# 目次

1. 緒言 ..... 2
2. 申請する適応症 ..... 2
3. 剤形、投与経路及び用量 ..... 4
4. 参考文献 ..... 5

# Figures

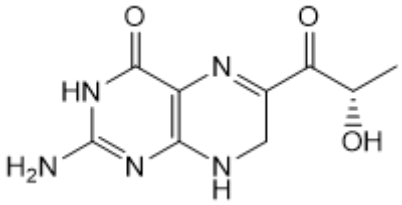
Figure 1. Sepiapterin の化学構造 ..... 2
Figure 2. BH4 の生合成経路 ..... 3

# 1. 緒言

PTC Therapeutics（PTC）社は、生体内で生成される sepiapterin の体外合成品である sepiapterin（旧名：PTC923 及び CNSA001）の経口投与用顆粒剤を開発中である。

Sepiapterin は、構造的には内因性 sepiapterin と同一で、分子量 237.22 の低分子である。化学名は(*S*)-2-amino-6-(2-hydroxypropanoyl)-7,8-dihydropteridin-4(3*H*)-one ［Chemical Abstract Service Registry（CAS 登録）］で、分子式は $C_9H_{11}N_5O_3$ である。化学構造的には、sepiapterin は還元型プテリジン誘導体である。Sepiapterin の化学構造を Figure 1 に示す。

Figure 1. Sepiapterin の化学構造




Sepiapterin は黄色～橙色の粉末で、経口投与用に製剤化されている。Medisca® Oral Mix™（香料を添加した懸濁溶媒）を用いて経口用懸濁製剤を開発し、非臨床 GLP 毒性試験及び初期の第 1/2 相臨床試験で使用した。Medisca® Ora Plus®を用いた経口懸濁製剤も、幼若ラット毒性試験で使用した。第 3 相試験用の新しい製剤（脱イオン水中に混合）を開発し、ラットにおいて製剤中の不純物の安全性を確認するのに使用した。試験で使用する製剤の濃度範囲を設定するために、Oral Mix、Ora Plus 及び脱イオン水を用いて調製した各投与製剤の均一性及び安定性を確立した。投与製剤の試料及び生体分析用試料の分析には、バリデートされた方法を用いた。

Sepiapterin 顆粒剤の添加剤の安全性評価は、文献から得られた情報に基づいて実施した（モジュール 2.6.6、8.4.5 項）。

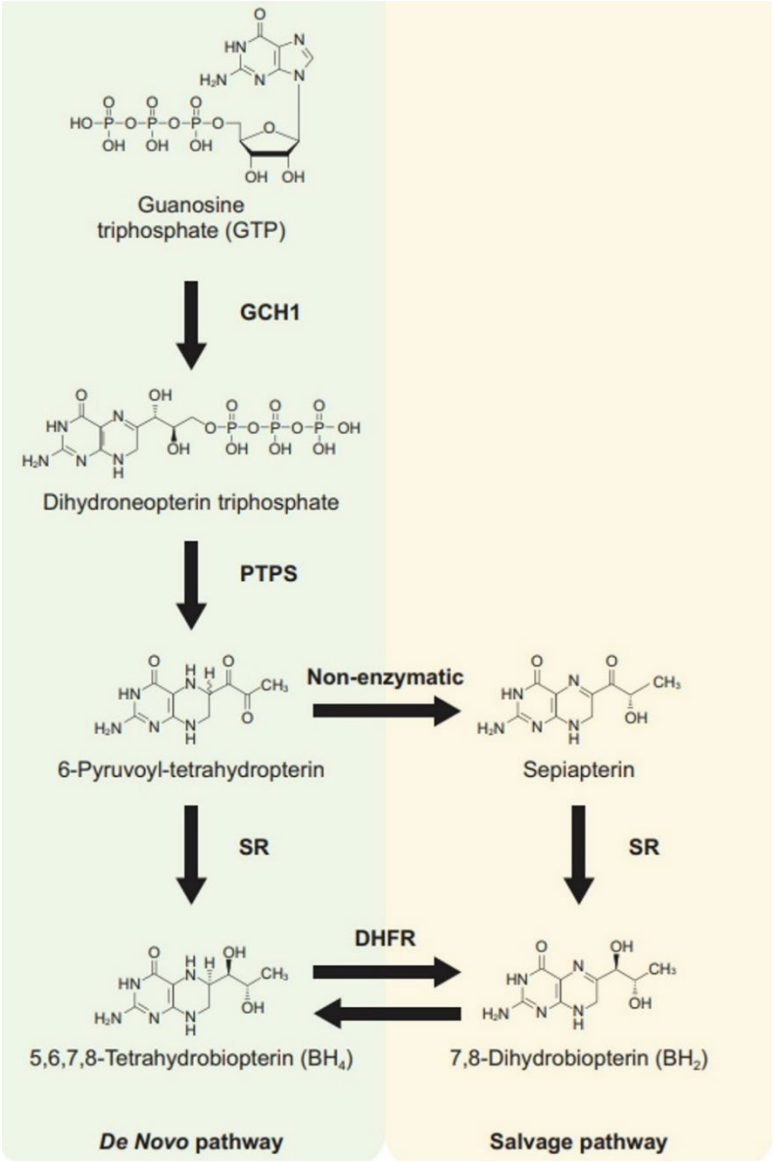
# 2. 申請する適応症

Sepiapterin の申請する適応症は、フェニルケトン尿症（PKU）の治療である。

PKU 患者では、フェニルアラニン水酸化酵素（PAH）遺伝子の変異により生じたミスフォールドバリアントの PAH 活性が低いために、高フェニルアラニン血症を発症する（Smith and Lee 2000, Gersting 2008）。PAH が欠損すると、フェニルアラニン（Phe）からチロシンへの変換が阻害され、血中及び脳などの他の組織内に Phe が蓄積する。

Sepiapterin は二重の作用機序により Phe 濃度を低下させる。すなわち、薬理学的シャペロンとして作用し、PAH の立体構造を改善するとともに（Gersting 2023）、サルベージ経路を介してテトラヒドロビオプテリン（$BH_4$）合成の基質として作用することにより、PAH に必須の補因子で薬理学的シャペロンでもある $BH_4$ の細胞内濃度を上昇させる（Figure 2）（Ohashi 2011, Werner 2011）。Sepiapterin は、この二重の薬理学的シャペロンとしての役割により、欠損した PAH の活性を増強する（モジュール 2.6.2、2 項）。

Figure 2. BH4 の生合成経路




**略語：**$BH_4$＝テトラヒドロビオプテリン、DHFR＝ジヒドロ葉酸還元酵素、GCH1＝グアノシン三リン酸シクロヒドロラーゼ 1、PTPS＝6-ピルボイル-テトラヒドロプテリン合成酵素、SR＝sepiapterin 還元酵素

## 3. 剤形、投与経路及び用量

Sepiapterin は、1 日 1 回長期経口投与用顆粒剤である。年齢別の申請用量

- 生後 0 ヵ月～6 ヵ月未満：7.5 mg/kg
- 生後 6 ヵ月～12 ヵ月未満：15 mg/kg
- 生後 12 ヵ月～2 歳未満：30 mg/kg
- 2 歳以上：60 mg/kg

## 4. 参考文献

Gersting, S, Barroso, M, Etzold, S and Smith, N. The Effects of the Pharmacological Chaperone Sepiapterin on Phenylalanine Hydroxylase Activity of Common Variants in Phenylketonuria. Genetics in Medicine Open 2023;1(1):17.

Gersting, SW, Kemter, KF, Staudigl, M, Messing, DD, Danecka, MK, Lagler, FB, et al. Loss of function in phenylketonuria is caused by impaired molecular motions and conformational instability. Am J Hum Genet 2008;83(1):5-17.

Ohashi, A, Sugawara, Y, Mamada, K, Harada, Y, Sumi, T, Anzai, N, et al. Membrane Transport of Sepiapterin and Dihydrobiopterin by Equilibrative Nucleoside Transporters: A Plausible Gateway for the Salvage Pathway of Tetrahydrobiopterin Biosynthesis. Mol Genetics Metab 2011;102(1):18-28.

Smith, I and Lee, P (2000). The Hyperphenylalaninemias. Berlin; Springer.

Werner, ER, Blau, N and Thony, B. Tetrahydrobiopterin: Biochemistry and Pathophysiology. Biochem J 2011;438(3):397-414.

# 目次

略語一覧及び用語の定義 ..... 3
1. 概要 ..... 4
2. 効力を裏付ける試験 ..... 6
2.1 作用機序 ..... 6
2.1.1 Sepiapterin による PAH バリアントの活性亢進 ..... 6
2.1.2 Sepiapterin 投与による補因子 $BH_4$ の増加 ..... 7
2.1.3 Sepiapterin の薬物トランスポーター相互作用及び取り込み ..... 9
2.2 In vivo 生物活性 ..... 9
2.2.1 *Pah-R261Q* PKU マウスモデルにおける sepiapterin 投与 ..... 9
2.2.2 In vivo における sepiapterin の活性を明らかにしたその他の試験及び査読付き文献 ..... 11
3. 副次的薬理試験 ..... 13
4. 安全性薬理試験 ..... 14
4.1 呼吸系 ..... 14
4.2 中枢神経系 ..... 14
4.3 心血管系 ..... 15
4.3.1 In vitro：ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子 ..... 15
4.3.1.1 ヒト胎児腎由来細胞に発現させたクローン化 hERG カリウムチャネルに対する sepiapterin の作用（GLP 適合） ..... 15
4.3.1.2 (6R)-5,6,7,8-tetrahydroLbiopterin dihydrochloride：安定的に遺伝子導入した HEK293 細胞で記録した hERG テール電流に対する作用（GLP 適合） ..... 16
4.3.2 In vivo：マーモセットにおける心電図検査 ..... 17
4.3.2.1 Sepiapterin のマーモセット 14 日間（強制）経口投与毒性試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験（GLP 適合） ..... 17
4.3.2.2 Sepiapterin のマーモセット 13 週間（強制）経口投与毒性試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験（GLP 適合） ..... 17
4.3.2.3 マーモセット 9 ヵ月間（強制）経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（GLP 適合） ..... 17
5. 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 18
6. 考察及び結論 ..... 19
7. 参考文献 ..... 20

## Tables

Table 1. Sepiapterin の非臨床薬理プログラムを裏付ける PTC 試験 ..... 4
Table 2. Sepiapterin は、フェニルケトン尿症に関連して最もよく見られるフェニルアラニン水酸化酵素タンパク質バリアント 15 種のうち 10 種の活性を上昇させる ..... 6

