フェニル酪酸グリセロール
ラヴィクティ内用液 1.1 g/mL

第 2 部 CTD の概要

2.4 非臨床試験の概括評価

株式会社オーファンパシフィック

略号一覧表

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
4-PBA	4-phenylbutyric acid or phenylbutyrate (PBA)	4-フェニル酪酸
^{14}C	carbon radiolabel	放射性炭素
AUC	area under the concentration vs. time curve	血中濃度－時間曲線下面積
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
CEL	carboxyl ester lipase	カルボキシルエステルリパーゼ
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum concentration of the drug after dosing	投与後の最高血中濃度
CoA	coenzyme A	コエンザイム A
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DG	day of gestation	妊娠からの日数
GLP	Good Laboratory Practices	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GPB	glycerol phenylbutyrate	フェニル酪酸グリセロール
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎
hERG	human ether-a-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
HPN-100	investigational ingredient code of GPB	HPN-100（GPB の治験薬コード）
IC_{50}	concentration of inhibition by 50%	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
Ki	inhibition constant	阻害定数
mM	mmol/L	mmol/L
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PAA	phenylacetic acid	フェニル酢酸
PAG	phenylacetylglycine	フェニルアセチルグリシン
PAGN	phenylacetylglutamine	フェニルアセチルグルタミン
PBA	phenylbutyrate	フェニル酪酸
PBG	phenylbutyrylglycine	フェニルブチリルグリシン
PBGN	phenylbutyrylglutamine	フェニルブチリルグルタミン
PLRP2	pancreatic lipase related protein 2	膵リパーゼ関連タンパク質 2
PTL	pancreatic triglyceride lipase	膵臓トリグリセリドリパーゼ
QTc	heart rate-corrected QT (interval)	心拍数で補正した QT
SAP	scientific advisory panel	科学諮問委員会
SIF	simulated intestinal fluid	人工腸液
T_{max}	time to C_{max}	投与後の最高血中濃度到達時間
UCD	urea cycle disorder	尿素サイクル異常症

目次

頁
略号一覧表 2
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 薬理試験 4
2.4.1.2 薬物動態試験 4
2.4.1.3 毒性試験 4
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 薬理試験 6
2.4.2.1.1 GPB 及び PBA の効力を裏付ける試験 6
2.4.2.1.2 副次的薬理試験 6
2.4.2.1.3 安全性薬理 6
2.4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験 8
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 薬物動態 9
2.4.3.1.1 分析方法及びバリデーション 11
2.4.3.1.2 吸収 11
2.4.3.1.3 分布 13
2.4.3.1.4 代謝 14
2.4.3.1.5 排泄 14
2.4.3.1.6 薬物動態学的薬物相互作用 15
2.4.3.1.7 その他の薬物動態試験 16
2.4.4 毒性試験 17
2.4.4.1 毒性試験 17
2.4.4.1.1 単回投与毒性試験 19
2.4.4.1.2 反復投与毒性試験 19
2.4.4.1.3 遺伝毒性 19
2.4.4.1.4 がん原性 20
2.4.4.1.4.1 中期発がん性試験 20
2.4.4.1.4.2 長期発がん性試験 20
2.4.4.1.5 生殖発生毒性 20
2.4.4.1.6 幼若動物の毒性試験 21
2.4.4.1.7 局所刺激性 21
2.4.4.1.8 その他の毒性試験 21
2.4.4.1.8.1 代謝物 21
2.4.4.1.8.2 不純物 21
2.4.4.1.8.3 光毒性 22
2.4.5 総括及び結論 23
2.4.6 参考文献 27

2.4 非臨床試験の概括評価

フェニル酪酸グリセロール（GPB、別名 GT4P 又は HPN-100）は、尿素サイクル異常症（UCD）患者の治療用に開発された新規化合物である。また、GPB は、経口摂取後に消化管内でフェニル酪酸（PBA）に代謝され、さらに体内でフェニル酢酸（PAA）に代謝されることから、PBA に対するプロドラッグであり、PAA に対するプレプロドラッグである。

2.4.1 非臨床試験計画概略

PBA は、尿素サイクル異常症（UCD）の治療薬であり、フェニル酪酸ナトリウム（NaPBA）として、日本国内、欧州及び米国で承認を受けている。商標はブフェニール®（日本）、AMMONAPS®（欧州）、BUPHENYL®（米国）である。PBA は PAA に代謝された後、体内の残余窒素と結合することで薬理作用を示す。結合したものは霊長類ではフェニルアセチルグルタミン（PAGN）として、またげっ歯類ではフェニルアセチルグリシン（PAG）として尿中に排泄される。GPB の製剤であるラヴィクティ（RAVICTI®）には添加物は含まれず、純粋な GPB である。以上の理由により、GPB の効力を裏付ける試験、及び副次的薬理試験は実施しなかった。

GPB の臨床開発及び承認申請のために、非臨床試験として、安全性薬理試験、薬物動態試験及び医薬品規制調和国際会議（ICH）M3（R2）に準拠した毒性試験を実施した。これらの試験は、該当する ICH ガイドライン及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP, Good Laboratory Practice）に準拠して実施した。また、これらの試験では、GLP 又は GMP（Good Manufacturing Practice）適合の被験物質を用いた。主要な毒性試験で使用された GPB には主要な不純物が含まれており、これらの試験により不純物の安全性が確認された。主要な毒性試験は、予備試験又は用量設定試験における最大耐量（MTD）までの用量で実施した。ヒトと他の動物種との間の曝露推定に重要な、GPB の主要代謝物のトキシコキネティクスは、バリデーション済みの液体クロマトグラフ質量分析定量法を用いて評価した。

2.4.1.1 薬理試験

中枢神経系、心血管系及び呼吸機能に対する潜在的な有害作用を評価するためにサルを用いた安全性薬理試験を実施し、また、心血管系に対する追加試験としてウサギ心筋を用いたパッチクランプ試験（*in vitro*）及びウサギを用いたカールソンモデル（*in vivo*）試験を実施した。

2.4.1.2 薬物動態試験

GPB を用いた薬物動態試験として、ラット及びサルにおける吸収、分布、代謝及び排泄について評価した。また、*in vitro* での代謝及び薬物相互作用について検討した。

2.4.1.3 毒性試験

一般毒性試験には、ラットとサルを主要な動物種として用いた。サルはヒトと同様に活性代謝物 PAA をフェニルアセチルグルタミン（PAGN）に代謝することから[Moldave K, 1957]、非げっ歯類としてはサルを選択した。なお、PAGN はラット尿中にも低濃度で認められた。ヒトでの代謝物プロファイルは、いずれの動物種とも完全には一致しなかったが、ヒトの代謝物はサル及びラットの代謝物でカバーされ、ヒトのみに特有な代謝物はなかった。GPB の毒性プロファイルは、単回経口投与毒性試験及びマウスにおける最大 13 週間、ラットにおける最大 26 週間、及びサルにおける最大 52 週間の反復経口投与試験で評価した。ICH ガイドラインに従って、遺伝毒性、発

がん性、生殖発生毒性試験を実施した。GPB の *in vitro* 遺伝毒性試験として、細菌を用いた復帰突然変異試験及び染色体異常試験を、*in vivo* 遺伝毒性試験としてラット小核試験を実施した。また、GPB の代謝物である PBA、PAA、PAGN 及びフェニルアセチルグリシン（PAG）の遺伝毒性試験として、細菌を用いた復帰突然変異試験及び染色体異常試験を実施した。

がん原性試験として、トランスジェニック（rasH2-Tg）マウスを用いた 6 ヵ月間反復投与がん原性試験及び Crl:CD(SD)ラットを用いた 24 ヵ月間反復投与がん原性試験を実施した。

生殖発生毒性試験として、ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギにおける胚・胎児発生試験、並びにラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。さらに、新生児/幼若ラットを用いた毒性試験において一般毒性並びに発生に関する影響を評価した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 薬理試験

フェニル酪酸グリセロール（GPB）は、エステル結合を介してグリセロール骨格に結合した 3 分子の 4-フェニル酪酸（PBA）を含むトリグリセリドである。経口摂取後に GPB は PBA に代謝される。したがって、GPB は PBA のプロドラッグである。PBA はさらに活性代謝物であるフェニル酢酸（PAA）に代謝される。

PBA は PAA に代謝された後、体内の残余窒素と結合することで薬理作用を示す。結合したものは霊長類ではフェニルアセチルグルタミン（PAGN）として、またげっ歯類ではフェニルアセチルグリシン（PAG）として尿中に排泄される。GPB の未変化体は、ヒト又は動物の全身循環では検出されない。

