ザズベイカプセル 30 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.1 緒言 4
2.6.1.1 医薬品の構造及び薬理学的特性 4
2.6.1.2 申請した臨床適応，用量及び投与期間 8
2.6.1.3 参考文献 8

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
GABA	gamma amino butyric acid	γ-アミノ酪酸
$GABA_A$	gamma amino butyric acid type A (receptor)	γ-アミノ酪酸 (GABA)作動性クロライドイオン透過型イオンチャネル ($GABA_A$受容体)
NAS	neuroactive steroid	神経活性ステロイド
PAM	positive allosteric modulator	ポジティブアロステリックモジュレーター

2.6.1 緒言

2.6.1.1 医薬品の構造及び薬理学的特性

ズラノロン (別名 S-812217, SAGE-217, SAGE-797 又は SAGE-00797) は大うつ病性障害 (MDD) 及び産後うつ (PPD) の治療薬開発を目的に，Sage Therapeutics, Inc. (現 Supernus Pharmaceuticals, Inc.) が創製した経口投与可能な新規合成神経ステロイドであり，2023 年 8 月に米国で PPD に対する経口治療薬として承認された．

脳では興奮性及び抑制性神経細胞により複数の脳領域を結ぶ神経ネットワークが形成されており．脳の高次機能 (認知，記憶，感情等) は，神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動によって制御されている．うつ病の発症メカニズムは完全には解明されていないが，うつ病態時は神経の興奮/抑制の均衡及び神経ネットワーク活動の調節不全状態にあると考えられている [1-5]．そのため，神経ネットワーク活動の調節不全状態を改善することにより，うつ病に対する治療効果が得られると考えられる [6-8]．うつ病発症のメカニズムの一つであるモノアミン仮説では，脳内神経細胞終末での神経伝達物質であるノルアドレナリンやセロトニン等のモノアミン量の減少により神経伝達が低下することで，脳内の神経ネットワーク活動が調節不全状態になると考えられている [9]．そのため，既存の抗うつ薬は，モノアミンの再取り込み阻害作用や，モノアミンの自己受容体遮断作用により神経細胞間隙でのモノアミン量を増やすことで脳内の神経活動の調節不全状態の改善を図るものである．一方，うつ病態時には抑制性神経伝達物質である γ-アミノ酪酸 (GABA) 及び GABA の機能亢進作用を持つ神経活性ステロイドであるアロプレグラノロンの低下が報告されており [10]，GABA やアロプレグラノロン量を増やすことで，脳内の神経ネットワーク活動の調節不全状態が改善すると考えられる [10,11]．実際にアロプレグラノロンを投与することでうつ病態の改善が報告されており [12]，アロプレグラノロンの注射製剤であるブレクサノロン (Brexanolone) は，2019 年米国で承認され，PPD 治療薬として現在使用されているが，経口投与可能な製剤は現在存在しない．ズラノロンは，経口投与可能な唯一の，アロプレグラノロン類似の新規合成神経ステロイドである．

GABA は脳内の主要な抑制性神経伝達物質であり，GABA 作動性クロライドイオン透過型イオンチャネル ($GABA_A$ 受容体) に結合し，ゲート開口することでクロライドイオンの細胞内流入を引き起こし (GABA 誘発電流)，神経の興奮/抑制の均衡及び神経ネットワーク間の情報伝達を調節する．神経活性ステロイドであるアロプレグラノロン及びそのアナログであるズラノロンは，$GABA_A$ 受容体において GABA とは異なる部位に結合し，GABA によるゲート開口時間を延長することで，GABA 誘発電流を増大し，抑制性神経伝達を亢進させる，ポジティブアロステリックモジュレーター (PAM) として作用する (図 1)．アロプレグラノロン及びズラノロンは，この $GABA_A$ 受容体に対する PAM として $GABA_A$ 受容体機能を増強することにより，脳内の神経の興奮/抑制の均衡及び神経ネットワーク活動の調節不全状態を改善すると考えられる．

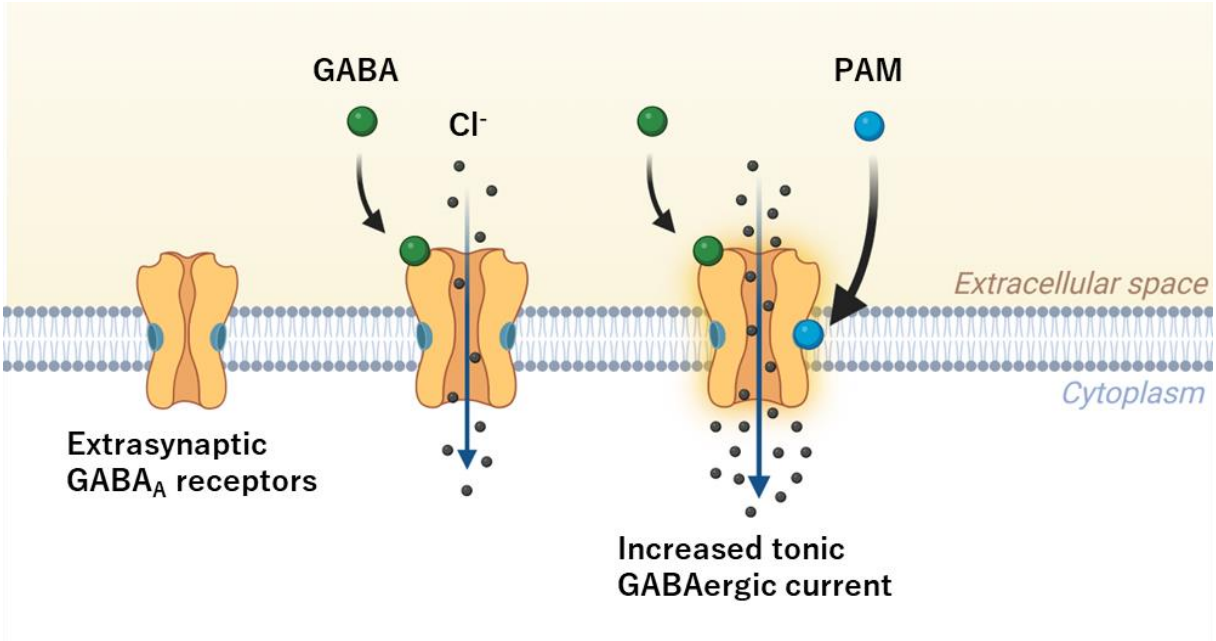


図 1 神経活性ステロイドの $GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用

Cl- = **クロライドイオン**; GABA = **γ-アミノ酪酸**; PAM = **ポジティブアロステリックモジュレーター**

$GABA_A$ 受容体は，α1～α6 に分類される α サブユニットを 2 つ，β1～β3 に分類される β サブユニットを 2 つ，補助サブユニット (通常は γ2 又は δ) を 1 つ組み合わせた 5 量体構造のクロライドイオン透過型イオンチャネルである [13].

αβγ サブユニットで構成される $GABA_A$ 受容体は，シナプス直下に存在する (図 2). シナプス直下では，シナプス間隙での GABA 濃度が高いため，αβγ 型 $GABA_A$ 受容体は GABA 誘発電流の反応性は大きいが，すぐに脱感作する一過性の GABA 誘発電流となる特徴がある [14,15]. 一方，αβδ サブユニットで構成される $GABA_A$ 受容体は，シナプス領域外に存在する (図 2). この αβδ 型 $GABA_A$ 受容体は，GABA 高親和性を示し，GABA 濃度が低いシナプス領域外でも十分活性化され，さらに脱感作を起こしにくい性質を持ち，常時クロライドイオンを細胞内流入させ，持続性の GABA 誘発電流となる特徴があり，抑制性神経伝達に大きく寄与していると考えられる [16-19].

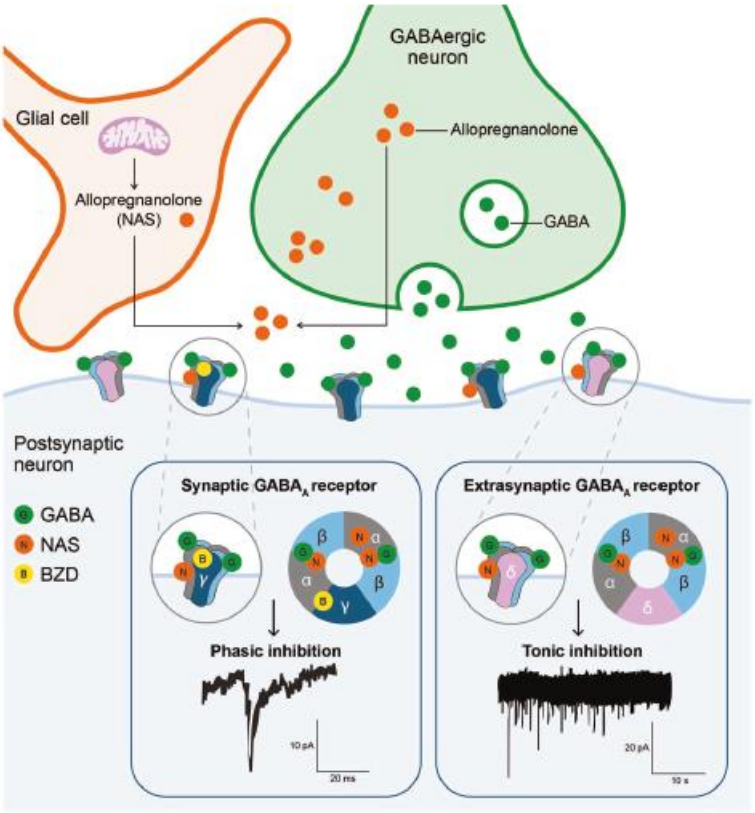


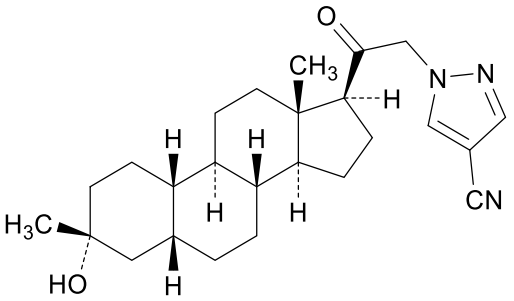
図 2 神経活性ステロイドによる脳内 $GABA_A$ 受容体を介した抑制性神経伝達の増大作用メカニズム

BZD = **ベンゾジアゼピン系薬物**; GABA = γ-**アミノ酪酸**; NAS = **神経活性ステロイド**

引用元：Cutler AJ, Mattingly GW, Maletic V. Understanding the mechanism of action and clinical effects of neuroactive steroids and GABAergic compounds in major depressive disorder. Transl Psychiatry. 2023 Jun 26;13(1):228 [20].

神経活性ステロイドであるアロプレグラノロン及びズラノロンは，$GABA_A$ 受容体の α 及び β サブユニットに結合するため [21-24]，シナプス直下及びシナプス領域外に発現している $GABA_A$ 受容体に作用し，一過性及び持続性の GABA 誘発電流を増大することができる．一方，GABA 受容体に作用するベンゾジアゼピン系薬物は主に γ サブユニットに結合するため [25]，シナプス直下に発現している $GABA_A$ 受容体にのみ作用し，一過性の GABA 誘発電流を増大する．そのため，アロプレグラノロン及びズラノロンは，ベンゾジアゼピン系薬物よりも GABA による抑制性神経伝達を増大させることができるため，うつ病態における神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動を制御し，脳内の神経ネットワーク活動の調節不全状態を改善することで，既存薬にはない抗うつ作用が期待される．

1. 医薬品の構造



2. 薬理学的特性

実施した非臨床薬効薬理試験の結果から，本薬の薬理学的特性は以下のように考えられる．

- In vitro 試験において，本薬はラット大脳皮質膜に発現した $GABA_A$ 受容体への結合を示し，シナプス直下及びシナプス領域外のヒト $GABA_A$ 受容体サブタイプを強制発現させた細胞で GABA 誘発電流を増強させたことから，$GABA_A$ 受容体に対する PAM であることが示された．また，本薬はラット脳スライス標本においてシナプス直下に発現している $GABA_A$ 受容体を介した一過性 GABA 誘発電流に加え，シナプス領域外に発現している $GABA_A$ 受容体を介した持続性 GABA 誘発電流も増強させたことから，シナプス直下に発現している $GABA_A$ 受容体にのみ作用するベンゾジアゼピン系薬剤とは異なる作用を持つ．本薬は，一過性 GABA 誘発電流の持続的増加作用もみられ，アロプレグラノロン同様に細胞膜上の $GABA_A$ 受容体の発現量増加が示唆された．
- げっ歯類を用いた薬力学評価において，本薬は $GABA_A$ 受容体の機能的増強作用によると考えられる用量依存的な抗痙攣作用，脳波の増強作用，抗不安様作用及び鎮静作用を示した．また，ベンゾジアゼピン系薬剤には感受性を示さない口腔ジスキネジア及び難治性てんかん重積状態のモデルラットにおいても，それぞれジスキネジア抑制作用及び抗痙攣作用を示した．
- マウスを用いたストレス誘発性うつモデルにおいて，本薬はアロプレグラノロン同様に即効性の抗うつ様作用を示した．

以上のことから，本薬は $GABA_A$ 受容体に対する PAM として作用し，既存の抗うつ薬とは異なる作用機序で，即効性の抗うつ作用を示す新規うつ病治療薬として期待される．

また，モノアミン仮説に基づく既存の抗うつ薬では，投与開始から抗うつ作用を示すまでに約 1 ヵ月かかると言われており，選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) 及びセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) 系の抗うつ薬の多くは投与開始早期に認められるセロトニン受容体が関与すると考えられる不安，焦燥感，不眠，易刺激性，衝動性などの不穏症状を示すアクチベーション症候群 [26] の発症リスクが報告されている．このリスクのため，投与開始時点から有効用量を投与することができず，投与開始から 1 週間以上かけ有効用量に到達するまで副作用に注意しながら漸増する必要がある [27]．更に，投与中止時には離脱症状に注意しながら徐々に減量・中止していく必要があり，使用に際し慎重な用量調節を必要とする．一方，神経活性ステロイドであるアロプレグラノロン及びズラノロンは，$GABA_A$ 受容体の

PAM であり，セロトニン受容体を介したアクチベーション症候群が発生するリスクは低く，また投与中止時には離脱症状が発生するリスクも低くいため，用量を漸増/漸減する必要がなく，即効性の抗うつ作用が期待できる．

2.6.1.2 申請した臨床適応，用量及び投与期間

(1) 効能又は効果

うつ病・うつ状態

(2) 用法及び用量

通常，成人にはズラノロンとして 30 mg を 1 日 1 回 14 日間夕食後に経口投与する．本剤による治療を再度行う場合には，投与終了から 6 週間以上あけること．

2.6.1.3 参考文献

1. Drevets WC. Functional anatomical abnormalities in limbic and prefrontal cortical structures in major depression. Prog Brain Res. 2000;126:413-431.
2. Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL, Lane R. Neurobiology of emotion perception II: Implications for major psychiatric disorders. Biol Psychiatry. 2003;54(5):515-528.
3. Leistedt SJJ, Coumans N, Dumont M, Lanquart JP, Stam CJ, Linkowski P. Altered sleep brain functional connectivity in acutely depressed patients. Hum Brain Mapp. 2009;30(7):2207-2219.
4. Northoff G, Wiebking C, Feinberg T, Panksepp J. The 'resting-state hypothesis' of major depressive disorder-a translational subcortical-cortical framework for a system disorder. Neurosci Biobehav Rev. 2011;35(9):1929-1945.
5. Germain A, Nofzinger EA, Kupfer DJ, Buysse. DJ. Neurobiology of non-REM sleep in depression: further evidence for hypofrontality and thalamic dysregulation. Am J Psychiatry 2004;161(10):1856-1863.
6. Holtzheimer PE, Mayberg HS. Stuck in a rut: rethinking depression and its treatment. Trends Neurosci. 2011;34(1):1-9.
7. Brakowski J, Spinelli S, Dörig N, et al. Resting state brain network function in major depression - Depression symptomatology, antidepressant treatment effects, future research. J Psychiatr Res. 2017;92:147-159.
8. Arnone D. Functional MRI findings, pharmacological treatment in major depression and clinical response. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2019;91:28-37.
9. Karabin T, Biala G, Kruk-Slomka M. The monoamine theory of depression as a target to effective pharmacotherapy. Curr. Issues Pharm. Med. Sci., 2023; 36 (2): 108-13.
10. Antonoudiou P, Colmers PLW, Walton NL, et al. Allopregnanolone mediates affective switching through modulation of oscillatory states in the basolateral amygdala. Biol Psychiatry. 2022; 91(3): 283-93
11. Pawluski JL, Lonstein JS, Fleming AS. The Neurobiology of Postpartum Anxiety and Depression. Trends Neurosci. 2017; 40 (2) :106-20.
12. Amber N. Edinoff, Amira S. Odisho, Kendall Lewis, et al. Brexanolone, a GABAA Modulator, in the

Treatment of Postpartum Depression in Adults: A Comprehensive Review. doi: 10.3389/fpsyt.2021.699740

13. Sieghart W, Fuchs K, Tretter V, Ebert V, Jechlinger M, Hoger H, Adamiker D. Structure and subunit composition of GABA(A) receptors. Neurochem Int. 1999;34(5):379–85.
14. Engin E, Benham RS, Rudolph U. An emerging circuit pharmacology of GABAA receptors. Trends Pharmacol Sci. 2018;39(8):710-732.
15. Farrant M, Nusser Z. Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABAA receptors. Nat Rev Neurosci. 2005;6(3):215-229.
16. Vida I, Bartos M, Jonas P. Shunting inhibition improves robustness of gamma oscillations in hippocampal interneuron networks by homogenizing firing rates. Neuron. 2006;49(1):107-117.
17. Nusser Z, Mody I. Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells. J Neurophysiol. 2002;87(5):2624-2628.
18. Lee V, Maguire J. The impact of tonic GABAA receptor-mediated inhibition on neuronal excitability varies across brain region and cell type. Front Neural Circuits. 2014;8:3.
19. Pavlov I, Savtchenko LP, Song I, et al. Tonic GABAA conductance bidirectionally controls interneuron firing pattern and synchronization in the CA3 hippocampal network. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(1):504-509.
20. Cutler AJ, Mattingly GW, Maletic V. Understanding the mechanism of action and clinical effects of neuroactive steroids and GABAergic compounds in major depressive disorder. Transl Psychiatry. 2023; 13(1):228
21. Hosie AM, Wilkins ME, da Silva HM, Smart TG. Endogenous neurosteroids regulate GABAA receptors through two discrete transmembrane sites. Nature. 2006;444(7118):486-489
22. Hosie AM, Wilkins ME, Smart TG. Neurosteroid binding sites on GABAA receptors. Pharmacol Ther. 2007;116(1):7-19.
23. Hosie AM, Clarke L, da Silva H, Smart TG. Conserved site for neurosteroid modulation of GABAA receptors. Neuropharmacology. 2009;56(1):149-154.
24. Laverty D, Thomas P, Field M, et al. Crystal structures of a GABAA-receptor chimera reveal new endogenous neurosteroid-binding sites. Nat Struct Mol Biol. 2017;24(11):977-985.
25. Sigel E. Mapping of the benzodiazepine recognition site on GABAA receptors. Curr Top Med Chem. 2002;2(8):833-839.
26. Culpepper L, Davidson JR, Dietrich AJ, Goodman WK, Kroenke K, Schwenk TL. Suicidality as a Possible Side Effect of Antidepressant Treatment. Prim Care Companion J Clin Psychiatry. 2004;6(2):79-86.
27. 日本うつ病学会．日本うつ病学会治療ガイドライン Ⅱ.うつ病 (DSM-5) / 大うつ病性障害 2016．2024 年 3 月.

ザズベイカプセル 30 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 4
2.6.2 薬理試験の概要文 6
2.6.2.1 まとめ 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 8
2.6.2.2.1 In vitro 試験 8
2.6.2.2.1.1 ラット $GABA_A$ 受容体への $GABA_A$ 受容体リガンド結合に対するズラノロン及び特定の代謝物の影響 8
2.6.2.2.1.2 ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響 9
2.6.2.2.1.3 サブユニット構成の異なるヒト $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響 10
2.6.2.2.1.4 ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体の直接開口作用に対するズラノロンの影響 11
2.6.2.2.1.5 げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性 GABA 誘発電流及び一過性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの急性作用 12
2.6.2.2.1.6 げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性 GABA 誘発電流及び一過性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの持続的増加作用 13
2.6.2.2.2 In vivo 試験 14
2.6.2.2.2.1 ズラノロンの抗痙攣作用 14
2.6.2.2.2.2 様々なモデルに対するズラノロンの抗痙攣作用 15
2.6.2.2.2.3 ラットの EEG パワースペクトラムに対するズラノロンの薬力学的作用 15
2.6.2.2.2.4 げっ歯類モデルにおけるズラノロンの抗不安様作用 16
2.6.2.2.2.5 ラットモデルにおけるレセルピン誘発口腔ジスキネジアに対するズラノロンの影響 17
2.6.2.2.2.6 マウスの自発運動量及び運動協調性に対するズラノロンの作用 18
2.6.2.2.2.7 ズラノロンをマウスに反復投与したときの抗痙攣作用及び運動協調性に対する影響 18
2.6.2.2.2.8 ズラノロンをストレス誘発性うつモデルマウスに反復投与したときの抗うつ作用 19
2.6.2.3 副次的薬理試験 20
2.6.2.3.1 受容体結合性及び機能的選択性 20
2.6.2.3.2 核内ホルモン受容体機能パネル 21

2.6.2.4 安全性薬理試験 21
2.6.2.4.1 中枢神経系 21
2.6.2.4.1.1 ラットの中枢神経系に対する作用 21
2.6.2.4.2 心血管系 22
2.6.2.4.2.1 心筋イオンチャネルに対するズラノロンの作用 22
2.6.2.4.2.2 hERG 導入細胞におけるカリウム電流に対する作用 22
2.6.2.4.2.3 無麻酔イヌの血圧，心拍数及び心電図に対する作用 22
2.6.2.4.3 呼吸系 23
2.6.2.4.3.1 ラットの呼吸系に対する作用 23
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 24
2.6.2.5.1 In Vitro におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターによるアロステリックモジュレーション作用 24
2.6.2.5.2 In vitro におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターによる直接開口作用 25
2.6.2.5.3 GABA 拮抗薬誘発痙攣発作のマウスモデルにおけるズラノロンとジアゼパムの正の相互作用 26
2.6.2.5.4 リチウム-ピロカルピン誘発てんかん重積状態のラットモデルにおけるズラノロンとジアゼパムの正の相互作用 26
2.6.2.6 考察及び結論 27
2.6.2.7 図表 33
2.6.2.8 参考文献 33

表

表 2.6.2-1 ズラノロンによる組換え $GABA_A$ 受容体サブタイプの増強作用 11
表 2.6.2-2 GABA 存在下でのヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ GABAA 受容体におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターとの併用による影響 25
表 2.6.2-3 GABA 存在下でのヒト $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターとの併用による影響 25
表 2.6.2-4 安全性薬理コアバッテリー試験の結果及び血漿中曝露量と申請用法用量における血漿中曝露量との比 30

図

図 2.6.2-1 ズラノロンによるヒト組換え $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体における GABA 誘発電流の濃度依存的な増強 10
図 2.6.2-2 ズラノロンによるヒト組換え $\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体における GABA 誘発電流の濃度依存的な増強 10

図 2.6.2-3 歯状回顆粒細胞の持続性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの効果を示すサンプル記録トレース 13
図 2.6.2-4 マウス脳スライス標本の持続性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの持続的増加作用 14
図 2.6.2-5 ラット覚醒下の脳波 β 波に対するズラノロンの増強作用 16
図 2.6.2-6 ストレス誘発性うつモデルマウスにおけるズラノロンの抗うつ作用 20