Table 3. *Pah-¬R261Q* PKU マウスにおける sepiapterin の単回投与試験の試験デザイン .....10
Table 4. Sepiapterin の in vivo 活性を評価した特定の非臨床試験 .....12

## Figures

Figure 1. $BH_4$ の生合成経路 .....8
Figure 2. Sepiapterin を投与した Pah¬R261Q PKU マウスにおける Phe 負荷後の血中 Phe 濃度推移 .....10
Figure 3. Sepiapterin 投与 Pah¬R261Q PKU マウスにおける PAH 酵素活性 .....11

# 略語一覧及び用語の定義

| 略語又は特殊な用語 | 用語 | 説明 |
|---|---|---|
| (6R)$BH_4$ | (6R)-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin dihydrochloride | (6R)-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin dihydrochloride |
| AUC | area under the concentration time curve | 濃度時間曲線下面積 |
| $AUC_{06h}$ | area under the concentration time curve from time 0 to 6 hours postdose | 投与後 0 時間から 6 時間までの濃度時間曲線下面積 |
| $BH_2$ | 7,8-dihydrobiopterin | 7, 8-ジヒドロビオプテリン |
| $BH_4$ | tetrahydrobiopterin | テトラヒドロビオプテリン |
| $C_{max}$ | maximum concentration | 最高血漿中濃度 |
| CNS | central nervous system | 中枢神経系 |
| CR | carbonyl reductase | カルボニル還元酵素 |
| DHFR | dihydrofolate reductase | ジヒドロ葉酸還元酵素 |
| DSS | dextran sodium sulfate | デキストラン硫酸ナトリウム |
| ECG | electrocardiogram | 心電図 |
| F | female | 女性／雌 |
| FOB | functional observation battery | 機能観察総合評価法 |
| GCH1 | guanosine triphosphate cyclohydrolase 1 | グアノシン三リン酸シクロヒドロラーゼ 1 |
| HBPSS | HEPES buffered physiological saline solution | HEPES 緩衝生理食塩水 |
| HEK293 | human embryonic kidney 293 | ヒト胎児腎由来 293 |
| hERG | human ether-à-go-go-related gene | ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子 |
| $IC_{50}$ | half-maximal inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| $IK_r$ | rapid delayed rectifier potassium current | 急速活性型遅延整流カリウム電流 |
| Incr | increase | 増加 |
| M | male | 男性／雄 |
| MMTV | mouse mammary tumor virus | マウス乳癌ウイルス |
| NOS | nitric oxide synthase | 一酸化窒素合成酵素 |
| nNOS | neuronal nitric oxide synthase | 神経型一酸化窒素合成酵素 |
| P-gp | P-glycoprotein | P 糖タンパク |
| PAH | phenylalanine hydroxylase | フェニルアラニン水酸化酵素 |
| PD | pharmacodynamic(s) | 薬力学 |
| Phe | phenylalanine | フェニルアラニン |
| PK | pharmacokinetic(s) | 薬物動態 |
| PKU | phenylketonuria | フェニルケトン尿症 |
| PTPS | 6-pyruvyl-tetrahydrobiopterin synthase | 6-ピルボイル-テトラヒドロプテリン合成酵素 |
| SD | standard deviation | 標準偏差 |
| SR | sepiapterin reductase | Sepiapterin 還元酵素 |
| TH | tyrosine hydroxylase | チロシン水酸化酵素 |
| TPH | tryptophan hydroxylase | トリプトファン水酸化酵素 |
| VCAM1 | vascular cell adhesion molecule 1 | 血管細胞接着分子 1 |
| WT | wild type | 野生型 |

# 1. 概要

フェニルケトン尿症（PKU）は遺伝疾患で、フェニルアラニン水酸化酵素（PAH）の欠損により、血中及び脳内のアミノ酸フェニルアラニン（Phe）濃度が上昇する。PTC Therapeutics（PTC）社は、小児及び成人における PKU の経口（顆粒剤）治療薬として、sepiapterin（旧名：PTC923 及び CNSA001）を開発中である。Sepiapterin は、新しい分子化合物であり、生体内で生成する sepiapterin と構造的に同一の体外合成品である。

Sepiapterin は、PKU 患者において二重の薬理学的シャペロンとして作用し、欠損した PAH の活性を増強する。Sepiapterin は PAH に対して直接的な薬理学的シャペロン活性を有する一方で、PAH に必須の補因子かつ薬理学的シャペロンであるテトラヒドロビオプテリン（$BH_4$）の細胞内濃度も上昇させる。合成 sepiapterin を経口投与したときは、$BH_4$ の生合成経路の内因性中間体として sepiapterin は肝臓やその他の組織で速やかに代謝され、$BH_4$ が生成されることにより、細胞内及び血漿中 $BH_4$ 濃度が著しく上昇する。

PKU 患者における sepiapterin の作用機序は、薬理試験及び薬物動態試験、並びに公表文献によって裏付けられている。Sepiapterin が培養細胞において PAH バリアントタンパク質の活性を増強すること、また、sepiapterin が PAH バリアントタンパク質を安定化させることを明らかにする試験が実施されている。別の試験では、PKU マウスモデルを含む動物モデルを用いて、in vivo で sepiapterin は $BH_4$ に変換され、予想される生物活性を有することが示された。Sepiapterin の副次的薬力学的（PD）特性をオフターゲット相互作用についての in vitro スクリーニングアッセイによって評価し、sepiapterin はオフターゲット活性がないことが示された。安全性薬理試験は ICH S7A 及び S7B ガイダンスに従って実施し（ICH 2000, ICH 2005）、すべての主要な試験は GLP 規則に準拠して実施した。Sepiapterin は呼吸系、中枢神経系（CNS）及び心血管系に対して有害作用を示さないことが明らかになった。

薬理学的活性を評価するために実施した非臨床試験の要約を Table 1 に示す。

Table 1. Sepiapterin の非臨床薬理プログラムを裏付ける PTC 試験

| 試験番号 | 試験内容 | GLP 適合状況 |
|---|---|---|
| **効力を裏付ける薬理試験** | | |
| PTC923-2023-099 | In vitro での PAH バリアントの活性及び安定性に対する sepiapterin の影響 | 非 GLP |
| 16H0208S-X01（生存期間中）／6016-2880（PK 評価） | マウスに sepiapterin 又は $BH_4$ を単回経口投与したときの in vivo における $BH_4$ の生成 | 非 GLP |
| PTC923-2023-046 | マウスに sepiapterin を経口投与したときの in vivo における $BH_4$ の生成 | 非 GLP |
| PTC923-2024-114 | *PahR-261Q* PKU マウスモデルにおける sepiapterin の投与 | 非 GLP |
| **副次的薬理試験** | | |
| PTC923-2021-003 | 94 種のパネルアッセイで測定したオフターゲット活性 | 非 GLP |
| | | |
| **安全性薬理試験** | | |
| **呼吸系** | | |
| CNSA-TOX-001-2017 | Sepiapterin の Sprague Dawley ラット 14 日間経口投 | GLP |

| | | |
|---|---|---|
| | 与毒性試験、呼吸機能評価 | |
| CNSA-TOX-001-2018 | Sepiapterin の Sprague Dawley ラット 13 週間経口投与毒性試験、呼吸機能評価 | GLP |
| **中枢神経系** | | |
| CNSA-TOX-001-2017 | Sepiapterin の Sprague Dawley ラット 14 日間経口投与毒性試験、FOB 評価 | GLP |
| CNSA-TOX-001-2018 | Sepiapterin の Sprague Dawley ラット 13 週間経口投与毒性試験、FOB 評価 | GLP |
| **心血管系** | | |
| CNSA-PHARM-001-2017 | In vitro hERG 結合評価（sepiapterin） | GLP |
| PTC923-2023-056 試験 | In vitro hERG 結合評価（$BH_4$） | GLP |
| CNSA-TOX-002-2017 | Sepiapterin のマーモセット 14 日間経口投与毒性試験、ECG 評価 | GLP |
| CNSA-TOX-002-2018 | Sepiapterin のマーモセット 13 週間経口投与毒性試験、ECG 評価 | GLP |
| PTC923-2020-004 | Sepiapterin のマーモセット 9 ヵ月間経口投与毒性試験、ECG 評価 | GLP |

**略語：**$BH_4$＝テトラヒドロビオプテリン、ECG＝心電図、FOB＝機能観察総合評価法、hERG＝ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子、PAH＝フェニルアラニン水酸化酵素、PK＝薬物動態、PKU＝フェニルケトン尿症

# 2. 効力を裏付ける試験

## 2.1 作用機序

Sepiapterin は、低 PAH 活性及び Phe からチロシンへの変換の低下により生じる高フェニルアラニン血症を特徴とする PKU の治療薬として開発が進められている。PKU では、バリアント PAH タンパク質が変異し（欠失、ミスセンス、ナンセンス変異）、しばしばミスフォールドされており、野生型 PAH よりも迅速にタンパク質が分解される。

Sepiapterin は二重の作用機序を有し、薬理学的シャペロンとして作用してバリアント PAH の 4 量体化の適切な立体配置を促進するだけでなく、PAH に必須の補因子であり薬理学的シャペロンでもある $BH_4$ の細胞内濃度を上昇させる。この二重の薬理学的シャペロンとしての役割により、欠損した PAH の活性を増強し、Phe 代謝を促進して、血中 Phe 濃度を低下させる。

### 2.1.1 Sepiapterin による PAH バリアントの活性亢進

Sepiapterin が PAH 活性を上昇させ、PAH バリアントに対し薬理学的シャペロン作用を有するか否かを評価する目的で、3 つの in vitro アッセイを実施した（PTC923-2023-099 試験）（Gersting 2023）。種々の PAH タンパク変異体バリアントを発現する COS7 細胞を、0、5 又は 20 µM の sepiapterin で処理し、PAH 活性を評価した。

最初のアッセイでは、単一変異 *PAH* 対立遺伝子を検討した。活性が 2 倍以上増加した PAH バリアントは、F39L、L48S、F55L、E57K、I65S、I65T、A202T、P211T、Q235P、R261Q、S359A、V388M、E390G、K396R、V399A、F402L、P407S、R408Q、R408W、D415N、Y417H 及び IVS10-11G>A であった。