以上のことから、GPB を用いた新たな「効力を裏付ける試験」は実施しなかった。PBA（プロドラッグ）の薬効、すなわち PAA（活性代謝物）が残余窒素と結合し、PAGN として尿中に排泄されるという薬理作用は確立しており、論文化されている[James MO, 1972][McQuade PS, 1984]。

GPB、PBA 及び PAA を用いて GLP に準拠した安全性薬理試験を実施した。

2.4.2.1.1 GPB 及び PBA の効力を裏付ける試験

GPB は PBA のプロドラッグであり、消化管内で主にリパーゼによって分解される。全身吸収された後に PBA は β 酸化を受けて PAA になり、その後肝臓又は腎臓で抱合される。サルとヒトでは、PAA はアシルコエンザイム A（CoA）-L-グルタミン-N-アセチルトランスフェラーゼにより PAGN となる[Webster LT, 1976][Batshaw ML, 1981]。PAGN は糸球体ろ過と尿細管分泌によって尿中に排泄される[James MO, 1972]。GPB 投与後のラット尿においても低濃度の PAGN が認められた。

霊長類以外の動物では、PAA はグルタミンではなくグリシンと結合し、PAGN ではなく PAG となる[Moldave K, 1957]。霊長類と他の哺乳類との PAA 抱合の違いは、肝臓と腎臓のミトコンドリアに存在するフェニルアセチル CoA:アセチルトランスフェラーゼの基質特異性に関係しているとされている[Schachter D, 1954][Webster LT, 1976]。

2.4.2.1.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。PBA の主要代謝物である PAA が 2 分子の窒素を含むグルタミンと抱合して肝臓及び腎臓で PAGN を形成するという機序を考慮すると、重要な副次的薬理作用はないと考えられる。

2.4.2.1.3 安全性薬理

GPB の安全性薬理試験として、GLP に準拠して中枢神経系、呼吸器系、心血管系の機能に対する影響についてサルを用いて評価した。また、ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）トランスフェクトヒト胎児腎臓（HEK）293 細胞及びウサギ心筋細胞を用いて、GPB の主代謝物 PBA 及び PAA の心臓電気生理学的特性を *in vitro* で検討した。さらに、ウサギ Carlsson モデル[Carlsson L, 1990]を用いて、GPB の不整脈誘発能を *in vivo* で評価した。これらの試験の一覧を表 2.4-1 に示す。

表 2.4-1　GPB の安全性薬理試験

Type of Study	Species	Route	Dose	Study Number	Location
CNS and respiratory	Monkeys	Oral	0, 1, 4 g/kg	[redacted]Y 003[redacted]	[4.2.1.3-5]
hERG	Human embryonic kidney (HEK293) cells	*In vitro*	PBA (µg/mL): 0, 25, 75, 125, 750 PAA (µg/mL): 0, 35, 345, 675, 1050	[redacted]1209-1	[4.2.1.3-1]
Myocardial clamp	Rabbit myocytes	*In vitro*	PBA (µg/mL): 0, 88.9, 297.5, 875, 1591.8 PAA (µg/mL): 0, 105, 305.2, 909.3, 2636.9	[redacted]0109-1	[4.2.1.3-2]
Carlsson model (cardiovascular)	Rabbit	Oral	100, 300 mg/kg	[redacted]0801	[4.2.1.3-3]
Cardiovascular	Monkey	Oral	0, 1, 4 g/kg	[redacted]Y 004[redacted]	[4.2.1.3-4]

GPB = glycerol phenylbutyrate; CNS = central nervous system; hERG = human ether-a-go-go related gene; PBA = phenylbutyrate; PAA = phenylacetic acid.

GPB をサルに 1 g/kg の用量で単回投与した場合、神経行動機能に影響を及ぼさず、1 g/kg が無毒性量と判断された。より高用量の GPB 4 g/kg を単回投与した場合には、自発運動の低下、姿勢の異常、協調運動の低下、平衡感覚障害など、中枢神経系の抑制を示す徴候が認められた。GPB 又はその代謝物 PBA 及び PAA の心血管機能に対する影響を、*in vitro* 及び *in vivo* で評価した。*In vitro* hERG 試験において、化合物が QT 間隔に影響する可能性が示唆された。PBA については、894.2 µg/mL の濃度で hERG 法におけるテール電流（IKr）のピークが抑制されたが、ウサギ心筋細胞を用いたアッセイでは、最高濃度の 1591.8 µg/mL においても確認されなかった。これらの *in vitro* 試験で使用した PBA の濃度は、サルに GPB 0.6 g/kg を単回経口投与したときの PBA の最高血漿中濃度（C_{max}: 23.3 µg/mL）と比較して 38～68 倍であった。カニクイザルにおける PBA の血漿タンパク結合率 75.4～98.0%を考慮すると、遊離（非結合）PBA のマージンはさらに 4 倍以上となる。健康成人において、GPB を 1 日 3 回 6 mL（計 19.8 g/日）を 3 日間投与した後の PBA の C_{max} は 100 µg/mL［HPN-100-010 試験］であり、血漿タンパク結合率は 80.6～98.0%であった［4.2.2.3-1］。このことから、この投与量での遊離（非結合）PBA の安全域は十分であった（>46 倍）。

In vitro hERG 試験におけるテール電流ピークが阻害された PAA の濃度（987.5 µg/mL）は、GPB の 0.6 g/kg を単回経口投与したサルにおける PAA の C_{max}（38.5 µg/mL）に対し、28 倍の濃度であった。カニクイザルにおける PAA 血漿蛋白結合率 18.4%～46.1%を考慮すると、遊離（非結合）型での濃度比はより高い値となる。健常被験者において、GPB を 1 日 3 回 6 mL を 3 日間投与した後の PAA の C_{max} は 65 µg/mL［HPN-100-010 試験］であり、血漿蛋白結合率は 37.1%～65.6%であった［4.2.2.3-1］。したがって、この投与量での遊離（非結合）PAA の安全域は十分高かった（>24 倍）。ウサギ心筋細胞を用いた試験では、909.3 µg/mL 以上の濃度では細胞膜の脆弱性が増し、正確な記録が取れず PAA の hERG での所見は確認できなかった（305.2 µg/mL の PAA はピークテール電流に影響を及ぼさなかった）。カニクイザルに GPB を 1 g/kg 又は 4 g/kg の用量で単回経口投与したとき、血圧及び心拍数に明らかな変化は認められなかった。GPB を高用量の 4 g/kg 投与し

た場合には、一般状態の悪化、心電図の PR 間隔の短縮、並びに QRS 間隔及び心拍数で補正した QT（QTc）間隔の中程度の延長が生じた。1 g/kg では軽微な PR 間隔の短縮が認められた。GPB の無毒性量は神経行動機能への影響については、1 g/kg、心電図への影響では 1 g/kg 未満と判断された。

上述の 4 g/kg の GPB を投与したサルにおいては神経行動機能への影響があり、心電図評価の結果に影響を及ぼした可能性があるため、より感受性の高い動物モデルを用いて、不整脈誘発に対する影響を評価した。麻酔下において、メトキサミン感作ウサギ（Carlsson モデル）に GPB を 100 又は 300 mg/kg を単回経口投与したとき、催不整脈性を示さなかった。両用量で統計学的に有意な血圧の上昇が認められ、GPB がメトキサミンの昇圧作用を増強する可能性が示唆された。しかし、本モデルでは麻酔薬により GPB の影響が不明確となっている可能性があり、GPB の臨床的な作用への外挿性があるとは考えなかった。

呼吸試験においては、GPB の最高投与量である 4 g/kg において、サルの呼吸機能には影響を及ぼさず、4 g/kg が無毒性量と判断された。

2.4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 薬物動態

ラット及びサルに GPB を経口投与し、GPB、第 I 相代謝物である PBA 及び PAA、第 II 相代謝物である PAG、PAGN、フェニルブチリルグリシン（PBG）及びフェニルブチリルグルタミン（PBGN）の吸収、分布、代謝、排泄を評価した。ヒトを含む複数の動物種の初代培養肝細胞を用いて PBA の代謝プロファイルを検討し、また、PBA、PAA 及び PAGN のタンパク結合率を検討した。GPB、PBA 及び PAA によるシトクロム P450 の誘導又は阻害について *in vitro* 試験で評価した。PAA についてはトランスポーターの基質または阻害剤となるかどうか *in vitro* 試験で評価した。さらに、膵トリグリセリドリパーゼ（PTL）、膵リパーゼ関連タンパク質 2（PLRP2）又はカルボキシルエステルリパーゼ（CEL）により GPB から PBA が生成するかを *in vitro* 試験で評価した。また、パンクレアチン又はパンクレリパーゼのいずれかを添加した人工腸液（SIF）内で、GPB 並びに不純物である 不純物I及びJ* から PBA への加水分解速度を評価した。最後に、一連の *in vitro* 試験により、GPB の加水分解に関与する主要酵素を決定し、代謝を介した薬物相互作用のリスクを評価した。これらの試験を表 2.4-2 に示す。