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
AUC	area under the drug concentration-time curve	薬物濃度–時間曲線下面積
BLA	basolateral amygdala	扁桃体基底外側部
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) 薬物濃度
EC_{50}	half maximal effective concentration	50%効果濃度
EEG	electroencephalography	脳波
E_{max}	maximum effect/potentiation	最大増強効果
EPM	elevated plus maze	高架式十字迷路
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価
GABA	Gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
$GABA_A$	Gamma-aminobutyric acid type A (receptor)	γ-アミノ酪酸 (GABA) のイオンチャネル型受容体 ($GABA_A$受容体)
GLP	Good Laboratory Practice	
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HPβCD	hydroxypropyl-beta-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
$IC_{20(50)}$	twenty percent (half maximal) inhibitory concentration	20 (50) %阻害濃度
IP	intraperitoneal	腹腔内
IPSC	Inhibitory postsynaptic current	抑制性シナプス後電流
Ki	inhibitory constant	阻害定数
Ltk	mouse fibroblast cell line	マウス線維芽細胞株
MED	minimum effective dose	最小有効用量
NAS	neuroactive steroid	神経活性ステロイド
NC	Not calculated	
NMDA	N-methyl-D-aspartate (receptor)	N-メチル-D-アスパラギン酸 (受容体)
P4S	Piperidine-4-sulphonic acid	ピペリジン-4-スルホン酸

PAM	positive allosteric modulator	ポジティブアロステリックモジュレーター
PTZ	pentylenetetrazole	ペンチレンテトラゾール
QTc	corrected QT interval	補正 QT 間隔
SE	status epilepticus	てんかん重積状態
TBPS	tert-butylbicyclophosphorothionate	*t*-ブチルビシクロホスホロチオネート
TRPV1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1	一過性受容体電位カチオンチャネルサブファミリーV メンバー1

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

効力を裏付ける試験

ズラノロン (別名：S-812217，SAGE-217，SGE-217，SGE-797 又は SGE-00797) はヒト中枢神経系の主要な抑制性神経伝達物質である γ-アミノ酪酸 (GABA) のイオンチャネル型受容体 ($GABA_A$ 受容体) に対しポジティブアロステリックモジュレーター (PAM) として作用する神経活性ステロイド (NAS) である．この PAM としての作用により，クロライドイオンの透過を促進させ，神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動を制御する．In vitro 試験では，ズラノロンによる $GABA_A$ 受容体リガンドの結合阻害活性，複数のヒト $GABA_A$ 受容体サブタイプにおける GABA 誘発電流に対するズラノロンの増強作用，ラット脳スライス標本を用いたズラノロンによる一過性及び持続性 GABA 誘発電流の増強作用，GABA 非存在下における $GABA_A$ 受容体に対する直接開口作用を評価した．In vivo 試験では，ズラノロン投与によるストレス誘発うつモデルマウスにおける抗うつ様作用，種々のモデルにおける抗痙攣作用，脳波 β 波及び θ 波の増強作用，抗不安様作用及び鎮静作用を評価した．

ラット大脳皮質膜においてピクロトキシン結合部位のリガンドである [^{35}S]-*t*-ブチルビシクロホスホロチオネート (TBPS) の $GABA_A$ 受容体への結合をズラノロンが阻害することによって，ズラノロンが $GABA_A$ 受容体に結合することが示され，阻害定数 (Ki) は 3.9～6.0 nmol/L (1.6～2.5 ng/mL) であった．[^{14}C]-ズラノロンを用いて実施したヒトマスバランス試験で同定されたズラノロンの 4 種の血中代謝物 (M117 [SGE-02369]，M125 [SGE-07672]，M135 [SGE-03632] 及び M136 [SGE-03633]) について，$GABA_A$ 受容体への結合能を評価した．ラット大脳皮質膜における $GABA_A$ 受容体への TBPS 結合に対する M117 の Ki は 140 nmol/L あり，ズラノロンの Ki 3.9～6.0 nmol/L と比較して 20 分の 1 以下であった．M135 及び M136 の TBPS 結合に対する Ki は，それぞれ 2800 nmol/L 及び 2200 nmol/L であり，ズラノロンの Ki と比較して 360 分の 1 以下であった．M125 は評価した最高濃度である 10 µmol/L まで TBPS の結合を阻害しなかった．

ズラノロンは，複数の代表的なシナプス直下及びシナプス領域外のヒト $GABA_A$ 受容体サブタイプを発現させた細胞において，ズラノロン非存在下と比べ GABA 誘発電流を増強した．2µmol/L の GABA 単独での誘発電流を基準とした場合の最大増強効果 (E_{max}) 及び 50%効果濃度 (EC_{50}) は，シナプス直下の $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体でそれぞれ それぞれ 1041%及び 374 nmol/L (153 ng/mL)，シナプス領域外の $\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体ではそれぞれ はそれぞれ 639%及び 163 nmol/L (67 ng/mL) であり，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体の PAM であることが示された．ラット脳スライス標本の小脳顆粒細胞及び歯状回顆粒細胞を用いてホールセルパッチクランプ法により電流を評価した結果，ズラノロン処置により，一過性電流の衰退時間の延長 (300 nmol/L [123 ng/mL] 以上) 及び持続性電流の振幅の増加 (1 µmol/L [410 ng/mL]) がみられた．

$GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS では，細胞膜上での $GABA_A$ 受容体発現量を増加させ，GABA 誘発電流の持続的増加をもたらすことが知られており，この現象はプロテインキナーゼ C を介した細胞内シグナル伝達に関連している可能性が報告されている [1, 2]．マウス脳スライス標本の歯状回顆粒細胞を用いてズラノロンを 15 分間灌流し，その後ズラノロン非存在下で灌流 (washout) を続けたときの電流変化を評価した結果，ズラノロン (1 µmol/L [410 ng/mL])

は, 一過性 GABA 誘発電流及び持続性 GABA 誘発電流の増加をもたらし, ズラノロンの washout 後に 30 分以上効果が持続した．この結果よりズラノロンによる細胞膜上での $GABA_A$ 受容体の発現量増加が示唆された.

げっ歯類を用いた薬力学アッセイでは，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体機能増強作用を介した抗痙攣作用，脳波の増強作用，抗不安様作用及び鎮静作用を示し，これらは用量依存性がみられた．$GABA_A$ 受容体拮抗薬ペンチレンテトラゾール誘発痙攣発作マウスモデルでは，ズラノロンの血漿中濃度 74～141 ng/mL で抗痙攣作用が，マウス高架式十字迷路 (EPM) 試験では，血漿中濃度 352 ng/mL で抗不安様作用が認められた．一方，マウスを用いたロータロッドアッセイでは血漿中濃度 1515 ng/mL で運動協調性の低下が観察され，マウスを用いたオープンフィールドアッセイでは，血漿中濃度が 1508 ng/mL を超えると全体的な自発運動の低下が観察された．これらはズラノロンの鎮静作用による影響と考えられ，抗痙攣作用を示す血漿中濃度と乖離がみられた．ストレス誘発性うつモデルマウスでは，ズラノロンは投与 1 日目から抗うつ様作用を示した.

ラット脳波 (EEG) 検査でのパワースペクトル解析の結果, ズラノロンは 245 ng/mL 以上の血漿中濃度で β 波及び θ 波を含む複数の周波数帯域の脳波に対して用量依存的な増強作用を示した．この EEG パワー (脳の活動により生じる微弱な電気信号) の変化は，シナプス直下及びシナプス領域外に存在する，$\alpha_{1\text{-}5}$ の複数の $GABA_A$ 受容体サブタイプに対するズラノロンの機能増強作用に起因するものと考えられる．また，ズラノロンは，口腔ジスキネジアのモデルラット及びてんかん重積状態のモデルラットにおいて，489 ng/mL 以上の血漿中薬物濃度でジスキネジア抑制作用及び抗てんかん作用を示した．一方，いずれのモデルにおいてもベンゾジアゼピン系薬物は作用を示さなかった.

副次的薬理試験

$GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの選択性は，94 種の標的分子 (受容体/核内受容体: 88 種，酵素: 2 種，トランスポーター: 4 種) を含む in vitro リガンド結合アッセイ及び機能アッセイで評価した．その結果，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体に対し，高い選択性を示した．$GABA_A$ 受容体への結合以外に，ズラノロンは，シグマ受容体に対し結合活性 (10 µmol/L [4096 ng/mL] でのリガンド置換率は 87%～89%) を，一過性受容体電位カチオンチャネルサブファミリーV メンバー1 (TRPV1) に対し見かけ上の機能的アンタゴニスト活性 (50%阻害濃度 [IC_{50}] は 12 µmol/L [4915 ng/mL]) を, プレグナンX受容体に対しアゴニスト活性 (10 µmol/L [4096 ng/mL] で 2.3 倍のアゴニスト活性) を示した.

安全性薬理試験

ズラノロンの安全性を薬理学的観点から評価する目的で，安全性薬理コアバッテリー試験を実施し，中枢神経系，心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を検討した.

ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 (hERG) チャネル発現細胞を用いた遅延整流カリウム電流 (hERG 電流) に対する試験において，評価最高濃度の 3 µmol/L まで hERG 電流に対して 50%を超える阻害作用を示さず，ズラノロンの IC_{50} は 3 µmol/L (1229 ng/mL) を超える濃度と推定され

た.

ラットを用いた中枢神経系試験では，ズラノロンの $GABA_A$ 受容体を介したと考えられる鎮静や鎮静に関連する一般状態の変化が低用量 (3 mg/kg) から用量依存的に認められた．ラットを用いた呼吸系試験では，最高用量 (22.5 mg/kg) において，呼吸数の軽度な減少が認められ，1 回換気量及び分時換気量の軽度増加を伴っていた．イヌを用いた心血管系試験では，中間用量 (1 mg/kg) 以上で薬理作用に関連すると考えられる血圧低下及び心拍数の増加が用量依存的に認められたが，最高用量 (2.5 mg/kg) まで QTc 延長作用を含め心電図への影響は認められなかった.

薬力学的相互作用試験

In vitro において，ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体を発現させたマウス線維芽細胞株 (Ltk) 細胞又はチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用いて GABA の存在下でホールセルパッチクランプ法を用いて，ズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーター (ジアゼパム，プロポフォール及びペントバルビタール) との併用による影響を検討したところ，ズラノロンは，ジアゼパム及びペントバルビタールとは正の相互作用 (EC_{50} の低下/E_{max} の上昇による GABA 誘発電流の増強) の可能性を示し，プロポフォールとは負の相互作用 (EC_{50} の上昇/E_{max} の低下による GABA 誘発電流の減弱) の可能性を示した．In vivo では，ズラノロンとジアゼパムを 2 種類のげっ歯類痙攣モデルに併用投与したところ，正の相互作用の可能性が認められた.

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 In vitro 試験

2.6.2.2.1.1 ラット $GABA_A$ 受容体への $GABA_A$ 受容体リガンド結合に対するズラノロン及び特定の代謝物の影響

評価資料 4.2.1.1-01～4.2.1.1-03

概要表 2.6.3.2.1

ラット大脳皮質膜を用いて，$GABA_A$ 受容体リガンドである [^{35}S]-TBPS の結合に対するズラノロンの結合阻害能を評価した．ズラノロンは濃度依存的に [^{35}S]-TBPS の $GABA_A$ 受容体に対する結合を強力に阻害し，Ki は 3.9～6.0 nmol/L (1.6～2.5 ng/mL) であった (4.2.1.1-01, 4.2.1.2-02).

[^{14}C]-ズラノロンを用いて実施したヒトマスバランス試験において同定された，血漿中代謝物である M117 [SGE-02369]，M125 [SGE-07672]，M135 [SGE-03632] 及び M136 [SGE-03633] について，ラット大脳皮質膜を用いて $GABA_A$ 受容体への TBPS 結合に対する阻害能を評価した．M117，M135 及び M136 は，濃度依存的に TBPS 結合を阻害し，K_i はそれぞれ 140 nmol/L，2800 nmol/L 及び 2200 nmol/L であった (4.2.1.1-03)．ズラノロンと比較すると，M117 の TBPS 阻害能は 20 分の 1 以下であり，M135 及び M136 の阻害能は 360 分の 1 以下であった．M125 は，10 µmol/L までの検討したいずれの濃度においても TBPS 結合を阻害しなかった (4.2.1.1-03).

2.6.2.2.1.2　ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響

評価資料 4.2.1.1-04～4.2.1.1-10

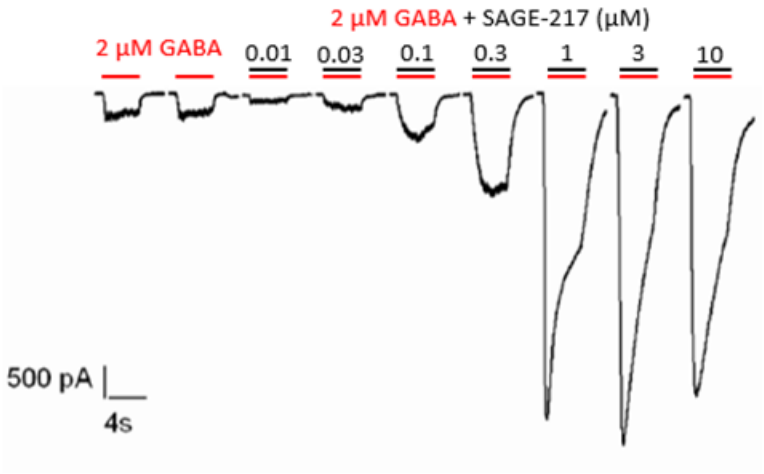
概要表 2.6.3.2.2

組換えヒト $GABA_A$ 受容体発現細胞を用いてズラノロンによる GABA 誘発電流の増強効果を電気生理学的に評価した．$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ サブユニットを含有する $GABA_A$ 受容体は，それぞれ脳内に最も豊富に存在するシナプス直下及びシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体である [3]．オート (4.2.1.1-04 及び 4.2.1.1-05) 及びマニュアル (4.2.1.1-06, 4.2.1.1-07 及び 4.2.1.1-08) のパッチクランプ法を用いて評価した結果，ズラノロンはこれら 2 種の代表的な受容体における GABA 誘発電流を強力かつ濃度依存的に増強した．また，$\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体において GABA (2 µmol/L) による定常電流 (GABA の前処置によってチャネルが十分開いた状態の電流) に対し，ズラノロンは GABA 誘発電流を濃度依存的に増強したことから (4.2.1.1-09)，この受容体サブタイプに対して，持続的活動状態においても増強することができることが示唆された．また，この結果はδサブユニットを含有する $GABA_A$ 受容体が脱感作しないという過去の報告 [4] と一致した．

マニュアルホールセルパッチクランプ法により，無血清条件下で Ltk 細胞に発現させた $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体 (図 2.6.2-1，n＝7) 及び CHO 細胞に発現させた $\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体 (図 2.6.2-2，n＝6) におけるズラノロンの作用を 7 濃度 (0.01～10 µmol/L) で測定した (4.2.1.1-08)．$\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体には，対照化合物として SGE-112 (DS2，δ サブユニット選択的な $GABA_A$ 受容体 PAM) を 10 µmol/L の濃度で用いた．各実験では，3 パラメータフィッティングを用いて各受容体サブタイプについて作成した濃度反応曲線から，2 µmol/L の GABA 単独の作用を基準として，EC_{50} 及び最大増強効果 (E_{max}) を算出した．$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体に対するズラノロンの EC_{50} は 374 nmol/L (153 ng/mL)，E_{max} は 1041%であった．$\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体に対するズラノロンの EC_{50} は 163 nmol/L (67 ng/mL)，E_{max} は 639%であった．

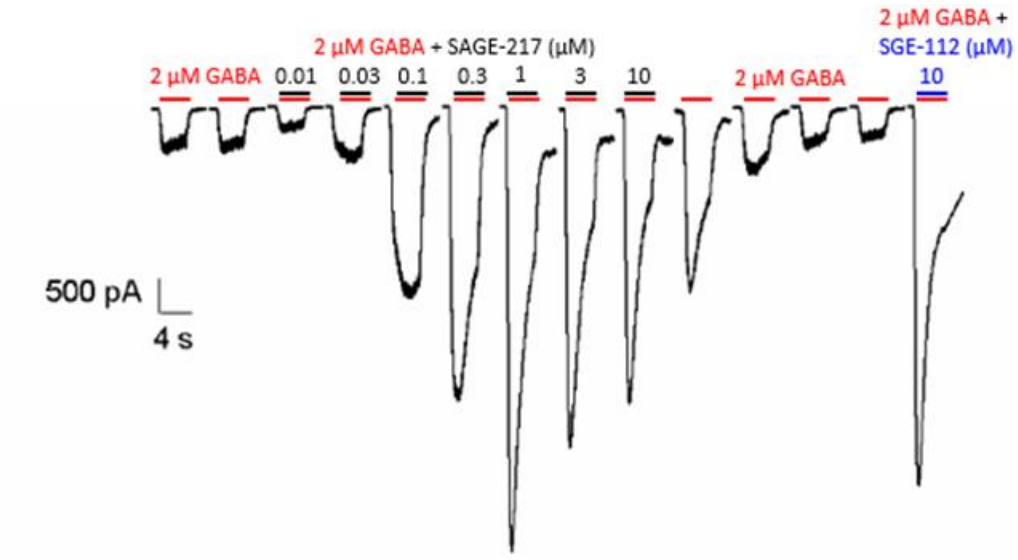
ピペリジン-4-スルホン酸 (P4S) は，$GABA_A$ 受容体の部分的作動薬であり，GABA よりも受容体の脱感作を誘発する可能性が低く，このためイオンチャネルの開閉 (ゲーティング) に対するアロステリック効果をより適切に評価することが可能であると報告されている [5, 6]．そこで，GABA 誘発電流の増強に加えて，$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体発現 Ltk 細胞において P4S 誘発電流へのズラノロンのゲーティングに対する影響を評価した (4.2.1.1-10)．P4S の濃度反応性を，200 nmol/L (82 ng/mL) のズラノロンの存在下及び非存在下で測定し，飽和濃度 (100 µmol/L) の GABA によって誘発される最大電流を基準として反応を標準化した．ズラノロンは，P4S の EC_{50} を 47 µmol/L から 25 µmol/L に，P4S の E_{max} を 24%から 50%にシフトさせ，P4S 誘発電流を増強した．この結果よりズラノロンは $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ 受容体においてアゴニストの結合だけでなくゲーティングも増強することが示唆され，過去の報告 [7] とも一致した．

図 2.6.2-1　　ズラノロンによるヒト組換え $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体における GABA 誘発電流の濃度依存的な増強



SAGE-217 はズラノロンの別名である.

図 2.6.2-2　　ズラノロンによるヒト組換え $\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体における GABA 誘発電流の濃度依存的な増強



SAGE-217 はズラノロンの別名である.

2.6.2.2.1.3　　サブユニット構成の異なるヒト $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響

評価資料 4.2.1.1-11～4.2.1.1-16

概要表 2.6.3.2.3

組換えヒト $GABA_A$ 受容体発現細胞を用いたサブユニット構成の異なる $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンによる GABA 誘発電流の増強効果を電気生理学的に評価した．ズラノロンはサブユニット構成の異なる様々なシナプス直下 (γ サブユニット含有) 及びシナプス領域外 (δ サブユニット含有) の受容体においても GABA 誘発電流を濃度依存的に増強した (表 2.6.2-1). また，ズラノロンは，両生類細胞 (アフリカツメガエルの卵母細胞) に発現させた組換えヒト

$GABA_A$ 受容体に対しても GABA 誘発電流を増強した (4.2.1.1-16).

表 2.6.2-1 ズラノロンによる組換え $GABA_A$ 受容体サブタイプの増強作用

Receptor Type	Cell type	EC_{50} (nmol/L)	E_{max} (% potentiation)	Patch-clamp method	Location in CTD
$\alpha_2\beta_2\gamma_2$	Ltk	NC[a]	NC[a]	Automated	4.2.1.1-11
$\alpha_2\beta_2\gamma_2$	Ltk	184	1344	Manual	4.2.1.1-12
$\alpha_1\beta_3\gamma_2$	HEK293	390	712	Automated	4.2.1.1-13
$\alpha_2\beta_3\gamma_2$	HEK293	516	1060	Automated	4.2.1.1-13
$\alpha_3\beta_3\gamma_2$	HEK293	293	341	Automated	4.2.1.1-13
$\alpha_5\beta_3\gamma_2$	HEK293	298	564	Automated	4.2.1.1-13
$\alpha_6\beta_3\delta$	CHO	147	702	Manual	4.2.1.1-14
$\alpha_6\beta_3\delta$	CHO	68	203	Manual	4.2.1.1-15

CHO = Chinese hamster ovary; EC_{50} = half maximal effective concentration; E_{max} = maximum potentiation; HEK = Human embryonic kidney; Ltk = mouse fibroblast cell line; NC = Not calculated
a EC_{50} and E_{max} values were not calculated, but 1 µmol/L zuranolone produced 184% potentiation and 10 µmol/L produced 462% potentiation of 2 µmol/L GABA current

2.6.2.2.1.4 ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体の直接開口作用に対するズラノロンの影響

参考資料 4.2.1.1-17，4.2.1.1-18，4.2.1.4-06

概要表 2.6.3.2.4

NAS は，$GABA_A$ 受容体を直接開口することができるが，この作用が観察される濃度はアロステリックモジュレーション効果が発揮される濃度よりも高く，直接開口によるクロライドイオン流入効果は GABA に対するアロステリックモジュレーション効果と比較して低いことが報告されている [8, 9]. GABA の非存在下で $GABA_A$ 受容体を介したクロライドイオン電流に対するズラノロンの作用を測定することにより，ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体におけるズラノロンの直接開口作用 (アゴニスト活性) を評価した．ズラノロン (10 µmol/L [4096 ng/mL]) は，CHO 細胞に発現させた $\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体 (4.2.1.1-17) 及び Ltk 細胞に発現させた $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体 (4.2.1.4-06) の両方において直接開口作用を示した．いずれの受容体においても，10 µmol/L のズラノロンによって生じた電流は，2 µmol/L の GABA による誘発電流の 50%未満であった．この結果は，ズラノロンがヒト $GABA_A$ 受容体を直接開口する作用を持つことを示しているが，この作用が認められた濃度はアロステリックモジュレーション効果が認められた濃度よりも高く，生じた電流は 2 µmol/L の GABA による誘発電流と比べ小さかった．

ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体発現アフリカツメガエル卵母細胞では，ズラノロン (1～100 µmol/L [410～40 957 ng/mL]) は検討した全ての濃度で $\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体を直接開口する作用を示した．しかし，この直接開口作用はアロステリックモジュレーション効果に比べ非常に弱かった．また，$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体では認められなかった (4.2.1.1-18).

NAS による $GABA_A$ 受容体の開口作用については発現系に依存する可能性があることが報告されており [10], 本検討で観察されたズラノロンによる受容体の直接開口作用における差異は，

哺乳動物細胞と両生類細胞の発現系の差異による可能性が考えられた.

上記の結果より，ズラノロンは，$GABA_A$受容体を直接開口することができるが，この作用が観察される濃度はアロステリックモジュレーション効果が発揮される濃度よりも高く，直接開口によるクロライドイオン流入効果はGABAに対するアロステリックモジュレーション効果に比べ小さく，ズラノロンが生体内で直接開口作用を有する可能性は低いと考えらえる.

2.6.2.2.1.5 げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性GABA誘発電流及び一過性GABA誘発電流に対するズラノロンの急性作用

評価資料 4.2.1.1-19，4.2.1.1-20

概要表 2.6.3.2.5

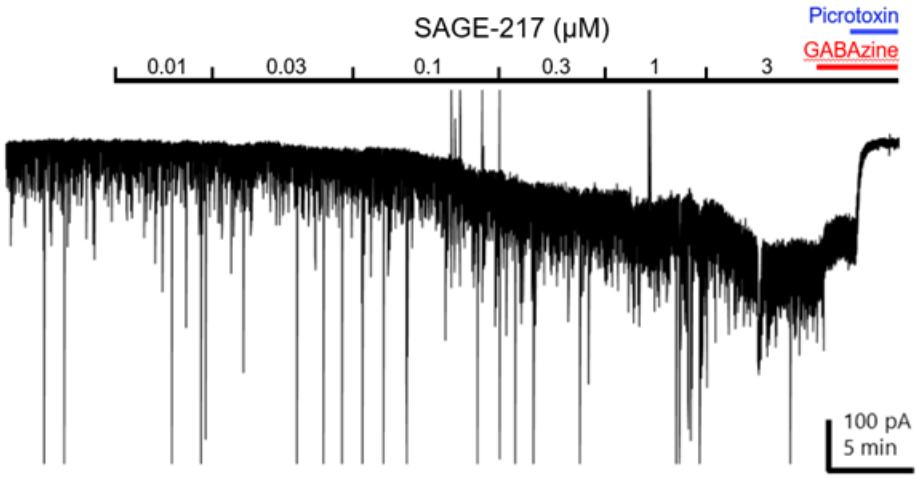
$GABA_A$受容体は，神経細胞において持続性及び一過性 GABA 誘発電流を発生する．持続性GABA誘発電流は，緩徐な，振幅の小さいクロライドコンダクタンスであり，周囲のGABA濃度に応答してシナプス領域外 (δ サブユニット含有) の$GABA_A$受容体によって誘導される．一過性GABA誘発電流は，急速な，より振幅の大きいクロライドコンダクタンスであり，シナプスのGABA放出に応答してシナプス直下 (γ サブユニット含有) の$GABA_A$受容体によって誘導される．これら2つのタイプの電流は，神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動の制御において個別かつ補完的な役割を果たすと考えられる [11].

