	300 µmol/L	6～9神経細胞/群	ブリーバラセタムは、ナトリウム電流の強度に対し、わずかではあるが有意な22%の抑制作用を示したが、被験神経細胞で誘発された持続的連続発火には影響を及ぼさなかった。	非適合	CNS13005	4.2.1.1
海馬スライスのCA1神経細胞で記録された電位依存性ナトリウム電流及び持続的連続発火	マウス	*In vitro* 細胞外灌流	100、300 µmol/L	4～8神経細胞/群	ブリーバラセタムは、電位依存性ナトリウム電流の強度及び被験神経細胞で誘発された持続的連続発火に影響を及ぼさなかった。	非適合	CNS13006	4.2.1.1
生後8日から20日までのSDラットから得られた海馬スライスのCA1領域の海馬ニューロン（ホールセルパッチクランプ法により記録された電位依存性の持続性ナトリウム電流）	SDラット	スライスの灌流液に投与	2、20 µmol/L	雄6例/群	ラット海馬スライスのCA1領域で記録された持続性ナトリウム電流は、濃度2又は20 µmol/Lのブリーバラセタムを60分間灌流しても変化しなかった。	非適合	RRLE04D0703	4.2.1.1
生後14日のWistarラットから摘出したCA1領域の海馬神経細胞、生後1～2ヵ月のWistarラットから摘出した後根神経節（DRG）神経細胞（ホールセルパッチクランプ法により記録した電位依存性のCa^{2+}電流）	Wistarラット	単離した神経細胞の灌流液に投与	0.1～1000 µmol/L（DRG神経細胞には最高2000 µmol/Lまで）	生後14日又は1～2ヵ月の雄	ブリーバラセタム0.1～1000 µmol/Lは、ラットCA1海馬神経細胞の高電位活性化カルシウム電流及びその15～20分間の実験中のランダウンに影響を与えなかった。ブリーバラセタム1～2000 µmol/Lは、ラットDRG神経細胞の低電位活性化カルシウム電流に影響を与えなかった。 ブリーバラセタムは、高電位活性化及び低電位活性化両方のカルシウム電流の電位依存性又は活性化/不活性化速度に影響を与えなかった。	非適合	RRLE03G0701	4.2.1.1

2.1 効力を裏付ける *in vitro* 薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種	投与方法	濃度	細胞試料数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
培養海馬神経細胞におけるA型及び遅延整流性 K^+電流のホールセルパッチクランプ法による記録	C57Bl6Jマウス	培養神経細胞の灌流液に投与	1、10、100 µmol/L	4神経細胞/群	ブリーバラセタムは最大100 µmol/Lまで、マウス海馬神経細胞の電位依存性 K^+電流に影響を及ぼさなかった。	非適合	RRLE02G0304	4.2.1.1
培養海馬神経細胞の電位固定法による記録［NMDA*（50 µmol/L）、AMPA**（3 µmol/L）又はカイニン酸***（100 µmol/L）により誘発された電流］	マウス	急速微小灌流法	1、3、10、30、100、300 µmol/L	n=3～26* n=6～38** n=2～13***	ブリーバラセタムは、培養マウス海馬神経細胞において、ホールセルパッチクランプ法により記録したNMDA誘発電流を可逆的に抑制した。NMDA誘発電流のピーク及びプラトー相はいずれも、ブリーバラセタム100 µmol/Lで有意に低下し、300 µmol/Lで試験した2つのニューロンでは抑制率が34%に達した。一方、最高濃度300 µmol/L及び100 µmol/Lまでのブリーバラセタムの試験では、それぞれカイニン酸誘発電流及びAMPA誘発電流への影響が認められなかった。	非適合	RRLE04B1602	4.2.1.1
培養海馬神経細胞の電位固定法による記録［GABA*（20 µmol/L）又はグリシン**（100 µmol/L）により誘発された電流］	マウス	急速微小灌流法	1、3、10、30、100、300 µmol/L（GABAにより誘発された電流には最高100 µmol/Lまで、グリシンにより誘発された電流には最高300 µmol/Lで適用）	n=2～20* n=5～13**	ブリーバラセタムは、培養マウス海馬神経細胞でホールセルパッチクランプ法により記録したGABA電流及びグリシン電流に、それぞれ濃度100 µmol/L及び300 µmol/Lまで影響を与えなかった。しかし、ブリーバラセタムは試験したすべての濃度（1～100 µmol/L）で、GABA誘発電流の亜鉛及びDMCMによる抑制を有意に妨げた。同様に、ブリーバラセタムは、亜鉛及びDMCMによるグリシン誘発電流の抑制も、それぞれ濃度3 µmol/L以上及び10 µmol/L以上で有意に妨げた。	非適合	RRLE04B1601	4.2.1.1