2 番目のアッセイでは、一般的な遺伝子型を検討した。最もよく見られる PKU 遺伝子型 15 種類のうち 10 種類の遺伝子型で、sepiapterin 処理によって PAH 活性が 2 倍以上増強した。その遺伝子型の中には、R261Q+R408W、IVS1011G>A+IVS1011G>A、IVS1011G>A+R408W、R408W+Y414C、R261Q+R261Q 及び L48S+R408W が含まれていた（Table 2）。重要なことは、sepiapterin は、IVS10-11G>A のような $BH_4$ に非感受性であることが知られているバリアント *PAH* 対立遺伝子の活性を増強させることである（Trunzo 2015）。

Table 2. Sepiapterin は、フェニルケトン尿症に関連して最もよく見られるフェニルアラニン水酸化酵素タンパク質バリアント 15 種のうち 10 種の活性を上昇させる

| PAH タンパク質バリアント | 無処理 | | Sepiapterin 5 µM | | Sepiapterin 20 µM | | 増加（倍率） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | WT に対する平均% | SD | WT に対する平均% | SD | WT に対する平均% | SD | 5 µM | 20 µM |
| WT | 100.00 | 8.43 | 69.87 | 6.53 | 112.39 | 18.16 | 0.70 | 1.12 |
| R408W+R408W | 0 | 0.22 | 0.24 | 0.20 | 0.45 | 0.36 | Incr | Incr |
| R261Q+R408W | 3.23 | 1.43 | 7.59 | 1.29 | 9.81 | 3.64 | **2.35** | **3.04** |
| IVS121G>A+R408W | 0.11 | 0.33 | 0.26 | 0.29 | 0.35 | 0.18 | **2.50** | **3.30** |
| R158Q+R408W | 0.13 | 0.29 | 0.13 | 0.13 | 0.57 | 0.07 | 1.03 | **4.47** |
| IVS1011G>A+IVS1011G>A | 0.94 | 0.67 | 1.22 | 0.68 | 6.00 | 1.77 | 1.29 | **6.37** |
| IVS1011G>A+R408W | 0.25 | 0.43 | 1.58 | 0.25 | 3.96 | 0.62 | **6.23** | **15.64** |
| P281L+R408W | 0.07 | 0.11 | 0.28 | 0.21 | 0.72 | 0.17 | **4.05** | **10.20** |
| R408W+Y414C | 1.57 | 0.15 | 3.21 | 0.15 | 5.33 | 3.16 | **2.05** | **3.40** |

| PAH タンパク質バリアント | 無処理 | | Sepiapterin 5 μM | | Sepiapterin 20 μM | | 増加（倍率） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | WT に対する平均% | SD | WT に対する平均 % | SD | WT に対する平均 % | SD | 5 μM | 20 μM |
| A403V+R408W | 0.69 | 0.07 | 0.72 | 0.54 | 1.27 | 0.16 | 1.05 | 1.84 |
| R261Q+R261Q | 8.13 | 0.49 | 18.28 | 6.47 | 24.93 | 8.78 | **2.25** | **3.07** |
| R408W+R252W | 0.04 | 0.14 | 0.45 | 0.13 | 0.81 | 0.10 | **12.29** | **22.00** |
| A300S+R408W | 4.87 | 0.24 | 4.37 | 0.35 | 7.48 | 2.46 | 0.90 | 1.54 |
| L48S+R408W | 1.42 | 0.62 | 1.29 | 0.36 | 6.65 | 0.56 | 0.91 | **4.68** |
| P281L+P281L | 0 | 0.13 | 0.03 | 0.20 | 0.26 | 0.37 | Incr | Incr |
| I306V+R408W | 1.69 | 0.04 | 1.59 | 0.20 | 1.91 | 0.14 | 0.94 | 1.13 |

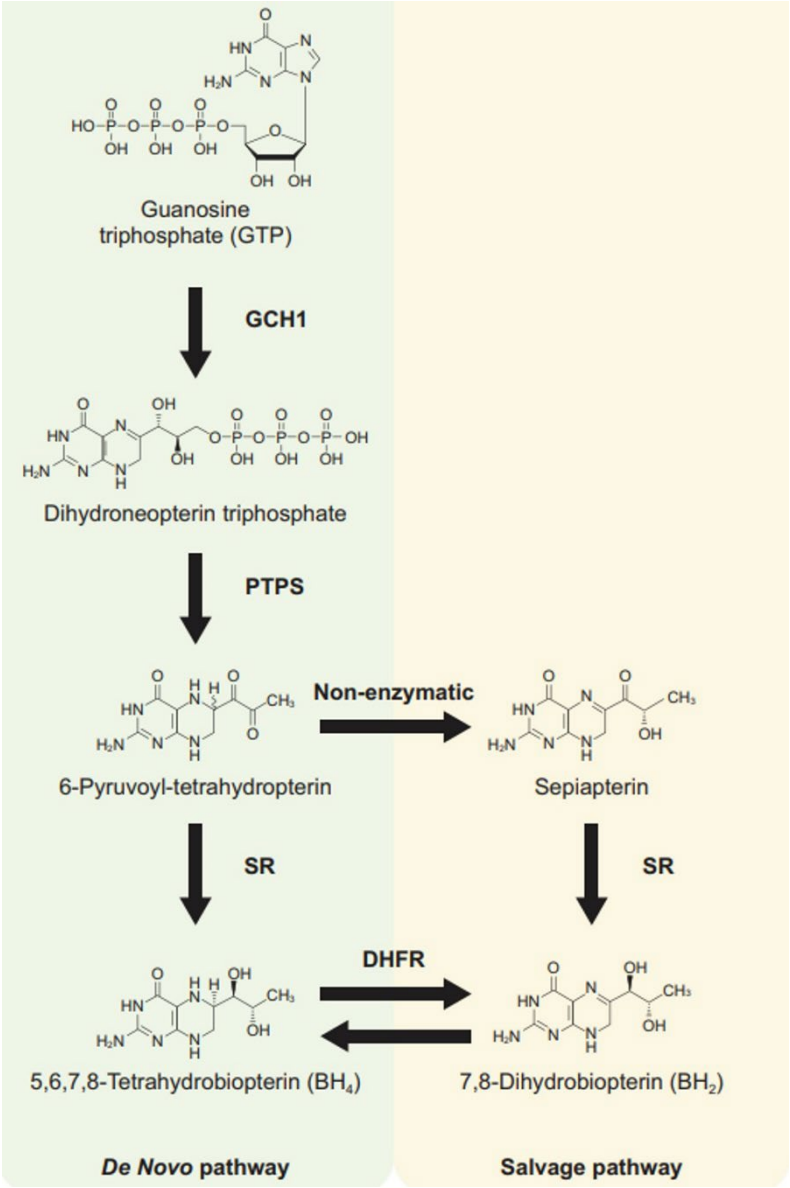
**略語：**Incr＝増加、PAH＝フェニルアラニン水酸化酵素、SD＝標準偏差、WT＝野生型
注：sepiapterin 処理により PAH 活性が 2 倍以上増強した箇所は表内後ろ 2 列内を太字で示す。
平均活性について、「0」は活性がないことを示す。
増加倍率について、「incr」は、sepiapterin により測定可能な活性が認められたが、ベースラインが 0 であったため、増加倍率を算出することができなかったことを示す。
**出典：**PTC923-2023-099 試験

3 番目のアッセイでは、sepiapterin による変異型 PAH 酵素の in vitro 安定性を評価した。熱ストレス条件下での野生型及び変異型 PAH タンパク質に対する sepiapterin の影響を検討するために、タンパク質を疎水性の 8 アニリノ 1 ナフタレンスルホン酸に曝露させて、示差走査蛍光測定を実施した。酵素の安定性を測定する熱変性曲線に基づくと（Niesen 2007）、変異型 PAH バリアントは、野生型 PAH よりも安定性が低いが、sepiapterin はこれらの変異型タンパク質を安定化させた。これらのデータは、sepiapterin による薬理学的シャペロン活性を示している。

### 2.1.2 Sepiapterin 投与による補因子 $BH_4$ の増加

Sepiapterin は $BH_4$ の生合成のための天然の前駆体であり、経口投与後速やかかつ広範に $BH_4$ に変換される（Sawabe 2002, Sawabe 2004, Sawabe 2008, Werner 2011, Smith 2019）。Sepiapterin から $BH_4$ の生合成はプテリンサルベージ経路を介し（Figure 1）、主として sepiapterin 還元酵素（SR）及びジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）（Smith 2019）によって行われるが、還元の第一段階ではカルボニル還元酵素（CR）による補助を受ける可能性がある（Werner 2011）。

Figure 1. $BH_4$ の生合成経路




**略語：** $BH_4$＝テトラヒドロビオプテリン、DHFR＝ジヒドロ葉酸還元酵素、GCH1＝グアノシン三リン酸シクロヒドロラーゼ 1、PTPS＝6-ピルボイル-テトラヒドロプテリン合成酵素、SR＝sepiapterin 還元酵素
**出典：**（Feng 2021）から改変

その結果、PTC 社が検討したすべての動物種で、sepiapterin の経口投与後、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、マーモセット及びカニクイザルの血漿中において $BH_4$ が速やかに増加することが示されている（試験の要約をモジュール 2.6.4 にまとめて示す）。マウス、ラット、マーモセット及びカニクイザルでは、最高血漿中濃度（$C_{max}$）及び濃度時間曲線下面積（AUC）の sepiapterin/$BH_4$ の比は、大体において 5%未満であった。イヌ及びウサギでは変換速度が遅く、sepiapterin 濃度はより高かった。

$BH_4$ は、PAH、チロシン水酸化酵素（TH）、トリプトファン水酸化酵素（TPH）及び一酸化窒素合成酵素（NOS）などの芳香族アミノ酸水酸化酵素の重要な補因子であり、Phe、チロシン、トリプ

トファン及びアルギニンの代謝に不可欠である（Werner 2011）。$BH_4$ は薬理学的シャペロンとして作用することが知られている（Erlandsen 2004, Pey 2004, Flydal 2019）。

Sepiapterin の投与により sepiapterin 及び $BH_4$ 濃度が上昇すると、PAH 酵素の活性が亢進する。

### 2.1.3 Sepiapterin の薬物トランスポーター相互作用及び取り込み

PTC の試験から得られたデータと公表文献から、sepiapterin は $BH_4$ よりも効率的に細胞内に輸送されることが示されている。

薬物動態試験（PTC923-2020-002 試験, PTC923-2021-012 試験）では、sepiapterin は P 糖タンパク（P-gp）の基質ではないが、$BH_4$ は P-gp の基質であると考えられることから、$BH_4$ の細胞内への直接取り込みは P-gp による排出により減少する可能性が示された（データはモジュール 2.6.4、7.2 項に要約）（Yamamoto 1996, Hasegawa 2002）。