ラット脳スライス標本の小脳顆粒細胞 (n = 4～11；4.2.1.1-19) 及び歯状回顆粒細胞 (n = 7～11；4.2.1.1-20) を用いて，ズラノロンによる持続性 GABA 誘発電流 (保持電流) 及び一過性GABA誘発電流 (抑制性シナプス後電流 [IPSC]) への影響を評価した. 電流は, 膜電位を-60 mVに固定したホールセルパッチクランプにより記録した．漸増濃度 (0.01，0.03，0.1，0.3，1及び3 µmol/L) のズラノロンを，各濃度につき5分間適用した (図 2.6.2-3)．持続性と一過性GABA誘発電流の評価については，電流波形の特徴より区別し解析した (一過性電流：数十ミリ秒間の電流応答，持続性電流；数十秒以上の電流応答) [11]．ベースラインと比較した保持電流の振幅の増加は, 持続性電流の増加を反映し, 持続性GABA誘発電流は, 記録期間の終了時に$GABA_A$受容体アンタゴニストの GABAzine (10 µmol/L) 及びピクロトキシン (100 µmol/L) を適用することにより判定した．自発的 IPSC は，N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体アンタゴニストのD-AP5 (10 µmol/L) 及びnon-NMDA受容体アンタゴニストのNBQX (5 µmol/L) を用いて$GABA_A$受容体を介したものを区別した．ベースラインと比較した IPSC 減衰時間の延長を，$GABA_A$受容体 PAM の効果による一過性電流の増加を反映する指標として使用した [12].

歯状回顆粒細胞では，1 µmol/L (410 ng/mL) 以上の濃度で保持電流の振幅の著しい増加が，0.3 µmol/L (123 ng/mL) 以上の濃度で IPSC 減衰時間の著しい延長が認められた (4.2.1.1-20)．小脳顆粒細胞では，1 µmol/L (410 ng/mL) 以上の濃度で保持電流の振幅の著しい増加が，3 µmol/L (1229 ng/mL) で IPSC 減衰時間の著しい延長が認められた (4.2.1.1-19).

このことから，ズラノロンは，持続性GABA誘発電流及び一過性GABA誘発電流を濃度依存的に増加させることが示された.

図 2.6.2-3　　歯状回顆粒細胞の持続性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの効果を示すサンプル記録トレース



SAGE-217 はズラノロンの別名である.

2.6.2.2.1.6　げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性 GABA 誘発電流及び一過性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの持続的増加作用

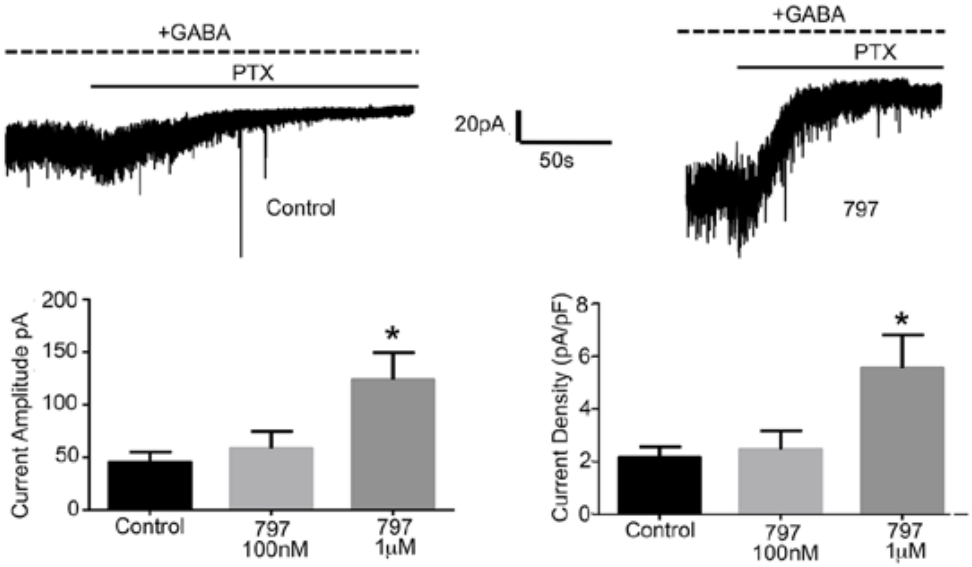
参考資料 4.2.1.1-21，4.2.1.1-22

概要表 2.6.3.2.6

$GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS は, 化合物をレコーディングチャンバーから washout した後も GABA 誘発電流の増加作用が持続することが報告されており，$GABA_A$ 受容体のリン酸化及び細胞膜上の $GABA_A$ 受容体発現量の増加が認められている [2]．マウス (6～8 例；4.2.1.1-21) 及びラット (5～7 例；4.2.1.1-22) の脳スライス標本の歯状回顆粒細胞を用いて，ズラノロンによる GABA 誘発電流に対する持続的増加作用を検討した.

生後 21 日のマウスから得た海馬スライス標本を，ズラノロン (0.1 又は 1 μmol/L) と 15 分間プレインキュベートし，その後レコーディングチャンバーからズラノロンを washout (30 分間以上灌流) した(4.2.1.1-21). 歯状回顆粒細胞からの持続性 GABA 誘発電流は, 100 μmol/L の $GABA_A$ 受容体アンタゴニストのピクロトキシン (図 2.6.2-4 A) を用いて測定し，細胞の膜容量を基準として標準化することによって電流密度を判定した．1 μmol/L のズラノロンとプレインキュベートした場合には, 対照の歯状回顆粒細胞と比較して電流密度が著しく増加し (0.1 μmol/L では観察されず；図 2.6.2-4 B)，ズラノロンとのプレインキュベーションにより，持続性電流を伝導する $GABA_A$ 受容体の細胞膜上での発現が増加したことが示唆された.

図 2.6.2-4　　マウス脳スライス標本の持続性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの持続的増加作用



図中の 797 は SGE-797 を示し，ズラノロンの別名である．

ズラノロンとのプレインキュベーションによる自発的 IPSC の振幅及び減衰時間に対する効果を判定した [7]．1 μmol/L のズラノロンとプレインキュベートした場合には，溶媒と比較して IPSC の減衰時間が著しく延長し，ズラノロンとのプレインキュベーションにより，一過性電流を伝導する $GABA_A$ 受容体の細胞膜上での発現も増加したことが示唆された．

ラット脳スライス標本では，1 μmol/L のズラノロンとのプレインキュベーションにより，歯状回顆粒細胞では溶媒と比較して持続性電流及び一過性電流の振幅が著しく増加したが，IPSC 減衰時間に対する影響は認められなかった (4.2.1.1-22)．

げっ歯類の神経細胞を用いたこれらの試験から，ズラノロンは神経細胞の持続性及び一過性 GABA 誘発電流を，急性的 (5 分以内) 及び持続的 (wash out してから 30 分以上) に増強することができることが示された．

2.6.2.2.2　　In vivo 試験

特に明記しない限り，全ての試験において評価項目の評価時にサテライト動物から血漿及び脳検体を採取した．報告した薬物濃度–時間曲線下面積 (AUC) は，薬物動態試験の結果から線形の用量比例性を仮定して外挿したものである (モジュール 2.6.4 参照)．最小有効用量 (MED) は，検討した用量のうち，有効性評価項目が対照群よりも有意に高かった最小用量と定義した ($p < 0.05$)．

2.6.2.2.2.1　　ズラノロンの抗痙攣作用

参考資料 4.2.1.1-23～4.2.1.1-26，4.2.1.4-07

概要表 2.6.3.2.7

ペンチレンテトラゾール (PTZ) は $GABA_A$ 受容体拮抗薬であり，マウスでは間代性及び強直性発作として認められる全身発作を誘発する化学的痙攣誘発薬である [13]．$GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS では，PTZ 誘発発作に対して抗痙攣作用を示すことが報告されている [14, 15].

雄性 CD-1 マウスにおいてズラノロン投与による，PTZ 投与後の強直性痙攣の発現までの時間の延長を指標に，抗痙攣作用を評価した．PTZ 皮下投与 60 分前にズラノロン (1，3 又は 10 mg/kg) を経口投与したところ，全ての用量で対照群 (15%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン [HPβCD] 投与) と比較して強直性痙攣の発現までの時間が著しく延長した (4.2.1.1-23). より低用量のズラノロン (0.1, 0.3 及び 1 mg/kg, 経口投与) を用いた検討では (4.2.1.1-24)，0.3 及び 1 mg/kg の両用量で強直性痙攣の発現までの時間が著しく延長した．対照群間で統計学的有意差が認められなかったため ($p = 0.07$，対応のない t 検定)，GraphPad Prism を用いてこれらのデータセットを併合し，再解析した [7]．本解析では，MED は 1 mg/kg と判定した．この用量における血漿中濃度は 74～141 ng/mL，脳中濃度は 143～219 ng/g であり，外挿した血漿中 AUC として 428 ng·hr/mL に相当した．ズラノロンを腹腔内 (IP) 投与した場合も，ズラノロンはこのモデルにおいて同様な抗痙攣作用を示した (4.2.1.1-25，4.2.1.1-26 及び 4.2.1.4-07).

これらの試験結果から，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体機能増強作用を介してマウスにおける GABA 拮抗薬誘発痙攣発作を予防し，抗痙攣作用に対する有効血漿中濃度として 74～141 ng/mL と推定された.

2.6.2.2.2.2 様々なモデルに対するズラノロンの抗痙攣作用

参考資料 4.2.1.1-27～4.2.1.1-33，4.2.1.4-08

概要表 2.6.3.2.8

マウスの 6-Hz 精神運動発作 (4.2.1.1-27)，雄性脆弱 X 精神遅滞症候群 1 ノックアウトマウスの聴原発作 (4.2.1.1-28 及び 4.2.1.1-29)，カイニン酸誘発内側側頭葉てんかんのマウスモデルにおける海馬発作性放電 (4.2.1.1-30) 並びにリチウム-ピロカルピン誘発てんかん重積状態 (SE) (4.2.1.1-31) 及び難治性 SE (4.2.1.1-32，4.2.1.1-33 及び 4.2.1.4-08) のモデルラット等の複数の急性発作及びてんかんのげっ歯類モデルを用いてズラノロンの抗痙攣作用を評価した．なお，リチウム-ピロカルピン誘発難治性 SE のモデルラットでは，SE の発現から 60 分後 (ベンゾジアゼピン系薬物の抗痙攣作用が認められない時点) [16, 17] に，ズラノロンを投与し抗痙攣作用を評価した．これらの結果，各種モデルに対してズラノロンは $GABA_A$ 受容体機能増強作用を介した抗痙攣作用を示した.

2.6.2.2.2.3 ラットの EEG パワースペクトラムに対するズラノロンの薬力学的作用

参考資料 4.2.1.1-34，4.2.1.1-35

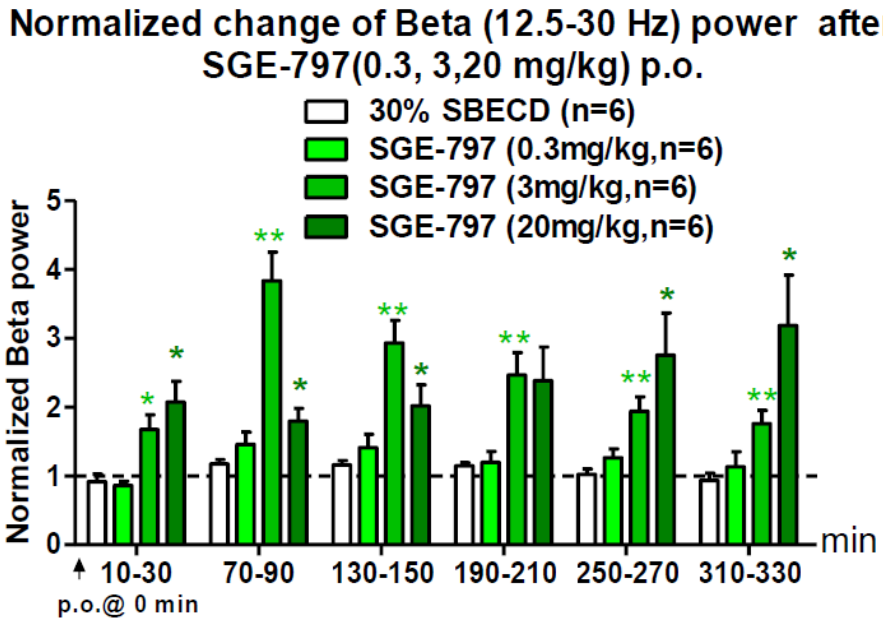
概要表 2.6.3.2.9

ズラノロンを静脈内投与 (各群 6 例 ; 4.2.1.1-34) 又は経口投与 (各群 6 例 ; 4.2.1.1-35) した雄

性 Sprague Dawley 系ラットを用いて EEG パワースペクトラム (各周波数の EEG パワー [脳の活動により生じる微弱電気信号] を定量的に表した分布図) 並びに睡眠及び覚醒時間に対するズラノロンの薬力学的作用を評価した. EEG 及び筋電図の活動を記録し, 複数の周波数帯域 (δ, θ, α, β, γ_1 及び γ_2) における EEG パワーを評価し, 睡眠/覚醒の変化を記録した. 両試験において, ズラノロンの投与により δ, θ, α, β 及び γ_1 波帯域で EEG パワーが用量依存的に増加した. β 波は, 13～30 Hz の周波数範囲の脳波と定義され, $GABA_A$ 受容体 PAM 活性の in vivo における信頼性のある予測可能なバイオマーカーとして確立されており, β 波の増強作用によって, $GABA_A$ 受容体に対する PAM となる NAS と他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターの作用を区別することができる [18-21]. ズラノロン投与後 1 時間以内における β 波帯域での EEG パワーの有意な増加が認められた MED は, 静脈内投与で 1 mg/kg (4.2.1.1-34), 経口投与で 3 mg/kg であった (4.2.1.1-35：図 2.6.2-5). これらの用量での投与後 55～60 分における血漿中薬物濃度は 245～301 ng/mL 及び外挿した血漿中 AUC は 536～921 ng·hr/mL であった.

非鎮静用量では θ 波帯域の EEG パワーに対してジアゼパムは効果を示さないものの, ズラノロンでは θ 波帯域の EEG パワーを増強することが確認された [22]. この θ 波帯域の EEG パワーに対するジアゼパムとズラノロンの効果の違いは, in vivo でのベンゾジアゼピン系薬物とズラノロンによるシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体機能増強作用の違いを示すものと考えられる.

図 2.6.2-5　　ラット覚醒下の脳波 β 波に対するズラノロンの増強作用



Each bar represents mean ± standard error of the mean.
Significant differences are expressed as * P<0.05; ** P<0.01 (compared to vehicle).
SGE-797 はズラノロンの別名である.

2.6.2.2.2.4　　げっ歯類モデルにおけるズラノロンの抗不安様作用

参考資料 4.2.1.1-36～4.2.1.1-40

概要表 2.6.3.2.10

EPM 試験及び Vogel コンフリクト試験は，不安様行動のげっ歯類モデルであり，$GABA_A$ 受容体 PAM を含む抗不安薬の効果を検出することができる [23, 24]．ズラノロンを評価開始 30 分前に腹腔内投与し，$GABA_A$ 受容体 PAM 作用による抗不安様作用を評価した．

マウス EPM 試験では，ズラノロン (0.3，1 又は 3 mg/kg) 又は溶媒 (15% HPβCD) を，評価開始の 30 分前に雄性 C57 BL/6J マウス (各群 15 例) に腹腔内投与した (4.2.1.1-36)．ズラノロン投与により，5 分間の迷路内のオープンアームへのエントリー回数の有意な増加及びオープンアームにおける滞在時間の有意な延長により抗不安様作用を示し，MED は 1 mg/kg と判断した．この用量における血漿中濃度は 352 ng/mL，脳中濃度は 539 ng/g であり，外挿した血漿中 AUC として 1139 ng·hr/mL に相当した．

ラット EPM 試験では，ズラノロン (0.3，1 又は 3 mg/kg) 又は溶媒 (30% HPβCD) を，評価開始 60 分前に雄性 Sprague Dawley 系ラット (各群 15 例) に腹腔内投与した (4.2.1.1-37)．ズラノロン投与群では，媒体投与群と比較して，迷路内のオープンアームへのエントリーやオープンアームにおける滞在時間を有意に増加させなかった．

Vogel コンフリクト試験では，Sprague Dawley 系ラット (各群 15 例) の水分摂取を制限し，水を飲むたびに軽度の電気ショックを与え，飲水行動 (リック数) を減少するように訓練をした．そのため，総リック数及び総電気ショックの増加は，抗不安の効果があると判定した．ズラノロンの投与タイミングは，評価開始前 30 分 (4.2.1.1-38 及び 4.2.1.1-39) 並び評価開始前 60 分 (4.2.1.1-40) で検討した．ズラノロン (0.5，1，2.5 又は 5 mg/kg) を評価開始 60 分前に腹腔内投与したところ (4.2.1.1-40)，媒体投与群 (15% HPβCD) と比較して総リック数又は総電気ショックは有意に増加しなかった．しかし，ズラノロン (0.5，2.5 又は 5 mg/kg，4.2.1.1-38；0.5，1，2.5 又は 5 mg/kg，4.2.1.1-39) を評価開始 30 分前に腹腔内投与した場合には，2.5 mg/kg の用量で媒体投与群 (15% HPβCD) と比較して総リック数及び総電気ショックが有意に増加し，抗不安様作用を示した．この用量における血漿中濃度は 206～343 ng/mL，脳中濃度は 394～780 ng/g であり，外挿した血漿中 AUC として 2425 ng·hr/mL に相当した．

2.6.2.2.2.5 ラットモデルにおけるレセルピン誘発口腔ジスキネジアに対するズラノロンの影響

参考資料 4.2.1.1-41

概要表 2.6.3.2.11

レセルピンは，不可逆的な小胞モノアミントランスポーター阻害薬であり，ラットに 3 日間にわたって 2 回投与すると，舌突出及び咀嚼様顎運動等の口腔ジスキネジア行動を引き起こす．レセルピン誘発口腔ジスキネジアは，ジアゼパムには感受性を示さないが，選択的 δ サブユニット含有 $GABA_A$ 受容体作動薬である THIP 及びシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体の持続性 GABA 誘発電流を増強することができる $GABA_B$ 作動薬であるバクロフェンに対しては感受性を示すことが報告されており，本アッセイで評価する GABA 作動性効果にはシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体への作用が必要であることが示唆される [25-27]．ジアゼパムに感受性を示さないこの口

腔ジスキネジアモデルにおいて，レセルピンが誘発した舌突出及び咀嚼様顎運動へのズラノロンによる影響を評価した.

口腔ジスキネジア行動を誘発するため，1 mg/kg のレセルピンを雄性 Wistar ラット (各群 9～10 例) に試験 1 日目及び 3 日目に皮下投与した. 試験 4 日目に, ズラノロン (0.3, 1 又は 3 mg/kg) 又は溶媒 (15% HPβCD) を腹腔内投与し，その 30 分後に 30 分間の行動観察期間を設けた．ズラノロン 3 mg/kg 投与により舌突出及び咀嚼様顎運動を著しく減少させ，MED は 3 mg/kg と判断した．この用量における血漿中濃度は 489 ng/mL，脳中濃度は 1007 ng/g であり，外挿した血漿中 AUC として 2910 ng·hr/mL に相当した.

2.6.2.2.2.6　　マウスの自発運動量及び運動協調性に対するズラノロンの作用

参考資料 4.2.1.1-42～4.2.1.1-44

概要表 2.6.3.2.12

$GABA_A$ 受容体 PAM の投与は，用量依存的な運動機能の低下及び運動協調性の障害を引き起こす可能性がある．これらは $GABA_A$ 受容体を介した鎮静作用と考えられ，$GABA_A$ 受容体に対する強力な増強作用によるものと考えられる．ズラノロンによる鎮静作用を確認するため，マウスを用いたオープンフィールドアッセイ及びロータロッドアッセイを実施した.

雄性 CD-1 マウスの自発運動量を, 2 試験において検討した (各群 10 例, 4.2.1.1-42 及び 4.2.1.1-43). ズラノロン (1，3 又は 10 mg/kg ; 3，5 又は 10 mg/kg) 又は溶媒 (15% HPβCD) を腹腔内投与し, その 30 分後にマウスをオープンフィールド装置に入れた. ズラノロン 5 及び 10 mg/kg 投与により, オープンフィールド内で最初の 15 分間に移動した合計距離を対照群と比較して著しく減少させた．MED は 5 mg/kg であり，この用量における血漿中濃度は 1508 ng/mL，脳中濃度は 1808 ng/g であり，外挿した血漿中 AUC として 5695 ng·hr/mL に相当した.

ズラノロン (1，3 及び 10 mg/kg) による運動協調性に対する影響を，雄性 CD-1 マウス (各群 10 例) を対象にロータロッドを使用して検討した (4.2.1.1-44). ズラノロン 10 mg/kg を評価の 30 分前に腹腔内投与したところ，ロータロッドから落下するまでの時間が対照群 (15% HPβCD 投与) と比較して著しく短縮した．この用量における血漿中濃度は 1515 ng/mL，脳中濃度は 2554 ng/g であり，外挿した血漿中 AUC として 11 390 ng·hr/mL に相当した.

以上の結果より，ズラノロンはオープンフィールドアッセイでは自発運動を低下させ，ロータロッドアッセイでは運動協調性障害を引き起こしたが，これらの作用が認められた用量は，抗痙攣作用，薬力学的 EEG 効果又は抗不安様作用を得るために必要な用量よりも高かった.