*: 新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.4-2　GPB の薬物動態試験

Type of Study	Species	Route	Dose/Form	Study Number	Location
Absorption	Rat	Oral	70-900 mg/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]U0011	[4.2.2.2-1]
Absorption	Monkey	Oral	0.6 g/kg of GPB (neat)	[redacted]Y 002[redacted]	[4.2.2.2-2]
Absorption	Monkey	Oral	0.6 g/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]Y0008	[4.2.2.2-3]
Absorption	Monkey	Oral	0.6 g PBA equivalents/kg	[redacted]U0007	[4.2.2.2-4]
Distribution	Rat	Oral	70-900 mg/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]U0011	[4.2.2.2-1]
Distribution	Monkey	Oral	0.6 g/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]Y0008	[4.2.2.2-3]
Protein binding	Rat, mouse, dog, rabbit, monkey, human	*In vitro*	1–1000 µg/mL of [^{14}C]PBA, 5–1000 µg/mL of [^{14}C]PAA or 1-250 µg/mL of [^{14}C]PAGN	[redacted]U0003	[4.2.2.3-1]
Metabolism	Rat, mouse, dog, rabbit, monkey, human	*In vitro*	1 µM–100 µM, 1 mM and 10 mM of [^{14}C]PBA	[redacted]J 005	[4.2.2.4-1]
Pancreatic lipase activity against GPB	Recombinant human PTL, PLRP2, colipase, and CEL purified from yeast	*In vitro*	0.5 mL of GPB	[redacted]2009	[4.2.2.4-2]
Metabolism	Rat	Oral	70-900 mg/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]U0011	[4.2.2.2-1]
Metabolism	Monkey	Oral	0.6 g/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]Y0008	[4.2.2.2-3]
Metabolism–induction	Human hepatocytes	*In vitro*	0.0287–8.6 mM of PBA, or 0.069–20.7 mM of PAA	[redacted]U0004	[4.2.2.6-1]
Metabolism–inhibition	Human liver microsomes	*In vitro*	5 mM of GPB or PBA, 20.7 mM of PAA	[redacted]U0005	[4.2.2.6-2]
Transporter Substrate	HEK293 C2BBe1	*In vitro*	3-300 or 4.77-477 µM of PAA	[redacted]PEP1	[5.3.2.3.1]
Transporter inhibitor	HEK293 C2BBe1	*In vitro*	4770, 15000 or 19.5-20000 µM of PAA	[redacted]PEP1	[5.3.2.3.1]
Drug–drug interaction: *in vitro* enzymatic hydrolysis of GPB	Human plasma Human liver microsomes Human intestinal microsomes Purified porcine lipase in simulated intestinal fluid	*In vitro*	9.4 or 25 µM of GPB	[redacted]3091[redacted]	[4.2.2.4-3] [4.2.2.4-4] [4.2.2.4-5] [4.2.2.4-6] [4.2.2.4-7]

GPB = glycerol phenylbutyrate; PBA = phenylbutyrate; PAA = phenylacetic acid; ^{14}C = carbon radiolabel; PTL = pancreatic triglyceride lipase; PLRP2 = pancreatic lipase related protein 2; CEL = carboxyl ester lipase.

表 2.4-2　GPB の薬物動態試験（続き）

Type of Study	Species	Route	Dose/Form	Study Number	Location
Excretion	Rat	Oral	70-900 mg/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]U0011	[4.2.2.2-1]
Excretion	Monkey	Oral	0.6 g/kg of GPB (neat)	[redacted]Y 002[redacted]	[4.2.2.2-2]
Excretion	Monkey	Oral	0.6 g/kg of [^{14}C]GPB	[redacted]Y0008	[4.2.2.2-3]
Other: hydrolysis of GPB and tetra-esters 1 and 2	Simulated intestinal fluid	*In vitro*	100–100000 µM of GPB 100–500 µM of tetra-esters 1 and 2	[redacted]5195	[4.2.2.7-1]

GPB = glycerol phenylbutyrate; PBA = phenylbutyrate; PAA = phenylacetic acid; ^{14}C = carbon radiolabel; PTL = pancreatic triglyceride lipase; PLRP2 = pancreatic lipase related protein 2; CEL = carboxyl ester lipase.

また、マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた毒性試験における PAA、PAG、PBA 及び PAGN の曝露量についてトキシコキネティクス評価を実施した。GPB 及びその分解物（不純物K+L*　及び　不純物N+O*）の曝露についても評価したが、ラット及びサルの毒性試験では検出されなかった。これらの試験の概要並びに PBA 及び PAA の全身曝露については、それぞれ表 2.4-4 及び表 2.4-6 に記載した。

2.4.3.1.1　分析方法及びバリデーション

マウス、ラット、ウサギ、サルの血漿中及び尿中（一部の試験）の GPB とその主要代謝物の濃度を、バリデーション済みの液体クロマトグラフタンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて測定した。バリデーション及び生体試料分析は、[redacted] 及び [redacted]（[redacted]）の 2 つの施設で実施した。[redacted] によってバリデートされた LC-MS/MS 法は、[redacted] においてもバリデートされ、^{14}C 標識被験物質を用いた試験で使用された。測定方法、バリデーション試験報告書、及びこれらの方法を用いた PK 試験及びトキシコキネティクス試験の一覧を［表 2.6.4-2］に示した。測定方法のバリデーションデータについては、薬物動態試験の概要表［2.6.5］に要約した。

2.4.3.1.2　吸収

Sprague-Dawley ラットを用いた比較 PK 試験を実施したところ、[^{14}C]GPB の単回投与又は反復投与後に総放射能、並びに代謝物である PAA、PAG 及び PBA が最初の試料採取時間から検出され、GPB の吸収は速やかであった。総放射能の投与後の最高血中濃度到達時間（T_{max}）は、単回経口投与後では雌雄とも 2 時間であり、7 日間の反復経口投与後では、雄で 2 時間、雌で 1 時間であった。

サルを用いた PK 試験では、GPB の 0.6 g/kg を単回経口投与したときの PBA の C_{max}（23.3 µg/mL）は、フェニル酪酸ナトリウムの同等量を投与した際の PBA の C_{max}（269 µg/mL）の約 1/10 であったが、血中濃度－曲線下面積（AUC）での曝露量は同程度であった。フェニル酪酸ナトリウムの経口投与時には急峻な PBA のピーク（C_{max}）が認められる一方、モル当量で同等量の GPB の経口投与時には、鋭いピークを生じさせずに同等の総曝露（AUC）が得られた。

雄性サルに[^{14}C]GPB（600 mg PBA 等量/kg）を単回経口投与したとき、血漿中放射能は比較的緩やかな吸収を示し、平均 T_{max} は 8 時間であった。PBA、PAA 及び PAGN は投与後 1.5 時間に血

*: 新薬承認情報提供時に置き換え

漿中で検出され、一旦吸収されると速やかに代謝されることが示唆された。GPB の経口投与後の PBA の全身生物学的利用率は 51%～80%であった。

製造工程が異なる 3 バッチの GPB 製剤をサルに経口投与し、GPB 及びその主要代謝物の全身曝露量を比較した。使用動物数が少ない（N=3）ため、薬物動態パラメータには動物間のばらつきが認められたが、定性的には両製剤に由来する PBA と PAA の C_{max} 及び AUC_{all} には高い類似性が認められた。

ラット及びサルを用いた GPB の単回経口投与毒性試験の血漿サンプルの分析からも、GPB は速やかに PBA に変換され、PAA への β 酸化を受けることが示された。GPB、モノエステル体又はビスエステル体のいずれも、血漿又は尿中では検出されなかった。

以上のように、GPB の投与により、PBA 及び PBA の代謝を経た PAA の全身曝露が確認された。ラット、ウサギ及びサルにおける単回及び反復投与後の GPB の代謝物について得られた AUC 値を表 2.4-3 に示す。