2.1　効力を裏付ける *in vitro* 薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種	投与方法	濃度	細胞試料数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
"高 K^+低 Ca^{2+}"（HKLCF）液を灌流したラット海馬スライスのフィールド電位の記録	SD ラット	スライスの灌流液に投与	ブリーバラセタム：0.1～10 µmol/L レベチラセタム：32 µmol/L	N=10/群	結果は、本 *in vitro* モデルにおいてブリーバラセタムがレベチラセタムの約 1/10 の濃度で明確な抗てんかん作用を発揮することを示した。ブリーバラセタムは、ΔPS_1（神経細胞の同期性を示すパラメータ）に対してレベチラセタムよりも強い影響を示さなかったが、誘発されたバースト発火当たりの集合スパイク（PS）の数（神経細胞の興奮性を示すパラメータ）に対しては、より強い影響を示した。また、HKLCF により誘発されるバースト発火をブリーバラセタムは抑制したが、レベチラセタムは抑制しなかった。	非適合	RRLE01D0202	4.2.1.1

代謝物試験

被験物質：ucb-107092-1

評価された器官系	動物種	投与方法	濃度	細胞試料数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
遺伝子導入細胞株、組織膜標本（脳、皮質）、肝ミトコンドリア標本で発現させた受容体、イオンチャネル、取り込み系及び酵素	ヒト、ラット、モルモット、ブタ	該当なし	該当なし	該当なし	本試験の結果、化合物 ucb-107092-1（10 µmol/L）は、ラット大脳皮質のシナプス小胞たん白質 2A（SV2A、以前はレベチラセタム結合部位 [LBS]として知られていた）に結合せず、受容体、取り込み系、イオンチャネル及び酵素を含む 68 種類の標的と有意に相互作用しない（40%超を阻害しない）ことが示された。	非適合	RRLE07F1207	4.2.1.1

2.2 効力を裏付ける *in vivo* 薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
In vivo てんかんモデル（聴原性、角膜キンドリング、電気ショック及び化学物質誘発発作）	DBA 由来の音感受性マウス/NMRI マウス	試験 30 分前に腹腔内投与	2.1～382.1 mg/kg	雄、10 例/群	ブリーバラセタムは、音感受性マウスで誘発される間代性けいれんに対して強力な抑制効果を示し（ED_{50}=2.4 mg/kg）、角膜キンドリング完成マウスの全般運動発作を抑制し（ED_{50}=1.2 mg/kg）、最大電気ショックにより誘発される強直性後肢伸展（ED_{50}=113 mg/kg）及びペンチレンテトラゾールの最大ボーラス投与により誘発される間代性けいれん（ED_{50}=30 mg/kg）に対して抑制効果を示した。また、DMCM 及び 3-メルカプトプロピオン酸の最大用量により誘発された間代性けいれんに対するブリーバラセタムの抑制効果の ED_{50} 値は、それぞれ 30 mg/kg 及び 254 mg/kg であった。AMPA、NMDA 及びカイニン酸の脳室内投与による間代性けいれんに対する抑制効果の ED_{50} 値は、それぞれ 42、76 及び 89 mg/kg であった。	非適合	RRLE01E0701	4.2.1.1
In vivo てんかんモデル（低周波数長期電気刺激）	NMRI マウス	試験 30 分前に腹腔内投与	1～100 mg/kg	雄、9～19 例/群	ブリーバラセタムは、6 Hz キンドリング完成マウスの二次性全般化運動発作を抑制した（ED_{50}=3.5 mg/kg）。一方、部分発作に対しては、限られた抑制効果しか認められなかった（ED_{50}=51.5 mg/kg）。	非適合	CNS13001	4.2.1.1
扁桃核キンドリング完成ラットを用いた閾値試験における抗けいれん作用	Wistar ラット	試験 60 分前に腹腔内投与	0.068～21 mg/kg	雌、9 例/群	ブリーバラセタムは、用量 0.68 mg/kg 及び 21 mg/kg で、それぞれの対照値と比較して後発射閾値電流を有意に増加させ（それぞれ+73%及び+51%）、全般発作の閾値電流を用量依存的に増加させた（21 mg/kg で+623%）。また、行動に関する有害作用は認められず、ブリーバラセタムは試験したいずれの用量でもロータロッド試験の成績を変化させなかった。	非適合	RRLE01E3002	4.2.1.1