2.6.2.2.2.7　　ズラノロンをマウスに反復投与したときの抗痙攣作用及び運動協調性に対する影響

参考資料 4.2.1.1-45

概要表 2.6.3.2.13

ズラノロンの反復投与によるげっ歯類モデルの活動に対する影響を判定するため，ズラノロ

ンを雄性 CD-1 マウス (各群 12～16 例) に単回投与及び反復投与し，抗痙攣作用及び運動協調性に対する影響を検討した．

ズラノロンを単回 (10 mg/kg) 及び反復経口投与 (1 日 2 回 10 mg/kg，8 日間) したところ，対照群 (15% Capitsol 投与) と比較し，PTZ の静脈内投与による強直性痙攣の発現が完全に予防され，ミオクローヌス性痙攣の発現までの時間が著しく遅延した．ミオクローヌス性痙攣の発現までの時間は，ズラノロンの単回投与で 50.0 秒，反復投与で 49.3 秒と同様であり，抗痙攣作用は反復投与の影響を受けないことが示された．ズラノロンの単回投与により，対照群と比較してロータロッドから落下するまでの時間が著しく短縮し，運動協調性の障害が示された．ズラノロンの反復投与 (1 日 2 回，7 日間) では，このような運動協調性の障害が軽減され，マウスではズラノロンを単回投与したとき (5.8 秒) よりも有意に長くロータロッドに留まることができ (41.2 秒)，この作用に対する忍容性の改善が示唆された．ズラノロン 10 mg/kg 単回投与後の血漿中濃度は 545 ng/mL であり，反復投与後の血漿中濃度は 807 ng/mL であった．この用量は，外挿した血漿中 AUC として 4279 ng·hr/mL に相当する．

以上の結果より，ズラノロン (10 mg/kg，経口投与) は抗痙攣作用を維持していたが，反復投与後には鎮静 (運動協調性障害) 作用に対する忍容性の改善が認められた．

2.6.2.2.2.8 ズラノロンをストレス誘発性うつモデルマウスに反復投与したときの抗うつ作用

評価資料 4.2.1.1-46

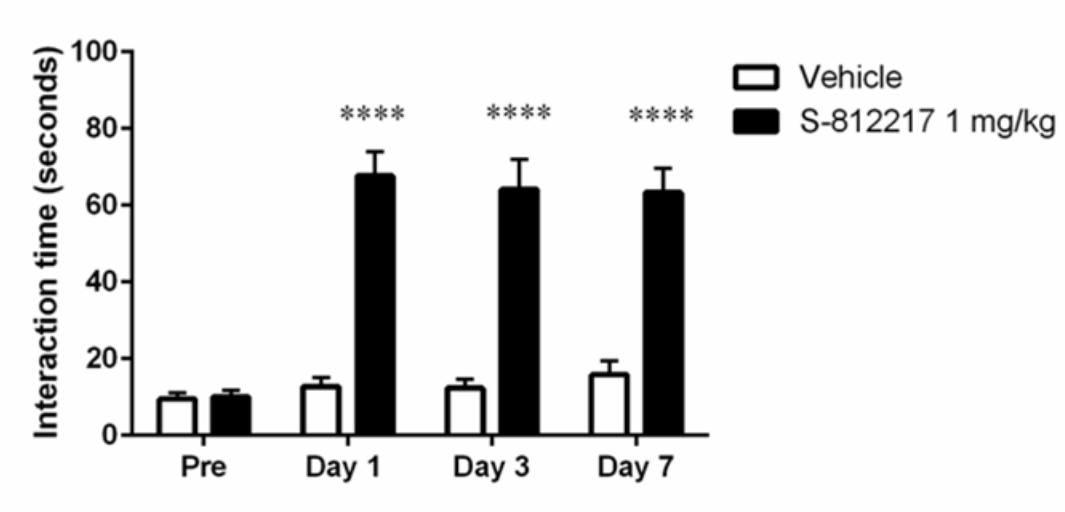
参考資料 4.2.1.1-47，4.2.1.1-48

概要表 2.6.3.2.14

ズラノロンの反復投与による抗うつ作用を評価するため，ズラノロンを社会的敗北ストレス誘発うつ病モデルマウス (雄性 C57BL/6J Jcl マウス 各群 23～24 例) に反復投与し，社会性行動 (雄性 CD-1 マウスとの接触時間) に対する影響を検討した．社会的敗北ストレスとは，体格の優位な他個体からの度重なる身体的攻撃を受けることで複数のうつ様症状が発症するストレスであり，いじめや理不尽な扱いを受けるなどのヒトの社会的なストレスの側面を模していると想定され，ストレスに関連したげっ歯類のうつ病モデルとして広く利用されている．本モデルを用いた社会性行動評価系は，既存の抗うつ薬において抗うつ様作用発現までに数週間を要するというプロファイルを有し，臨床での抗うつ作用発現までの時間とも相関するものと考えられる [28-30]．ズラノロンの投与量として，自発運動量の変化を基に $GABA_A$ 受容体機能増強作用を介した鎮静がみられない 1 mg/kg を選択した (4.2.1.1-47 及び 4.2.1.1-48)．この 1 mg/kg 投与 30 分後の血漿中濃度は 210 ng/mL であった (4.2.1.1-48)．

ズラノロンを 1 mg/kg,で 1 日 1 回 7 日間反復腹腔内投与したところ (4.2.1.1-46), 対照群 (15% HPβCD 投与) と比較し，投与 1 日目から他のマウスとの接触時間が統計学的に有意に延長し，その後投与 3 及び 7 日目でも同様の結果であった (図 2.6.2-6). 抗うつ様作用の指標となる社会性行動がズラノロンの投与 1 日目から認められたことより，ズラノロンの $GABA_A$ 受容体機能増強作用を介した抗うつ作用は即効性を示すものと考えられた．

図 2.6.2-6 ストレス誘発性うつモデルマウスにおけるズラノロンの抗うつ作用



Bars and error indicate mean and standard error of the mean.
**** $p < 0.0001$: difference between S-812217 and vehicle (15% HPβCD) at each point
S-812217 はズラノロンの別名である.

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 受容体結合性及び機能的選択性

評価資料 4.2.1.2-01，4.2.1.2-02
参考資料 4.2.1.2-03，4.2.1.2-04
概要表 2.6.3.3.1

ズラノロン (10 µmol/L) の受容体選択性について，78 種の標的分子 (受容体/核内受容体：72 種，トランスポーター：4 種，酵素：2 種) に対する結合評価並びに機能評価のパネルアッセイを実施した (4.2.1.2-01 及び 4.2.1.2-02)．ベースラインから 50%以上の変化が引き起こされた場合に，著しい効果があったとみなした．ズラノロンは GABA によって活性化されるクロライドイオンチャネル $GABA_A$ 受容体 (ピクロトキシンの 99%～100%の置換) 及びシグマ受容体 (ハロペリドールの 87%～89%の置換) に対して結合活性を示した．TRPV1 に対して，アゴニスト作用 (4.8 nmol/L カプサイシン 100%とした場合の 32%～37%) が認められた，TRPV1 に対するズラノロンの濃度反応性を追加評価した (4.2.1.2-03)．その結果，TRPV1 に対する見かけの機能的アンタゴニスト活性を示した (IC_{50}：12 µmol/L [4915 ng/mL])．ズラノロンはグリシン受容体に対する効果を示した (ストリキニーネの 57%の置換；4.2.1.2-01)．

また，依存性薬物の標的として一般的に知られている 15 種の受容体に対するズラノロン (10 µmol/L [4096 ng/mL]) の作用を評価した (4.2.1.2-04)．その結果，ズラノロンはシグマ 2 受容体においてのみ結合活性を示した (ハロペリドールの 85%の置換)．

2.6.2.3.2 核内ホルモン受容体機能パネル

評価資料 4.2.1.2-05
概要表 2.6.3.3.1

外因的に発現させた核内ホルモン受容体のルシフェラーゼレポーターコンストラクトのプロモータへの結合に関するズラノロン (0.4，2 及び 10 µmol/L) の促進効果 (アゴニスト活性) あるいは抑制効果 (アンタゴニスト/インバースアゴニスト活性) を検証するため，22 種の受容体に対するルシフェラーゼレポーター評価を実施した．ズラノロン (10 µmol/L [4096 ng/mL]) はプレグナン X 受容体に対してのみ僅かな活性化 (2.3 倍) を示した．また，いずれの受容体においてもベースラインに対して 50%以上の阻害を示さなかった．

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 中枢神経系

2.6.2.4.1.1 ラットの中枢神経系に対する作用

評価資料 4.2.1.3-01
概要表 2.6.3.4

Good Laboratory Practice (GLP) 適用下で，雄性ラットにおけるズラノロンの一般状態及び神経行動学的機能への影響を，一般状態観察及び機能観察総合評価法 (FOB 法) により評価した．ズラノロンを 0 (溶媒: 100% Labrasol®)，3，10 又は 22.5 mg/kg の用量で各群 10 例の雄性ラットに単回経口投与し，投与前，投与 4，8 及び 24 時間後に評価を実施した．

ズラノロンによる死亡例は認められなかったが，ズラノロンの $GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用による鎮静に関連したと考えられる変化が各評価において認められた．

一般状態観察において，22.5 mg/kg 投与群では，自発運動の低下，運動失調，接触及び/又は音に対する反応の亢進，並びに正向反射の消失が認められた．正向反射の消失は，10 mg/kg 投与群の 10 例中 1 例においても認められた．3 mg/kg 投与群では一般状態への影響は認められなかった．

FOB では，22.5 mg/kg 投与群において，投与後 4 及び 8 時間に覚醒レベルの低下，後肢の開脚幅の増加，熱刺激に対する反応潜時の増加 (痛覚反応の低下)，閉眼，姿勢異常，歩行異常，自発運動の低下及び正向反射の消失が認められた．3 及び/又は 10 mg/kg 投与群においても，10 例中 1 例ではあるが，投与後 4 又は 8 時間に軽度な歩行異常，閉眼及び/又は正向反射の消失が認められた．いずれの投与群でも，投与 24 時間後にズラノロンに関連した影響は認められず，ズラノロンの投与に起因した神経行動学的機能への影響には回復性が認められた．

結論として，ズラノロンのラットへの単回経口投与により，3 mg/kg 以上の用量で本薬の $GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用に関連したと考えられる一般状態及び神経行動学的機能への影響が一過性に認められ，本薬の中枢神経系に対する無影響量は 3 mg/kg 未満と考えられた．

2.6.2.4.2 心血管系

2.6.2.4.2.1 心筋イオンチャネルに対するズラノロンの作用

参考資料 4.2.1.3-02

概要表 2.6.3.4

GLP 非適用下での探索試験において，一連の心筋イオンチャネル (Nav1.5，hERG，KCNQ1/minK，Cav1.2，Kv4.3/KChIP2.2，Kv1.5，Kir2.1 及び HCN2) を発現させたヒト胎児腎臓 (HEK) 細胞 (hERG チャネル) 又はチャイニーズハムスター卵巣細胞 (それ以外の心筋イオンチャネル) にズラノロンを適用し，オートパッチクランプシステムを用いたホールセルパッチクランプ法により，室温条件下で 50%阻害濃度 (IC_{50}) を指標に評価した．ズラノロンは，いずれの心筋イオンチャネル電流に対しても 30 µmol/L (12 287 ng/mL) の濃度まで適用前値に対して 50%を超える電流抑制を示さなかった．

2.6.2.4.2.2 hERG 導入細胞におけるカリウム電流に対する作用

評価資料 4.2.1.3-03

概要表 2.6.3.4

GLP 適用下で, hERG チャネルを安定発現させたヒト胎児腎臓 (HEK) 細胞にズラノロンを適用し，マニュアルパッチクランプシステムを用いたホールセルパッチクランプ法により，遅延整流カリウム電流 (hERG 電流) に及ぼす影響を 35.2℃～36.1℃の温度条件で評価し，適用前値に対する抑制率を算出した．ズラノロンはジメチルスルホキシドに溶解させ，0.1，0.3，1 又は 3 µmol/L の濃度で評価した．陰性対照物質として媒体 (0.3% ジメチルスルホキシド), 陽性対照物質としてシサプリド (0.1 µmol/L) を適用した．ズラノロンは, 1 及び 3 µmol/L の濃度で hERG 電流の濃度依存的な抑制を惹起し，3 µmol/L の濃度において 23%の阻害率に達した．0.1 及び 0.3 µmol/L の濃度では hERG 電流への抑制は認められなかった．陰性対照物質は hERG 電流抑制を示さず，陽性対照物質 (0.1 µmol/L シサプリド) は 83%の hERG 電流抑制率を示した．以上の結果から，ズラノロンの IC_{50} は 3 µmol/L (1229 ng/mL) を超える濃度と推定された．

2.6.2.4.2.3 無麻酔イヌの血圧，心拍数及び心電図に対する作用

評価資料 4.2.1.3-04

概要表 2.6.3.4

GLP 適用下で，ズラノロンの一般状態，体温及び心血管系に対する影響 (血圧，心拍数及び心電図 : PR 間隔，QRS 時間，QT 間隔及び補正 QT 間隔 [QTc]) を，雄性ビーグルイヌ (4 例) にラテン方格法により 0 (溶媒: 30% HPβCD)，0.4，1 又は 2.5 mg/kg の用量で単回経口投与し，テレメトリー法を用いて覚醒非拘束下で投与後 24 時間まで評価した．各投与間には 7 日間の休薬期間を設けた．

0.4 mg/kg の用量では一般状態への影響は認められなかった．1 及び 2.5 mg/kg の用量では，旋

回行動，自発運動の低下，半眼又は閉眼，側臥位，運動失調，流涎，浅呼吸/頻呼吸及び振戦が投与後 30 分から投与後 8 時間の間に認められた．1 mg/kg の用量では投与後 8 時間には一般状態への影響は認められなかったが，2.5 mg/kg の用量では投与後 8 時間においても自発運動の低下，運動失調及び振戦が認められた．いずれの一般状態の変化もズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静に関連した変化と考えられ，投与後 24 時間以内に消失した．2.5 mg/kg の用量では他に，投与後 2～16 時間に最大 3℃の体温低下が認められた．重度の低体温による状態悪化を避けるため，投与後約 6～18 時間にイヌを加熱ランプ下で保温した．

1 及び 2.5 mg/kg の用量では，心血管パラメータへの影響が認められた．これらの用量では，投与後 5 時間までに収縮期血圧及び平均血圧の低下が認められ，溶媒投与時の同一時間帯に対する変化量は最大で約 15%であった．ただし，この時間帯の血圧低下には顕著な個体差が認められ，明らかな用量依存性も認められなかった．1 及び 2.5 m/kg の用量では，投与後 6～18 時間に拡張期血圧及び平均動脈圧の軽度な上昇が認められ，それらに伴う心拍数増加が，1 mg/kg の用量では投与後 4～8 時間に，2.5 mg/kg の用量では投与後 6～18 時間に認められた．2.5 mg/kg の用量での血圧の上昇及び心拍数増加は，1 例で認められた変化に主に起因していた．これらの反応が認められた時間帯は，鎮静/麻酔状態からの回復の開始時点と一致していると考えられた．同個体で認められた一過性の心拍数増加を除き，全ての個体の心拍数は試験期間を通じて生理的変動の範囲内であった．

2.5 mg/kg の用量では，投与後 6 時間を超えた時点で，RR 間隔，PR 間隔及び QT 間隔の短縮が認められたが，心拍数増加による二次的影響と考えられた．いずれの用量でも心拍数及び体温で補正した QT 間隔 (QTc) に対するズラノロンの影響は認められなかった．QTc，PR 間隔及び QRS 時間に対してズラノロンの直接的な影響が認められなかったことは，hERG チャネルに対する阻害能が低く (IC_{50} = > 3 μmol/L)，30 μmol/L の濃度までその他の心筋イオンチャネルに対する阻害が認められなかったことと一致している．また，いずれの用量においてもズラノロンに起因した不整脈は認められなかった．

結論として，ズラノロンのイヌへの単回経口投与により，高用量の 2.5 mg/kg の用量まで QTc に影響を及ぼさなかったが，1 mg/kg 以上の用量で本薬の $GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用に関連したと考えられる用量依存的な血圧低下や鎮静/麻酔様症状からの回復によると考えられる心拍数増加及び二次的な心電図パラメータへの影響，2.5 mg/kg の用量では体温低下が認められ，本薬の心血管系に対する無影響量は 0.4 mg/kg と判断した．

2.6.2.4.3 呼吸系

2.6.2.4.3.1 ラットの呼吸系に対する作用

評価資料 4.2.1.3-05
概要表 2.6.3.4

GLP 適用下で，ズラノロンを各群 8 例の雄性ラットに 0 (溶媒: 100% Labrasol®)，3，10 又は 22.5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの一般状態及び呼吸系 (呼吸数，1 回換気量及び分時換気量) に対する作用を，全身プレチスモグラフィにより投与後 24 時間まで評価した．

ズラノロンによる死亡例は認められなかった．10 及び 22.5 mg/kg 投与群では，自発運動の低下，運動失調，側臥位，平伏姿勢，眼周囲の赤色物質，半眼又は閉眼が認められた．いずれもズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静に関連した変化と考えられた．3 mg/kg 投与群では一般状態への影響は認められなかった．

呼吸系への影響として，22.5 mg/kg 投与群の投与後 2.5～16 時間に呼吸数の軽度な減少が認められた (概ね対照群比 10%未満)．3 mg/kg 以上の投与群において，投与後 2～12 時間に 1 回換気量の用量依存的な増加 (概ね対照群比 20%未満)，投与後 0～8 時間に分時換気量の用量依存性を伴わない軽度な増加 (対照群比 10%未満) が認められた．これらの影響は血漿中薬物濃度が最大となる投与 4 時間後に最大となり，投与後 9～17 時間以内に回復した．これらの本薬の薬理作用を介したと考えられる呼吸抑制作用及びその関連変化はいずれも軽微であり，毒性ではないと判断した．

結論として，雄性ラットにズラノロンを経口投与したところ，3 mg/kg 以上の用量で本薬の $GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用によると考えられる軽微かつ可逆的な呼吸系への影響が認められた．本薬の呼吸系への無影響量は 3 mg/kg 未満と考えられたが，最高用量の 22.5 mg/kg まで毒性学的に意義のある影響は認められなかった．

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

$GABA_A$ 受容体には複数のモジュレーター結合部位が存在しているため，異なるクラスの GABA 作動薬間における薬力学的薬物相互作用の可能性が報告されている [31-40]．このため，ズラノロンと他の GABA 受容体モジュレーター (ジアゼパム，プロポフォール又はペントバルビタール) との薬力学的薬物相互作用を検討した．

2.6.2.5.1 In Vitro におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターによるアロステリックモジュレーション作用

評価資料 4.2.1.1-06，4.2.1.1-07，4.2.1.4-01～4.2.1.4-05
概要表 2.6.3.5.1

ズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターとの薬力学的薬物相互作用の可能性について，ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体発現 Ltk 細胞又は CHO 細胞を用いて，GABA の存在下でズラノロンとジアゼパム (4.2.1.4-01 及び 4.2.1.4-02)，ペントバルビタール (4.2.1.4-03) 及びプロポフォール (4.2.1.4-04，4.2.1.4-05) を併用したときの影響についてホールセルパッチクランプ法にて検討した．全ての試験において，単一濃度の他の $GABA_A$ 受容体モジュレーター及び 2 μmol/L GABA の存在下で，ズラノロンを 4 段階の対数濃度 (0.01～10 μmol/L) で適用した．これらの試験及びズラノロンのみを用いた代表的な比較可能な試験から得られたデータを表 2.6.2-2 及び表 2.6.2-3 に示す．

ズラノロンは代表的なシナプス直下 ($\alpha_1\beta_2\gamma_2$) 及びシナプス領域外 ($\alpha_4\beta_3\delta$) の $GABA_A$ 受容体を正の方向に調節することが確認された．また，$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体ではズラノロンとベンゾジアゼピン系薬剤のジアゼパムの間に正の薬力学的相互作用の可能性 (EC_{50} の低下及び/又は E_{max} の増

加) が示されたが，$\alpha_4\beta_3\delta$ 受容体では認められず，このサブユニット構成にはベンゾジアゼピン結合部位がないことと一致していた．$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体におけるこの相互作用は相乗的であると判断され，これはズラノロンとジアゼパムが $GABA_A$ 受容体の別々の部位に結合するためと考えられた [7]．さらに，これらのデータから，いずれの受容体サブタイプにおいてもズラノロンとペントバルビタールとの間には正の薬力学的相互作用が，ズラノロンとプロポフォールとの間には負の薬力学的相互作用の可能性 (EC_{50} の増加及び/又は E_{max} の低下) があることも示唆された．

表 2.6.2-2 GABA 存在下でのヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ GABAA 受容体におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターとの併用による影響

Treatment	Lot Number	EC_{50} (nmol/L)	E_{max} (%)	Location in CTD
Zuranolone	SGE-797-01-A	1011	587	4.2.1.1-07
Zuranolone	SGE-797-08-A	294	694	4.2.1.1-07
Zuranolone + 0.1 µmol/L Diazepam	SGE-797-01-A	112	1162	4.2.1.4-01
Zuranolone + 300 µmol/L Pentobarbital	SGE-797-08-A	465	1407	4.2.1.4-03
Zuranolone + 0.1 µmol/L Propofol	SGE-797-02-A	920	317	4.2.1.4-04

EC_{50} = half maximal effective concentration; E_{max} = maximum potentiation
SGE-797 はズラノロンの別名である．

表 2.6.2-3 GABA 存在下でのヒト $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターとの併用による影響

Treatment	Lot Number	EC_{50} (nmol/L)	E_{max} (%)	Location in CTD
Zuranolone	SGE-797-01-A	140	226	4.2.1.1-06
Zuranolone	SGE-797-02-A	236	665	4.2.1.1-06
Zuranolone	SGE-797-04-A	737	661	4.2.1.1-06
Zuranolone	SGE-797-05-A	168	609	4.2.1.1-06
Zuranolone	SGE-797-06-A	254	643	4.2.1.1-06
Zuranolone	SGE-797-08-A	543	686	4.2.1.1-06
Zuranolone + 0.1 µmol/L Diazepam	SGE-797-02-A	199	262	4.2.1.4-02
Zuranolone + 300 µmol/L Pentobarbital	SGE-797-08-A	605	1055	4.2.1.4-03
Zuranolone + 3 µmol/L Propofol	SGE-797-02-A	1385	636	4.2.1.4-05

EC_{50} = half maximal effective concentration; E_{max} = maximum potentiation
SGE-797 はズラノロンの別名である．

2.6.2.5.2 In vitro におけるズラノロンと他の $GABA_A$ 受容体モジュレーターによる直接開口作用

参考資料 4.2.1.4-06

概要表 2.6.3.5.1

ズラノロンはヒト $GABA_A$ 受容体を直接開口する可能性があるが，この直接開口作用が認め

られた濃度は高く，生じた電流の振幅も 2 μmol/L の GABA 濃度によって生じた電流と比較して小さかった (2.6.2.2.1.2 項参照). ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体発現 Ltk 細胞のホールセルパッチクランプ法により，GABA の非存在下でズラノロンとジアゼパムあるいはペントバルビタールとの併用による影響について検討した (4.2.1.4-06). ズラノロン (10 μmol/L) をジアゼパム (0.1 μmol/L) の存在下で適用したところ，電流の振幅が平均して 34% (n = 3) 増加した．ズラノロン (10 μmol/L) をペントバルビタール (300 μmol/L) の存在下で適用したところ，電流の振幅が平均して 120% (n = 3) 増加した. これらの結果より, ズラノロンはヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 受容体に対し, GABA の非存在下でジアゼパム及びペントバルビタールの両方と正の薬力学的相互作用を引き起こす可能性が示された.

2.6.2.5.3 GABA 拮抗薬誘発痙攣発作のマウスモデルにおけるズラノロンとジアゼパムの正の相互作用

参考資料 4.2.1.4-07
概要表 2.6.3.5.2

ジアゼパムは in vitro でズラノロンと正の薬力学的薬物相互作用を示すことから，PTZ 誘発痙攣のマウスモデルにおいてズラノロン (0.1，0.3 又は 1 mg/kg，IP) とジアゼパム (0.1 mg/kg，IP) を併用投与したときの影響を検討した (4.2.1.4-07). ズラノロンを単独で腹腔内投与したとき，強直性痙攣の発現までの時間の延長に関する MED は 0.3 mg/kg であり，この用量におけるズラノロンの血漿中濃度は 82 ng/mL，脳中濃度は 83 ng/g であった.

ズラノロン 0.1 mg/kg の単独投与又はジアゼパム 0.1 mg/kg の単独投与では，強直性痙攣の発現までの時間の著しい変化は認められなかった．しかし，ズラノロン 0.1 mg/kg とジアゼパム 0.1 mg/kg を併用投与したところ，対照群 (15% HPβCD 投与) と比較して強直性痙攣の発現までの時間が著しく延長した．ズラノロン 0.1 mg/kg をジアゼパム 0.1 mg/kg と併用投与したときの投与後 30 分におけるズラノロンの血漿中濃度は 25 ng/mL，脳中濃度は 36 ng/g であった.

この結果から，ジアゼパムとズラノロンの併用投与によって正の薬力学的薬物相互作用が生じ，ズラノロンの抗痙攣作用が増強されることが示された.