表 2.4-3　GPB の代謝物の AUC の比較

Type of Study (Study No.)	AUC (μg·h/mL)											
	PBA		PAA		PBG		PAG		PAGN		PBGN	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Rat Single-Dose [[redacted]U0011]	693	1620	1720	4840	-	-	430	446	NA	NA	-	-
Monkey Single-Dose [[redacted]Y0008]	588	-	1360	-	-	-	NA	NA	930	-	-	-
Rat Repeat-Dose [[redacted]U0011]	418	438	2120	2490	-	-	377	646	NA	NA	-	-
Monkey Repeat-Dose [[redacted]71002]	609	529	9910	4200	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	1844	1396	BLQ	BLQ
Rat Carcinogenicity [[redacted]71007]	111	291	3993	7106	BLQ	BLQ	810	973	NA	NA	BLQ	BLQ
Rat Embryofetal Toxicity [[redacted]Y00008]	-	216	-	6336	BLQ	BLQ	-	591	NA	NA	BLQ	BLQ
Rabbit Embryofetal Toxicity [[redacted]Y00010]	-	49	-	2298	BLQ	BLQ	-	79	NA	NA	BLQ	BLQ
Neonatal Rat Repeat-Dose [[redacted]U00007]	268	335	7391	8504	-	-	753	767	NA	NA	-	-

- no data
LOQ = 1 μg/mL
BLQ = below the limit of quantitation ; LOQ = limit of quantitation; NA = not applicable

2.4.3.1.3　分布

ラットでは、[^{14}C]GPB の投与後に放射能が全身に広く分布し、最初の測定ポイントである投与 1 時間後には評価した全ての組織で放射能が測定された。分布のパターンには明確な性差は無かったが、雄性ラットでは単回投与時に雌ラットよりも組織中の放射能の減少が速かった（雄では投与 24 時間後に多くの組織で LOQ を下回ったが、雌では投与 72 時間後に LOQ を下回った）。多くの臓器で総じて心臓の血液及び血漿とおおむね同程度又はそれ以下の濃度であったが、ハーダー腺、肝臓、腎臓、膀胱壁の濃度は高く、また投与後後期では腹部脂肪や褐色脂肪で高い濃度分布が認められた。HPLC 及び LC-MS による代謝物解析により、選択された組織（腎臓、肝臓、膵臓、子宮頸部、子宮体部）において、それぞれ異なる量の PAG、PAGN 酸、PBA、OH-PBA 及び PAA が同定又は推定された。単回投与後の早期には PAA と PBA が主要成分として観察され、より極性の高い PAG 及び PAGN 酸は、より後期又は反復投与後に多く認められた。

雄性サルに[^{14}C]GPB を単回経口投与したとき、放射能は全身に広く分布した。ただし、投与 8 時間後に投与量の 1%を超える放射能が認められたのは大腸壁のみであった。組織内濃度は総じて投与後 8 時間で最も高く、大腸壁、胆汁、血漿、腎臓、肝臓、膀胱、全血で特に高かった。組織中濃度はその後低下する傾向にあり、放射能の明らかな蓄積性は認められなかった。全般的に、中枢神経系は濃度が最も低く、GPB 代謝物が血液脳関門を容易に透過しないことが示唆された。全血：血漿あるいは血球：血漿の濃度比はいずれの時点でも 1 未満であり、薬物由来物質の赤血球移行性は限定的であることが示唆された。少数の組織、特に主要排泄器官（腎臓及び肝臓）及

び脂溶性の高い組織（皮膚、脂肪[腎周囲]及びリンパ節[腸間膜]）では、組織：血漿比は投与後 8 時間で 1 未満であったのに対し、72 時間後では 7.9：1～87：1 と増加した。薬物由来物質の全身循環からの消失がこれら臓器からの消失よりも速やかであることが示された。

In vitro 限外ろ過法により血漿タンパク結合率を調べた。[^{14}C]PBA の血漿タンパク結合率は、いずれの動物種においても中等度（34.4%～80.6%）から高度（83.2～98%）であり、（ウサギを除き）薬物濃度の上昇に伴い低下した。[^{14}C]PAA の血漿タンパク結合率はげっ歯類では低く（6.6%～26.5%）、サル、ヒト、ウサギでは中程度（33.2～76.4%）であり、PBA と同様に濃度依存性が認められた。[^{14}C]PAGN の血漿タンパク結合率は、検討した全ての動物種で低かった（<12%）。

2.4.3.1.4 代謝

ラット、マウス、ウサギ、イヌ、カニクイザル及びヒト由来の肝細胞を用いた GPB の *in vitro* 代謝試験において、ヒトと最も類似した代謝プロファイルを有する動物種はサルであることが示された。いずれの動物種においても単独の種ではヒトと同じ代謝物プロファイルではなかったが、ヒトの代謝物はサル及びラットの代謝物の双方により包含された。すなわち、ヒトのみに特有な代謝物の生成は認められなかった。本試験により、毒性試験の動物種としてラット及びサルを利用することの妥当性が示された。

In vitro 試験において、PTL、PLRP2 及び CEL のいずれも、GPB から PBA を生成可能であることが示された。このことは、PLRP2 と CEL の両酵素が *in vivo* での GPB 加水分解に役割を果たしているだろうこと、これら酵素が、PTL が存在する前の新生児初期において GPB の消化に寄与する可能性を示唆している。

ラットに GPB を単回又は 7 日間反復投与したとき、血漿中の総放射能の 51～77%が代謝物 PAA、PAG 及び PBA であり、循環血中には別の代謝物も存在すると考えられた。PAG、PAA 及び PBA は一般に総血漿中放射能の 1/2 から 2/3 を占め、中では PAA は最大の構成成分であった。他の循環血中の代謝物として、OH-PBA（水酸化部分未同定）、M9（構造未同定）が推定されている。

雄性サルに[^{14}C]GPB を単回経口投与したとき、GPB はそのままでは吸収されず、さらに GPB 由来の PBA は生体内で大部分が代謝されることが示された。PAGN は主要な代謝産物であり、大部分は尿中（投与量の約 39%）に排泄されるが、血漿、胆汁、肝、腎にも認められた。GPB の加水分解物である PBA の β 酸化を介して PAA は生成され、PAA のグルタミン抱合により PAGN が生成される。また、PBA、PAA 及び抱合体は血漿、肝及び腎においても検出され、糞中に排泄された。その他、複数のマイナーな代謝物が血漿中に検出された。

2.4.3.1.5 排泄

ラット及びサルに GPB を経口投与すると、GPB の代謝物は主に尿を介して排泄される。サル及びヒトでは、主要な尿中排泄物は PAA のグルタミン抱合体であるのに対し、ラット、ウサギ及びマウスなどの動物では PAA はグリシン及びグルクロン酸抱合体が尿中に排泄される[James MO, 1972][Kasumov T, 2004]。GPB は *in vivo* では全て代謝され、全身循環では検出されない。[^{14}C]GPB をサルに投与したとき、薬剤に由来する放射能のうち投与量の約 45%は、主に PAGN として尿中に排泄された。GPB を経口投与した場合の尿中への排泄速度は、PBA を経口投与又は静注投与した場合に比べて遅かった。

サルに GPB を経口投与したときの尿中の主代謝物は PAGN であった。GPB 投与後の尿中には PBA はほとんど排泄されなかった。

同じくサルに[^{14}C]GPB を経口投与したとき、168 時間後までに放射能の少なくとも 45%が尿中に、少なくとも 25%が糞中に回収された。残り（約 23%）はケージ洗浄液及びケージの残滓中から回収された。PAGN（尿中に排泄）は投与量の約 39%であった。糞中に直接排泄された放射能（ケージ洗浄液及びケージ残滓中の放射能を除く）のうち、PBA は投与量の約 21%であった。

以上のことから、サルでは GPB は PBA をゆっくりと遊離させ、その後、主に PAA のグルタミン抱合体の形で窒素の除去がなされることを示している。NaPBA のサルへの経口投与時には多くの部分が未変化体として排泄されるのと比較して、GPB の投与時には PBA 及びその既知の代謝物（PAA 及び PAGN）の曝露は増加する。ただし、GPB の経口投与後にも、相当量（投与量の約 25%）は糞中に排泄される。

2.4.3.1.6 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト肝細胞を用いて、PBA 及び PAA がヒト肝シトクロム P450（CYP）酵素 CYP1A2 及び CYP3A4/5 を誘導について *in vitro* で検討した。PAA は、最大 20.7 mmol/L、PBA は 8.6 mmol/L の濃度で、CYP1A2 及び CYP3A4/5 を軽微に誘導（<31%）した。いずれも軽微であり、*in vivo* では意味のある誘導能を示さないと考えられた。