2.2 効力を裏付ける *in vivo* 薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
扁桃核キンドリング完成ラットを用いた閾上試験における抗けいれん作用	SD ラット	試験 60 分前に経口又は腹腔内投与	6.8～382.1 mg/kg	雄、8 例/群	ブリーバラセタムは、ラットの閾上扁桃核キンドリングモデルにおいて、二次性全般化運動発作に対して強力な発作抑制効果を示し、腹腔内及び経口投与での ED_{50} 値がそれぞれ 44 mg/kg 及び 45 mg/kg であった。	非適合	RRLE01E0702	4.2.1.1
In vivo てんかんモデル（低周波数電気刺激）	NMRI マウス	試験の 30 分前に腹腔内投与	0.21～67.9 mg/kg	雄、10 例/群	ブリーバラセタムは、6 Hz の電気刺激により誘発されたマウスの部分発作を抑制した（ED_{50}=4.4 mg/kg）。	非適合	RRLE08H1901	4.2.1.1
In vivo てんかんモデル（扁桃核キンドリング）	C57Bl6 Jico マウス	腹腔内	6.8～210 mg/kg	雄、9～10 例/群	全般発作をほぼ完全に抑制し（90%）、発作スコアの中央値を 0 まで下げ（210 mg/kg）、用量依存的に後発射の持続時間を短縮した（85%短縮）。	非適合	CNS09004	4.2.1.1
ストラスブール遺伝性欠神てんかんラットにおける発作の抑制	ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット（GAERS）系統の Wistar ラット	腹腔内	0.68～67.9 mg/kg	雄、5 例（クロスオーバーデザイン）	ブリーバラセタムは自発性棘徐波発射（SWD）を用量依存的に著しく減少させ、67.9 mg/kg でほぼ完全な抑制をもたらし、120 分間にわたり記録された自発性 SWD の累積持続時間を用量依存的に短縮した（ED_{50}=2.6 mg/kg）。	非適合	RRLE01F0602	4.2.1.1
自己持続性てんかん重積状態発作（SSSE）	Wistar ラット	静脈内	10～300 mg/kg	雄、3～4 例/群	確立された SSSE の初期段階（貫通路刺激終了の 10 分後）にブリーバラセタムを静脈内投与すると、用量依存的に発作の持続時間が短縮された。	非適合	RRLE01L0601	4.2.1.1
自己持続性てんかん重積状態（SSSE）発作：ジアゼパムとの併用	Wistar ラット	静脈内	0.3～10 mg/kg	雄、5 例/群	ブリーバラセタム（10 mg/kg）又はジアゼパム（1 mg/kg）の単剤投与では、確立された SE に対して有意な効果はなかった。しかし、併用投与すると、発作の回数は 72.4±4 回から 6.8±2.2 回に、SE の持続時間は 20.2±1.6 時間から 1.6±0.9 時間に、累積発作時間は 32±5 分から 3±1 分に減少した。これらのデータから、自己持続性実験的 SE の治療において、ブリーバラセタムとジアゼパムとの間に相乗効果があると考えられる。	非適合	RRLE08B1107	4.2.1.1

2.2 効力を裏付ける *in vivo* 薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
In vivo ミオクローヌスモデル（低酸素後発作及び聴覚刺激により誘発されたミオクローヌス）	SD ラット	腹腔内	0.03、0.3、3、30 mg/kg	雄、4 例/群	ブリーバラセタム 0.3、3 及び 30 mg/kg の投与により、低酸素後発作が有意に減少した。また、ブリーバラセタム 0.3 及び 3 mg/kg の投与により、低酸素後ミオクローヌスも有意に減少した。	非適合	RRLE05J1201	4.2.1.1
角膜キンドリングの形成に対する効果	NMRI マウス	1 日 2 回 19 日間の腹腔内投与	0.21～6.8 mg/kg	雄、20 例/群	マウスへの角膜電極による 1 日 2 回、19 日間の電気刺激（3 mA、3 秒）の 30 分前にブリーバラセタムを投与したところ、試験したすべての用量で角膜キンドリングの形成が遅延し、全般発作の発現が著しく減少した。	非適合	RRLE01E3003	4.2.1.1