2.6.2.5.4 リチウム-ピロカルピン誘発てんかん重積状態のラットモデルにおけるズラノロンとジアゼパムの正の相互作用

参考資料 4.2.1.4-08
概要表 2.6.3.5.2

In vivo 発作モデルであるリチウム-ピロカルピン誘発 SE のラットモデルにおいても，ズラノロンとジアゼパムとの併用による影響を検討した (4.2.1.4-08). ズラノロン (0.3, 1 又は 3 mg/kg，静脈内投与) 及びジアゼパム (10 mg/kg，静脈内投与) を，SE の発現から 60 分後に投与した. この投与タイミングでは，部分的にシナプス直下の $GABA_A$ 受容体の内在化によって，発作がベンゾジアゼピン系薬物に反応を示さなくなる時点である [17, 41]. 本試験では，SE を，全ての

周波数にわたる EEG パワースペクトルにおいて持続的かつ著しい増加が認められることと定義した．ズラノロン 3 mg/kg の単独又はジアゼパムとの併用での静脈内投与は，忍容性が示されなかったため，これらの群のデータは本試験の解析には含めなかった．

SE によって，試験終了時 (SE の発現から約 6 時間後) まで，全ての周波数帯にわたり EEG パワーの異常な増加が生じた．ジアゼパム単独では EEG パワーに対する影響は認められず，これは過去の報告 [17] と一致していた．ズラノロン 0.3 又は 1 mg/kg の単独投与も，溶媒と比較して，いずれの周波数帯域でも投与後のいずれの時点でも EEG パワーの減少には至らなかった．しかし，ズラノロン 1 mg/kg とジアゼパム 10 mg/kg を併用投与すると，ズラノロン 1 mg/kg の単独投与と比較し，複数の周波数帯域における EEG パワーが著しく減少し，進行中である SE の減少が示された．ズラノロン 1 mg/kg を静脈内投与したとき，投与後 5 分に測定した血漿中濃度は 459 ng/mL であった．

本試験の結果より，この薬剤耐性 SE モデルにおいて，不活性用量のジアゼパムとズラノロンとの間に正の薬力学的薬物相互作用が示唆された．

2.6.2.6 考察及び結論

効力を裏付ける試験

脳の高次機能 (認知，記憶，感情等) は，神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動によって制御されている．うつ病の発症メカニズムは完全には解明されていないが，うつ病では神経ネットワーク活動の調節不全状態になっていると考えられている．ズラノロンの標的分子である $GABA_A$ 受容体はクロライドイオン透過型イオンチャネルであり，ヒト中枢神経系での抑制性神経伝達物質である GABA の結合によりクロライドイオンを透過させ，GABA 誘発電流を発生し神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動を制御する．ズラノロンは $GABA_A$ 受容体の PAM であり，$GABA_A$ 受容体機能増強作用を介して，うつ病態時にみられる気分，不安及び睡眠に関与する神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動の調節不全を改善し，抗うつ作用を示すと考えられる．

ズラノロンの $GABA_A$ 受容体への結合能を評価した結果，ラット大脳皮質における GABA 受容体への TBPS 結合に対するズラノロンの Ki は 3.9～6.0 nmol/L (1.6～2.5 ng/mL) であった．[^{14}C]-ズラノロンを用いて実施したヒトマスバランス試験で同定されたズラノロンの 4 種のヒト代謝物 (M117 [SGE-02369]，M125 [SGE-07672]，M135 [SGE-03632] 及び M136 [SGE-03633]) について，$GABA_A$ 受容体への結合能を評価した．ラット大脳皮質における GABA 受容体への TBPS 結合に対する M117 の Ki (140 nmol/L) は，ズラノロンと比較して 20 分の 1 以下であった．M135 及び M136 の TBPS 結合に対する Ki (それぞれ 2800 nmol/L 及び 2200 nmol/L) は，ズラノロンと比較して 360 分の 1 以下であった．M125 は 10 µmol/L までの検討したいずれの濃度においても TBPS の結合を阻害しなかった．

ヒト $GABA_A$ 受容体サブタイプにおける GABA 誘発電流に対するズラノロンの影響を in vitro にて検討した結果，ズラノロンは，評価した全てのシナプス直下及びシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体サブタイプに対し PAM として作用を示した．GABA 誘発電流に対するズラノロンの E_{max} 及び EC_{50} は，シナプス直下のヒト $GABA_A$ 受容体サブタイプ ($\alpha_1\beta_2\gamma_2$) においてそれぞれ 1041%

及び 374 nmol/L (153 ng/mL)，シナプス領域外のヒト $GABA_A$ 受容体サブタイプ ($\alpha_4\beta_3\delta$) においてはそれぞれ 639%及び 163 nmol/L (67 ng/mL) であり，ヒト $GABA_A$ 受容体においてナノモル濃度で効力を示した．ズラノロンがシナプス直下及びシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体に対して PAM として作用を示したことは，ズラノロンを含む $GABA_A$ 受容体機能増強作用を有する NAS が $GABA_A$ 受容体の αβ サブユニットに結合する報告 [8, 42-44] とも一致する．

ズラノロン (0.3～3 μmol/L ; 123～1229 ng/mL) は，ラットの代表的な 2 種類の脳領域 (歯状回顆粒細胞及び小脳顆粒細胞) 由来の神経細胞において一過性 (シナプス直下の γ サブユニットを含む $GABA_A$ 受容体が担う応答) 及び持続性 (シナプス領域外の δ サブユニットを含む $GABA_A$ 受容体が担う応答) の GABA 誘発電流を増強した．ズラノロン及び $GABA_A$ 受容体機能増強作用を有する他の NAS は，シナプス領域外の $GABA_A$ 受容体に作用し持続性 GABA 誘発電流を増強させる．一方，γ サブユニットを含む $GABA_A$ 受容体に結合するベンゾジアゼピン系薬物は，γ サブユニットを含まないシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体に結合できず，持続性 GABA 誘発電流に対する作用は限定的である [45]．また，ズラノロン (1 μmol/L ; 410 ng/mL) は，げっ歯類の神経細胞において一過性並びに持続性 GABA 誘発電流を増加し，ズラノロンを washout 後においてもその作用は持続したことから，細胞膜上での $GABA_A$ 受容体の発現量増加が示唆された．この結果は，$GABA_A$ 受容体機能増強作用を有する NAS が，細胞膜上での $GABA_A$ 受容体の発現を増加させ，GABA 誘発電流を増強するという報告 [1, 2] と一致する．一方，ベンゾジアゼピン系薬物では，細胞膜上での $GABA_A$ 受容体の発現を減少させることが報告されており [46, 47]，ズラノロンを含む $GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS との $GABA_A$ 受容体に対する PAM としての作用の違いの一因と考えられる．

In vivo 薬理試験において，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体機能増強作用を介した抗うつ様作用，並びに濃度依存的な抗痙攣作用，抗不安様作用及び鎮静作用を示した．ストレス誘発性うつモデルマウスにおいて，ズラノロンは投与 1 日目から抗うつ様作用を示し，その効果は 1 日 1 回の反復投与を継続した 7 日間において，投与 1, 3, 7 日目で認められた．この結果は，$GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つアロプレグラノロンをストレス誘発性うつモデルマウスに投与したときに，投与 1 日目から抗うつ様作用を示した報告 [30] とも一致する．また，本モデルにおいて，既存の抗うつ薬は数週間の反復投与後に抗うつ様作用を示す[28-30]ことから，ズラノロン及びアロプレグラノロンは即効性の抗うつ作用を有すると考えられる．GABA 拮抗薬誘発痙攣発作モデルマウスにおいて，ズラノロンは 74 ng/mL 以上の血漿中濃度で抗痙攣作用を示した．EPM 試験及び Voegel コンフリクト試験によるげっ歯類の不安様行動に対し，ズラノロンは 206～352 ng/mL の血漿中濃度で抗不安様作用を示した．ロータロッド試験による運動協調性に対する影響では，ズラノロンは 1515 ng/mL を超える血漿中濃度で運動協調性障害が観察され，鎮静作用を示した．オープンフィールド試験による自発運動量に対する影響では，ズラノロンは 1508 ng/mL を超える血漿中濃度で自発運動量の低下が観察され，鎮静作用を示した．また，ズラノロンは，ベンゾジアゼピン系薬物に感受性を示さない口腔ジスキネジア及び難治性 SE のモデルラットにおいても抗ジスキネジア作用及び抗痙攣作用を示した．

ラット EEG パワースペクトラム解析において，ズラノロンは β 波帯域及び θ 波帯域の EEG パワーに対して増強作用を示し，この作用は 245 ng/mL 以上の血漿中濃度で観察された．β 波帯

域での EEG パワーの増強作用は，$GABA_A$ 受容体 PAM のバイオマーカーとして知られており [18-21]，$GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS は，β 波帯域の EEG パワーをベンゾジアゼピン系薬物よりも最大で 2～3 倍増強させることができる．薬物動態/薬力学解析から，$GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS 濃度と EEG パワーの増強との関連性は二相性 (濃度依存的な EEG パワーの増強作用及び高濃度における EEG パワーの減衰) であり，ベンゾジアゼピン系薬物の単相性の関連性とは明らかに異なることが示されている [19-21]．また，ズラノロンは θ 波帯域の EEG パワーに対し増強作用を示した．$GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用を持つ NAS は，θ 波帯域の EEG パワーを増強させることが報告されており，この作用はベンゾジアゼピン系薬物の作用とは異なるため，シナプス領域外の $GABA_A$ 受容体の調節と関連しているものと考えられる [22, 30, 48, 49].

NAS の抗うつ作用メカニズム仮説として，扁桃体基底外側部 (BLA) におけるシナプス領域外の δ サブユニット含有 $GABA_A$ 受容体の機能増強及び BLA の θ 活動増強の寄与が報告されている [22, 30, 50, 51]．ストレス誘発うつ病モデルマウスにおいて，$GABA_A$ 受容体に対する PAM である NAS (SGE-516 及びアロプレグナノロン) を投与すると，BLA の θ 活動増強及び抗うつ様作用が認められた．この BLA の θ 活動増強及び抗うつ様作用は，シナプス領域外の δ サブユニットを欠損させたマウスでは認められなかった．一方，ベンゾジアゼピン系薬剤であるジアゼパムの投与では，BLA の θ 活動増強は認められず，抗うつ様作用も認められなかった．BLA の β 活動については，SGE-516 やアロプレグナノロン及びジアゼパムによる増強が認められた．以上より，ズラノロンを含む $GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS は，BLA のシナプス領域外の δ サブユニット含有 $GABA_A$ 受容体の機能増強及び BLA の θ 活動増強を惹起し，BLA を含む協調的な神経ネットワーク活動の調節不全を改善することで抗うつ作用を示すと考えられる．

さらに複数の $GABA_A$ 受容体機能増強作用を有する NAS の作用機序について，臨床試験における治療効果と紐づけるため，Sage 社は健康志願者を対象に臨床開発しているズラノロン及びブレキサノロン注射剤 (ZULRESSO®，アロプレグナノロン製剤) を用いた複数の EEG 試験を実施してきた．これまでに実施した全ての臨床 EEG 試験において，$GABA_A$ 受容体機能増強作用を持つ NAS の投与後に θ 波及び β 波帯域における EEG パワーの増強が濃度依存的に認められている [51]．非臨床試験結果と併せて，θ 波及び β 波帯域の EEG パワーの増強は，それぞれシナプス領域外及びシナプス直下の $GABA_A$ 受容体機能的増強作用に関係することが示唆された．

以上の結果より，ズラノロンはシナプス直下及びシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体機能増強作用により，神経の興奮/抑制の均衡及び協調的な神経ネットワーク活動の調節不全を改善することで，即効性の抗うつ作用を示すと考えられる．

副次的薬理試験

$GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの選択性は，in vitro リガンド結合及び機能の探索的パネルアッセイにおいて無血清条件下で確認した．ズラノロン (10 μmol/L；4096 ng/mL) は GABA 作動性クロライドチャネル ($GABA_A$ 受容体) に対して強力な結合活性 (リガンド置換率は 99%～100%) を示し，ラット大脳皮質における TBPS の $GABA_A$ 受容体への結合に対する作用 (100%

の阻害 ; Ki: 3.9～6.0 nmol/L [1.6～2.5 ng/mL]) と一致していた．$GABA_A$ 受容体に加えて，ズラノロンはシグマ受容体に対して結合活性を示し (10 µmol/L [4096 ng/mL] でのリガンド置換率は 87%～89%)，グリシン受容体への結合も認められた (10 µmol/L [4096 ng/mL] でのリガンド置換率は 57%). ズラノロンは, TRPV1 において機能的アンタゴニスト活性を示し (IC_{50} は 12 µmol/L [4915 ng/mL])，プレグナン X 受容体においてはアゴニスト活性を示した (10 µmol/L [4096 ng/mL] で 2.3 倍の作動活性)．この結果より，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体に対し高い選択性が確認された．

$GABA_A$ 受容体を除くこれらの受容体で影響がみられた濃度 (10~12 µmol/L [4096~4915 ng/mL]) は，ズラノロンの申請用法用量での定常状態のときの非結合型の最高血漿中濃度 C_{max}(0.3360 ng/mL, 母集団薬物動態解析の C_{max} : 67.2 ng/mL [中央値], タンパク結合率: 99.5%より算出) に対して 12 200～14 600 倍であるため, 臨床においてこれらの受容体を介したオフターゲット作用の可能性は低いと考えられる．

安全性薬理試験

安全性薬理コアバッテリー試験として，ズラノロンの中枢神経系，心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を検討した．安全性薬理コアバッテリー試験の概要及び血漿中曝露量と申請用法用量における血漿中曝露量との比を表 2.6.2-4 に示す．

表 2.6.2-4　安全性薬理コアバッテリー試験の結果及び血漿中曝露量と申請用法用量における血漿中曝露量との比

試験種	投与量/適用濃度	特筆すべき所見	無影響量における血漿中曝露 (C_{max})	ヒト血漿中曝露との比
ラット中枢神経系	3, 10, 22.5 mg/kg	≥3 mg/kg: 軽度な歩行異常，閉眼及び/又は正向反射の消失 22.5 mg/kg: 覚醒レベルの低下，後肢の開脚幅の増加，熱刺激に対する反応潜時の増加 (痛覚反応の低下)，姿勢異常，自発運動の低下	< 40.6 ng/mL[a]	< 0.60
hERG アッセイ	0.1, 0.3, 1, 3 µmol/L	IC_{50} = > 3 µmol/L (1229 ng/mL)	-	> 3660
イヌ心血管系	0.4, 1, 2.5 mg/kg	≥1 mg/kg: 収縮期血圧低下，平均血圧低下 (投与後 5 時間まで) 2.5 mg/kg: 体温低下 (最大 3℃，投与後 2-16 時間)	102 ng/mL (無影響量: 0.4 mg/kg)[b]	1.52
ラット呼吸系	3, 10, 22.5 mg/kg	≥3 mg/kg: 1 回換気量増加 (概ね対照群比 20%未満)，分時換気量増加 (対照群比 10%未満) 22.5 mg/kg: 呼吸数減少 (概ね対照群比 10%未満)	< 40.6 ng/mL[a]	< 0.60

ヒト血漿中曝露は，母集団薬物動態解析による患者集団での C_{max}: 67.2 ng/mL (中央値) を基に計算 (2.7.2.3.3 項参照)，ただし，hERG アッセイについては非結合型濃度: 0.3360 ng/mL (タンパク結合率: 99.5%)で計算
a 無影響量は求められず，ラット 2 週間反復投与毒性試験時の 3 mg/kg 投与群の 1 日目の C_{max}
b イヌ 2 週間反復投与毒性試験時の 0.4 mg/kg 投与群の 1 日目の C_{max}

GLP 非適用下で実施した心筋イオンチャネル試験において，ズラノロンは 30 μmol/L (12 287 ng/mL) の濃度まで, いずれの心筋イオンチャネル (Nav1.5, hERG, KCNQ1/minK, Cav1.2, Kv4.3/KChIP2.2，Kv1.5，Kir2.1 及び HCN2) に対しても 50%を超える阻害を示さなかった．GLP 適用 hERG アッセイにおいて，ズラノロンは，1 及び 3 μmol/L の濃度で hERG チャネルを介したカリウム電流の濃度依存的な阻害を引き起こし，3 μmol/L の濃度において約 23%の阻害率に達した．しかしながら，ズラノロンの hERG 電流に対する IC_{50} は 3 μmol/L (1229 ng/mL) を超える濃度であり，申請用法用量での定常状態のときの非結合型 C_{max} (母集団薬物動態解析の C_{max}: 67.2 ng/mL，タンパク結合率: 99.5%から算出) に対し約 3660 倍の乖離があった．また，GLP 適用下で実施したイヌにおける心血管系試験では，最高用量である 2.5 mg/kg の用量 (C_{max} として 674 ng/mL に相当) まで, いずれの心電図波形にもズラノロン投与による直接的な影響は認められなかった．これらの in vitro 及び in vivo 試験結果から，治療曝露量でヒトにおいて QTc 延長やその他の心電図パラメータ異常並びに不整脈が生じるリスクは低いと考えられた．

GLP 適用のラットにおける中枢神経系試験及び呼吸系試験，並びにイヌ心血管系試験において，ラットでは 3 mg/kg 以上 (C_{max}: 40.6 ng/mL 以上)，イヌでは 1 mg/kg 以上 (C_{max}: 266 ng/mL 以上) のズラノロンの投与により，$GABA_A$ 受容体を介した薬理作用に関連したと考えられる中枢神経系，呼吸系及び心血管系への影響が認められたが，オフターゲットによると考えられる影響は認められなかった．ズラノロンは $GABA_A$ 受容体への選択性が高く，治療曝露量でオフターゲットによる副作用が生じるリスクは低いと考えられた．

オンターゲット作用に関して，ズラノロンの薬理作用に関連して認められた鎮静や関連する一般状態の変化及び体温低下は，一般毒性試験においても認められているため，考察は 2.6.6.9 項に示す．本項ではイヌ心血管系試験及びイヌ一般毒性試験で認められた心血管系への影響 (血圧低下，心拍数増加，心拍数増加による二次的な心電図パラメータの変化 [PR 間隔，RR 間隔及び QT 間隔の短縮]) に関して考察する．

薬理作用に伴う血圧低下及び心拍数増加

イヌ心血管系試験 (投与量：0.4，1 又は 2.5 mg/kg) において，1 mg/kg 以上の用量において投与後 5 時間までに収縮期血圧及び平均血圧の低下が認められた (溶媒投与時の同一時間帯に対する最大変化量は約 15%). また, 重度の鎮静を示唆する一般状態の変化が認められた 1 及び 2.5 mg/kg の用量においては，深い鎮静/麻酔様症状からの回復に関連した可能性のある心拍数増加も認められた．

イヌ 2 週間反復投与毒性試験 (投与量：0.4，1 又は 2.5 mg/kg/日) において，1 mg/kg/日以上の雄及び 2.5 mg/kg/日投与群で投与後 2 時間に心拍数の増加 (心電図の RR 間隔の短縮) が認められ，一部のイヌでは心拍数が 190 回/分超を示した (2.6.6.3.6 項参照)．1 mg/kg/日投与群の心拍数の増加は，投与 2 日目のみ，2.5 mg/kg/日投与群の心拍数増加は投与 2 又は投与 13 日目に認められた．0.4 -mg/kg/日以上の投与群の雄及び 2.5 mg/kg/日投与群の雌において PR 間隔の短縮，2.5 mg/kg/日投与群の雄において QT 間隔の短縮がみられたが，いずれも心拍数の増加による二次的な変化と考えられた．イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験 (投与量：0.06，0.2，0.6

又は 2 mg/kg/日) では，心電図検査を投与後 1，28 及び 86 日に実施し，0.6 mg/kg/日以上の用量で投与 1 日目の投与後 2 時間に用量依存的な心拍数増加 (溶媒対照群と比較して 0.6 mg/kg/日投与群の雄で 33%増加，2 mg/kg/日投与群の雄で 43%，雌で 25%増加) 及びそれに伴う心電図パラメータの変化 (PR，RR 及び QT 間隔の短縮) が認められた (2.6.6.3.7 項参照)．心拍数増加はいずれの投与群においても反復投与により軽減し，投与後 86 日には 2 mg/kg/日投与群の雄で僅かな増加が認められるのみであった．イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験 (投与量：0.6，1.2 又は 2.5 mg/kg/日) では，いずれの用量でも，ズラノロンに関連した心拍数及び心電図パラメータへの影響は認められなかった (2.6.6.3.8 項参照).

麻酔薬やアルファキサロンなどの $GABA_A$ 受容体モジュレーターでは，ヒトで鎮静/麻酔状態において血圧低下及び血圧低下による代償性の心拍数増加が認められることが知られている [52]．また，これらの薬剤はイヌにおいても血圧低下や心拍数の一時的な増加を引き起こすことが報告されている [53-55].

一般毒性試験において血圧は測定していないが，イヌにおいて心拍数増加が認められた時間帯はイヌ心血管系試験において血圧低下が認められた時間帯と一致すること，及び，イヌ心血管系試験及びイヌ一般毒性試験で心血管系への影響が認められた用量では中等度以上の鎮静が認められたことから，イヌにおいて認められた血圧低下及び心拍数増加並びに心拍数増加による心電図パラメータへの影響はいずれもズラノロンの $GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用の過剰な発現に関連した変化であると考えられた.

イヌ心血管系試験の無影響量における曝露量 (C_{max}：102 ng/mL) 及び最小影響量の曝露量 (C_{max}：266 ng/mL) は，申請用法用量でのヒト曝露量 (C_{max}：67.2 ng/mL) と比較して 1.52 倍及び 3.96 倍であった．一般毒性試験では，心電図検査日に TK 測定をしていないため正確な曝露量は不明であるが，イヌ 2 週間及び 13 週間反復投与毒性試験において，心血管系パラメータに影響が認められた最小用量である 0.4 mg/kg/日及び 0.6 mg/kg/日投与群の投与初日又は最終投与日の曝露量 (C_{max}：102～165 ng/mL) に関しても，申請用量用法におけるヒト曝露量に近接していた．しかしながら，これまでに実施した国内臨床試験において，血圧低下，心拍数増加及び心電図パラメータの異常は認められておらず (2.7.4.2 項参照)，従って，ヒトにおいてズラノロン投与に起因した血圧低下や心拍数増加並びにその二次的変化である心電図パラメータの異常が認められる可能性は低いと考えられた.

薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用の可能性を評価するため，ズラノロンを用いた in vitro 及び in vivo 試験を実施した. In vitro でホールセルパッチクランプ法を用いて検討したところ, ズラノロンは，ジアゼパム及びペントバルビタールとは正の薬力学的薬物相互作用の可能性を示し，プロポフォールとは負の薬力学的薬物相互作用の可能性を示した．In vivo では，ズラノロンとジアゼパムを 2 種類のげっ歯類痙攣モデルに併用投与したところ，正の薬力学的薬物相互作用の可能性が認められた．217-CLP-116 臨床試験において，ベンゾジアゼピン系薬物であるアルプラゾラムをズラノロンと併用した際の神経認知機能への影響並びにズラノロン及びアルプラゾラムの体内動態への影響を検討した．その結果，ズラノロン及びアルプラゾラムの血漿中曝露は，そ

れぞれの単独時と比較して変動はなく，薬物動態学的相互作用はみられなかった．一方，神経認知機能に関しては，ズラノロン及びアルプラゾラムの併用により，それぞれの単独投与時と比べ認知機能の低下がみられ，正の薬力学的薬物相互作用と考えられた．

結論

In vitro 及び in vivo 非臨床薬理試験より，ズラノロンはシナプス直下及びシナプス領域外の $GABA_A$ 受容体に対する PAM であり，in vivo での様々なモデル評価において，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体に対する PAM 作用を介した抗うつ作用，並びに濃度依存的な抗痙攣作用，抗不安様作用及び鎮静作用を示した．さらに，ズラノロンは $GABA_A$ 受容体への選択性が高く，治療曝露量でオフターゲットによる安全性薬理学 (中枢神経系，呼吸系，心血管系) 上の副作用が生じるリスクは低いと考えられる．安全性薬理試験では，ズラノロンの薬理作用に起因した中枢神経系，呼吸系，心血管系への影響が治療曝露量付近でみられたことから，臨床使用において過度の鎮静作用に対して注意が必要と考えられる．薬力学的相互作用試験の結果より，ズラノロンは GABA 作動薬を併用する際には注意が必要であると考えられる．これらの結果を総合的に判断すると，ズラノロンはうつ病及びうつ状態の治療効果が期待できる．

2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した．

2.6.2.8 参考文献

1. Abramian AM, Comenencia-Ortiz E, Modgil A, et al. Neurosteroids promote phosphorylation and membrane insertion of extrasynaptic $GABA_A$ receptors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(19):7132-7137.
2. Modgil A, Parakala ML, Ackley MA, et al. Endogenous and synthetic neuroactive steroids evoke sustained increases in the efficacy of GABAergic inhibition via a protein kinase C-dependent mechanism. Neuropharmacology. 2017;113(A):314-322.
3. Olsen RW, Sieghart W. GABA A receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology. Neuropharmacology. 2009;56(1):141-148.
4. Haas KF, Macdonald RL. GABAA receptor subunit gamma2 and delta subtypes confer unique kinetic properties on recombinant GABAA receptor currents in mouse fibroblasts. J Physiol. 1999;514(1):27-45.
5. O'Shea SM, Wong LC, Harrison NL. Propofol increases agonist efficacy at the $GABA_A$ receptor. Brain Res. 2000;852(2):344-348.
6. Gielen MC, Lumb MJ, Smart TG. Benzodiazepines modulate GABAA receptors by regulating the preactivation step after GABA binding. J Neurosci. 2012;32(17):5707-5715.
7. Althaus AL, Ackley MA, Belfort GM, et al. Preclinical characterization of zuranolone (SAGE- 217), a selective neuroactive steroid $GABA_A$ receptor positive allosteric modulator. Neuropharmacology. 2020;181:108333.