ヒト肝ミクロソームを用いて、GPB、PBA 及び PAA が CYP 活性を阻害について *in vitro* で評価した。GPB は 5 mmol/L の濃度で、CYP2C9（19～35%）及び CYP3A4/5（19～24%）を阻害したが、他には 10%以上の CYP 活性の阻害は認められなかった。GPB そのものが吸収されないことを考慮すると、GPB の CYP 阻害には臨床的意義はないと考えられた。

PBA は、5 mmol/L（2.65 mg/mL）の濃度で、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A4/5 活性を時間非依存的に 60%以上低下させた。PAA は、20.7 mmol/L の濃度で、CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 を時間非依存的に 37%以上阻害した。

PBA による阻害定数（Ki）は、CYP2C9 に対して 1.29 mmol/L（0.212 mg/mL）、CYP2D6 に対して 1.48 mmol/L（0.243 mg/mL）であった。PBA は CYP3A4/5 に対してアロステリック効果を示したため Ki を決定できなかったため、CYP3A4/5 に対しては 50%阻害濃度（IC_{50}）を算出した（IC_{50}：1.79～3.26 mmol/L; 0.294～0.535 mg/mL）。PAA については、代表として、CYP2C9 に対する Ki（15.1 mmol/L; 2.056 mg/mL）を求めた。

また、GPB は患者への経口投与後の全身循環において検出されておらず、これらの *in vitro* 実験で用いられた濃度（5 mmol/L、約 2.65 mg/mL に相当）は、GPB 投与後にヒトで見られた循環血中 PBA の濃度（約 0.14 mg/mL）よりも 20 倍高かった。これらの結果から、GPB の Ki は評価しなかった。

PAA が P-糖タンパク質（P-gp）及び乳がん耐性タンパク質（BCRP）の基質及び/又は阻害物質であるか、PAA が有機アニオン輸送ペプチド 1B1 及び 1B3（OATP1B1 及び OATP1B3）又は有機カチオントランスポーター1（OCT1）の基質であるか、並びに PAA が OATP1B1、OATP1B3、OCT1、有機アニオントランスポーター1 及び 3（OAT1 及び OAT3）又は有機カチオントランスポーター2（OCT2）の阻害物質であるかを評価した。その結果、PAA は P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 又は OCT1 の基質ではなかった。また、PAA は P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 又は OCT2 の阻害物質ではなかったが、OAT1 及び OAT3 の阻害物質であることが示され、IC_{50} 値はそれぞれ 1321 μM 及び 5327 μM であった。

GPB の加水分解に関与する主要酵素を測定し、代謝に基づく薬物相互作用の相対リスクを評価するために、一連の *in vitro* 試験を実施した。これらの試験では、精製リパーゼ、ヒト血漿中の酵

素、ヒト腸ミクロソーム並びに肝ミクロソームによる GPB の PBA への加水分解の程度及び速度の評価を実施した。その結果、消化酵素であるリパーゼが GPB の加水分解に関与する主な酵素であることが示された。ヒト血漿及びミクロソームでは、リパーゼと比較して GPB の加水分解による半減期が長く、GPB はリパーゼによって消化管内腔で加水分解されるため、GPB は腸管吸収されないものと考えられた。したがって、GPB に関連するエステラーゼ又は CYP450 による薬物相互作用のリスクは低いと考えられる。

2.4.3.1.7 その他の薬物動態試験

パンクレアチン又はパンクレリパーゼを添加した SIF を用いて、*in vitro* で GPB 及び 2 種類の既知の不純物（ 不純物I* 及び 不純物J* ）の加水分解を評価した。GPB 及び 不純物I及びJ* は、パンクレアチンを添加した摂食状態を模した SIF 中で急速に PBA に加水分解された。 不純物I及びJ* の加水分解速度と GPB の加水分解の速度には差があったものの、2 倍の範囲内であり、また 3 回測定の標準偏差の 2 倍の範囲に収まっていた。本データにより、GPB と 不純物I及びJ* のいずれも腸管膜透過前に腸管内腔で急速に PBA に変換されることが示唆された。この変換速度から、不純物である 不純物I及びJ* が腸管内に蓄積することは無いことが示唆された。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 毒性試験

GLP に準拠して、GPB のマウス、ラット及びサルの単回及び反復経口投与毒性試験を実施した。ICH で求められる、GPB の遺伝毒性、発がん性、生殖発生毒性及び幼若動物毒性についても実施した。これらの試験の一覧を表 2.4-4 に示した。

また、GPB の代謝物である PBA、PAA、PAGN 及び PAG について、遺伝毒性を評価した。GPB 代謝物を用いて実施した遺伝毒性試験を表 2.4-5 に示した。

表 2.4-4 GPB の毒性試験

Type of Study	Species	Route	GPB Doses (g/kg/day)	Dosing Duration	Location
Single dose	Rats	Oral	0.45–4.5	1 day	[**4.2.3.1-1**]
	Monkeys	Oral	0.45–6.5	1 day	[**4.2.3.1-2**]
Repeated dose	Mice	Oral	0.60, 0.90, 1.20, 1.50, 2.00	5 days	[**4.2.3.2-2**]
			0.65, 0.90, 1.2, 2.0	14 days	[**4.2.3.2-1**]
			M: 0.60, 0.90, 1.20 F: 0.90, 1.50, 2.00	28 days	[**4.2.3.2-2**]
			0.65, 0.90, 1.2	13 weeks	[**4.2.3.2-3**]
	Rats	Oral	0.65, 0.9, 1.2	14 days	[**4.2.3.2-4**]
			0.65, 0.9, 1.2	13 weeks	[**4.2.3.2-5**]
			0.65, 0.9, 1.2	26 weeks	[**4.2.3.2-6**]
	Monkeys	Oral	1.0, 2.5, 3.5	14 days	[**4.2.3.2-7**]
			0.75, 1.25, 1.75	13 weeks	[**4.2.3.2-8**]
			0.7, 1.1, 1.5	52 weeks	[**4.2.3.2-9**]
Genotoxicity GPB: Ames assay	*S. typhimurium*	*In vitro*	10–5000 µg/plate	NA	[**4.2.3.3.1-1**]
Chromosomal aberration	Human lymphocytes	*In vitro*	82.4–500 µg/mL	NA	[**4.2.3.3.1-2**]
Micronucleus	Rats	Oral	0.5, 1.0, 2.0	1 day	[**4.2.3.3.2-1**]
Carcinogenicity	Tg.rasH2 mice	Oral	0.6, 1.0	26 weeks	[**4.2.3.4.2-1**]
	CD(SD) rats	Oral	M: 0.07, 0.21, 0.65 F: 0.1, 0.3, 0.9	24 months	[**4.2.3.4.1-1**]

表 2.4-4 GPB の毒性試験（続き）

Type of Study	Species	Route	GPB Doses (g/kg/day)	Dosing Duration	Location
FEED	Rats	Oral	0.65, 0.9, 1.2	See[a]	[4.2.3.5.1-1]
EFD	Rats	Oral	0.65, 0.9, 1.2, 1.5[b]	DG 7–17	[4.2.3.5.2-1]
			0.3, 0.65, 0.9	DG 7–17	[4.2.3.5.2-2]
	Rabbits	Oral	0.2, 0.4, 0.6[b]	DG 7–19	[4.2.3.5.2-3]
			0.15, 0.25, 0.35	DG 7–19	[4.2.3.5.2-4]
PPND	Rats	Oral	0.3, 0.6, 0.9	DG 7–LD 20	[4.2.3.5.3-1]
Neonatal/ Juvenile	Rats	Oral	0.65, 0.9, 1.2, and 1, 2, 4, 6	PND 2–15; and PND 2–34	[4.2.3.5.4-1]
			0.65, 0.9, 1.2	PND 2–50; and PND 2–127/129 (M); or PND 2–DG 20 (F)	[4.2.3.5.4-2]

EFD: Embyo-fetal development, FEED: Fertility and early embryo development; GPB = glycerol phenylbutyrate; DG = day of gestation; LD = lactation day; NA = not applicable; PND = postnatal day; PPND: Pre- and postnatal development.
[a]: Male: 28 days prior to mating through sacrifice; Female: 15 days prior to mating through gestation day 7
[b]: Dose range–finding study