代謝物試験

被験物質：ucb-107092-1

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
聴原性発作（間代性けいれん）に対する代謝物の影響	DBA 由来の音感受性マウス	試験の 60 分前に腹腔内投与	ucb 47074： 2.3～226 mg/kg ucb-100023-1： 23～228 mg/kg ucb-100406-1： 228 mg/kg ucb 42145： 21～213 mg/kg	雄及び雌、10 例/群	ブリーバラセタムの主な代謝物のうち、ucb 47074 のみが音刺激による間代性けいれんを用量依存的に抑制した（ED_{50} は 52 mg/kg）が、この用量はブリーバラセタムの抑制効果の有効量の 20 倍以上である。	非適合	RRLE01F2201	4.2.1.1
In vivo てんかんモデル（音感受性マウスで誘発された聴原性発作）	DBA 由来の音感受性マウス	腹腔内	ucb-107092-1： 22.9、73.4、229.3 mg/kg	雌、10 例/群	ブリーバラセタムの非げっ歯類の代謝物である ucb-107092-1 は、最高 229.3 mg/kg までの用量で、マウスの聴原性の間代性及び強直性けいれんを抑制しなかった。	非適合	RRLE05E2306	4.2.1.1

2.2 効力を裏付ける *in vivo* 薬理試験

代謝物試験

被験物質：ucb-107092-1

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
In vivo てんかんモデル（電気刺激により誘発したマウスの強直性発作、化学的刺激により誘発したマウスの間代性けいれん、閾上刺激後の行動発作の重症度及び扁桃核での脳波記録）	NMRI マウス又は SD ラット	試験 60 分前の腹腔内投与	22.9～412.7 mg/kg	雄マウス、10 例/群 雄ラット、8 例/群	ブリーバラセタムの非げっ歯類の代謝物である ucb-107092-1 は、最大 412.7 mg/kg までの用量でマウスの最大電気ショック試験における強直性けいれんを抑制せず、及び最大 229.3 mg/kg までの用量でマウスのペンチレンテトラゾールにより誘発した間代性けいれんを抑制しなかった。 ucb-107092-1 は、試験した最高用量の 229.3 mg/kg まで、扁桃核キンドリング発作の重症度及び扁桃核で記録されたてんかん様後発射の持続時間を減少させなかった。	非適合	RRLE07C3019	4.2.1.1

3. 副次的薬理試験

3.1 *In vivo* 副次的薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
ラットのテールフリック及びホットプレート試験における抗侵害受容作用	SD ラット	試験 30 分前に腹腔内投与	21～212 mg/kg	雄、8 例/群	ブリーバラセタムは、いずれの用量でもホットプレート試験の侵害性熱刺激に対する反応を変化させなかったが、68 及び 212 mg/kg でテールフリック試験の侵害性熱刺激に対する反応を、わずかではあるが、統計的に有意に増加させた。ブリーバラセタムは、急性、温痛覚に対し、明確な抗侵害受容作用を示さないと考えられる。	非適合	RRLE01C2305	4.2.1.2
ラットを用いたホルマリン試験	SD ラット	試験 30 分前に腹腔内投与	7～118 mg/kg	雄、10 例/群	ブリーバラセタムの最高 118 mg/kg までの投与では、後足底面にホルマリン投与を受けたラットの「引っ込め」行動を変化させなかった。	非適合	RRLE01C2101	4.2.1.2
神経障害性疼痛の糖尿病ラットモデルにおける機械的侵害刺激	SD ラット	腹腔内	2.1～68 mg/kg	雄、6～8 例/群	ストレプトゾシン誘発糖尿病ラットにブリーバラセタムを投与すると、これらのラットに認められた機械的痛覚過敏が用量依存的かつ有意に回復した。これらの効果は、用量 21 mg/kg 以上で有意であった。	非適合	RRLE01D1801	4.2.1.2
ラット単神経障害性疼痛モデルにおける機械的侵害刺激	SD ラット	腹腔内	0.7～21 mg/kg	雄、8～9 例/群	ブリーバラセタムは用量 21 mg/kg で、単神経障害ラットで認められた機械的痛覚過敏を有意に回復させた。	非適合	RRLE01E0401	4.2.1.2
神経障害性疼痛のラット脊髄神経結紮モデルにおける抗異痛症効果	SD ラット	腹腔内	7、21、68 mg/kg	雄 溶媒群：15 例 ブリーバラセタム群：10 例	ブリーバラセタムは用量 21 及び 68 mg/kg で、機械的異痛症を有意に改善したが、熱的痛覚過敏に対しては効果を示さなかった。	非適合	CNS09025	4.2.1.2