8. Hosie AM, Wilkins ME, da Silva HM, Smart TG. Endogenous neurosteroids regulate GABAA receptors through two discrete transmembrane sites. Nature. 2006;444(7118):486-489.
9. Belelli D, Casula A, Ling A, Lambert JJ. The influence of subunit composition on the interaction of neurosteroids with $GABA_A$ receptors. Neuropharmacology. 2002;43(4):651-661.
10. Eaton MM, Bracamontes J, Shu HJ, et al. γ-aminobutyric acid type A α4, β2, and δ subunits assemble to produce more than one functionally distinct receptor type. Mol Pharmacol. 2014;86(6):647-656.
11. Farrant M, Nusser Z. Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABAA receptors. Nat Rev Neurosci. 2005;6(3):215-229.
12. Harrison NL, Majewska MD, Harrington JW, Barker JL. Structure-activity relationships for steroid interaction with the gamma-aminobutyric acidA receptor complex. J Pharmacol Exp Ther. 1987;241(1):346-353.
13. Yuskaitis CJ, Rossitto LA, Groff KJ, et al. Factors influencing the acute pentylenetetrazole- induced seizure paradigm and a literature review. Ann Clin Transl Neurol. 2021;8(7):1388-1397.
14. Hogenkamp DJ, Tran MB, Yoshimura RF, et al. Pharmacological profile of a 17β-heteroaryl- substituted neuroactive steroid. Psychopharmacology (Berl). 2014;231(17):3517-3524.
15. Hammond RS, Althaus AL, Ackley MA, et al. Anticonvulsant profile of the neuroactive steroid, SGE-516, in animal models. Epilepsy Res. 2017;134:16-25.
16. Morrisett RA, Jope RS, Snead III OC. Effects of drugs on the initiation and maintenance of status epilepticus induced by administration of pilocarpine to lithium-pretreated rats. Exp Neurol. 1987;97(1):193-200.
17. Pouliot W, Bialer M, Hen N, et al. A comparative electrographic analysis of the effect of sec- butyl-propylacetamide on pharmacoresistant status epilepticus. Neuroscience. 2013;231:145- 156.
18. Mandema JW, Danhof M. Electroencephalogram effect measures and relationships between pharmacokinetics and pharmacodynamics of centrally acting drugs. Clin Pharmacokinet. 1992;23(3):191-215.
19. Visser SA, Smulders CJ, Reijers BP, et al. Mechanism-based pharmacokinetic- pharmacodynamic modeling of concentration-dependent hysteresis and biphasic electroencephalogram effects of alphaxalone in rats. J Pharmacol Exp Ther. 2002;302(3):1158-1167.
20. Visser SA, Wolters FL, Gubbens-Stibbe JM, et al. Mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of the electroencephalogram effects of GABAA receptor modulators: in vitro-in vivo correlations. J Pharmacol Exp Ther. 2003;304(1):88-101.
21. Visser SA, Huntjens DR, van der Graaf PH, Peletier LA, Danhof M. Mechanism-based modeling of the pharmacodynamic interaction of alphaxalone and midazolam in rats. J Pharmacol Exp Ther. 2003;307(2):765-775.
22. Antonoudiou P, Colmers PLW, Walton NL, et al. Allopregnanolone mediates affective switching through modulation of oscillatory states in the basolateral amygdala. Biol Psychiatry. 2022;91(3):283-293.
23. Vogel JR, Beer B, Clody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. Psychopharmacologia. 1971;21(1):1-7.

24. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. Nat Protoc. 2007;2(2):322-328.
25. Peixoto MF, Araujo NP, Silva RH, et al. Effects of gabaergic drugs on reserpine-induced oral dyskinesia. Behav Brain Res. 2005;160(1):51-59.
26. Connelly WM, Fyson SJ, Errington AC, et al. $GABA_B$ receptors regulate extrasynaptic $GABA_A$ receptors. J Neurosci. 2013;33(9):3780-3785.
27. Tao W, Higgs MH, Spain WJ, Ransom CB. Postsynaptic $GABA_B$ receptors enhance extrasynaptic $GABA_A$ receptor function in dentate gyrus granule cells. J Neurosci. 2013;33(9):3738-3743.
28. Berton O, McClung CA, Dileone RJ, et al. EJ. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. Science. 2006; 311(5762):864-8.
29. Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. Nat Neurosci. 2006;9(4):519-25.
30. Takasu K, Yawata Y, Tashima R et.al. Distinct mechanisms of allopregnanolone and diazepam underlie neuronal oscillations and differential antidepressant effect. Front Cell Neurosci. 2024;17:1274459.
31. Richards CD, White AE. Additive and non-additive effects of mixtures of short-acting intravenous anaesthetic agents and their significance for theories of anaesthesia. Br J Pharmacol. 1981;74(1):161-170.
32. Peters JA, Kirkness EF, Callachan H, Lambert JJ, Turner AJ. Modulation of the $GABA_A$ receptor by depressant barbiturates and pregnane steroids. Br J Pharmacol. 1988;94(4):1257- 1269.
33. DeLorey TM, Kissin I, Brown P, Brown GB. Barbiturate-benzodiazepine interactions at the gamma-aminobutyric acidA receptor in rat cerebral cortical synaptoneurosomes. Anesth Analg. 1993;77(3):598-605.
34. Rosow CE. Anesthetic drug interaction: an overview. J Clin Anesth. 1997;9(6 Suppl):27S-32S.
35. Norberg L, Bäckström T, Wahlström G. Anaesthetic effects of pregnanolone in combination with allopregnanolone, thiopental, hexobarbital and flurazepam: an EEG study in the rat. Br J Anaesth. 1999;82(5):731-737.
36. Lu Y-Q, Yu R. Synergistic protection of allopregnanolone and phenobarbital against maximal electroshock seizures in mice. Acta Pharmacol Sin. 2001;22(4):361-364.
37. Borowicz KK, Łuszczki J, Czuczwar SJ. Interactions between non-barbiturate injectable anesthetics and conventional antiepileptic drugs in the maximal electroshock test in mice—an isobolographic analysis. Eur Neuropsychopharmacol. 2004;14(2):163-172.
38. McMahon LR, France CP. Differential behavioral effects of low efficacy positive $GABA_A$ modulators in combination with benzodiazepines and a neuroactive steroid in rhesus monkeys. Br J Pharmacol. 2006;147(3):260-268.
39. Akk G, Li P, Manion BD, Evers AS, Steinbach JH. Ethanol modulates the interaction of the endogenous neurosteroid allopregnanolone with the α1β2γ2L $GABA_A$ receptor. Mol Pharmacol. 2007;71(2):461-472.
40. Li P, Bracamontes JR, Manion BD, et al. The neurosteroid 5β-pregnan-3α-ol-20-one enhances actions of etomidate as a positive allosteric modulator of α1β2γ2L $GABA_A$ receptors. Br J Pharmacol.

2014;171(23):5446-5457.
41. Deeb TZ, Maguire J, Moss SJ. Possible alterations in $GABA_A$ receptor signaling that underlie benzodiazepine-resistant seizures. Epilepsia. 2012;53 Suppl 9(s9):79-88.
42. Hosie AM, Wilkins ME, Smart TG. Neurosteroid binding sites on GABAA receptors. Pharmacol Ther. 2007;116(1):7-19.
43. Hosie AM, Clarke L, da Silva H, Smart TG. Conserved site for neurosteroid modulation of GABA A receptors. Neuropharmacology. 2009;56(1):149-154.
44. Laverty D, Thomas P, Field M, et al. Crystal structures of a GABAA-receptor chimera reveal new endogenous neurosteroid-binding sites. Nat Struct Mol Biol. 2017;24(11):977-985.
45. Sigel E. Mapping of the benzodiazepine recognition site on GABAA receptors. Curr Top Med Chem. 2002;2(8):833-839.
46. Jacob TC, Michels G, Silayeva L, et al. Benzodiazepine treatment induces subtype-specific changes in $GABA_A$ receptor trafficking and decreases synaptic inhibition. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(45):18595-18600.
47. Nicholson MW, Sweeney A, Pekle E, et al. Diazepam-induced loss of inhibitory synapses mediated by PLCδ/ Ca^{2+}/calcineurin signalling downstream of $GABA_A$ receptors. Mol Psychiatry. 2018;23(9):1851-1867.
48. Gilles C, Schunck T, Erb G, et al. Human models as tools in the development of psychotropic drugs. Dialogues Clin Neurosci. 2002;4(4):377-387.
49. van Lier H, Drinkenburg WH, van Eeten YJ, Coenen AM. Effects of diazepam and zolpidem on EEG beta frequencies are behavior-specific in rats. Neuropharmacology. 2004;47(2):163-174.
50. Yawata Y, Tashima R, Aritomi H , et al. Differential effects of allopregnanolone and diazepam on social behavior through modulation of neural oscillation dynamics in basolateral amygdala and medial prefrontal cortex. Front Cell Neurosci. 2024; 18:1404603.
51. SAGE report: 神経活性ステロイド GABAA 受容体ポジティブアロステリックモジュレーターであるズラノロンによるうつ病治療の機構的根拠
52. Monagle J, Siu L, Worrell J, Goodchild CS, Serrao JM. A Phase 1c Trial comparing the efficacy and safety of a new aqueous formulation of alphaxalone with propofol. Anesth Analg. 2015;121(4):914-924.
53. Muir W, Lerche P, Wiese A, Nelson L, Pasloske K, Whittem T. Cardiorespiratory and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in dogs. Vet Anaesth Analg. 2008;35(6):451-62
54. Hall LW, Chambers JP. A clinical trial of propofol infusion anaesthesia in dogs. J Small Anim Pract. 1987;28(7):623-637.
55. Smedile LE, Duke T, Taylor SM. Excitatory movements in a dog following propofol anesthesia. J Am Anim Hosp Assoc. 1996;32(4):365-368.

ザズベイカプセル 30 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.3 薬理試験概要表 5
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 5
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 10
2.6.3.2.1 ラット $GABA_A$ 受容体への $GABA_A$ 受容体リガンド結合に対するズラノロン及び特定の代謝物の影響 10
2.6.3.2.2 ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響 11
2.6.3.2.3 サブユニット構成の異なるヒト $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響 13
2.6.3.2.4 ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体の直接開口作用に対するズラノロンの影響 15
2.6.3.2.5 げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性 GABA 誘発電流及び一過性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの急性作用 16
2.6.3.2.6 げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性 GABA 誘発電流及び一過性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの持続的増加作用 17
2.6.3.2.7 ズラノロンの抗痙攣作用 18
2.6.3.2.8 様々なモデルに対するズラノロンの抗痙攣作用 21
2.6.3.2.9 ラットの脳波パワースペクトラムに対するズラノロンの薬力学的作用 27
2.6.3.2.10 げっ歯類モデルにおけるズラノロンの抗不安様作用 28
2.6.3.2.11 ラットモデルにおけるレセルピン誘発口腔ジスキネジアに対するズラノロンの影響 30
2.6.3.2.12 マウスの自発運動量及び運動協調性に対するズラノロンの作用 31
2.6.3.2.13 ズラノロンをマウスに反復投与したときの抗痙攣作用及び運動協調性に対する影響 34
2.6.3.2.14 ストレス誘発性うつモデルマウスにおけるズラノロンの抗うつ作用 36
2.6.3.3 副次的薬理試験 38
2.6.3.3.1 各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーター結合並びに酵素アッセイ 38
2.6.3.4 安全性薬理試験 39
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 41
2.6.3.5.1 In vitro 試験 41
2.6.3.5.2 In vivo 試験 43

略号及び用語定義一覧表

略号	英語
ANOVA	analysis of variance
BID	twice-daily dosing
CHO	Chinese hamster ovary
DBP	diastolic blood pressure
DMSO	dimethyl sulfoxide
EC_{50}	half maximal effective concentration
EEG	electroencephalography
E_{max}	maximum effect/potentiation
Fmr1	fragile X mental retardation syndrome 1
FOB	functional observational battery
GABA	gamma-aminobutyric acid
$GABA_A$	gamma-aminobutyric acid type A (receptor)
GLP	Good Laboratory Practice
HEK293	human embryonic kidney 293 (cells)
hERG	human-ether-à-go-go
HPβCD	hydroxypropyl-beta-cyclodextrin
HPD	hippocampal paroxysmal discharges
HR	heart rate
hr	hour(s)
IC_{50}	50% inhibitory concentration
I_{GABA}	GABA-induced chloride ion current
IP	intraperitoneal
IV	intravenous
K_i	inhibitory constant
KO	knock out
Ltk	mouse fibroblast cell line
M	male
MAP	mean arterial blood pressure
MED	minimal effective dose
MTLE	mesial temporal lobe epilepsy
P4S	piperidine-4-sulfonic acid
PO	*per os* (oral)
PTZ	pentylenetetrazole
QD	once daily dosing
SBECD	sulfobutylether-beta-cyclodextrin

SBP	systolic blood pressure
SC	subcutaneous
SE	status epilepticus
sec	second(s)
SEM	standard error of the mean
TBPS	t-butylbicyclophosphorothionate
TRPV1	transient receptor potential cation channel subfamily V member 1

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: zuranolone (SAGE-217, S-812217)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
In vitro [^{35}S]-TBPS binding in rat cortical membranes	Rat cerebral cortex	In vitro	[redacted][a]	SSN-617	4.2.1.1-01
In vitro [^{35}S]-TBPS binding in rat cortical membranes	Rat cerebral cortex	In vitro	[redacted][a]	SSN-07968	4.2.1.1-02
In vitro [^{35}S]-TBPS binding of SAGE-217 metabolites in rat cortical membranes	Rat cerebral cortex	In vitro	[redacted][a]	SSN-07638	4.2.1.1-03
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-645	4.2.1.1-04
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in HEK293 cells	In vitro	[redacted][c]	SSN-07232; SSN-07095	4.2.1.1-05
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-646	4.2.1.1-06
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-684	4.2.1.1-07
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-01743	4.2.1.1-08
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ steady state channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-613	4.2.1.1-09
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on a partial agonist P4S-induced recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-615	4.2.1.1-10
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_2\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-888	4.2.1.1-11
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_2\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-901	4.2.1.1-12
Effects of SAGE-217 on $GABA_A$ channel currents expressed in mammalian cells	Ion channels expressed in HEK293 cells	In vitro	[redacted][d]	SSN-620	4.2.1.1-13
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-1097	4.2.1.1-14
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-07484	4.2.1.1-15
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	Various $GABA_A$ receptors expressed in *Xenopus Laevis* oocytes	In vitro	[redacted][e]	SSN-1238	4.2.1.1-16

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Direct gating effects of SAGE-217 on $GABA_A$ $\alpha_4\beta_3\delta$ receptors	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted]b	SSN-614	4.2.1.1-17
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in *Xenopus Laevis* oocytes	In vitro	[redacted]d	SSN-1239	4.2.1.1-18
Acute effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Cerebellar granule neurons from male Sprague-Dawley rats	In vitro	[redacted]f	SSN-07410	4.2.1.1-19
Acute effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Dentate gyrus granule neurons from male Sprague-Dawley rats	In vitro	[redacted]f	SSN-07411	4.2.1.1-20
Persistent effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Dentate gyrus granule cells male C57Bl6 WT and Frm1-/- (knockout) mice	In vitro	[redacted]g	SSN-06277	4.2.1.1-21
Persistent effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Dentate gyrus granule cells from male Sprague-Dawley rats	In vitro	[redacted]f	SSN-07531	4.2.1.1-22
Effects of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	PO	[redacted]h	SSN-433	4.2.1.1-23
Effects of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	PO	[redacted]h	SSN-579	4.2.1.1-24
Effects of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	IP	[redacted]h	SSN-324	4.2.1.1-25
Effects of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	IP	[redacted]h	SSN-431	4.2.1.1-26
Effects of SAGE-217 on the 6-Hz-electroshock induced seizure threshold	Mouse/CD-1	IP	[redacted]h	SSN-712	4.2.1.1-27
Effect of SAGE-217 on locomotor activity and audiogenic seizure response	Mouse/*Fmr1* KO and wild-type	IP	[redacted]i	SSN-764	4.2.1.1-28
Effect of SAGE-217 on locomotor activity and audiogenic seizure response	Mouse/*Fmr1* KO and wild-type	IP	[redacted]i	SSN-848	4.2.1.1-29
Effect of SAGE-217 on hippocampal paroxysmal discharges in the MTLE mouse model	Mouse/C57BL/6	IP	[redacted]j	SSN-757	4.2.1.1-30
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in a lithium-pilocarpine-induced SE model (efficacy at 15 min post seizure onset)	Rat/Sprague-Dawley	IV	[redacted]i	SSN-590	4.2.1.1-31
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in a lithium-pilocarpine-induced SE model (efficacy at 60 min post seizure onset)	Rat/Sprague-Dawley	IV	[redacted]i	SSN-447	4.2.1.1-32
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in a lithium-pilocarpine-induced SE model (efficacy at 60 min post seizure onset)	Rat/Sprague-Dawley	IV	[redacted]i	SSN-609	4.2.1.1-33

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Pharmaco-EEG analysis of SAGE-217 in tethered male rats	Rat/Sprague-Dawley	IV	[redacted][h]	SSN-584; SSN-585; SSN-586	4.2.1.1-34
Pharmaco-EEG analysis of SAGE-217 in tethered male rats	Rat/Sprague-Dawley	PO	[redacted][h]	SSN-587	4.2.1.1-35
Effects of SAGE-217 on elevated plus maze test	Mouse/C57BL/6	IP	[redacted][h]	SSN-790	4.2.1.1-36
Effects of SAGE-217 on elevated plus maze test	Rat/Sprague-Dawley	IP	[redacted][i]	SSN-693	4.2.1.1-37
Effects of SAGE-217 on Vogel Conflict Test	Rat/Sprague-Dawley	IP	[redacted][h]	SSN-738	4.2.1.1-38
Effects of SAGE-217 on Vogel Conflict Test	Rat/Sprague-Dawley	IP	[redacted][h]	SSN-824	4.2.1.1-39
Effects of SAGE-217 on Vogel Conflict Test	Rat/Sprague-Dawley	IP	[redacted][h]	SSN-795	4.2.1.1-40
Effect of SAGE-217 on reserpine-induced oral dyskinesias	Rat/Wistar	IP	[redacted][h]	SSN-01735	4.2.1.1-41
Effects of SAGE-217 on spontaneous locomotion activity	Mouse/CD-1	IP	[redacted][h]	SSN-382	4.2.1.1-42
Effects of SAGE-217 on spontaneous locomotion activity	Mouse/CD-1	IP	[redacted][h]	SSN-588	4.2.1.1-43
Effect of SAGE-217 on motor coordination in rotarod performance test	Mouse/CD-1	IP	[redacted][h]	SSN-690	4.2.1.1-44
Acute and subchronic effects of SAGE-217 in the rotarod and PTZ infusion seizure models (subchronic tolerance study)	Mouse/CD-1	PO	[redacted][i]	SSN-534; SSN-535	4.2.1.1-45
Antidepressant Effect of S-812217 on Stress-induced Depression in Mouse	Mouse/C57BL/gJ Jcl	IP	Shionogi & Co., Ltd.	S-812217-EB-007-N	4.2.1.1-46
Exploratory Study for Antidepressant Effect of S-812217 on Stress-induced Depression in Mouse	Mouse/C57BL/gJ Jcl	IP	Shionogi & Co., Ltd.	S-812217-EB-008-X	4.2.1.1-47
Exploratory Study for Effect of S-812217 on Locomotor Activity in Mouse	Mouse/C57BL/gJ Jcl	IP	Shionogi & Co., Ltd.	S-812217-EB-009-X	4.2.1.1-48
Secondary Pharmacodynamics					
Screening panel to assess inhibition of radioligand binding, enzyme activity, uptake, and cellular and nuclear receptor function	In vitro cells or brain homogenates	In vitro	[redacted][a]	SSN-616	4.2.1.2-01
Screening panel to assess inhibition of radioligand binding, enzyme activity, uptake, and cellular and nuclear receptor function	In vitro cells or brain homogenates	In vitro	[redacted][a]	SSN-1158	4.2.1.2-02

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Antagonist effects at TRPV1	Human recombinant TRPV1 expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][a]	SSN-01153	4.2.1.2-03
Screening panel to assess inhibition of radioligand binding	In vitro cells or brain homogenates	In vitro	[redacted][a]	SSN-01096	4.2.1.2-04
Functional effects of SAGE-217 on nuclear hormone receptor activation or inhibition	Reporter cell lines (Huh7, CHO, HEK293, CV-1)	In vitro	[redacted][k]	SSN-619	4.2.1.2-05
Safety Pharmacology					
Central nervous system					
Neurobehavioral (FOB) evaluation of SAGE-217	Rat/Sprague-Dawley	PO	[redacted][l]	SSN-908[m]	4.2.1.3-01
Cardiovascular system					
Activity at cardiac ion channels	Mammalian cell lines	In vitro	[redacted][d]	SSN-618	4.2.1.3-02
Assessment of blockade hERG potassium channels expressed in HEK293 cells by SAGE-217	HEK293 cells	In vitro	[redacted][l]	SSN-01074[m]	4.2.1.3-03
Cardiovascular system evaluation of SAGE-217	Dog/Beagle	PO	[redacted][l]	SSN-909[m]	4.2.1.3-04
Respiratory system					
Respiratory system evaluation of SAGE-217	Rat/Sprague-Dawley	PO	[redacted][l]	SSN-907[m]	4.2.1.3-05
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with diazepam on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-647	4.2.1.4-01
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with diazepam on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-08002	4.2.1.4-02
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with pentobarbital on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-686	4.2.1.4-03
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with propofol on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-685	4.2.1.4-04
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with propofol on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-08004	4.2.1.4-05
Direct gating effects of SAGE-217 in combination with diazepam or pentobarbital on $GABA_A$ $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ receptors	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	[redacted][b]	SSN-723	4.2.1.4-06

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Effects of SAGE-217 in combination with diazepam on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	IP	[redacted][h]	SSN-716	4.2.1.4-07
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in combination with diazepam in a lithiumpilocarpine-induced SE model (efficacy at 60 min post seizure onset)	Rat/Sprague-Dawley	IV	[redacted][i]	SSN-733	4.2.1.4-08

CHO = Chinese hamster ovary; EEG = electroencephalography; *Fmr1* = fragile X mental retardation syndrome 1; FOB = functional observational battery; GABA = gamma-aminobutyric acid; $GABA_A$ = gamma-aminobutyric acid type A receptor; GLP = Good Laboratory Practice; HEK293 = human embryonic kidney 293; hERG = human-ether-à-go-go; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; KO = knock out; Ltk = mouse fibroblast cell line; MTLE = mesial temporal lobe epilepsy; P4S = piperidine-4-sulfonic acid; PO = *per os* (oral); PTZ = pentylenetetrazole; SE = status epilepticus; TBPS = t-butylbicyclophosphorothionate; TRPV1 = transient receptor potential cation channel subfamily V member 1

a [redacted]
b [redacted]
c [redacted]
d [redacted]
e [redacted]
f [redacted]
g [redacted]
h [redacted]
i [redacted]
j [redacted]
k [redacted]
l [redacted]
m GLP-compliant study.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2.1 ラット $GABA_A$ 受容体への $GABA_A$ 受容体リガンド結合に対するズラノロン及び特定の代謝物の影響