表 2.4-5 GPB 代謝物（PBA, PAA, PAGN）の遺伝毒性試験

Test Article	Type of Study	Species	Route	Test Article Concentration	Location
PBA	Ames assay	*S. typhimurium* and *E. coli*	*In vitro*	1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate	[4.2.3.3.1-3]
PAA				1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate	[4.2.3.3.1-6]
PAGN				1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate	[4.2.3.3.1-8]
PAG				1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate	[4.2.3.3.1-11]
PBA	Chromosomal aberration	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	210 to 1640 µg/mL	[4.2.3.3.1-5]
PBA		Chinese hamster ovary cells	*In vitro*	450 to 1640 µg/mL	[4.2.3.3.1-4]
PAA				116 to 1360 µg/mL	[4.2.3.3.1-7]
PAGN				520 to 2643 µg/mL	[4.2.3.3.1-9]

PAA = phenylacetic acid; PAG = phenylacetylglycine; PAGN = phenylacetylglutamine; PBA = phenylbutyrate

2.4.4.1.1 単回投与毒性試験

ラット及びサルを用いて GPB の単回経口投与毒性試験を実施した。概略の致死量はラットにおいて 1.2 g/kg、サルにおいて 6.5 g/kg 超であった。

2.4.4.1.2 反復投与毒性試験

マウス、ラット及びサルを用いて GPB の反復経口投与毒性試験を実施した。

マウスを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験において、最小致死量は雌雄とも 2.0 g/kg/日であった。高用量では投与に起因した一般状態の変化が認められた。マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験では、0.90 g/kg/日以上の群で肝重量の増加及び小葉中心性の肝細胞肥大が認められたが適応性の変化と考えられた。無毒性量は雌雄とも 1.2 g/kg/日であった。

ラットを用いた、14 日間、13 週間、26 週間反復経口投与毒性試験において、雌雄とも 1.2 g/kg/日までの投与で投与に起因した死亡例は認められなかった。高用量群（0.9 及び 1.2 g/kg/日）では、体重及び体重増加量の低値が認められた。そのほか、脾臓の組織学的変化や、関連する血液学的検査値の変化が認められたが、毒性とは判断されなかった。そのほか肝細胞の染色性の変化、肝重量の変化、血液生化学的検査値の変動などの肝への影響が認められたが適応性の変化と考えられた。ラット 14 日間反復投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 0.9 g/kg/日、ラット 13 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雄で 0.9 g/kg/日、雌で 1.2 g/kg/日、ラット 26 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雄で 0.65 g/kg/日、雌で 1.2 g/kg/日と判断された。

サルを用いた、14 日間反復経口投与毒性試験において、2.5 g/kg/日及び 3.5 g/kg/日群では瀕死例が認められた。サルを用いた 13 週間及び 52 週間反復経口投与毒性試験においては 1.75 g/kg/日（13 週間）又は 1.5 g/kg/日（52 週間）までの投与で死亡例は認められなかったが、52 週間反復経口投与毒性試験の 1.5 g/kg/日群では、一般状態の変化及び体重増加量の減少により一時休薬を要した。GPB 投与群では血液学的検査値の変化や尿 pH の低下、血液学的検査値と関連した脾臓の病理組織の変化などの変化が認められたが、毒性とは判断されなかった。そのほかに、適応性の肝細胞肥大と関連した用量依存的な肝重量の増加が認められた。サル 14 日間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 1 g/kg/日、サル 13 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 1.25 g/kg/日、サル 52 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 1.1 g/kg/日と判断された。

2.4.4.1.3 遺伝毒性

GPB は、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球（HPBL）を用いた染色体異常試験及びラットを用いた *in vivo* 小核試験において陰性であった。PBA、PAA、PAGN 及び PAG について細菌を用いた復帰突然変異試験では陰性であった。一方、PBA、PAA、PAGN 及び PAG についてチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いて染色体異常試験を実施したところ、PBA では、細胞毒性の認められる 1080 μg/mL の濃度で染色体の構造異常が認められた。PBA については、HPBL を用いた染色体異常試験を実施し、本試験では染色体異常は認められなかった。

以上のことから GPB をヒトに投与したときの遺伝毒性のリスクは低いと判断された。

2.4.4.1.4 がん原性

2.4.4.1.4.1 中期発がん性試験

rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験において、最高用量の 1.00 g/kg/日までの投与量で投薬に関連する腫瘍発現の増加は認められなかった。

2.4.4.1.4.2 長期発がん性試験

Crl:CD(SD)ラットを用いた 2 年間反復経口投与がん原性試験において、投与に関連して膵腺房細胞腺腫/腺癌、副腎皮質腺腫/腺癌、甲状腺濾胞細胞腺腫/腺癌、ジンバル腺癌、良性子宮内膜間質ポリープ、子宮頸部悪性神経鞘腫が認められた。また、投与に関連した非腫瘍性病変として、膵腺房細胞の過形成、副腎皮質束状帯細胞の肥大、甲状腺濾胞細胞の過形成、子宮内膜増殖、肝細胞の塩基性細胞巣、網膜萎縮などが認められた。コンカレント対照群での腫瘍発生率を考慮した場合、腫瘍増加に対する統計学的な無毒性量は、雄で 0.21 g/kg/日、雌で 0.30 g/kg/日と判断された。

ラットがん原性試験の結果から GPB のヒトでのリスクアセスメントを行うために、スポンサーとは独立した科学諮問委員会（Scientific Advisory Panel；SAP）が設置された。SAP は、以下の理由により GPB はヒトにおける発がん性リスクにはならないと結論した。

GPB（及びその代謝物）に遺伝毒性がない。マウス、サル及びより短期間投与のラットにおいて同種の腫瘍又は前腫瘍病変が認められない。高用量投与で認められたいずれの腫瘍も対照群でも背景病変で認められる病変であり、低い発生率で試験の後期に発生している。対照群、投与群で認められた腫瘍はおおむね当該試験施設の背景データ若しくは文献値の範囲内である。ジンバル腺はヒトに相同組織は存在しない。膵、甲状腺、子宮で認められた増殖性病変はラット特異的なものあることが文献的に知られている。ラットの子宮頸部の神経鞘腫はヒトで同様の腫瘍は発生しない。残余窒素の無い正常ラットに長期間高用量反復投与した状態は患者に投薬する状況とは代謝状態が大きく異なる。

さらに、2 年間ラット反復投与毒性試験における血漿中濃度と被験者の血漿中濃度を比較した結果、安全域が確認された。統計学的に有意な腫瘍増加が認められた 0.65 g/kg/日（雄）、0.9 g/kg/日（雌）の、活性体である PAA の遊離体の血漿中曝露は、ヒトでの PAA の遊離体の曝露のそれぞれ 16 倍、29 倍であった。

以上の結果から、ラット 2 年間反復経口投与がん原性試験における腫瘍発生の増加は UCD 患者におけるリスクとならないと判断された。

2.4.4.1.5 生殖発生毒性

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生試験、及びラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雄に 1.2 g/kg/日を投与した場合に、GPB 投与/非投与のいずれの雌と交配させた場合においても死亡胚数の増加が認められた。本試験における一般毒性に対する無毒性量は雌雄とも 0.65 g/kg/日、雌雄の生殖能に対する無毒性量については雌雄とも 0.9 g/kg/日であった。

ラット胚・胎児発生試験においては、母体の毒性が認められる 0.65 及び 0.9 g/kg/日の投与群において、胎児体重の減少と骨格の異常（変異、発育遅延）を有する胎児数の増加が認められた。

また、0.9 g/kg/日群においては、尾の奇形（索状尾、短尾）の軽微な増加が認められたが、統計学的有意差は無かった。これらの変化は妊娠初期に母体の体重増加の減少や摂餌量の減少が生じたときにおこる変化として知られている変化である[Chernoff N, 2008]。本試験における母動物の一般毒性に対する無毒性量、胚・胎児発生に関する無毒性量はともに 0.3 g/kg/日であった。

ウサギ胚・胎児発生試験において、GPB は 0.35 g/kg/日までの用量で投与に関連した外表、内臓、骨格異常の増加を示さなかった。母体及び発生毒性に関する無毒性量は 0.35 g/kg/日であった。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、0.6 g/kg/日群及び 0.9 g/kg/日群において母動物（F0）の体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。また、0.9 g/kg/日群では妊娠期間の軽微な延長と出生児体重の減少が認められた。出生児（F1）の生存率、発育、性成熟、学習及び記憶、生殖能に影響は無かった。以上のことから、F0 母動物の一般毒性に対する無毒性量は 0.3 g/kg/日、生殖能に対する無毒性量は 0.6 g/kg/日、F1 の成長及び生存率に対する無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断された。

2.4.4.1.6 幼若動物の毒性試験

幼若ラットへの影響を調べるために、生後 2-50 日の間の投与（Part A）、及び生後 2 日から妊娠 20 日までの投与（Part B）を行い、発達及び生殖に対する有害作用を評価した。