3.1 *In vivo* 副次的薬理試験

被験物質： ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP適合性	試験番号	参照先
本態性振戦のハルマリンモデル	SD ラット	腹腔内	21、38、68、119 mg/kg	雄 溶媒群：13 例 ブリーバラセタム群：9～20 例	ブリーバラセタムは、用量依存的に誘発振戦及び自発振戦を、同程度減少させた（最大効果はそれぞれ-66 及び-68%）。最低有効量（LAD）は、いずれの形態の振戦でも 38 mg/kg であった。ブリーバラセタムは、最高用量の 119 mg/kg 以外では統計的に有意に鎮静を増強せず、単剤では姿勢筋緊張低下又は異常歩行を誘発せず、探索行動を減少させるのみであった。てんかんに対して治療効果があり、運動副作用のない用量範囲内（38～68 mg/kg）で、ブリーバラセタムは鎮静作用を伴わずハルマリン誘発性振戦を減少させた。	非適合	RRLE04B1605	4.2.1.2
皮質拡延性抑制：脳（新皮質）スライス	SD ラット	*In vitro* で灌流液に投与	3.2～32 µmol/L	雄、7 スライス以上/群	皮質拡延性抑制（SD）の *in vitro* ラット新皮質スライスモデルでは、ブリーバラセタム 10 及びは 32 µmol/L により一部のスライスで SD 事象の振幅が減少した。ブリーバラセタム 10 µmol/L では、SD 事象の持続時間も短縮した。SD エピソードの抑制効果はわずかであったが、統計的に有意な場合もあった。	非適合	RRLE05D1101	4.2.1.2
ラットにおけるデキサンフェタミンとクロルジアゼポキシドとの混合物により誘発された Y 字型迷路での過活動	SD ラット	試験 30 分前に腹腔内投与	2.1～21 mg/kg	雄、9～10 例/群	ブリーバラセタム 21 mg/kg により、ラットにおいてデキサンフェタミンとクロルジアゼポキシドとの混合物により誘発された Y 字型迷路での過活動が有意に抑制された。	非適合	RRLE01C2603	4.2.1.2

4. 安全性薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP (a)	試験番号	参照先
ロータロッド試験の成績に対する影響	角膜キンドリング NMRI マウス、扁桃核キンドリング SD ラット、GAERS Wistar ラット	マウスでは試験 30 分前に腹腔内投与、ラットでは試験 60 分前に腹腔内投与	マウス：6.8～382.1 mg/kg ラット：21.2～382.1 mg/kg	雄 NMRI マウス、10 例/群 雄扁桃核キンドリング SD ラット及び雄 GAERS ラット、8 例/群	ブリーバラセタムを試験の 30 分前に腹腔内投与すると、用量依存的に角膜キンドリング完成マウスのロータロッド試験成績が低下した（ED_{50} = 55 mg/kg）。また、ブリーバラセタムを試験の 60 分前に腹腔内投与すると、用量依存的に扁桃核キンドリング完成ラット及び GAERS ラットのロータロッド試験成績を低下させ、ED_{50} 値はそれぞれ 163 mg/kg 及び 177 mg/kg であった。	非適合	RRLE01F0603	4.2.1.3
自発歩行運動	SD ラット	試験の 30 分前に腹腔内投与	2.1、6.8、21、68、118、212 mg/kg	雄、8～12 例/群	試験 30 分前に、ブリーバラセタム 2.1、6.8、21、68、118 及び 212 mg/kg を雄の SD ラットに腹腔内投与し、自発歩行運動への影響を評価した。118 及び 212 mg/kg では、記録した 30 分間を通して自発歩行運動が有意に減少した。	非適合	RRLE01C2304	4.2.1.3
肉眼的行動（Irwin）試験	Wistar Han ラット	強制経口（空腹時のラットに単回） 投与容量 10 mL/kg	雄：100、300、1000、1500 mg/kg 雌：100、300、600 mg/kg	雌雄各 6 例/群	100 及び 300 mg/kg では、概ね軽度かつ低頻度な中枢神経系抑制の徴候が認められた。用量 100 mg/kg では、雄のみで無気力及び注意力の低下が、投与の 1 及び 3 時間後に認められた。用量 300 mg/kg では、雄のこれらの徴候に加え、グルーミングの減少、驚愕反応の減少、握力の低下（雌）、瞳孔径の増大（雄）も認められた。これらは、概ね投与の 1 時間後に発現し、投与の 6 時間後まで持続した。雌では用量 600 mg/kg で、同様な、しかし中程度の中枢神経系抑制の徴候が、消極性、接触反応の低下、体緊張度の低下、及び眼瞼下垂を伴って認められた。これらは概ね投与 0.5～1 時間後に認められ、投与 24 時間後までに消失した。	適合	TA0680	4.2.1.3