$BH_4$ は主に、非効率的なプッシュ・プル・2 ステッププロセスを介して細胞内に取り込まれる。まず、$BH_4$ が酸化されて、より透過性の高い 7, 8 ジヒドロビオプテリン（$BH_2$）となり、次いで細胞が $BH_2$ を取り込み、サルベージ経路を介して酵素的に活性な $BH_4$ に還元される（Hasegawa 2005, Sawabe 2005, Sawabe 2008）。一方、sepiapterin はより迅速かつ容易に直接細胞内に拡散することができる（Sawabe 2008）。さらに、$BH_4$ は双方向から細胞膜を通過することが困難なために、sepiapterin から細胞内で生成される $BH_4$ は細胞内に留まる（Sawabe 2008）。

このような差があることから、培養細胞を様々な濃度（最高 200 µM）の sepiapterin で処理した in vitro 試験（Hasegawa 2005, Sawabe 2008）及びマウスに 10 mg/kg の sepiapterin を投与した in vivo 試験（Sawabe 2002, Sawabe 2004）で示されたように、体外から添加した sepiapterin は、体外から添加した $BH_4$ よりも細胞内 $BH_4$ 濃度を効率よく上昇させる。In vitro では、sepiapterin は $BH_4$ よりも細胞内 $BH_4$ 濃度を約 10 倍速く上昇させ、その結果、$BH_4$ 濃度は約 20 倍～30 倍高くなる（Yamamoto 1996, Hasegawa 2005, Sawabe 2008）。マウスの PTC 試験では、sepiapterin を単回経口投与したときの組織内 $BH_4$ 濃度は、$BH_4$ を同程度の用量で単回経口投与したときよりも高いことが示された。この結果は、sepiapterin の組織への輸送が高まることと一致していた（16H0208S-X01 試験／6016-2880、データの要約はモジュール 2.6.4、3.1.1 項に示す）。また、PTC923-2023-046 試験から、sepiapterin は脳、肝臓及び腎臓などの主要な組織の $BH_4$ 濃度を上昇させることが明らかになった（モジュール 2.6.4、3.1.3 項）。

## 2.2 In vivo 生物活性

### 2.2.1 *Pah-R261Q* PKU マウスモデルにおける sepiapterin 投与

PTC923-2024-114 試験（モジュール 2.6.3、表 2.6.3.2）

本試験の目的は、*Pah-R261Q* PKU マウスモデルに対する sepiapterin の効力を明らかにすることであった。このマウスは、*PAH* 遺伝子のうちヒトで最も頻度の高い変異の 1 つ（c.782G>A、対立遺伝子頻度は約 6%）のホモ接合体で、そのために、PAH 活性が低下している（Aubi 2021）。12～16 週齢の *Pah-R261Q* PKU マウスの各群に Table 3 に示す用量で、sepiapterin を単回強制経口投与した。

Table 3. *Pah-¬R261Q* PKU マウスにおける sepiapterin の単回投与試験の試験デザイン

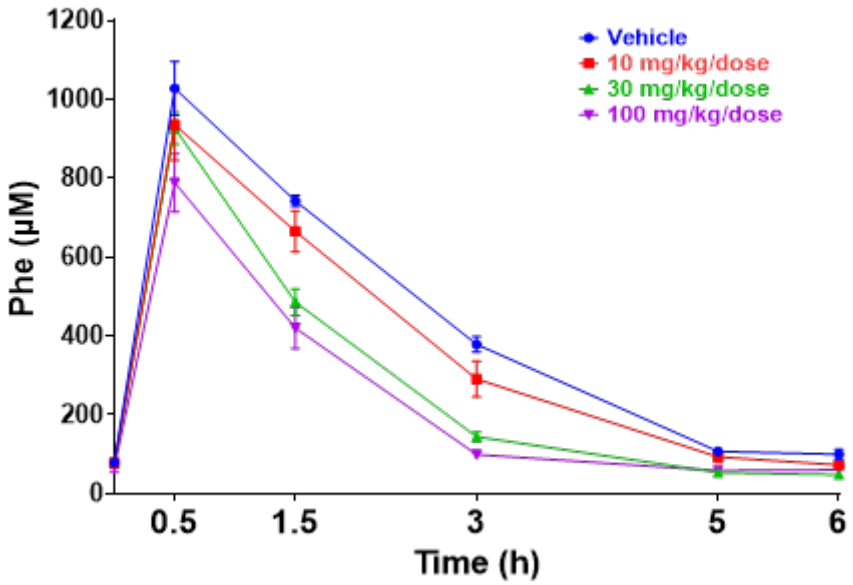
| 群 | 投与 | 用量（mg/kg/回） | 投与濃度（mg/mL） | 動物数 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | M | F |
| 1 | 対照群 [a] | 0 | 0 | 2 | 3 |
| 2 | Sepiapterin | 10 | 2 | 3 | 2 |
| 3 | Sepiapterin | 30 | 6 | 2 | 3 |
| 4 | Sepiapterin | 100 | 20 | 3 | 2 |

**略語：**F=雌、M＝雄、PKU＝フェニルケトン尿症
[a] 溶媒（Medisca® Oral Mix™）を投与した。

Sepiapterin 投与の 1 時間後に、マウスに Phe を腹腔内注射（200 mg/kg、24 mg/mL 溶液として投与）して Phe 負荷試験を実施した。Phe 負荷試験前日、負荷後 0.5、1.5、3、5 及び 6 時間に血液サンプルを採取し、Phe 濃度を測定した。その後、マウスを安楽死させ、肝臓を採取した。肝臓ライセートの PAH タンパク質濃度及び酵素活性を測定した。

すべての sepiapterin 投与群において、血中 Phe 濃度の低下が認められた（Figure 2）。血中 Phe の投与後 0 時間から 6 時間までの濃度時間曲線下面積（$AUC_{06h}$）は、10、30 及び 100 mg/kg 群において、溶媒対照群と比較してそれぞれ 14%、35%及び 45%減少した。

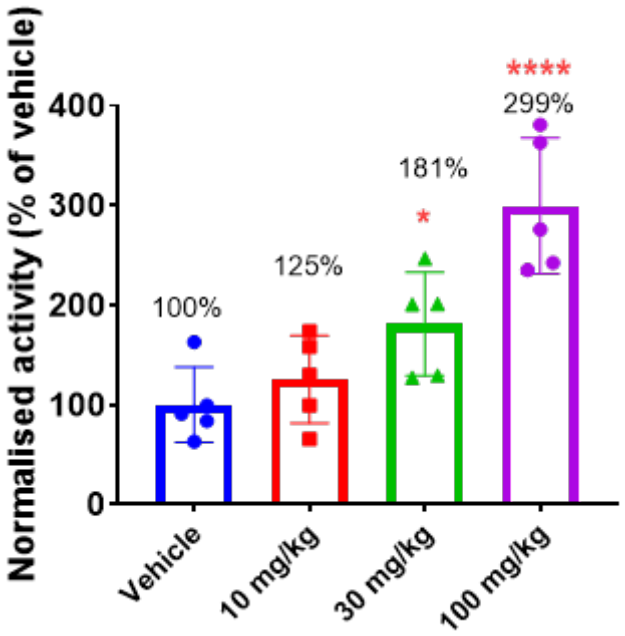
Figure 2. Sepiapterin を投与した Pah¬R261Q PKU マウスにおける Phe 負荷後の血中 Phe 濃度推移




**略語：**Phe＝フェニルアラニン、PKU＝フェニルケトン尿症

Phe 濃度の低下は、PAH 酵素活性の上昇と一致していた（Figure 3）。溶媒で標準化したとき、PAH の酵素活性は、sepiapterin 10、30 及び 100 mg/kg の用量で、それぞれ 25%、81%及び 199%増加した。Sepiapterin 投与による PAH タンパク質量に統計学的に有意な変化は認められなかった。

Figure 3. Sepiapterin 投与 Pah¬R261Q PKU マウスにおける PAH 酵素活性




**略語：**PAH＝フェニルアラニン水酸化酵素、PKU＝フェニルケトン尿症

結論として、*PahR261Q* PKU マウスに sepiapterin 10、30 及び 100 mg/kg を強制経口投与したときは、用量依存的に血中 Phe 濃度が低下し、PAH 酵素活性が上昇した。

### 2.2.2 In vivo における sepiapterin の活性を明らかにしたその他の試験及び査読付き文献

Sepiapterin は他の様々な動物モデルで評価されており、in vivo で NOS のような $BH_4$ 依存性酵素を増強することが明らかになっている。

$BH_4$：$BH_2$ 比が低いと、NOS の脱共役を引き起こし、一酸化窒素生成の減少及びスーパーオキシド生成の増加に繋がり、その結果、さらなる酸化ストレス、内皮細胞機能不全及び炎症に至ることが示されている（Alkaitis and Crabtree 2012）。マウスでは、sepiapterin の経口投与により、$BH_4$ 濃度が上昇し、NOS 活性が回復するために、炎症が抑制された（Cardnell 2013）。また、マウスに sepiapterin を投与すると、それによって生じた NOS の再結合が内皮細胞機能不全を抑制し、血管系の正常化を促進することも示されている（Rabender 2018, Rabender 2021）。

一酸化窒素は、胃運動の調節における主要な神経伝達物質でもある（Takahashi 2003）。糖尿病患者では、消化管における神経型一酸化窒素合成酵素（nNOS）の発現低下、及びそれに伴う局所的な一酸化窒素産生の減少により、胃不全麻痺（胃排出の遅延）が認められる。糖尿病ラットでは、sepiapterin の投与により、nNOS 機能の糖尿病誘発性変化が回復し、胃不全麻痺が軽減されることが示された（Gangula 2010, Gangula 2018）。この結果は、糖尿病性胃不全麻痺被験者を対象とした臨床試験で、sepiapterin が胃の調節能を改善することでも裏付けられている（Abell 2021）。

Table 4 にまとめたこれらの査読付き文献及び動物モデルを用いて sepiapterin を評価した他の様々な試験から、sepiapterin が in vivo で生物活性を有することが明らかになった。