Part A では、投与に関連した死亡、一般状態の変化、体重の変化、離乳後の摂餌量の変化は認められなかった。1.2 g/kg/日群において、白血球数、好中球数及びリンパ球数の減少、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及びアルブミン/グロブリン比の増加が認められた。幼若ラットにおける無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断された。Part B では、最低用量の 0.65 g/kg/日から胎児体重の低値が、母体毒性が生じる 0.9 g/kg/日から胎児の外表の変化の増加が認められた。本試験での発生毒性に関する無毒性量は 0.65 g/kg/日未満と判断された。

2.4.4.1.7 局所刺激性

局所刺激性試験は実施しなかった。

2.4.4.1.8 その他の毒性試験

2.4.4.1.8.1 代謝物

GPB のヒトでの主要代謝物は PBA、PAA 及び PAGN であり、これらについては、GPB の各種毒性試験並びに個別の *in vitro* 遺伝毒性試験において評価した。

2.4.4.1.8.2 不純物

GPB の実際の不純物又は分解物、並びに潜在的な不純物についてルールベース及び統計ベースの相補的な *in silico* 法により変異原性評価を実施した。

潜在的な不純物のうち、クラス 1 不純物が 2 種類、クラス 3 不純物が 6 種類確認された。クラス 1 不純物について添加試験を実施し、GPB に含まれる両化合物は理論上一日許容摂取量を超えないことが確認され、本薬の製造でのいずれの規格においても管理する必要はないものと判断した。クラス 3 不純物は、これらの化合物の化学的安定性及び分配係数に基づき、本薬の製造でのいずれの規格においても管理する必要はないものと判断した。

本薬合成における実際の不純物については、*in silico* 評価の結果、全ての実際の不純物はクラス

5 に分類されたことから、ICH Q3 ガイドラインに従って非変異原性化合物として管理される。

不純物M*　を除き、毒性試験で使用した原薬に含まれる不純物の量は、計算上規格値の上限値でのヒトの曝露量を超えることから、毒性試験で評価されたと判断した。　不純物M*　については、生体内で 類縁物質A* とメタノールに代謝されると想定されることから十分に安全と判断した。

2.4.4.1.8.3　光毒性

GPB は 290～700 nm の範囲の光を吸収しないため、光反応性が無いと考えられる。代謝物である PBA は、GPB の部分構造であるため同様に光反応性が無いと判断した。

また、[^{14}C]GPB を用いた薬物動態試験（分布）においてサル単回経口投与時の眼球及び皮膚中の放射能濃度は低く、かつ速やかに減少し、蓄積性は認められなかった。さらに、GPB の海外承認製剤である RAVICTI の安全性に係る臨床試験成績並びに米国及び欧州での市販後安全性情報において、光毒性に関連する有害事象は認められておらず、臨床における光毒性の懸念は低いと判断した。

*: 新薬承認情報提供時に置き換え

2.4.5 総括及び結論

PBA を含有する承認済み製品は、UCD の治療に有効な窒素スカベンジャーであることが示されている。GPB は PBA のプロドラッグであり、3 分子の PBA を含むトリグリセリドである。非臨床薬物動態試験（トキシコキネティクス含む）試験では、血漿中に GPB が検出されないことが示されている。GPB の未変化体は、ヒトの全身循環においても検出されていない。また、一連の *in vitro* 試験において PLRP2、CEL、PTL 酵素が GPB から PBA を遊離させることが示され、このことからも GPB から PBA が遊離してから吸収されることが示された。

サルを用いた薬物動態試験において、GPB 投与後の消化管からの PBA の吸収は、NaPBA を投与したときと比較して遅いことが示された。GPB を投与した場合、同等の PBA 投与量で PBA 及び PAA の C_{max} が低く、T_{max} が遅い（8 時間）ことから、NaPBA 製剤と比較して、副作用の軽減、有効性の持続が期待される。

過去の PAA の代謝に関する文献で示されているとおり、*in vitro* 代謝の比較試験では、サルでの代謝はヒトにより近く、毒性試験として適切な動物種であることが示されたため、非臨床試験の非げっ歯類動物種としてはサルを選択した。

ヒト肝ミクロソームにおいて、PBA 及び PAA はヒト CYP の可逆的阻害を示した。PBA については、CYP2C9、CYP2D6、CYP3A4/5 に対して 60%超の阻害を示した。PAA は CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対して 37%以上の阻害を示した。培養ヒト肝細胞において、PBA 及び PAA は軽微な CYP1A2 及び CYP3A4/5 の誘導を示した。PBA 及び PAA の CYP2C9 あるいは CYP3A を介した薬物相互作用は健康成人を対象とした臨床試験を実施しており［HPN-100-027 試験］、［HPN-100-019 試験］、CYP2C9 に対しては阻害作用を示さないこと、CYP3A4 に対しては、弱い誘導作用を示す可能性があることが示された。CYP2D6 に対するヒトでの薬物相互作用試験は実施していない。

サルを用いた安全性薬理試験では、高用量である GPB の 4 g/kg の用量で中枢神経系抑制を示す症状並びに PR 間隔の短縮、並びに QRS 及び QTc 間隔の中程度の延長が生じた。サルにおいてこの用量での神経行動学的な影響が心電図変化（特に QTc）にも影響を及ぼしているかどうかは不明であった。GPB の無毒性量は神経行動学的な影響については、1 g/kg、心電図への影響では 1 g/kg 未満と判断された。*in vitro* での hERG 又はウサギの心筋細胞を用いたアッセイでは、高濃度で影響が見られたものの、治療用量での PBA 及び PAA の遊離濃度を考慮に入れると問題が無いものと考えられた。さらに、より感受性の高いウサギモデル（Carlsson モデル）では、GPB は不整脈を誘発しなかった。サルを用いた反復投与毒性試験では、52 週間まで継続して、GPB 投与に関連した心電図間隔や波形の変化は認められなかったことからも、GPB は QT 延長の明らかなリスクを生じさせないと考えられた。健康成人を対象とした Thorough QT 試験［HPN-100-010 試験］において、GPB は QT、PR、QRS 間隔又は心電図波形に影響を及ぼさないことが示されている。

ラットの慢性毒性試験において、高用量の GPB に起因する変化として、中枢神経系の抑制、体重増加量の低下、血液学的（赤血球）パラメータの低下、脾臓の組織学的変化（ヘモジデローシス及びリンパ球減少）及び肝臓の組織学的変化（肝細胞リボソームの変化、肝細胞小葉中心性グリコーゲンの減少、びまん性肝細胞グリコーゲンの増加）などが認められた。肝臓における所見は、代謝の変化に続発した適応によるものと考えられた。

サルの慢性毒性試験では、高用量において GPB 投与に起因する変化として、中枢神経系抑制、体重減少、血液学的（赤血球）パラメータの低下、脾臓の組織学的変化（ヘモジデリン）及び肝

臓の組織学的変化（肝細胞肥大）などが認められた。標的臓器における退行性変化は確認されなかった。

非臨床毒性試験で報告された各種の毒性所見と同様の所見は、GPB 又は NaPBA の臨床安全性データベースでは認められていない。UCD 患者は毒性試験で使用された正常動物よりも GPB に対する忍容性が良好である。このことは、正常動物と UCD 患者の間の違いによる可能性がある。第一に、げっ歯類ではヒトやサルと異なり、PAGN（ヒトの主要代謝物であり、残余窒素の除去に関連している）は産生されず、代わりに PAA を PAG として排泄する。第二に、正常な実験動物は、UCD 患者と異なり、窒素の余剰状態にはなく、グルタミン量も正常である。UCD 患者には、高用量の PBA が必要であるが、正常動物には必要でなく忍容性もない。すなわち、UCD 患者では、PAGN 排泄は体内の残余窒素の排泄を助けるのに対し、げっ歯類では PAG の生成、サルでは PAGN の生成により、正常な量の体内貯蔵窒素が強制的に消失する。窒素が多くの生理学的過程（妊娠中及び幼少期の筋肉及び骨タンパク質の合成を含む）で果たす役割を考慮すると、健康な動物で認められた毒性は、窒素の過剰な喪失に関連している可能性が高く、したがって UCD 患者におけるリスクを反映しない可能性が高い。

ラット、ウサギ、サルでの無毒性量での曝露（AUC）に対する UCD 患者での曝露とのマージンを表 2.4-6 に示す。GPB の長期投与非臨床試験の無毒性量における PAA の曝露量のヒトに対する曝露量比は、ラットでは 6～17 倍、サルでは 5～6 倍であった。