4.　安全性薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP (a)	試験番号	参照先
肉眼的行動（Irwin）試験 （続き）	Wistar Han ラット	強制経口（空腹時のラットに単回） 投与容量 10 mL/kg	雄：100、300、1000、1500 mg/kg 雌：100、300、600 mg/kg	雌雄各 6 例/群	用量 1000 mg/kg 及び 1500 mg/kg では、同様であるが顕著かつ用量依存的な中枢神経系抑制の徴候が見られた。これらの徴候は、自律神経系機能（流涎等）、感覚運動機能（痛覚反応の低下等）、神経筋機能（握力の低下等）の著しい変化、及び呼吸異常であった。徴候は、投与の 0.5 時間後に初めて認められ、経時的に増加した。用量 1000 mg/kg では、雄 6 例中 1 例が投与の約 4.5 時間後に屠殺された。用量 1500 mg/kg では、雄 6 例中 1 例が投与の約 3.5 時間後に死亡した。用量 1000 mg/kg 及び 1500 mg/kg では残りすべてのラットが、投与に関連する徴候の重症度を理由に、それぞれ投与の 5 時間後及び 4 時間後に安楽死させられた。	適合	TA0680	4.2.1.3
肉眼的行動（Irwin）試験	Wistar Han ラット	強制経口（空腹時及び非空腹時のラットに単回） 投与容量 10 mL/kg	600 mg/kg（空腹時又は非空腹時）(a)	雄 6 例/ 群	症状として、軽度から中等度の中枢神経系抑制（消極性、注意力の低下、グルーミングの減少）、神経筋機能の変化（握力の低下）及び感覚運動機能の変化（驚愕反応及び接触反応の低下）、並びに運動失調が両ロットで認められた。 非空腹時投与群では、両ロットとも注意力の低下、驚愕反応の低下等、少数の軽度かつ一過性の徴候を誘発したに過ぎなかった。ロット番号 A006 では、一過性の無気力、握力の低下及びつま先歩行も誘発された。 より顕著な影響が、空腹時投与群で、とりわけロット番号 103L を投与されたラットに認められた。徴候の重症度の一般的なピークは、投与後 1 時間以内に認められた。一般的に徴候は投与 6 時間後までに消失するか（ロット番号 A006）、6 時間持続し、一部の徴候は投与の 24 時間後まで消失しなかった（ロット番号 103L）。	適合	TA0716	4.2.1.3

(a) 本試験には、2 つのロット番号（A006 及び 103L）を使用した。

4.　安全性薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP (a)	試験番号	参照先
海馬スライスを用いSchaffer側枝刺激により誘発したフィールド興奮性シナプス後電位（fEPSP）を、CA1樹状突起領域において細胞外記録	SDラット	スライスの灌流液	D-AP5： 50 µmol/L ブリーバラセタム：3、10、 30 µmol/L	雄6例 雄10例	50 µmol/LのD-AP5灌流により、長期増強の誘発は抑制されたが基底fEPSPは影響を受けなかった。基底fEPSP及び長期増強パラメータは、濃度3、10及び30 µmol/Lのブリーバラセタムの灌流による影響を受けなかった。	非適合	CNS09002	4.2.1.3
正常な若齢ラット及び扁桃核キンドリングラットにおける空間学習（モリス水迷路試験）	SDラット	腹腔内	2.1、6.8、 21.0 mg/kg	雄、12例/群	記憶への有害な影響なし。	非適合	CNS09003	4.2.1.3
イヌから単離されたプルキンエ線維における心臓活動電位	ビーグル犬（雌）の心室プルキンエ線維	*In vitro*	2、20及び200 µg/mLの各濃度に線維を30分間曝露	4線維/濃度	濃度2、20及び200 µg/mLで測定した活動電位パラメータのいずれにも有意な影響はなかった。これらの濃度では、心電図のQRS時間及びQT間隔に直接影響する可能性は低い。	適合	TA0679	4.2.1.3
HEK293細胞に発現させたhERGカリウムチャネル	ヒト	*In vitro*	10、100 µmol/L	3細胞/濃度	濃度100 µmol/Lまで有意な抑制なし。	適合	NCD2011	4.2.1.3
HEK293細胞に発現させたヒト心筋ナトリウムチャネル（hNav1.5）	ヒト	*In vitro*	10、100 µmol/L	3細胞/濃度	濃度100 µmol/Lまで有意な抑制なし。	適合	NCD2071	4.2.1.3
CHO細胞に発現させヒト心筋L型カルシウムチャネル（hCav1.2）	ヒト	*In vitro*	10、100 µmol/L	3細胞/濃度	濃度100 µmol/Lまで有意な抑制なし。	適合	NCD2072	4.2.1.3