Table 4. Sepiapterin の in vivo 活性を評価した特定の非臨床試験

| モデル | **Sepiapterin を投与したときの in vivo 作用** | 参考文献 |
|---|---|---|
| DSS 誘発性大腸炎マウスモデル | 炎症誘発性サイトカイン産生の減少、タンパク質のチロシンニトロ化（ニトロ酸化ストレスのマーカー）の低下 | （Cardnell 2013） |
| MMTV-neu マウス | 内皮細胞機能不全の軽減、血管正常化の促進 | （Rabender 2018） |
| マウス全身照射 | 炎症誘発性サイトカイン産生の減少、内皮細胞機能不全に関連することが知られている放射線誘発性損傷の改善 | （Rabender 2021） |
| マウスの高濃度酸素誘発性網膜症 | NOS 活性上昇、高濃度酸素誘発性内皮損傷の減少 | （Edgar 2017） |
| $BH_4$ 欠損 hph-1 マウスの酸素誘発性網膜症 | 細胞死の減少。これは NOS 活性の増加及び酸化還元状態の改善と一致した | （Edgar 2023） |
| 糖尿病ラット | nNOS 機能の正常化による胃運動性の改善 | （Gangula 2010）<br>（Gangula 2018） |

**略語：**$BH_4$＝テトラヒドロビオプテリン、DSS=デキストラン硫酸ナトリウム、MMTV＝マウス乳癌ウイルス、NOS＝一酸化窒素合成酵素、nNOS＝神経型 NOS、VCAM1＝血管細胞接着分子 1

## 3. 副次的薬理試験

94 種の特有のオフターゲットアッセイを用いて、in vitro でオフターゲット相互作用の潜在的リスクを評価した（PTC923-2021-003 試験、モジュール 2.6.3、表 2.6.3.3）。この in vitro 試験には、87 種類のアッセイからなる安全性パネルが含まれており、このパネルには業界が提案する 44 種類の標的（Bowes 2012）すべて及び追加の副次的 PD の標的が含まれていた。また、この in vitro 試験には、44 種類のアッセイからなる薬物乱用パネルも含まれていた（うち 37 種類のアッセイは 87 種類のアッセイからなる安全性パネルと重複していた）。Sepiapterin 10 µM とのインキュベーションにより計 94 種の特有のオフターゲットアッセイを実施した。検討したいずれの受容体についても 50%を超える阻害及び刺激は認められなかったことから、sepiapterin に重大なオフターゲット相互作用が生じる可能性は低いことが示された。

# 4. 安全性薬理試験

呼吸系、中枢神経系及び心血管系を評価する安全性薬理試験において、sepiapterin の有害作用は認められなかった。

呼吸系及び中枢神経系の機能は、Sprague Dawley ラットの GLP 適合 14 日間及び 13 週間反復投与試験（それぞれ、CNSA-TOX-001-2017 試験及び CNSA-TOX-001-2018 試験）において評価した。

心血管系に対する安全性薬理は、in vitro 及び in vivo GLP 適合試験において評価した。ヒト胎児腎由来 293（HEK293）細胞を用いてヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子（hERG）急速活性型遅延整流カリウム電流（$IK_r$）に及ぼす sepiapterin（CNSA-PHARM-001-2017 試験）及び $BH_4$（PTC923-2023-056 試験）の影響を in vitro で評価した。14 日間（CNSA-TOX-002-2017 試験）、13 週間（CNSA-TOX-002-2018 試験）及び 9 ヵ月間（PTC923-2020-004 試験）の反復投与試験において in vivo でマーモセットの心血管機能を評価した。

データの一覧表をモジュール 2.6.3、表 2.6.3.4 に示す。

## 4.1 呼吸系

**Sprague Dawley ラット 14 日間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（GLP 適合）**

CNSA-TOX-001-2017 試験

**Sprague Dawley ラット 13 週間強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適合）**

CNSA-TOX-001-2018 試験

呼吸機能は、Sprague Dawley ラット 14 日間及び 13 週間反復投与試験において評価した。無麻酔の雌（CNSA-TOX-001-2017 試験）及び雄（CNSA-TOX-001-2018 試験）ラットを、呼吸器モニタリングシステムに接続したプレチスモグラフチャンバーを用いて試験 1 日目に評価した。CNSA-TOX-001-2017 試験では溶媒又は sepiapterin を 100、300 若しくは 1,000 mg/kg の用量で、CNSA-TOX-001-2018 試験では溶媒又は sepiapterin を 30、100 若しくは 300 mg/kg の用量で、ラットに経口投与した。呼吸パラメータは、投与前のベースライン値を設定するために投与の 1 時間以上前、及び投与後は、0.5～1.5 時間、5.5～6.5 時間及び 24～25 時間（各時点 1 時間以上）の時点で 5 分間の平均値を記録した。一回換気量、分時換気量及び呼吸数をモニターした。

ベースラインからの変化率を用いて、連日投与の初回投与後の呼吸機能検査結果を解析したところ、各呼吸パラメータに及ぼす sepiapterin の影響は認められなかった。統計学的に有意差のあった変動［初回投与後 5.5～6.5 時間での呼吸数、ただし、対照群と一対比較では差なし（CNSA-TOX-001-2017 試験）］をはじめとして、様々な群で認められた呼吸パラメータの変動はいずれも、偶発的で本モデルでは正常な変動だと判断された。

## 4.2 中枢神経系

**Sprague Dawley ラット 14 日間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（GLP 適合）**

CNSA-TOX-001-2017 試験

**Sprague Dawley ラット 13 週間強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適合）**

CNSA-TOX-001-2018 試験

中枢神経系の機能は、Sprague Dawley ラット 14 日間及び 13 週間反復投与試験において評価した。CNSA-TOX-001-2017 試験では溶媒又は sepiapterin を 100、300 若しくは 1,000 mg/kg の用量で、CNSA-TOX-001-2018 試験では溶媒又は sepiapterin を 30、100 若しくは 300 mg/kg の用量で、ラットに経口投与した。機能観察総合評価法（FOB）は、主試験のすべての雄（CNSA-TOX-001-2017 試験）及びすべての雌（CNSA-TOX-001-2018 試験）を対象として、投与前（投与開始前 4 日以内）並びに初回投与後 1、6 及び 24 時間の 4 回実施した。

FOB 評価は、オープンフィールド、手技的、生理学的及び神経・筋機能の評価など、中枢神経系に対する影響を検討する一連の観察評価項目から構成された。

Sepiapterin に関連した量的及び質的な FOB 変化は認められなかった。統計的有意差のあった変動［300 mg/kg（中用量）を初回投与後 1 時間での前肢握力の用量非依存性の変化（CNSA-TOX-001-2017 試験）］をはじめとして、様々な群で認められたすべての量的及び質的 FOB の変動はいずれも、偶発的で本モデルでは正常な変動だと判断された。

## 4.3 心血管系

### 4.3.1 In vitro：ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子

#### 4.3.1.1 ヒト胎児腎由来細胞に発現させたクローン化 hERG カリウムチャネルに対する sepiapterin の作用（GLP 適合）

CNSA-PHARM-001-2017 試験

本試験の目的は、hERG チャネルを発現するように安定的に遺伝子導入した HEK293 細胞の hERG $IK_r$ に対する sepiapterin の影響を in vitro で検討することであった。マニュアルパッチクランプ法を用いて実施した。

本試験は、濃度範囲決定のための第 1 相及び実験相としての第 2 相の 2 つの相で実施するようデザインされた。第 1 相では、0 μM 又は 30 μM の sepiapterin に細胞を曝露させた。第 2a 相では、陽性対照テルフェナジンの 0.0001～1 μM の 5 濃度で細胞を処理した。第 2b 相では、sepiapterin の 30 μM 超の濃度での追加実験が計画されたが、第 1 相で、濃度 30 μM の sepiapterin で得られた阻害率が低かったため（電流の低下が 20%未満）、第 2b 相は実施しなかった。

テルフェナジンは 0.01 μM 以上で有意な阻害作用を示し、算出した 50%阻害濃度（$IC_{50}$）は 0.0294 μM であったことから、本試験系の妥当性が確認された。

Sepiapterin を用いた評価では、段階的ランプ法により hERG $IK_r$ 振幅の変化を測定した。最大阻害率は 30 μM で 1.98±5.99%（平均±標準偏差）であり、sepiapterin に顕著な阻害作用は認められなかった。

最大阻害率が 50%未満であったため、hERG カリウム電流に対する sepiapterin の阻害作用の $IC_{50}$ は算出できなかった。したがって sepiapterin の $IC_{50}$ は 30 µM（約 7,000 ng/mL）を超えると結論した。

#### 4.3.1.2 (6R)-5,6,7,8-tetrahydroLbiopterin dihydrochloride：安定的に遺伝子導入した HEK293 細胞で記録した hERG テール電流に対する作用（GLP 適合）

PTC923-2023-056 試験

Sepiapterin は経口投与後、速やかかつ広範に $BH_4$ に変換されるため、合成 $BH_4$ である (6R)--5,6,7,8-tetrahydroLbiopterin dihydrochloride、（(6R)$BH_4$）を in vitro の hERG 試験で評価した。本試験の目的は、hERG K+チャネル電流に及ぼす(6R)$BH_4$ の急性作用を、hERG チャネルを安定的に発現する HEK293 細胞を用いて測定し、in vitro で明らかにすることであった。

(6R)$BH_4$ は名目濃度 3.14 µg/mL（10 µM）及び 314.17 µg/mL（1,000 µM）で、いずれの保存条件下（室温、生理的温度付近、又は冷蔵）でも HEPES 緩衝生理食塩水（HBPSS）中で不安定であったことから、到達濃度分析用サンプルは安定化剤であるアスコルビン酸を含む共溶媒中に直接採取した。(6R)$BH_4$ の安定性は、HBPSS 溶液中の濃度に基づいて、最長 7 日間まで共溶媒中で冷蔵保存（2℃～8℃）した場合のみを測定し、名目濃度 3.14 µg/mL 及び 314.17 µg/mL で安定であることが確認された。非抽出 HBPSS 溶液中の安定性は確立されなかった。

HBPSS 溶液中では(6R)$BH_4$ の安定性が欠如していたために、実際の hERG 試験で用いた試験溶液の評価ができなかった。そのため、(6R)$BH_4$ の到達濃度の製剤分析をサテライト試験で評価した。この試験では、サンプルを試験溶液の容器（潅流前）及び記録チャンバー（潅流後）から採取し、アスコルビン酸を含む共溶媒中に直接希釈した。

抽出 HBPSS 溶液中の(6R)$BH_4$ の名目濃度が 1,000 µM であった試験溶液では、共溶媒中の潅流後サンプルの名目濃度-13.4%からの平均偏差に基づき、到達濃度を 866 µM とみなした。