表 2.4-6　毒性試験の無毒性量での曝露量とヒトでの曝露量の比較

Study	Species	NOAEL Dose		AUC at NOAEL (μg·h/mL)		Exposure margins[a, b]	
		(g/kg)	(g/m^2)	PBA	PAA	PBA	PAA
14-day	Mouse	0.9	2.7	NE	NE	NE	NE
	Rat	0.65	3.9	124–141[d]	507–751[d]	0.3	1.1–1.7
	Monkey	1.0	12	702–707[d]	2634–4278[d]	1.6	6.0–9.6
13-week	Mouse	1.2	3.6	112–208[c]	2085–2338[c]	0.3–0.5	4.7–5.2
	Rat	0.9 (M)	5.4	105[e]	3371[e]	0.2	7.5
		1.2 (F)	7.2	159[e]	4579[e]	0.4	10.2
	Monkey	1.25	15	525–607[c]	2492–2982[c]	1.2–1.4	5.5–6.7
26-week	Rat	0.65 (M)	3.9	172[c]	2584[c]	0.4	5.8
		1.2 (F)	7.2	102[c]	7416[c]	0.2	16.5
52-week	Monkey	1.1	13.2	505–592[c]	2204–2794[c]	1.2–1.4	4.9–6.3
Carcinogen - icity	Mouse	1.0 (M)	3.0	126[g]	1504[g]	0.3	3.4
		1.0 (F)	3.0	136[g]	2137[g]	0.3	4.8
	Rat	0.21 (M)	1.26	71.51[c]	425[c]	0.2	1.0
		0.30 (F)	1.8	231[c]	1618[c]	0.5	3.6
Develop- mental toxicity	Rats	0.3	1.8	94[f]	1558[f]	0.2	3.5
	Rabbits	0.35	4.4	49[f]	2298[f]	0.1	5.1
Juvenile toxicity	Neonatal rats	0.9 (general)	5.4	235–271[f]	3339–4911[f]	0.5–0.6	7.5–11.0
		< 0.65 (dev)	< 3.9	231–267[f]	2738–3304[f]	0.5–0.6	6.1–7.4

AUC = area under the concentration curve; F = female; M = male; NE = not evaluated; NOAEL = no observed adverse effect level; PAA = phenylacetate; PBA = phenylbutyrate.
[a]: Relative to PBA, $AUC_{0\text{-}24}$ of 433 μg·h/mL and PAA $AUC_{0\text{-}24}$ of 447 μg·h/mL at steady state from clinical study HPN-100-006
[b]: AUC animal/AUC human
[c]: AUC_{Last} (=$AUC_{0\text{-}24\ h}$)
[d]: $AUC_{0\text{-}t}$ (=$AUC_{0\text{-}24\ h}$)
[e]: AUC_{Last} (=$AUC_{0\text{-}48\ h}$)
[f]: AUC_{ALL}
[g]: 10/9 times of AUClast at 0.9 mg/kg/day group in [redacted]2G3R[redacted] study (CTD 4.2.3.2.2)

GPB 未変化体、代謝物である PBA、PAA、PAGN 及び PAG のいずれも、標準的な ICH バッテリーの *in vitro* 又は *in vivo* 遺伝毒性試験において変異原性を示さないと判断された。

GPB の発がん性は、rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験及び Crl: CD(SD)ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験で評価された。

rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験では、投与に関連した発がんは認められなかった。

Crl:CD(SD)ラットを用いた 2 年間がん原性試験では、投与に関連して膵腺房細胞腺腫/腺癌、副腎皮質腺腫/腺癌、甲状腺濾胞細胞腺腫/腺癌、ジンバル腺癌、良性子宮内膜間質ポリープ、子宮頸部悪性神経鞘腫が認められた。投与に関連した非腫瘍性所見として、膵腺房細胞の過形成、副腎皮質束状帯細胞の肥大、甲状腺濾胞細胞の過形成、子宮内膜増殖、肝細胞の塩基性細胞巣、網膜萎縮などが認められた。コンカレント対照群での腫瘍発生率を考慮した場合、腫瘍増加に対する統計学的な無毒性量は、雄では 0.21 g/kg/日、雌では 0.30 g/kg/日であった。ラットがん原性試験

の結果から GPB の患者でのリスクアセスメントを行う目的で、SAP が設置された。SAP は、「GPB はヒトにおける発がん性リスクを惹起しない」と結論した。また、遊離 PAA のがん原性試験での曝露とヒトでの曝露の観点で安全域も認められることからラット 2 年間反復経口投与がん原性試験における腫瘍発生の増加は UCD 患者におけるリスクとならないと判断された。

ラットの胚・胎児発生試験において、母動物に対する毒性が認められる 0.65 及び 0.9 g/kg/日の用量において胎児体重の減少と骨格異常を有する胎児数の増加が認められたが、発生頻度及び母動物に対する毒性が認められる用量であることを考慮し、GPB には催奇形性の懸念は無いと判断された。母動物の一般毒性に対する無毒性量、胚・胎児発生に関する無毒性量はともに 0.3 g/kg/日であった。ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雌雄とも生殖発生に関する無毒性量は 0.9 g/kg/日であった。雄に 1.2 g/kg/日を投与した場合に、GPB 投与/非投与のいずれの雌と交配させた場合においても死亡胚数の増加が認められた。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、F1 動物の成長及び生存率に対する無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断された。

新生児ラットの試験では、GPB の 1.2 g/kg/日群において、血液学的検査（白血球）パラメータの低値、副腎及び卵巣重量の低値、並びに肝臓の組織学変化（門脈周囲、混合細胞浸潤）が認められた。これらは幼若サルの 13 週間試験、又は成熟ラットやサルの毒性試験で観察された所見と類似していた。

新生児/幼若ラット及び幼若サルにおいて、PAA の AUC は、成人 UCD 患者で報告されている臨床レベルの約 6 倍であった。HPN-100-005 試験で HPN100 を投与した小児患者における PAA の全身曝露量（AUC = 964 μg·h/mL）と比較した場合は、新生児/幼若ラット及び幼若サルでの PAA の曝露量は約 3 倍であった。

以上、臨床試験及び承認申請のための、ICH（M3）ガイドラインを含む各種ガイドラインに推奨された包括的非臨床試験プログラムが終了した。GPB は NaPBA 同様に余剰窒素を体内から排出させ、臨床において問題となる外挿性の高い重篤な毒性は認められず、良好な薬物動態特性を示した。したがって、GPB は成人及び幼若 UCD 患者に対して安全かつ有効な治療薬となることが期待される。

2.4.6 参考文献

Batshaw ML, Thomas GH, and Brusilow SW.: New approaches to the diagnosis and treatment of inborn errors or urea synthesis. Pediatrics. 1981 Aug; 68(2): 290-297.

Carlsson L, Almgren O, Duker G.: QTU-prolongation and torsades de pointes induced by putative class III antiarrhythmic agents in the rabbit: etiology and interventions. J Cardiovasc Pharmacol. 1990 Aug; 16(2): 276-85.

Chernoff N, Rogers EH, Gage MI, and Francis BM.: The relationship of maternal and fetal toxicity in developmental toxicology bioassays with notes on the biological significance of the "no observed adverse effect level". Reprod Toxicol. 2008 Feb; 25(2): 192-202.

James MO, Smith RL, Williams RT, Reidenberg M.: The conjugation of phenylacetic acid in man, sub-human primates and some non-primate species. Proc R Soc Lond B Biol Sci. 1972 Jul; 182(66): 25-35.

Kasumov T, Brunengraber LL, Comte B, Puchowicz MA, Jobbins K, Thomas K, et al.: New secondary metabolites of phenylbutyrate in humans and rats. Drug Metab Dispos. 2004 Jan; 32(1): 10-19.

McQuade PS.: Analysis and the effects of some drugs on the metabolism of phenylethylamine and phenylacetic acid. Neuropsychopharmacol Biol Psychiat. 1984; 8(4-6): 607-614.

Moldave K, Meister A.: Synthesis of phenylacetylglutamine by human tissue. J Biol Chem. 1957; 229(1): 463-476.

Schachter D, Taggart J.: Glycine N-acylase: purification and properties. J Biol Chem. 1954 May; 208(1): 263-275.

Webster LT, Siddiqui UA, Lucas SV, Strong JM, Mieyal JJ.: Identification of separate acyl-CoA:glycine and acyl-CoA:L-glutamine N-acyltransferase activities in mitochondrial fractions from liver of rhesus monkey and man. J Biol. Chem. 1976 Jun; 251(11): 3352-3358.