4.　安全性薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP (a)	試験番号	参照先
全身血行動態及び呼吸機能	ビーグル犬	各用量を 10 分間かけて静脈内点滴投与 投与容量 2.5 mL/kg 各投与前及び投与開始から 60 分後に TK 血漿試料を採取	60 分間隔で 5、50 及び 150 mg/kg の順に 3 回静脈内投与	雄 4 例/群	ブリーバラセタム 5 mg/kg の静脈内点滴投与では、測定された循環器系及び呼吸器系パラメータへの有意な影響はなかった。用量 50 及び 150 mg/kg では、用量依存的な心拍数の減少、並びに呼吸数及び分時換気量の増加が認められた。用量 150 mg/kg では、QT 及び QTc 間隔のわずかな延長、dP/dt_{max}+の減少、一過性の動脈圧の低下、及び左室収縮期圧の低下が認められた。 全ての用量で、イヌにおけるブリーバラセタムの血漿中濃度は測定可能であった。用量 50 mg/kg 以下では血漿中濃度は用量に比例しているようであったが、より高用量では用量比を上回って増加した。投与開始の 60 分後、用量 5、50 及び 150 mg/kg でのブリーバラセタムの血漿中濃度は、それぞれ 6.6、79.9 及び 308 µg/mL であった。	適合	TA0685	4.2.1.3
全身、心臓、腎臓及び肺の血行動態への影響	ビーグル犬	溶媒及び各用量を 10 分間静脈内点滴投与。 投与容量 1.0 mL/kg 5 及び 15 mg/kg では投与開始から 10 及び 30 分後、45 mg/kg では投与開始から 10 及び 60 分後に TK 血漿試料を採取	各イヌに、5%グルコース溶液に続き、5、15 及び 45 mg/kg の漸増用量を 30 分間隔で静脈内点滴投与	雌雄各 3 例	ブリーバラセタム 5、15 及び 45 mg/kg の投与では、心臓、全身、腎臓及び肺の血行動態、並びに QTc を含む心電図の主要パラメータに対する影響は無かった。 全ての用量で、イヌにおけるブリーバラセタムの血漿中濃度は測定可能であった。ブリーバラセタムの血漿中濃度は、雌雄間で同等であり、用量に比例した。10 分間の静脈内投与終了時の雌雄合わせたブリーバラセタムの血漿中濃度は、用量 5、15 及び 45 mg/kg でそれぞれ 12、37.8 及び 131 µg/mL であった。30 分後の血漿中濃度は、用量 5 及び 15 mg/kg でそれぞれ 7.33 及び 25.6 µg/mL、60 分後には用量 45 mg/kg で 73.1 µg/mL であった。	適合	PSM0885	4.2.1.3

4. 安全性薬理試験

被験物質：ブリーバラセタム

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP (a)	試験番号	参照先
覚醒下のテレメター装着ビーグル犬を用いた循環器に対する影響	ビーグル犬	単回（強制）経口投与 投与容量 5 mL/kg 投与前及び投与2時間後にTK血漿試料を採取	5、50、150 mg/kgの漸増用量を単回投与	雌雄各4例	雄イヌへの5、50又は150 mg/kg投与、及び雌イヌへの5 mg/kg投与は、循環器パラメータに影響を及ぼさなかった。雌イヌへの50又は150 mg/kg投与後、血圧の低下傾向及び心拍数の増加傾向が認められた。RR間隔が短縮したが、QT間隔には影響がなかった。よって、QTc間隔がRR間隔の短縮とほぼ同時期に延長した。PR間隔は、150 mg/kg投与で短縮した。雌における変化は、明確な用量反応関係を示さなかったものの、ブリーバラセタムの投与により起こり得る影響と考えられた。 全ての用量で、イヌにおけるブリーバラセタムの血漿中濃度は測定可能であった。ブリーバラセタムの血漿中濃度は、雌雄間で同等であり、用量に比例するようであった。投与2時間後のブリーバラセタムの血漿中濃度は、用量5、50及び150 mg/kgでそれぞれ5.44、61.2及び174 µg/mLであった。	適合	TA0671	4.2.1.3
呼吸への影響（全身プレチスモグラフィー試験）	Wistar（Han）ラット	単回（強制）経口投与 投与容量 10 mL/kg	30、100、300、600 mg/kg	雄8例/群	気道機能に対する大きな影響はなかった。ブリーバラセタム100 mg/kg以上では、呼気時間（最大10～16%減少）及び弛緩時間（最大12～15%減少）にわずかな減少が認められたが、用量反応関係は認められず、呼吸刺激作用は低いことが示唆された。吸気時間、ピーク吸気及び呼気流量、呼吸数、ポーズ及びエンハンスドポーズに大きな変化が認められないことから、この作用はごくわずかであると考えられた。	適合	PSM0874	4.2.1.3
消化管通過（チャコールミール）	Wistar（Han）ラット	単回（強制）経口投与 投与容量 10 mL/kg	100、300、600 mg/kg	雄8例/群	ブリーバラセタム100 mg/kgの投与は、消化管通過及び胃排出能に影響を与えなかった。用量300 mg/kg及び600 mg/kgでは、統計的に有意かつ用量依存的な消化管通過及び胃排出能両方が低下した。	適合	TA0678	4.2.1.3