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-00797), SGE-02369, SGE-03632, SGE-03633, SGE-07672

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration.	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
In vitro [^{35}S]-TBPS binding in rat cortical membranes	Rat cerebral cortex	In vitro	0.0001, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10	SAGE-217 inhibited [^{35}S]-TBPS binding with an IC_{50} value of 7.2 nmol/L and K_i of 6 nmol\L.	SSN-617 [4.2.1.1-01]
In vitro [^{35}S]-TBPS binding in rat cortical membranes	Rat cerebral cortex	In vitro	0.0001, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10	SAGE-217 inhibited [^{35}S]-TBPS binding with an IC_{50} value of 4.7 nmol/L and K_i of 3.9 nmol/L.	SSN-07968 [4.2.1.1-02]
In vitro [^{35}S]-TBPS binding of SAGE-217 metabolites in rat cortical membranes	Rat cerebral cortex	In vitro	0.0001, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10	Three human metabolites of SAGE-217 (M117, M135 and M136 [also known as SGE-02369, SGE-03632 and SGE-03633, respectively]) inhibited [^{35}S]-TBPS binding with IC_{50} values of 160, 3400 and 2600 nmol/L, respectively, and K_i values of 140, 2800 and 2200 nmol/L, respectively. A fourth human metabolite of SAGE-217 (M125 [also known as SGE-07672]) did not inhibit TBPS binding at any tested concentrations.	SSN-07638 [4.2.1.1-03]
IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = inhibitory constant-					

2.6.3.2.2 ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797, SGE-00797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	SAGE-217 (6 lots) potentiated $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with EC_{50} values ranging from 178 to 701 nmol/L and E_{max} values ranging from of 279% to 706%.	SSN-645 [4.2.1.1-04]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in HEK293 cells	In vitro	0.029, 0.117, 0.47, 1.88, 7.5, 30	SAGE-217 potentiated $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor currents with EC_{50} values ranging from 587 to 732 nmol/L and from 116to 250 nmol/L, respectively, and E_{max} (fold activation) values ranging from of 20.1 to 20.5 and from 39.1 to 40.5, respectively.	SSN-07095; SSN-07232 [4.2.1.1-05]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	SAGE-217 (6 lots) potentiated $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor currents with EC_{50} values ranging from 140 to 737 nmol/L and E_{max} values ranging from of 226% to 686%.	SSN-646 [4.2.1.1-06]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	SAGE-217 (2 lots) potentiated $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with EC_{50} values of 1011 and 294 nmol/L and E_{max} values of 587% and 694%, respectively.	SSN-684 [4.2.1.1-07]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10	SAGE-217 potentiated $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 374 nmol/L and an E_{max} value of 1041%. SAGE-217 potentiated $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 163 µmol/L and an E_{max} value of 639%.	SSN-01743 [4.2.1.1-08]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ steady state channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	SAGE-217 potentiated $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor steady state currents with an EC_{50} of 49 µmol/L; E_{max} of 176% at 0.1 µmol/L SAGE-217.	SSN-613 [4.2.1.1-09]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on a partial agonist P4S-induced recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	0.200	SAGE-217 potentiated the P4S-induced $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents; in the presence of SAGE-217, the EC_{50} of P4S at $GABA_A$ $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ receptors shifted from 47 µmol/L to 25 µmol/L and the E_{max} induced by P4S (in % of current amplitude induced by GABA) shifted from 24% to 50.	SSN-615 [4.2.1.1-10]
EC_{50} = half maximal effective concentration; E_{max} = maximum effect/potentiation					

2.6.3.2.3 サブユニット構成の異なるヒト $GABA_A$ 受容体に対するズラノロンの影響

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797, SGE-00797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_2\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	SAGE-217 potentiated $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents. SAGE-217 at 1 and 10 µmol/L enhanced mean I_{GABA} by 184% and 462%, respectively.	SSN-888 [4.2.1.1-11]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_2\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	SAGE-217 potentiated $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 184 nmol/L and an E_{max} of 1344%.	SSN-901 [4.2.1.1-12]
Effects of SAGE-217 on $GABA_A$ channel currents expressed in mammalian cells	Ion channels expressed in HEK293 cells	In vitro	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30	SAGE-217 potentiated $\alpha_1\beta_3\gamma_2$ $GABA_A$ receptor peak currents with an EC_{50} of 390 nmol/L and an E_{max} of 712%. SAGE-217 potentiated $\alpha_2\beta_3\gamma_2$ $GABA_A$ receptor peak currents with an EC_{50} of 516 nmol/L and an E_{max} of 1060%. SAGE-217 potentiated $\alpha_3\beta_3\gamma_2$ $GABA_A$ receptor peak currents with an EC_{50} of 293 nmol/L and an E_{max} of 341%. SAGE-217 potentiated $\alpha_5\beta_3\gamma_2$ $GABA_A$ receptor peak currents with an EC_{50} of 298 nmol/L and an E_{max} of 564%.	SSN-620 [4.2.1.1-13]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	SAGE-217 potentiated $\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 147 nmol/L and an E_{max} of 702%.	SSN-1097 [4.2.1.1-14]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10	SAGE-217 potentiated $\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 68 nmol/L and an E_{max} of 203%.	SSN-07484 [4.2.1.1-15]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	*Xenopus* oocytes expressing human $\alpha_1\beta_2\gamma_2$, $\alpha_1\beta_{1*}\gamma_2$, $\alpha_2\beta_2\gamma_2$, $\alpha_2\beta_{1*}\gamma_2$, $\alpha_4\beta_3\delta$, and $\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors (* indicates that the gene encoding for the β_1 subunit correspond to the rat receptor)	In vitro	0.1, 0.3, 1, 3, 10, or 0.3, 1, 3, 10, 30	SAGE-217 potentiated human $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 1690 nmol/L and an E_{max} of 1306%. SAGE-217 potentiated human $\alpha_1\beta_{1*}\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 1080 nmol/L and an E_{max} of 1536%. SAGE-217 potentiated human $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 800 nmol/L and an E_{max} of 1089%. SAGE-217 potentiated human $\alpha_2\beta_{1*}\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 20.82 µmol/L and an E_{max} of 18,676%. SAGE-217 potentiated $\alpha_4\beta_3\delta GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 1500 nmol/L and an E_{max} of 2000%. SAGE-217 potentiated $\alpha_6\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor currents with an EC_{50} of 780 nmol/L and an E_{max} of 1590%.	SSN-1238 [4.2.1.1-16]
I_{GABA} = GABA-induced chloride ion current					

2.6.3.2.4 ヒト $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ 及び $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ 受容体の直接開口作用に対するズラノロンの影響

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797, SGE-00797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Direct gating effects of SAGE-217 on $GABA_A$ $\alpha_4\beta_3\delta$ receptors	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	10	SAGE-217 showed minimal direct agonistic activity at the $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor subtype; SAGE-217 induced a current of up to 14% of the amplitude of the chloride current evoked by 2 µmol/L GABA.	SSN-614 [4.2.1.1-17]
Direct gating effects of SAGE-217 on $GABA_A$ $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ receptors	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	10	SAGE-217 showed direct gating activity at the $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor subtype; SAGE-217 produced <50% of the current elicited by 2 µmol/L GABA.	SSN-723 [4.2.1.4-06]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 on recombinant $GABA_A$ channel currents	*Xenopus* oocytes expressing human $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors	In vitro	1, 3, 10, 30, 100	SAGE-217 directly activates $\alpha_4\beta_3\delta$ but not $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor currents.	SSN-1239 [4.2.1.1-18]

2.6.3.2.5 げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性 GABA 誘発電流及び一過性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの急性作用

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-00797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Acute effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Cerebellar granule neurons from male Sprague-Dawley rats	In vitro	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3	SAGE-217 enhanced tonic GABA currents in a concentration-dependent manner, with significant increase at concentrations ≥1 µmol/L. SAGE-217 decreased the frequency and prolonged the decay kinetics of spontaneous phasic GABA currents, with significant increase in phasic current decay time at 3 µmol/L.	SSN-07410 [4.2.1.1-19]
Acute effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Dentate gyrus granule neurons from male Sprague-Dawley rats	In vitro	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3	SAGE-217 enhanced tonic GABA currents in a concentration-dependent manner, with significant increase at concentrations ≥1 µmol/L SAGE-217 significantly decreased the frequency and prolonged the rise and the decay time of spontaneous phasic GABA currents, with significant increase in phasic current decay time at concentrations ≥0.3 µmol/L	SSN-07411 [4.2.1.1-20]

2.6.3.2.6 げっ歯類脳スライス標本の神経細胞における持続性 GABA 誘発電流及び一過性 GABA 誘発電流に対するズラノロンの持続的増加作用

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797, SGE-00797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Persistent effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Dentate gyrus granule cells male C57BL6 WT and Frm1-/- mice	In vitro	0.1 or 1 [a]	Pre-incubation with SAGE-217 (1 µmol/L) significantly increased tonic current density.	SSN-06277 [4.2.1.1-21]
Persistent effects of SAGE-217 on tonic and phasic GABA currents	Dentate gyrus granule cells from male Sprague-Dawley rats	In vitro	1	Pre-incubation with SAGE-217 (1 µmol/L) significantly increased tonic and phasic current amplitude relative to control. Pre-incubation with SAGE-217 (1µmol/L) did not significantly change phasic current decay.	SSN-07531 [4.2.1.1-22]
a Pre-incubated with SAGE-217 for 15 min before 30 min or more wash in the recording chamber.					

2.6.3.2.7 ズラノロンの抗痙攣作用

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effect of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	PO, single[a] (15% HPβCD)	0, 1, 3, 10	10M[b]	All doses of SAGE-217 significantly ($p < 0.001$, one-way ANOVA with Dunnett's or Bonferroni's Multiple Comparison) delayed the latency to onset of PTZ-induced tonic seizures in mice. The MED for latency to tonic seizures was 1 mg/kg; vehicle control: 873 sec versus SAGE-217 (1 mg/kg): 1605 sec Mean plasma and brain concentrations at 1 mg/kg were 74 ng/mL and 143 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 60 min postdose.	SSN-433 [4.2.1.1-23]
Effect of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	PO, single[a] (15% HPβCD)	0, 0.1, 0.3, 1	10M[b]	SAGE-217 (0.3 and 1 mg/kg) significantly increased the latency to PTZ-induced tonic seizures in mice ($p<0.05$ and $p < 0.001$, respectively); Vehicle control: 629 sec SAGE-217 (0.3 mg/kg): 1033 sec SAGE-217 (1 mg/kg): 1771 sec Mean plasma and brain concentrations at 1 mg/kg were 141 ng/mL and 219 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 60 min postdose.	SSN-579 [4.2.1.1-24]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effect of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	IP, single[c] (15% HPβCD)	0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10	10M[d]	SAGE-217 dose-dependently reduced PTZ-induced seizures in mice. The MED for latency to tonic seizures was 0.3 mg/kg ($p < 0.001$, one-way ANOVA with Dunnett's or Bonferroni's Multiple Comparison); vehicle control: 651 sec versus SAGE-217 (0.3 mg/kg): 1322 sec. Mean plasma and brain concentrations at 0.3 mg/kg were 77 ng/mL and 84 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 30 min postdose.	SSN-324 [4.2.1.1-25]
Effect of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	IP, single[e] (15% HPβCD)	0, 1	10M[f]	SAGE-217 significantly increased the latency to PTZ-induced tonic seizures in mice when administered 15 min ($p < 0.01$, One-way ANOVA with Dunnett's or Bonferroni's test) or 30 min ($p < 0.001$) prior to PTZ administration, when compared to the vehicle control group. SAGE-217 also significantly increased the latency to PTZ-induced clonic seizures when administered 15 min ($p < 0.05$, One-way ANOVA with Dunnett's or Bonferroni's test) or 30 min ($p < 0.05$) prior to PTZ administration, when compared to the vehicle control group. Mean plasma and brain concentrations were 350 ng/mL and 370 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 15 min postdose. Mean plasma and brain concentrations were 182 ng/mL and 339 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 30 min postdose	SSN-431 [4.2.1.1-26]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effects of SAGE-217 on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	IP, single[c] (15% HPβCD)	0, 0.1, 0.3, 1	10M[d]	The MED for latency to tonic seizures was 0.3 mg/kg ($p < 0.001$, one-way ANOVA with Dunnett's or Bonferroni's Multiple Comparison); vehicle control: 708 sec versus SAGE217 (0.3 mg/kg)-: 1348 sec. Plasma and brain concentrations at 0.3 mg/kg SAGE-217 (when administered alone) were 82 ng/mL and 83 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 30 min postdose.	SSN-716 [4.2.1.4-07]

ANOVA = analysis of variance; HPβCD = hydroxypropyl-beta-cyclodextrin; M = male; MED = minimal effective dose; sec = second(s)
a Dosed at 60 min prior to PTZ administration.
b An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 60 min postdose.
c Dosed at 30 min prior to PTZ administration.
d An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 30 min postdose.
e Dosed at 15, 30, 60, 120, or 240 min prior to PTZ administration.
f An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 15, 30, 60, 120, and 240 min postdose.

2.6.3.2.8 様々なモデルに対するズラノロンの抗痙攣作用

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effects of SAGE-217 on the 6-Hz-electroshock induced seizure threshold	Mouse/CD-1	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 0.3, 1, 3	10M[b]	The MED for preventing 6-Hz-electroshock-induced seizures was 3 mg/kg. Mean plasma and brain concentrations at 3 mg/kg were 1525 ng/mL and 1517 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 30 minutes postdose.	SSN-712 [4.2.1.1-27]
Effect of SAGE-217 on locomotor activity and audiogenic seizure response	Mouse/ *Fmr1* KO and wild-type	IP, single[c] (15% HPβCD)	0, 1, 5	7-8 M	SAGE-217 (1 mg/kg) significantly increased ambulatory locomotor activity (as measured by total distance traveled). SAGE-217 (5 mg/kg) significantly decreased total ambulatory locomotor activity (as measured by total distance traveled and total vertical activity). SAGE-217 (≥1 mg/kg) completely blocked the audiogenic seizure response; seizure rates were comparable to vehicle-treated wild-type mice at ≥1 mg/kg. MED = 1 mg/kg SAGE-217 (5 mg/kg) was associated with sedation. Mean plasma concentrations (n = 3) at 1 and 5 mg/kg were 720 and 2035 ng/mL, respectively; mean brain concentrations (n = 3) at 1 and 5 mg/kg were 242 and 1670 ng/g, respectively.	SSN-764 [4.2.1.1-28]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effect of SAGE-217 on locomotor activity and audiogenic seizure response	Mouse/ *Fmr1* KO and wild-type	IP, single[c] (15% HPβCD)	0, 0.1, 0.3, 1	7-8 M	SAGE-217 (1 mg/kg) significantly increased ambulatory locomotor activity (as measured by total distance traveled). SAGE-217 produced a dose-dependent reduction in audiogenic seizure response, with complete block at 1 mg/kg; MED = 1 mg/kg Mean plasma concentrations (n = 3) at 0.1, 0.3, and 1 mg/kg were 36, 116, and 326 ng/mL, respectively; mean brain concentrations (n = 3) at 0.1, 0.3, and 1 mg/kg were 38, 116, and 325 ng/g, respectively.	SSN-848 [4.2.1.1-29]
Effect of SAGE-217 on hippocampal paroxysmal discharges in the MTLE mouse model	Mouse/ C57BL/6	IP, single (15% HPβCD)	0, 1, 3, 5	8M in total[b,d]	SAGE-217 (≥1 mg/kg) significantly suppressed the number and cumulated duration of HPDs in a dosedependent- manner. SAGE-217 (1 mg/kg) significantly reduced the number of HPDs (52% reduction) and cumulative duration of HPD (46% reduction) between 10 to 70 min postdose. SAGE-217 (3 mg/kg) significantly reduced the number of HPDs (>90% reduction) and cumulative duration of HPD (>90% reduction) between 10 to 70 min postdose. SAGE-217 (5 mg/kg) significantly reduced the number of HPDs (≥99% reduction) and cumulative duration of HPD (≥99% reduction) over the entire 130 min postdose recording period. Mean plasma and brain concentrations (n = 3 satellite animals) at 1 mg/kg were 514 ng/mL and 385 ng/g, respectively.	SSN-757 [4.2.1.1-30]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in a lithium-pilocarpine-induced SE model (efficacy at 15 min post seizure onset)	Rat/ Sprague-Dawley	IV, single (30% HPβCD)	0, 1, 3, 5	4-5 M	3 mg/kg: significant reductions in pilocarpineinduced seizures (as measured by EEG power) in the 1-5 Hz and 5-10 Hz frequency range in all time bins (0-5 -hr), when administered 15 min after seizure onset; for frequency ranges >10 Hz, significant reductions were only observed in the 0-1 hr time bin range. 5 mg/kg: significant reductions in pilocarpineinduced seizures (as measured by EEG power) across all frequency ranges (1-96 Hz) in all time bins (0-5 -hr), when administered 15 min after seizure onset. Sedation was observed in SAGE-217-treated animals immediately postdose and lasted for ~1 hr. Mean plasma concentrations at 3 mg/kg were 1122 (n = 2), 364 (n = 2), and 256 (n = 5) ng/mL at 5, 60, and 300 min postdose, respectively. Mean plasma concentrations at 5 mg/kg were 1774 (n = 2), 575 (n = 2), and 376 (n = 5) ng/mL at 5, 60, and 300 min postdose, respectively.	SSN-590 [4.2.1.1-31]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in combination with diazepam in a lithium pilocarpine-induced SE model (efficacy at 60 min post seizure onset)	Rat/ Sprague-Dawley	IV, single (30% HPBCD)	0, 0.3, 1, 3[e]	1-7 M	≤1 mg/kg: No reduction in pilocarpineinduced seizures (as measured by EEG power). SAGE-217 (0.3 mg/kg) + diazepam (10 mg/kg): No reduction in pilocarpineinduced seizures (as measured by EEG power). Compared to single therapy treatment at 1 mg/kg, SAGE-217 (1 mg/kg) in combination with diazepam (10 mg/kg) resulted in a significant reduction in pilocarpine-induced seizures (as measured by EEG power) in all frequency ranges (except 30-50 Hz), when administered 60 minutes after seizure onset. Sedation was observed at 1 mg/kg alone and in combination with diazepam (10 mg/kg). Behavioral assessment at 1 mg/kg (SAGE217 alone) indicated animals exhibited impairment (defined as slowed movement, unresponsive to stimuli, and maintaining righting reflex) and/or sedation (defined as lying on the side and loss of righting reflex); sedation was observed at 1 mg/kg in combination with diazepam (10 mg/kg). One animal treated with SAGE-217 at 1 mg/kg and diazepam (10 mg/kg) died 3 hr after administration. This animal exhibited delayed sedation; thus, it was determined that the catheter was not intact and the animal likely received drug via SC administration.	SSN-733 [4.2.1.4-08]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
					(continued)Mean plasma concentrations at 1 mg/kg (SAGE217 monotherapy) were 459 (n = 3) and 182 (n = 3) ng/mL at 5 and 60 min postdose, respectively; mean brain concentrations were 383 (n = 1) and 361 ng/g (n = 2) at 1 and 2 hr postdose, respectively. Mean plasma concentrations at 1 mg/kg (SAGE217 in combination with diazepam [10 mg/kg]) were 459 (n = 4) and 180 (n = 4) ng/mL at 5 and 60 min postdose, respectively; mean brain concentrations at 1 mg/kg were 314 (n = 2) and 246 ng/g (n = 2) at 1 and 2 hr postdose, respectively.	
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in a lithium-pilocarpine-induced SE model (efficacy at 60 min post seizure onset)	Rat/ Sprague-Dawley	IV, single (30% HPβCD)	0, 0.3, 1, 2, 3, 5	4-8 M	SAGE-217 attenuated pilocarpineinduced seizures (as measured by EEG power) in a -dosedependent- manner, when administered 60 minutes after seizure onset; this attenuation was frequency- and time-dependent. 1 mg/kg: Significant reduction in EEG power at 3 to 5 hr postdose in the frequency range of 70-96 Hz. ≥3 mg/kg: Significant reduction in EEG power at 0 to 1 hr postdose in multiple frequency ranges. (including loss of righting reflex) was observed in the animals. Mean plasma concentrations at 3 mg/kg (n = 2) were 1280 and 468 ng/mL at 5 and 60 min postdose, respectively.	SSN-447 [4.2.1.1-32]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in a lithium-pilocarpine-induced SE model (efficacy at 60 min post seizure onset)	Rat/ Sprague-Dawley	IV, single (30% HPβCD)	0, 4, 5	4-8 M	SAGE-217 attenuated pilocarpineinduced seizures (as measured by EEG power) at both doses and in all frequency ranges (1-96 Hz) through 3 -hr postdose, when administered 60 min after seizure onset. Sedation was observed in SAGE-217-treated animals immediately postdose and lasted for ~1 hr. Mean plasma concentrations at 4 mg/kg were 2088 (n = 2), 824 (n = 2), and 554 (n = 8) ng/mL at 5, 60, and 300 min postdose, respectively. Mean plasma concentrations at 5 mg/kg were 1907 (n = 2), 772 (n = 2), and 1073 (n = 6) ng/mL at 5, 60, and 300 min postdose, respectively.	SSN-609 [4.2.1.1-33]

HPD = hippocampal paroxysmal discharges; hr = hour(s)
a Dosed 30 min prior to 6 Hz electrical stimulus.
b An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 30 min postdose.
c Dosed 15 min prior to the 30-min locomotor activity test and 45 min prior to the audiogenic seizure test.
d Animals were administered all 4 treatments according to a Latin square design with a week washout between treatments.
e Mortality in 2/2 animals at 3 mg/kg (SAGE-217) in combination with diazepam at 10 mg/kg, 1/1 animal at 3 mg/kg (SAGE-217) monotherapy (not drug related), and 1/7 animals at 1 mg/kg (SAGE-217) in combination with diazepam at 10 mg/kg (catheter not intact).

2.6.3.2.9 ラットの脳波パワースペクトラムに対するズラノロンの薬力学的作用

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Pharmaco-EEG analysis of SAGE-217 in tethered male rats	Rat/Sprague-Dawley	IV, bolus[a] (30% SBECD)	0, 1, 3, 5	6M in total[b]	Significant increase in EEG power in the beta (12.5 to 30 Hz) frequency range at all doses; MED = 1 mg/kg; associated (lowest) plasma concentration of 245 ng/mL in satellite animals (n = 3) at 55 min postdose. MED for increased time spent in sleep and reduced latency to first bout of sleep was 3 mg/kg; associated plasma concentration of 1553 ng/mL in satellite animals (n = 3) at 5 min postdose.	SSN-584;SSN-585; SSN-586 [4.2.1.1-34]
Pharmaco-EEG analysis of SAGE-217 in tethered male rats	Rat/Sprague-Dawley	PO, single (30% SBECD)	0, 0.3, 3, 20	6M[c]	≥3 mg/kg: Significant increase in EEG power in the beta (12.5 to 30 Hz) frequency range. Mean plasma concentration at 3 mg/kg was 301 ng/mL in satellite animals (n = 3) at 60 min postdose.	SSN-587 [4.2.1.1-35]

SBECD = sulfobutylether-beta-cyclodextrin
a Single ascending doses were administered once per hour to the same group of rats.
b An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma samples were collected at 5, 55, 65, 115, 125, 175, and 360 min postdose and brain samples were collected at 360 min postdose.
c An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma samples were collected at 1, 2, and 6 hr postdose and brain samples were collected at 6 hr postdose.