評価した到達濃度（866 µM）では、溶媒処理細胞と比較して、(6R)$BH_4$ による hERG テール電流の振幅の阻害は認められなかった。同時点の溶媒対照で補正したとき、866 µM の(6R)$BH_4$ では、hERG テール電流振幅にはばらつきがあり、ベースライン値の 131.7%～492.4%のレベルで増大した。このばらつきは、この高濃度が細胞に及ぼす影響によるものと考えられた。(6R)$BH_4$ の添加後に記録の品質が低下したことから、(6R)$BH_4$ に対する HEK293 細胞の忍容性が不良であり、細胞膜及び／又は細胞の健康状態が変化した可能性が示された。したがって、hERG テール電流の振幅の変化は正確でない可能性がある。

低濃度の(6R)$BH_4$ の影響は、試験法開発及び安定性試験中に認められた安定性の問題により評価しなかった。

結論として、(6R)$BH_4$ は、溶媒投与細胞と比較して、866 µM（272 µg/mL）の(6R)$BH_4$ の到達濃度で hERG テール電流振幅を阻害しなかった。観察された(6R)$BH_4$ による hERG テール電流の振幅の増大にはばらつきがあり、細胞膜及び／又は細胞の健康状態が損なわれている可能性があった。したがって、テール電流の振幅の変化は正確ではない可能性がある。

### 4.3.2 In vivo：マーモセットにおける心電図検査

マーモセット反復経口投与試験で心電図検査を実施した。心電図（ECG）は軽度ケタミン麻酔下で、認定心臓専門獣医が実施した。

#### 4.3.2.1 Sepiapterin のマーモセット 14 日間（強制）経口投与毒性試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験（GLP 適合）

CNSA-TOX-002-2017 試験

14 日間試験では、マーモセットに溶媒又は 100、300 又は 1,000 mg/kg/日の sepiapterin を経口投与した。以下の時点で全動物の心電図を記録した。投与前、投与 1 日目及び 11 日目（主試験及び回復群の動物）並びに 13 日目（主試験の雌）の投与後約 1～3 時間、さらに、回復群の動物では 4 週目にも実施した。P 波、PR 間隔、QRS 群、ST 部分、QT 間隔及び T 波を定性的に評価した。投与に関連した心血管系への影響は認められなかった。

#### 4.3.2.2 Sepiapterin のマーモセット 13 週間（強制）経口投与毒性試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験（GLP 適合）

CNSA-TOX-002-2018 試験

13 週間試験では、マーモセットに溶媒又は 30、100、又は 300 mg/kg/日の sepiapterin を経口投与した。以下の時点で全動物の心電図を記録した。試験前、投与 1 日目の投与後約 1～3 時間、さらに、回復動物では、6、13 及び 17 週目にも実施した。心電図は、心拍リズムの異常又は変化、心伝導、及び ST 部分の変化を定性的に評価した。投与に関連した心血管系への影響は認められなかった。

#### 4.3.2.3 マーモセット 9 ヵ月間（強制）経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（GLP 適合）

PTC923-2020-004 試験

9 ヵ月間試験では、マーモセットに溶媒又は 30、100 又は 300 mg/kg/日の sepiapterin を経口投与した。試験前並びに 26 週目及び 39 週目の投与後約 1～3 時間に全動物の心電図を記録した。心拍数及び心拍リズムの評価並びに PR 間隔、QRS 群及び QT 間隔の期間を含む ECG を定性的に評価した。投与に関連した心血管系への影響は認められなかった。

## 5. 薬力学的薬物相互作用試験

Sepiapterin の副次的 PD 試験では、オフターゲット作用は確認されなかった。PD 薬物相互作用試験は実施していない。Sepiapterin から $BH_4$ への変換に関与する酵素、$BH_4$ の代謝及び再生に関連する潜在的な薬物相互作用については、モジュール 2.7.2、3.3.3.1.2 項で考察する。

## 6. 考察及び結論

Sepiapterin は、天然に存在し、プテリンサルベージ経路を介して必須の補因子 $BH_4$ を生合成するための内因性中間体である sepiapterin の合成品である。PTC 社が評価したすべての動物種で、sepiapterin は経口投与後速やかに $BH_4$ に代謝される。

Sepiapterin は、小児及び成人 PKU の治療薬として開発中である。非臨床試験によって、sepiapterin の相互に関連するいくつかの作用機序が裏付けられた。これらの作用機序はいずれも PAH 酵素活性を亢進させて Phe を減少させる。また、sepiapterin は in vivo で生物活性を有することが示された。*PahR261Q* PKU マウスモデルにおいて、sepiapterin を評価したときは、sepiapterin の経口投与により、PAH 活性が増強し、Phe 負荷後の血中 Phe 濃度が低下した。

94 種の特有のオフターゲットアッセイを用いて、in vitro で sepiapterin とのオフターゲット相互作用の潜在的リスクを評価した。検討した副次的 PD 標的のいずれについても 50%を超える阻害又は刺激は認められなかったことから、sepiapterin が重大なオフターゲット相互作用を生じる可能性は低いことが示された。

安全性薬理試験で sepiapterin の有害作用は認められなかった。呼吸系及び中枢神経系に対する sepiapterin の安全性薬理評価において、sepiapterin に関連する影響は認められなかった。すなわち、自発運動、常同行動及び取扱いに対する反応性の増加、痙攣、過度の体重減少並びに呼吸数の変化はなかった。

心血管系に対する安全性薬理を in vitro 及び in vivo 試験で評価した。Sepiapterin は検討した最高濃度（30 μM）で hERG チャネル電流に明らかな影響を及ぼさず、$BH_4$ は 866 μM の到達濃度で hERG テール電流を阻害しなかった。In vivo 試験では、1,000 mg/kg/日までのすべての用量群の雌雄マーモセットにおいて、sepiapterin に関連した心血管系への影響（血圧及び心拍数の変化など）は認められなかった。

要約すると、sepiapterin の非臨床薬理試験は、小児及び成人 PKU の治療薬としての sepiapterin の概念実証を提供する。副次的 PD 及び安全性薬理試験から、市販予定の臨床用量での sepiapterin の投与は安全であることが示されている。

## 7. 参考文献

Abell, TL, Garcia, LM, Wiener, GJ, Wo, JM, Bulat, RS and Smith, N. Effect of Oral CNSA001 (sepiapterin, PTC923) on Gastric Accommodation in Women with Diabetic Gastroparesis: A Randomized, Placebo-Controlled, Phase 2 Trial. J Diabetes Complications 2021;35(9):107961.

Alkaitis, MS and Crabtree, MJ. Recoupling the cardiac nitric oxide synthases: tetrahydrobiopterin synthesis and recycling. Curr Heart Fail Rep 2012;9(3):200-210.

Aubi, O, Prestegard, KS, JungKc, K, Shi, TS, Ying, M, Grindheim, AK, et al. The PahR261Q mouse reveals oxidative stress associated with amyloid-like hepatic aggregation of mutant phenylalanine hydroxylase. Nat Commun 2021;12(1):2073.

Bowes, J, Brown, AJ, Hamon, J, Jarolimek, W, Sridhar, A, Waldron, G and Whitebread, S. Reducing Safety-Related Drug Attrition: The Use of In Vitro Pharmacological Profiling. Nat Rev Drug Discov 2012;11(12):909-922.

Cardnell, R, Rabender, C, Ross, G, Guo, C, Howlett, E, Alam, A, et al. Sepiapterin Ameliorates Chemically Induced Murine Colitis and Azoxymethane-Induced Colon Cancer. J Pharmacol Exp Ther 2013;347:117-125.

Edgar, KS, Cunning, C, Gardiner, TA and McDonald, DM. BH4 Supplementation Reduces Retinal Cell Death in Ischaemic Retinopathy. Sci Rep 2023;13(1):21292.

Edgar, KS, Galvin, OM, Collins, A, Katusic, ZS and McDonald, DM. BH4-Mediated Enhancement of Endothelial Nitric Oxide Synthase Activity Reduces HyperoxiaInduced Endothelial Damage and Preserves Vascular Integrity in the Neonate. Invest Ophthalmol Vis Sci 2017;58(1):230-241.

Erlandsen, H, Pey, AL, Gamez, A, Perez, B, Desviat, LR, Aguado, C, et al. Correction of Kinetic and Stability Defects by Tetrahydrobiopterin in Phenylketonuria Patients with Certain Phenylalanine Hydroxylase Mutations. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101(48):16903-16908.

Feng, Y, Feng, Y, Gu, L, Liu, P, Cao, J and Zhang, S. The Critical Role of Tetrahydrobiopterin (BH4) Metabolism in Modulating Radiosensitivity: BH4/NOS Axis as an Angel or a Devil. Front Oncol 2021;11:720632.

Flydal, MI, Alcorlo-Pages, M, Johannessen, FG, Martinez-Caballero, S, Skjaerven, L, FernandezLeiro, R, et al. Structure of Full-Length Human Phenylalanine Hydroxylase in Complex With Tetrahydrobiopterin. Proc Natl Acad Sci U S A 2019;116(23):11229-11234.

Gangula, PR, Challagundla, KB, Ravella, K, Mukhopadhyay, S, Chinnathambi, V, Mittal, MK, et al. Sepiapterin Alleviates Impaired Gastric nNOS Function in Spontaneous Diabetic Female Rodents Through NRF2 mRNA Turnover and miRNA Biogenesis Pathway. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2018;315(6):G980-G990.

Gangula, PR, Mukhopadhyay, S, Pasricha, PJ and Ravella, K. Sepiapterin Reverses the Changes in Gastric nNOS Dimerization and Function in Diabetic Gastroparesis. Neurogastroenterol Motil 2010;22(12):1325-1331, e1351-1322.

Gersting, S, Barroso, M, Etzold, S and Smith, N. The Effects of the Pharmacological Chaperone Sepiapterin on Phenylalanine Hydroxylase Activity of Common Variants in Phenylketonuria. Genetics in Medicine Open 2023;1(1):17.

Hasegawa, H, Sawabe, K, Nakanishi, N and Wakasugi, OK. Delivery of Exogenous Tetrahydrobiopterin ($BH_4$) to Cells of Target Organs: Role of Salvage Pathway and Uptake of Its Precursor in Effective Elevation of Tissue $BH_4$. Mol Genetics Metab 2005;86 Suppl 1:S2-S10.

Hasegawa, H, Yamamoto, K, Sawabe, K, Matsuhashi, Y, Oguro, K, Wakasugi, OK and Nakanishi, N (2002). Cells Take up BH4, Oxidize It and the Oxidized Biopterin is Preferentially Released. In Chemistry and Biology of Pteridines and Folates: Proceedings of the 12th International Symposium on Pteridines and Folates, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, June 17–22, 2001. S. Milstien, G. Kapatos, R. A. Levine and B. Shane; Boston, MA, Springer US**:**205-210.