4. 安全性薬理試験

代謝物試験

被験物質：ucb-107092-1

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量（mg/kg）	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP (a)	試験番号	参照先
肉眼的行動（Irwin）試験	SD ラット	静脈内	10、30、100 mg/kg	雄 6 例/群	ucb-107092-1 は、Irwin 試験において、行動への影響及び生理的影響を示さなかった。	適合	NCD1774	4.2.1.3
イヌから単離されたプルキンエ線維の心臓活動電位	ビーグル犬	*In vitro*	2、20、200 µg/mL	4 線維/濃度	溶媒で処理した線維との比較で、ucb-107092-1 は、RMP、UA、MRD 及び APD に有意な影響を与えなかった。	適合	NCD1768	4.2.1.3
hERG カリウムチャネル電流	ヒト	*In vitro*	200 µg/mL	4 細胞/濃度	ucb-107092-1 に有意な抑制作用はなかった。	適合	NCD1765	4.2.1.3
覚醒下のテレメター装着イヌを用いた循環器への影響	ビーグル犬	4 時間静脈内点滴投与	15、150 mg/kg	雄 4 例	15 mg/kg 及び 150 mg/kg の ucb-107092-1 では、全身の動脈圧（収縮期、拡張期、平均）及び心拍数、並びに第 II 誘導心電図パラメータ（RR、PR、QT、QTcQ 及び QTcF 間隔、又は QRS 時間）への有意な影響はなかった。150 mg/kg の ucb-107092-1 投与に起因する心電図の肉眼的形態及びリズムの異常は認められなかった。投与開始の 3～4 時間後に C_{max} に達した。用量 15 mg/kg での平均 C_{max} 及び AUC はそれぞれ 7.09 µg/mL 及び 28.3 µg.h/mL であった。用量 150 mg/kg では、平均 C_{max} 及び AUC はそれぞれ 84.4 µg/mL 及び 336 µg.h/mL であった。	適合	NCD1817	4.2.1.3
呼吸への影響（全身プレチスモグラフィー試験）	SD ラット	静脈内	10、30、100 mg/kg	雄 8 例	最高 100 mg/kg までの ucb-107092-1 投与は、呼吸数及び一回換気量に影響を与えなかった。	適合	NCD1773	4.2.1.3
消化管通過（チャコールミール）	SD ラット	静脈内	10、30、100 mg/kg	雄 8 例	最高 100 mg/kg までの ucb-107092-1 投与は、消化管通過及び胃排出能に影響を与えなかった。	適合	NCD1775	4.2.1.3

4. 安全性薬理試験

不純物試験

被験物質：ucb 34713

評価された器官系	動物種/系統	投与方法	用量 (mg/kg)	性別及び例数/群	特記すべき知見	GLP (a)	試験番号	参照先
イヌから単離されたプルキンエ線維の心臓活動電位	ビーグル犬	*In vitro*	0.2、2、20 µg/mL	雌、4 線維/濃度	ucb 34713 は、溶媒で処理した線維との比較で、RMP、UA、MRD 及び APD に有意な影響を与えなかった。	適合	NCD1767	4.2.1.3
hERG カリウムチャネル電流	ヒト	*In vitro*	20 µg/mL	4 細胞/濃度	ucb 34713 は有意な阻害を示さなかった。	適合	NCD1766	4.2.1.3

(a) 「適合」と記入されている場合、GLP 遵守の陳述書が当該試験の報告書に添付されている。