2.6.3.2.10 げっ歯類モデルにおけるズラノロンの抗不安様作用

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effects of SAGE-217 on elevated plus maze test	Mouse/ C57BL/6	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 0.3, 1, 3	15M	≥1 mg/kg: Significantly increased the percentage number of entries in the open arms and the percent time spent in the open arms of the elevated plus maze compared to vehicle. MED = 1 mg/kg; associated mean plasma and brain concentrations (n = 3) of 352 ng/mL and 539 ng/g at 35 min postdose.	SSN-790 [4.2.1.1-36]
Effects of SAGE-217 on elevated plus maze test	Rat/Sprague-Dawley	IP, single[b] (30% HPβCD)	0, 0.3, 1, 3	15M[c]	SAGE-217 did not significantly increase entries or time spent in the open arms compared to vehicle. The highest dose of 3 mg/kg was associated with a mean plasma concentration (n = 3) of 260 ng/mL.	SSN-693 [4.2.1.1-37]
Effects of SAGE-217 on Vogel Conflict Test	Rat/Sprague-Dawley	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 0.5, 2.5, 5	15M[d]	2.5 mg/kg: Significant increase in the total lick counts (control: 101 versus SAGE217-: 476) and the number of electric shocks received by animals (control: 9 versus SAGE-217: 45). No sedation noted at doses ≤2.5 mg/kg. Mean plasma and brain concentrations (n = 3) at 2.5 mg/kg were 206 ng/mL and 394 ng/g, respectively, at 40 min postdose.	SSN-738 [4.2.1.1-38]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effects of SAGE-217 on Vogel Conflict Test	Rat/Sprague-Dawley	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 0.5, 1, 2.5, 5	15M[e]	2.5 mg/kg: Significant increase in the total lick counts (control: 92 versus SAGE217-: 450) and the number of electric shocks received by animals (control: 9 versus SAGE-217: 41). Moderate to severe sedation noted at 5 mg/kg. Mean plasma and brain concentrations (n = 4) at 2.5 mg/kg were 343 ng/mL and 780 ng/g, respectively, at 40 min postdose.	SSN-824 [4.2.1.1-39]
Effects of SAGE-217 on Vogel Conflict Test	Rat/Sprague-Dawley	IP [b] (15% HPβCD)	0, 0.5, 1, 2.5, 5	15M[f]	SAGE-217 did not significantly increase total lick count or total shocks compared to vehicle control. Mean plasma concentrations (n = 4) at 0.5, 1, 2.5, and 5 mg/kg were 71, 128, 286, and 557 ng/mL, respectively, and mean brain concentrations (n = 4) at 0.5, 1, 2.5, and 5 mg/kg were 166, 299, 623, and 1096 ng/g, respectively, at 70 min postdose.	SSN-795 [4.2.1.1-40]

a Dosed at 30 min prior to Elevated Plus Maze, Vogel conflict, Spontaneous Locomotion Activity, or Rotarod performance test.
b Dosed at 60 min prior to Elevated Plus Maze or Vogel conflict test.
c Immediately after the Elevated Plus Maze assay, 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic animals; plasma and brain samples were collected at 65 min postdose.
d An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 40 min postdose.
e An additional 4 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 40 min postdose.
f An additional 4 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic animals; plasma and brain samples were collected at 70 min postdose.

2.6.3.2.11 ラットモデルにおけるレセルピン誘発口腔ジスキネジアに対するズラノロンの影響

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effect of SAGE-217 on reserpine-induced oral dyskinesias	Rat/Wistar	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 0.3, 1, 3[b]	9-10M[b]	3 mg/kg: Significantly reversed reserpine-induced increase in tongue protrusion and chewing behavior; mild sedation was observed in 1 animal. MED = 3 mg/kg, associated with mean plasma and brain concentrations (n = 2) of 489 ng/mL and 1007 ng/g, respectively.	SSN-01735 [4.2.1.1-41]

SC = subcutaneous
a Dosed at 24 hr post 2nd reserpine (1 mg/kg; SC) dose and 30 min prior to the behavioral observation period.
b An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 30 min postdose.

2.6.3.2.12 マウスの自発運動量及び運動協調性に対するズラノロンの作用

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effects of SAGE-217 on spontaneous locomotion activity	Mouse/CD-1	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 1, 3, 10	10M[b]	1 mg/kg: No effect on spontaneous locomotion activity up to 45 min postdose. 3 mg/kg: Significant increase in traveling distance (in 30 to 60 min postdose) and duration of spontaneous locomotion activity (in 46 to 60 min postdose), relative to the vehicle-treated animals; mild to moderate sedation observed. 10 mg/kg: Significant decrease in total distance travelled in the first 60 min (relative to vehicle-treated animals) and duration of locomotor activity. Reduction in locomotion speed. Loss of righting reflex and severe sedation observed. Mean plasma concentrations of 228, 613, and 2875 ng/mL at 1, 3, and 10 mg/kg, respectively; corresponding mean brain concentrations of 307, 970, and 3900 ng/g at 1, 3, and 10 mg/kg, respectively (satellite animals; n = 3 for the low- or mid-dose groups, and n = 2 for the high-dose group).	SSN-382 [4.2.1.1-42]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effect of SAGE-217 on spontaneous locomotion activity	Mouse/CD-1	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 3, 5, 10	10M[b]	3 mg/kg: Significant increase in traveling distance at 40 to 55 min postdose (relative to the vehicle-treated animals); no effect noted on duration of locomotion activity at 30 to 60 min postdose. 5 mg/kg: Significant decrease in total distance travelled at 30 to 40 min postdose (relative to vehicle-treated animals) and duration of locomotor activity at 30 to 50 min postdose. Significant reduction in locomotion speed in the first 15 min postdose. Distance travelled over 15 min was significantly reduced (SAGE-217: 64 cm versus control: 2748 cm). Moderate to severe sedation observed. 10 mg/kg: significant decrease in total distance travelled and duration of locomotor activity at 30 to 60 min postdose, relative to vehicle-treated animals. Significant reduction in locomotion speed in the first 15 min and in 30 to 60 min postdose. Severe sedation observed. Mean plasma concentrations of 850, 1508, and 3029 ng/mL at 3, 5, and 10 mg/kg, respectively; corresponding mean brain concentrations of 963, 1808, and 4326 ng/g at 3, 5, and 10 mg/kg, respectively (satellite animals; n = 3 for the low- or mid-dose groups, and n = 2 for the high-dose group).	SSN-588 [4.2.1.1-43]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effect of SAGE-217 on motor coordination in rotarod performance test	Mouse/CD-1	IP, single[a] (15% HPβCD)	0, 1, 3, 10	10M[b]	10 mg/kg: impaired performance on the rotarod up to 60 min postdose (latency to drop was reduced to 0.9 sec in treated animals versus 300 sec in vehicle control animals). No significant impairment was observed at ≤3 mg/kg up to 60 min postdose. Mean plasma concentrations at 30 minutes postdose were 420 and 1515 ng/mL at 3 and 10 mg/kg, respectively; corresponding mean brain concentrations were 728 and 2554 ng/g at 3 and 10 mg/kg, respectively (n = 3 satellite animals).	SSN-690 [4.2.1.1-44]
a Dosed at 30 min prior to Elevated Plus Maze, Vogel conflict, Spontaneous Locomotion Activity, or Rotarod performance test. b An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 30 min postdose.						

2.6.3.2.13 ズラノロンをマウスに反復投与したときの抗痙攣作用及び運動協調性に対する影響

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Acute and subchronic effects of SAGE-217 in the rotarod performance test and in the PTZ infusion seizure model (subchronic tolerance study)	Mouse/CD-1	PO Experiment 1 (Acute phase): single[a] Experiment 2 (Repeat-dose phase): BID for 8 days + single challenge dose on Day 9[a] (15% SBECD)	0, 10	12-16M	Single (acute) and repeat-dose administrations of SAGE217- significantly increased latency to myoclonic/clonic seizures: Experiment 1 (acute) 23.2 sec in the vehicle control group 39.7 sec in the SAGE-217 treated group Experiment 2 25.8 sec in the vehicle control group 50.0 sec following a single SAGE-217 dose 49.3 sec following repeated dosing of SAGE-217 Single (acute) and repeat-dose administrations of SAGE-217 completely prevented the development of tonic hindlimb seizures, and increased the PTZ threshold dose required to elicit a myoclonic seizure, compared to vehicle control. Single dose (acute) administration of SAGE-217 (single dose) reduced ability to stay on the rotarod (rotarod latency of 5.8 sec in the treated group versus 92.1 sec in the vehicle control, on Day 1), while repeated dosing mitigated this sedative effect (exhibiting tolerance to the motor-impairing drug effects); animals were able to stay significantly longer on the rotarod compared to performance on Day 1 (41.2 sec on Day 7).	SSN-534; SSN-535 [4.2.1.1-45]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
					(continued) Acute phase: Mean plasma concentration on Day 1 (65 min postdose) was 540 ng/mL; corresponding mean brain concentration was 876 ng/g (n = 3). Repeat-dose phase: Mean plasma concentrations following a single and repeated dosing on Day 9 were 545 and 807 ng/mL, respectively; corresponding mean brain concentrations were 944 and 1190 ng/g, respectively (n = 3).	
BID = twice-daily dosing a Dosed at 60 min prior to PTZ administration						

2.6.3.2.14 ストレス誘発性うつモデルマウスにおけるズラノロンの抗うつ作用

Test Article: zuranolone (S-812217)

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species/Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex and No. per Group</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number [Location in CTD]</th></tr>
<tr><td>Antidepressant Effect of S-812217 on Stress-induced Depression in Mouse</td><td>Mouse/C57BL/6 J</td><td>IP, repeated QD for 7 days[a] (15% HPβCD)</td><td>0, 1</td><td>23-24M</td><td>S-812217 at the dose of 1 mg/kg significantly increased the interaction time in the social interaction test, compared with vehicle on Day1, Day3, and Day7.
<table><tr><td></td><td colspan="2">Interaction time (sec)</td></tr><tr><td></td><td>Vehicle N=23</td><td>S-812217 (1mg/kg QD) N=24</td></tr><tr><td>Pre</td><td>9.422730 ± 1.687141</td><td>10.058894 ± 1.719499</td></tr><tr><td>Day1</td><td>12.745210 ± 2.296141</td><td>67.642471 ± 6.238684</td></tr><tr><td>Day3</td><td>12.302778 ± 2.304780</td><td>64.100068 ± 7.829570</td></tr><tr><td>Day7</td><td>15.792799 ± 3.685722</td><td>63.263617 ± 6.257990</td></tr></table>Each value represents the mean ± SEM.</td><td>S-812217-EB-007-N [4.2.1.1-46]</td></tr>
<tr><td>Exploratory Study for Antidepressant Effect of S-812217 on Stress-induced Depression in Mouse</td><td>Mouse/C57BL/6 J</td><td>IP, single[a,b] or QD for 7 days[a,c] (15% HPβCD)</td><td>0, 1, 2</td><td>16-18M</td><td>S-812217 at the doses of 1 and 2 mg/kg significantly increased the interaction time in the social interaction test, compared with vehicle. In addition, S-812217 at the doses of 1 and 2 mg/kg significantly decreased the immobility time in the tail suspension test, compared with vehicle.</td><td>S-812217-EB-008-X [4.2.1.1-47]</td></tr>
</table>

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Exploratory Study for Effect of S-812217 on Locomotor Activity in Mouse	Mouse/C57BL/6J	IP, single[d] (15% HPβCD)	Experiment 1: 0, 1.5, 2, 3, 5 Experiment 2: 0, 1, 2, 3 Experiment 3 (plasma concentration): 1, 2, 3	Experiment 1: 9-11M Experiment 2: 7M Experiment 3: 5M	Experiment 1 and 2 for measurement of locomotor activity: S-812217 at the doses of 3 and 5 mg/kg significantly decreased locomotor activity, compared with vehicle. S-812217 at the doses of 1, 1.5, and 2 mg/kg did not change locomotor activity in mice. Experiment 3 for measurement of plasma concentration: Plasma concentrations of S-812217 increased with increasing dosing at 1, 2, and 3 mg/kg. The mean plasma concentration at a dose of 1 mg/kg, 30 min after administration, was 210 ng/mL.	S-812217-EB-009-X [4.2.1.1-48]

QD = once daily dosing; SEM = standard error of the mean
a Dosed at 30 min prior to the social interaction test or tail suspension test
b tail suspension test
c social interaction test
e Locomotor activity test for 40 min immediately after administration.

2.6.3.3 副次的薬理試験

2.6.3.3.1 各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーター結合並びに酵素アッセイ

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-00797)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Screening panel to assess inhibition of radioligand binding, enzyme activity, uptake, and cellular and nuclear receptor function	In vitro cells or brain homogenates	In vitro	10	From 78 targets tested with SAGE-217 at 10 µmol/L, SAGE-217 inhibited [^{35}S]TBPS binding to -GABAgated- Cl^- channel by 100%, ligand binding to glycine receptor by 57.0%, ligand binding to sigma receptor by 87.0%, and TRPV1 function by 96.0%. The signal at TRPV1 showed low level of agonism (37% of the capsaicin effect).	SSN-616 [4.2.1.2-01]
Screening panel to assess inhibition of radioligand binding, enzyme activity, uptake, and cellular and nuclear receptor function	In vitro cells or brain homogenates	In vitro	10	From 76 targets tested with SAGE-217 at 10 µmol/L, SAGE-217 inhibited [^{35}S]TBPS binding to -GABAgated- Cl^- channel by 98.6%, ligand binding to sigma receptor by 89.0%, and TRPV1 function by 93.7%. The signal at TRPV1 showed low level of agonism (32% of the capsaicin effect)	SSN-1158 [4.2.1.2-02]
Antagonist effects at TRPV1	Human recombinant TRPV1 expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30	SAGE-217 inhibited TRPV1 function with an IC_{50} for apparent antagonist activity of 12 µmol/L.	SSN-01153 [4.2.1.2-03]
Screening panel to assess inhibition of radioligand binding	In vitro cells or brain homogenates	In vitro	10	Of the 15 assays in this screen[a], SAGE-217 inhibited ligand binding to sigma receptor by 85%.	SSN-01096 [4.2.1.2-04]
Functional effects of SAGE-217 on nuclear hormone receptor activation or inhibition	Reporter cell lines (Huh7, CHO, HEK293, CV-1)	In vitro	0.4, 2, 10	With a threshold of a 5-fold induction over baseline or a 50% inhibition of baseline activity, SAGE-217 had no effects on any of 22 receptors tested in either agonist or antagonist modes. SAGE-217 (10 µmol/L) caused a 2.3-fold activation at the pregnane X receptor.	SSN-619 [4.2.1.2-05]

-
a 15 receptors commonly implicated as targets for drugs of abuse.

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-00797)

Organ Systems Evaluated	Test System	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses or Concentrations	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location in CTD]
Central nervous system	Rat/ Sprague Dawley	PO, single (Labrasol)	0, 3, 10, or 22.5 mg/kg	10M	Neurobehavioral effects at 22.5 mg/kg consisted of ↓ in general arousal, ↑ hindlimb splay, ↑ thermal response latency (↓ nociception), ↑ palpebral closure, and impaired posture, gait, mobility and righting reflexes at the 4 and 8 hr postdose evaluation; all effects resolved by 24 hr postdose. Single animals treated at 3 or 10 mg/kg exhibited slightly impaired gait, ↑ palpebral closure, and/or impaired righting reflexes, generally at 4 or 8 hr postdose. Clinical observations at 10 and 22.5 mg/kg included decreased activity, ataxia, hypersensitivity to touch and/or sound, and impaired righting reflex at 4 and/or 8 hr postdose.	Yes	SSN-908 [4.2.1.3-01]
Cardiovascular system	Human cardiac ion channels expressed in mammal cells	In vitro	30 µmol/L	N/A	No effect on cardiac ion channels (Nav1.5, hERG, KCNQ1/minK, Cav1.2/β2/α2δ1, Kv4.3/KChIP2.2, Kv1.5, Kir2.1, and HCN2); IC_{50} >30 µmol/L	No	SSN-618 [4.2.1.3-02]
Cardiovascular system	hERG transfected HEK293 cells	In vitro	0[a], 0.1, 0.3, 1, or 3 µmol/L	3 to 4 cells/concentration	SAGE-217 induced a concentration-dependent inhibition of the hERG-mediated potassium currents around 35.2 to 36.1°C; mean inhibition (SEM) of 1.6% (1.013), 4.3% (0.206), 11% (1.676), and 23% (0.944) at 0.1, 0.3, 1, and 3 µmol/L, respectively. IC_{50}: >3 µmol/L upon extrapolation of the dose-response curve to 100% inhibition. Positive Control (Cisapride [0.1 µmol/L]): mean inhibition (SEM)of 83% (1.442)	Yes	SSN-01074 [4.2.1.3-03]
Cardiovascular system	Dog/ Beagle	PO, single (30% HPβCD)	0, 0.4, 1, or 2.5[b] mg/kg	4M[c]	≥1 mg/kg: ↓ SBP and ↓ MAP (≤ 15% below controls) within 5 hr postdose, and ↑ DBP and ↑ MAP between 6 and 18 hr postdose. ↑ HR between 4 and 24 hr postdose. Clinical observations included circling, decreased activity, eyelids partially or completely closed, lateral recumbency, ataxia, salivation, shallow/rapid breathing, and tremors between 30 min and 8 hr postdose. 2.5 mg/kg: ↓ in body temperature (≤3°C below controls) in individual animals were observed between 2 and 16 hr postdose.	Yes	SSN-909 [4.2.1.3-04]

Organ Systems Evaluated	Test System	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses or Concentrations	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location in CTD]
Respiratory system	Rat/ Sprague Dawley	PO, single (Labrasol)	0, 3, 10, or 22.5 mg/kg	8M	Slight ↓ in respiratory rate (<10%) at 22.5 mg/kg observed between 2.5 and 16 hr postdose, dose dependent ↑ in tidal volume (<20%) observed between 2 and 12 hr postdose, and slight non-dose dependent ↑ in minute volume (<10%) within the first 8 hr postdose, compared to the control group. All changes were reversible by 24 hr postdose. Clinical observations at 10 and 22.5 mg/kg included decreased activity, ataxia, lateral recumbency, prostration, red material around the eyes, and eyelids partially or completely closed primarily occurring at 4 or 8 hr postdose.	Yes	SSN-907 [4.2.1.3-05]

DBP = diastolic blood pressure; DMSO = dimethyl sulfoxide; HR = heart rate; MAP = mean arterial blood pressure; SBP = systolic blood pressure
a Physiological salt solution + 0.3% DMSO vehicle control
b Supplemental heat was applied to the animals following the 2.5 mg/kg administration at approximately 6 hours postdose and through the end of the cardiovascular monitoring period (heat was provided for approximately 18 hours).
c Animals were administered all 4 treatments according to a Latin square design with a 7-day washout between treatments.

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.3.5.1 In vitro 試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797, SGE-00797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration.	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with diazepam on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	Diazepam (0.1 µmol/L) + SAGE-217 modulated I_{GABA} in a concentration-dependent manner. EC_{50} = 112 nmol/L; E_{max} = 1162%	SSN-647 [4.2.1.4-01]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with diazepam on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	Diazepam (0.1 µmol/L) + SAGE-217 modulated I_{GABA} in a concentration-dependent manner. EC_{50} = 199 nmol/L; E_{max} = 262%	SSN-08002 [4.2.1.4-02]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with pentobarbital on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells and $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	The presence of pentobarbital (300 µmol/L) increased the maximum efficacy of the modulatory effect of SAGE-217 on I_{GABA}. SAGE-217 enhanced the $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptor current with an E_{max} of 1407%; EC_{50} = 465 nmol/L. SAGE-217 enhanced the $\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptor current with an E_{max} of 1055%; EC_{50} = 605 nmol/L	SSN-686 [4.2.1.4-03]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration.	Concentration (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with propofol on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	The presence of propofol (0.1 µmol/L) reduced the potency and maximum efficacy of the modulatory effect of SAGE-217 on I_{GABA}. EC_{50} = 920 nmol/L; E_{max} = 317%	SSN-685 [4.2.1.4-04]
Analysis of modulatory effects of SAGE-217 in combination with propofol on recombinant $GABA_A$ channel currents	$\alpha_4\beta_3\delta$ $GABA_A$ receptors expressed in CHO cells	In vitro	0.01, 0.1, 1, 10	Propofol (3 µmol/L) + SAGE-217 modulated I_{GABA} in a concentration-dependent manner. EC_{50} = 1385 nmol/L; E_{max} = 636%	SSN-08004 [4.2.1.4-05]
Direct gating effects of SAGE-217 in combination with diazepam or pentobarbital on $GABA_A$ $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ receptors	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ $GABA_A$ receptors expressed in Ltk cells	In vitro	10	When SAGE-217 was applied in the presence of diazepam (0.1 µmol/L), the current amplitude was increased by an average of 34% (n = 3). When SAGE-217 was applied in the presence of pentobarbital (300 µmol/L), the current amplitude was increased by an average of 120% (n = 3).	SSN-723 [4.2.1.4-06]

2.6.3.5.2 In vivo 試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Effects of SAGE-217 in combination with diazepam on PTZ-induced seizures	Mouse/CD-1	IP, single[a] (5% HPβCD)	0, 0.1, 0.3, 1	10M[b]	The MED for latency to tonic seizures was 0.3 mg/kg ($p < 0.001$, one-way ANOVA with Dunnett's or Bonferroni's Multiple Comparison); control: 708 sec versus SAGE217 (0.3 mg/kg): 1348 sec. Plasma and brain concentrations at 0.3 mg/kg SAGE-217 (when administered alone) were 82 ng/mL and 83 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 30 min postdose. Co-administration of SAGE217 (0.1 mg/kg) with diazepam (0.1 mg/kg) significantly increased the latency to tonic seizures (1172 sec; $p < 0.05$, oneway ANOVA with Dunnett's or Bonferroni's Multiple Comparison). Mean plasma and brain concentrations at 0.1 mg/kg SAGE-217 (when co-administered with diazepam) were 25 ng/mL and 36 ng/g respectively, in satellite mice (n = 3) 30 min postdose.	SSN-716 [4.2.1.4-07]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Anticonvulsant activity of SAGE-217 in combination with diazepam in a lithium-pilocarpine-induced SE model (efficacy at 60 min post seizure onset)	Rat/ Sprague-Dawley	IV, single (30% HPBCD)	0, 0.3, 1, 3[c]	1–7M	≤1 mg/kg: No reduction in pilocarpine-induced seizures (as measured by EEG power). SAGE-217 (0.3 mg/kg) + diazepam (10 mg/kg): No reduction in pilocarpineinduced seizures (as measured by EEG power). Compared to single therapy treatment at 1 mg/kg, SAGE-217 (1 mg/kg) in combination with diazepam (10 mg/kg) resulted in a significant reduction in pilocarpine-induced seizures (as measured by EEG power) in all frequency ranges (except 30-50 Hz), when administered 60 min after seizure onset. Sedation was observed at 1 mg/kg alone and in combination with diazepam (10 mg/kg). Behavioral assessment at 1 mg/kg (SAGE217 alone) indicated animals exhibited impairment (defined as slowed movement, unresponsive to stimuli, and maintaining righting reflex) and/or sedation (defined as lying on the side and loss of righting reflex); sedation was observed at 1 mg/kg in combination with diazepam (10 mg/kg). One animal treated with SAGE-217 at 1 mg/kg and diazepam (10 mg/kg) died 3 hr after administration. This animal exhibited delayed sedation; thus, it was determined that the catheter was not intact and the animal likely received drug via SC administration.	SSN-733 [4.2.1.4-08]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
					(continued) Mean plasma concentrations at 1 mg/kg (SAGE217 monotherapy) were 459 (n = 3) and 182 (n = 3) ng/mL at 5 and 60 min postdose, respectively; mean brain concentrations were 383 (n = 1) and 361 ng/g (n = 2) at 1 and 2 hr postdose, respectively. Mean plasma concentrations at 1 mg/kg (SAGE217 in combination with diazepam [10 mg/kg]) were 459 (n = 4) and 180 (n = 4) ng/mL at 5 and 60 min postdose, respectively; mean brain concentrations were 314 (n = 2) and 246 ng/g (n = 2) at 1 and 2 hr postdose, respectively.	

a Dosed at 30 min prior to PTZ administration
b An additional 3 males/SAGE-217 group served as pharmacokinetic satellite animals; plasma and brain samples were collected at 30 min postdose.
c Mortality in 2/2 animals at 3 mg/kg (SAGE-217) in combination with diazepam at 10 mg/kg, 1/1 animal at 3 mg/kg (SAGE-217) monotherapy (not drug related), and 1/7 animals at 1 mg/kg (SAGE-217) in combination with diazepam at 10 mg/kg (catheter not intact).