ICH. (2000). "S7A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals." from https://database.ich.org/sites/default/files/S7A_Guideline.pdf.

ICH. (2005). "S7B: The Nonclinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals." from https://database.ich.org/sites/default/files/S7B_Guideline.pdf.

Niesen, FH, Berglund, H and Vedadi, M. The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interactions that promote protein stability. Nat Protoc 2007;2(9):2212-2221.

Pey, AL, Thorolfsson, M, Teigen, K, Ugarte, M and Martinez, A. Thermodynamic Characterization of the Binding of Tetrahydropterins to Phenylalanine Hydroxylase. J Am Chem Soc 2004;126(42):13670-13678.

Rabender, C, Bruno, N, Alam, A, Sundaresan, G, Zweit, J and Mikkelsen, R. Sepiapterin Enhances Tumor Radio- and Chemosensitivities by Promoting Vascular Normalization. J Pharmacol Exp Ther 2018;365:536-543.

Rabender, CS, Mezzaroma, E, Yakovlev, VA, Mauro, AG, Bonaventura, A, Abbate, A and Mikkelsen, RB. Mitigation of Radiation-Induced Lung and Heart Injuries in Mice by Oral Sepiapterin after Irradiation. Radiat Res 2021;195(5):463-473.

Sawabe, K, Suetake, Y, Nakanishi, N, Wakasugi, KO and Hasegawa, H. Cellular Accumulation of Tetrahydrobiopterin Following Its Administration is Mediated by Two Different Processes; Direct Uptake and Indirect Uptake Mediated by a MethotrexateSensitive Process. Mol Genet Metab 2005;86 Suppl 1:S133-138.

Sawabe, K, Wakasugi, KO and Hasegawa, H. Tetrahydrobiopterin Uptake in Supplemental Administration: Elevation of Tissue Tetrahydrobiopterin in Mice Following Uptake of the Exogenously Oxidized Product 7,8-Dihydrobiopterin and Subsequent Reduction by an Anti-Folate-Sensitive Process. J Pharmacol Sci 2004;96(2):124-133.

Sawabe, K, Yamamoto, K, Harada, Y, Ohashi, A, Sugawara, Y, Matsuoka, H and Hasegawa, H. Cellular Uptake of Sepiapterin and Push-Pull Accumulation of Tetrahydrobiopterin. Mol Genetics Metab 2008;94(4):410-416.

Sawabe, K, Yamamoto, K, Kamata, T, Wakasugi, KO and Hasegawa, H (2002). Sepiapterin Administration Raises Tissue BH4 Levels More Efficiently Than BH4 Supplementation in Normal Mice. In Chemistry and Biology of Pteridines and Folates. S. Milstein, G. Kapatos, R. A. Levine and B. Shane; Boston, Springer**:**199-204.

Smith, N, Longo, N, Levert, K, Hyland, K and Blau, N. Phase I Clinical Evaluation of CNSA001 (Sepiapterin), a Novel Pharmacological Treatment for Phenylketonuria and Tetrahydrobiopterin Deficiencies, in Healthy Volunteers. Mol Genetics Metab 2019;126(4):406-412.

Takahashi, T. Pathophysiological Significance of Neuronal Nitric Oxide Synthase in the Gastrointestinal Tract. J Gastroenterol 2003;38(5):421-430.

Trunzo, R, Santacroce, R, D'Andrea, G, Longo, V, De Girolamo, G, Dimatteo, C, et al. Phenylalanine Hydroxylase Deficiency in South Italy: Genotype-Phenotype Correlations, Identification of a Novel Mutant PAH Allele and Prediction of BH4 Responsiveness. Clin Chim Acta 2015;450:51-55.

Werner, ER, Blau, N and Thony, B. Tetrahydrobiopterin: Biochemistry and Pathophysiology. Biochem J 2011;438(3):397-414.

Yamamoto, K, Nagano, M, Nakanishi, N and Hasegawa, H. A Comparison of Sepiapterin and Tetrahydrobiopterin Uptake by BRL2H3 Cells. Pteridines 1996;7(4):154-156.

# 目次

略語一覧及び用語の定義 ..... 2
2.6.3.1 薬理試験一覧 ..... 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 ..... 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 ..... 6
2.6.3.4 安全性薬理試験 ..... 7
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 10

# 略語一覧及び用語の定義

| 略語又は特殊な用語 | 用語 | 説明 |
|---|---|---|
| (6R) $BH_4$ | (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin dihydrochloride | (6R)¬5,6,7,8¬tetrahydro¬L¬biopterin dihydrochloride |
| $BH_4$ | tetrahydrobiopterin | テトラヒドロビオプテリン |
| Admin | administration | 投与 |
| CNS | central nervous system | 中枢神経系 |
| Conc | concentration | 濃度 |
| CTD | Common Technical Document | コモンテクニカルドキュメント |
| ECG | electrocardiogram | 心電図 |
| FOB | functional observation battery | 機能観察総合評価法 |
| HEK293 | human embryonic kidney 293 | ヒト胎児腎由来 293 |
| hERG | human ether-á-go-go-related gene | ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子 |
| $IC_{50}$ | half-maximal inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| $IK_r$ | rapid delayed rectifier potassium current | 急速活性型遅延整流カリウム電流 |
| IP | intraperitoneal | 腹腔内 |
| N | total number evaluated | 総数 |
| NA | not applicable | 該当なし |
| NHP | nonhuman primate | ヒト以外の霊長類 |
| NOAEL | no observed adverse effect level | 無毒性量 |
| PAH | phenylalanine hydroxylase | フェニルアラニン水酸化酵素 |
| PD | pharmacodynamic(s) | 薬力学 |
| PK | pharmacokinetic(s) | 薬物動態 |
| PKU | phenylketonuria | フェニルケトン尿症 |
| QT | ventricular depolarization-repolarization interval on ECG | ECG 上の心室の脱分極と再分極の間隔 |
| SD | standard deviation | 標準偏差 |

## 2.6.3.1 薬理試験一覧

| Overview | | | | Test Article: Sepiapterin | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type of Study** | **Test System** | **Method of Administration** | **Testing Facility** | **GLP** | **Study Number** | **CTD Location** |
| **Primary Pharmacodynamics** | | | | | | |
| **In Vitro** | | | | | | |
| Sepiapterin effect on activity and stability of PAH variants in cell culture | COS-7 cells | In vitro | [redacted] Germany | Non-GLP | PTC923-2023-099 | 4.2.1.1 |
| **In Vivo** | | | | | | |
| Production of $BH_4$ after single oral dose of L-sepiapterin or $BH_4$ to male mice | C57BL/6 male mice: blood, liver, kidney, urine | Oral, gavage | [redacted] USA | Non-GLP | 16H0208S-X01 (in-life portion)/ 6016-2880 (PK evaluations) | 4.2.2.3 |
| Production of $BH_4$ after oral administration of sepiapterin to mice | CD-1 male mice: plasma, liver, kidney, brain | Oral, gavage | [redacted] USA | Non-GLP | PTC923-2023-046 | 4.2.2.3 |
| Activity of sepiapterin in a mouse model of PKU | Mice homozygous for *Pah* with the R261Q mutation on a C57BL/6 background | Oral, gavage | [redacted] Norway | Non-GLP | PTC923-2024-114 | 4.2.1.1 |
| | | | | | | |
| **Secondary Pharmacodynamics** | | | | | | |
| Pharmacology, binding and enzyme and uptake assays, drug abuse screening | 87 pharmacology safety panel assays and 44 drug abuse panel assays (37 overlapping) | In vitro | [redacted] France | Non-GLP | PTC923-2021-003 | 4.2.1.2 |
| **Safety Pharmacology** | | | | | | |
| **Respiratory – In Vivo** | | | | | | |
| Repeat-dose, 14-day study; includes respiratory function, CNS (FOB) | Rat, Sprague Dawley | Oral, gavage | [redacted] Canada | GLP | CNSA-TOX-001-2017 | 4.2.3.2 |

| Overview | | | | Test Article: Sepiapterin | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type of Study** | **Test System** | **Method of Administration** | **Testing Facility** | **GLP** | **Study Number** | **CTD Location** |
| Repeat-dose, 13-week study; includes respiratory function, CNS (FOB) | Rat, Sprague Dawley | Oral, gavage | [redacted] Canada | GLP | CNSA-TOX-001-2018 | 4.2.3.2 |
| **Central Nervous System (Functional Observation Battery) – In Vivo** | | | | | | |
| Repeat-dose, 14-day study; includes respiratory function, CNS (FOB) | Rat, Sprague Dawley | Oral, gavage | [redacted] Canada | GLP | CNSA-TOX-001-2017 | 4.2.3.2 |
| Repeat-dose, 13-week study; includes respiratory function, CNS (FOB) | Rat, Sprague Dawley | Oral, gavage | [redacted] Canada | GLP | CNSA-TOX-001-2018 | 4.2.3.2 |
| **Cardiovascular – In Vitro** | | | | | | |
| Effects on hERG channel current with sepiapterin | Stably transfected HEK293 cells | In vitro | [redacted] Canada | GLP | CNSA-PHARM-001-2017 | 4.2.1.3 |
| Effects on hERG tail current with (6R) $BH_4$ | Stably transfected HEK293 cells | In vitro | [redacted] UK | GLP | PTC923-2023-056 | 4.2.1.3 |
| **Cardiovascular – In Vivo** | | | | | | |
| Repeat-dose, 14-day study; includes ECG | Monkey, marmoset | Oral, gavage | [redacted] USA | GLP | CNSA-TOX-002-2017 | 4.2.3.2 |
| Repeat-dose, 13-week study; includes ECG | Monkey, marmoset | Oral, gavage | [redacted] USA | GLP | CNSA-TOX-002-2018 | 4.2.3.2 |
| Repeat-dose, 9-month study; includes ECG | Monkey, Marmoset | Oral, gavage | [redacted] USA | GLP | PTC923-2020-004 | 4.2.3.2 |
| **Pharmacodynamic Drug Interactions** | | | | | | |
| No studies were conducted. The secondary PD assays conducted with sepiapterin indicated no off-target effects. | | | | | | |

**Abbreviations**: (6R) $BH_4$, (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin dihydrochloride; $BH_4$, tetrahydrobiopterin; CNS, central nervous system; CTD, Common Technical Document; ECG, electrocardiogram; FOB, functional observation battery; HEK293, human embryonic kidney 293; hERG, human ether-à-go-go related gene; IP, intraperitoneal; PAH, phenylalanine hydroxylase; PD, pharmacodynamic(s); PK, pharmacokinetic(s); PKU, phenylketonuria

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験

| Test Article: Sepiapterin | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type of Study** | **Species/ Strain** | **Method of Administration** | **Dose Level or Conc** | **Noteworthy Findings** | **GLP Compliance** | **Study Number** |
| In vitro; sepiapterin effect on activity and stability of PAH variants in cell culture | COS-7 cells | In vitro<br>Study 1: single transfection of 62 variants;<br>Study 2: co-transfection of 15 variant couplets | 0, 5, 20 µM for 48 hours | Sepiapterin increased enzymatic activity of multiple mutant PAH variants, including 10 of the 15 most common PKU genotypes.<br>Sepiapterin stabilized mutant PAH protein under conditions of thermal stress. | Non-GLP | PTC923-2023-099 |
| In vivo; production of $BH_4$ after single oral dose of L-sepiapterin or $BH_4$ to male mice | Mouse/C57BL/6 (male): samples of blood, liver, kidney, urine | Oral, gavage | 20, 60, 180 mg/kg | Exposure of $BH_4$ was higher in tissues (liver, kidney) following administration of L-sepiapterin - than following a similar dose of $BH_4$, consistent with greater uptake of sepiapterin into tissues. | Non-GLP | 16H0208S-X01 (in-life)/ 6016-2880 (PK) |
| In vivo; production of $BH_4$ after oral administration of sepiapterin to mice | Mouse/CD-1 (male): samples of plasma, liver, kidney, brain | Oral, gavage | 0, 100, 300 mg/kg | Sepiapterin was quickly absorbed, distributed to peripheral tissues, and converted to $BH_4$.<br>Peak $BH_4$ concentrations were observed at 2 hours in plasma and liver and at 4 hours in kidney and brain.<br>Increased $BH_4$ was quickly eliminated from plasma, kidney, and liver.<br>$BH_4$ was well distributed to the liver and kidney; bioavailability of $BH_4$ in the brain was much lower. | Non-GLP | PTC923-2023-046 |
| In vivo; activity of sepiapterin in a mouse model of PKU | Mouse/ C57BL/6 homozygous for *Pah* with the R261Q mutation on a C57BL/6 background | Oral, gavage | 0, 10, 30, 100 mg/kg | Sepiapterin dose-dependently reduced elevated blood phenylalanine levels induced by a phenylalanine challenge.<br>Sepiapterin dose-dependently increased liver PAH enzyme activity. | Non-GLP | PTC923-2024-114 |

**Abbreviations**: $BH_4$, tetrahydrobiopterin; Conc, concentration; PAH, phenylalanine hydroxylase; PK, pharmacokinetic(s); PKU, phenylketonuria

## 2.6.3.3 副次的薬理試験

| Test Article: Sepiapterin | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type of Study** | **Species/Strain** | **Method of Administration** | **Conc** | **Noteworthy Findings** | **GLP Compliance** | **Study Number** |
| Pharmacology, binding and enzyme and uptake assays, drug abuse screening | Included 87 pharmacology safety panel assays and 44 drug abuse panel assays (37 overlapping with the 87-assay safety panel) | In vitro | 10 µM | There was no inhibition or stimulation >50% observed for any of the receptors studied, indicating that off-target interactions are unlikely. | Non-GLP | PTC923-2021-003 |

**Abbreviations**: Conc, concentration

## 2.6.3.4 安全性薬理試験

| Test Article: Sepiapterin | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Organ Systems Evaluated** | **Species/ Strain** | **Method of Admin** | **Dose (mg/kg)[a] or Conc[b]** | **Gender and N per Group** | **Noteworthy Findings** | **GLP Compliance** | **Study Number** |
| Respiratory - tidal volume, minute volume, respiratory rate | Rat/ Sprague Dawley | Oral, gavage | 0, 100, 300, 1000 | Female; Main Study: 10 animals per dose level | No effects of sepiapterin on respiratory function (as measured by plethysmography) were noted. Any variations in respiratory parameters that were noted in the various groups, including those reaching statistical significance (ie, respiratory rate at 5.5-6.5 hours post first dosing but without pairwise difference from control), were considered incidental or normal variations for this model. | GLP | CNSA-TOX-001-2017 |
| Respiratory - tidal volume, minute volume, respiratory rate | Rat/ Sprague Dawley | Oral, gavage | 0, 30, 100, 300 | Male; Main Study: 10 animals per dose level | No effects of sepiapterin on respiratory function (as measured by plethysmography) were noted. Any variations in respiratory parameters that were noted in the various groups were considered incidental or normal variations for this model. | GLP | CNSA-TOX-001-2018 |
| CNS - FOB evaluations including open-field, manipulative, physiological, neuromuscular | Rat/ Sprague Dawley | Oral, gavage | 0, 100, 300, 1000 | Male; Main Study: 10 animals per dose level | There were no sepiapterin-related quantitative or qualitative FOB changes. Any quantitative or qualitative FOB variations noted in the various groups, including the variation reaching statistical significance (ie, grip strength and forelimb strength during Trial 2 at 1 hour post first dosing at the mid-dose [300 mg/kg]), were considered incidental or normal variations for this model. | GLP | CNSA-TOX-001-2017 |
| CNS - FOB evaluations including open-field, manipulative, physiological, neuromuscular | Rat/ Sprague Dawley | Oral, gavage | 0, 30, 100, 300 | Female; Main Study: 10 animals per dose level | There were no sepiapterin-related quantitative or qualitative FOB changes. Any quantitative or qualitative FOB variations noted in the various groups were considered incidental or normal variations for this model. | GLP | CNSA-TOX-001-2018 |

| Test Article: Sepiapterin | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Organ Systems Evaluated** | **Species/ Strain** | **Method of Admin** | **Dose (mg/kg)[a] or Conc[b]** | **Gender and N per Group** | **Noteworthy Findings** | **GLP Compliance** | **Study Number** |
| Cardiovascular – in vitro effects on hERG channel current with sepiapterin | HEK293 cells stably transfected to express hERG channel | In vitro | 0, 30 µM | NA | Sepiapterin inhibited the hERG $IK_r$ current by (mean±SD) 1.98±5.99% at 30 µM with no significant differences between 0 and 30 µM. The $IC_{50}$ value was estimated to be greater than 30 µM. | GLP | CNSA-PHARM-001-2017 |
| Cardiovascular - in vitro effects on hERG tail current with (6R) $BH_4$ | HEK293 cells stably transfected to express hERG channel | In vitro | Achieved conc of 866 µM (1000 µM, nominal) | NA | (6R) $BH_4$, at the maximum achieved concentration (866 µM), did not inhibit hERG tail current. Following time-matched vehicle correction, (6R) $BH_4$ hERG tail current amplitude increases were variable and accompanied by potential deterioration in cell membrane and/or health properties, so may not be accurate. | GLP | PTC923-2023-056 |
| Cardiovascular - ECG | NHP/ marmoset monkey | Oral, gavage | 0, 100, 300, 1000 | Male and Female; Main Study: 3 animals/sex/ dose level Recovery: 2 animals/sex in 0 and 1000 mg/kg dose levels | No sepiapterin-related cardiovascular effects were observed in either males or females. | GLP | CNSA-TOX-002-2017 |
| | ECG tracings were obtained pretest and approximately 1 to 3 hours postdose on Days 1 and 11 (Main Study and Recovery males and Recovery females), and Day 13 (Main Study females only), and from the Recovery animals during Week 4. P wave, PR interval, QRS complex, ST segment, QT interval, and T wave were qualitatively evaluated.<br>ECG tracings were obtained from 16 females pretest and on Day 1; ECG tracings were obtained from 15 females on Day 13. | | | | | | |
| Cardiovascular - ECG | NHP/ marmoset monkey | Oral, gavage | 0, 30, 100, 300 | Male and Female; Main Study: 4 animals/sex/ dose level Recovery: 2 animals/sex in 0 and 300 mg/kg dose levels | No sepiapterin-related - cardiovascular effects were observed in either males or females. | GLP | CNSA-TOX-002-2018 |
| | ECG tracings were obtained using standard 6 limb leads (I, II, III, aVR, aVL, and aVF) pretest and approximately 1 to 3 hours postdose on Day 1, during Weeks 6 and 13, and during Week 17 for Recovery animals. ECGs were qualitatively evaluated for abnormalities or changes in heart rhythm, cardiac condition, and changes in the ST segment.<br>Two males did not have an ECG recorded for Weeks 6 and 13. One female did not have an ECG recorded for Day 1 and Weeks 6 and 13; one female did not have an ECG recorded for Week 13. | | | | | | |

| Test Article: Sepiapterin | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Organ Systems Evaluated** | **Species/ Strain** | **Method of Admin** | **Dose (mg/kg)[a] or Conc[b]** | **Gender and N per Group** | **Noteworthy Findings** | **GLP Compliance** | **Study Number** |
| Cardiovascular - ECG | NHP/ marmoset monkey | Oral, gavage | 0, 30, 100, <u>300</u> | Male and Female<br>Main Study: 6 animals/sex/ dose level<br>Recovery: 2 animals/sex in 0 and 300 mg/kg levels | No sepiapterin-related cardiovascular effects were observed in either males or females. | GLP | PTC-923-2020-004 |
| | Electrocardiograms were obtained using standard 6 limb leads (I, II, III, aVR, aVL, and aVF) pretest and approximately 1 to 3 hours postdose during Weeks 26 and 39. ECGs were qualitatively evaluated for heart rate and rhythm, and duration of the PR interval, QRS complex, and QT interval. | | | | | | |

**Abbreviations**: (6R) $BH_4$, (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin dihydrochloride; Admin, administration; CNS, central nervous system; Conc, concentration; ECG, electrocardiogram; FOB, functional observation battery; HEK293, human embryonic kidney 293; hERG, human ether-à-go-go-related gene; $IC_{50}$, half-maximal inhibitory concentration; $IK_r$, rapid delayed rectifier potassium current; N, total number evaluated; NA, not applicable; NHP, nonhuman primate; NOAEL, no observed adverse effect level; QT, ventricular depolarization-repolarization interval on ECG; SD, standard deviation

[a] Single dose unless specified otherwise.

[b] For dose/concentration, the NOAEL is identified via underline for the endpoints discussed.

### 2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

No off-target effects were identified from secondary pharmacodynamic (PD) studies with sepiapterin. No PD drug interaction studies have been conducted. The potential drug interactions related to the enzymes involved in conversion of sepiapterin to $BH_4$ and $BH_4$ metabolism and regeneration are discussed in Module 2.7.2, Section 3.3.3.1.2.