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
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.1 緒言

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）
GPB	glycerol phenylbutyrate	フェニル酪酸グリセロール
NaPBA	sodium phenylbutyrate	フェニル酪酸ナトリウム
PAA	phenylacetic acid	フェニル酢酸
PAGN	phenylacetylglutamine	フェニルアセチルグルタミン
PBA	phenylbutyrate	フェニル酪酸
UCD	urea cycle disorder	尿素サイクル異常症

目次

頁
略号一覧表 2
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表 4
2.6.1 緒言 4
2.6.1.1 名称及び化学構造式 4
2.6.1.2 GPB の薬理作用 4
2.6.1.3 予定する効能・効果 4
2.6.1.4 予定する用法・用量 4

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

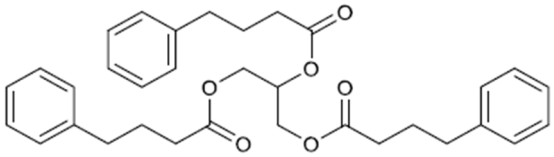
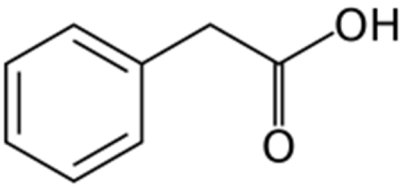
2.6.1 緒言

2.6.1.1 名称及び化学構造式

フェニル酪酸グリセロール(GPB)は、グリセロール骨格に結合した 3 分子のフェニル酪酸(PBA)がエステル結合を介してグリセロールに結合したトリグリセリドである。GPB は経口摂取されると、リパーゼによりグリセロールと PBA に加水分解される。その後 PBA は β 酸化を受けて薬理活性部分であるフェニル酢酸（PAA）が生成される。GPB は PBA のプロドラッグであり、活性代謝物 PAA のプレプロドラッグである。

GPB と PAA の構造を表 2.6.1-1 に示す。ラヴィクティは添加剤が含まれていない原薬（GPB）そのものを製剤としている。

表 2.6.1-1 GPB 及び活性代謝物 PAA の構造と性状

フェニル酪酸グリセロール（GPB）		フェニル酢酸（PAA）	
			
CAS	611168-24-2	CAS	122-79-2
分子量	530.65	分子量	136.15
分子式	$C_{33}H_{38}O_6$	分子式	$C_8H_8O_2$

2.6.1.2 GPB の薬理作用

GPB はフェニル酪酸ナトリウム（NaPBA）と同様に PAA を介して作用する。PAA はヒトを含む霊長類ではグルタミンと結合してフェニルアセチルグルタミン（PAGN）を生成する。PAGN は尿中に排泄され、尿素サイクルによる余剰窒素の排泄の代替経路となる。PAGN は 1 モル当たり 2 モルの窒素を含有しており、尿素の窒素含有数と同じである。PAGN は、尿素サイクル異常症（UCD）患者の余剰窒素を除去する尿素の代替として働く。GPB は液剤の経口剤として用いられる。

NaPBA の蓄積された臨床データより、新生児期発症の UCD 患者（生後 28 日以内に発症）及び遅発性（生後 1 ヵ月以降に発症）の患者の双方において、推奨用量投与により長期間の生存率の改善（高アンモニア血症性脳症による死亡発生率の低下）が示されている。

2.6.1.3 予定する効能・効果

尿素サイクル異常症

2.6.1.4 予定する用法・用量

通常、成人及び小児には、1 日あたり 4.5 から 11.2 mL/m^2（体表面積）を 3 回から 6 回に分割

し、食事又は栄養補給と共に若しくは食直後に経口投与する。

本剤の投与開始にあたっては、フェニル酪酸ナトリウム製剤未投与の場合は、体表面積が 1.3 m^2 未満であれば 1 日あたり 8.5 mL/m^2、1.3 m^2 以上であれば 1 日あたり 7 mL/m^2 から開始する。また、フェニル酪酸ナトリウム製剤から切り替える場合は、錠であれば 1 日総投与量（g）×0.86、顆粒であれば 1 日総投与量（g）×0.81 の換算式を用い、同量のフェニル酪酸を含む用量（mL）から投与を開始する。

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
2.6 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

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）
μM	μmol/L	μmol/L
ABE	actual base exess	塩基平衡過剰
AMMONAPS®	European trade name for sodium phenylbutyrate	フェニル酪酸ナトリウムの欧州での商標
BUPHENYL®	United States trade name for sodium phenylbutyrate	フェニル酪酸ナトリウムの米国での商標
C_{max}	maximum concentration of the drug after dosing	投与後の最高血中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
ECG	electrocardiogram	心電図
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
GT4P	glyceryl tri-(4- phenylbutyrate)	グリセロールトリ(4-フェニル酪酸)
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
HR	heart rate	心拍数
ICH	International Conference on Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
ms	millisecond	ミリ秒
NaPBA	sodium phenylbutyrate	フェニル酪酸ナトリウム
nM	nmol/L	nmol/L
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
pCO_2	partial pressure of carbon dioxide	二酸化炭素分圧
pH	potential of hydrogen	水素イオン指数
pO_2	partial pressure of oxygen	酸素分圧
QTc	heart rate corrected QT (interval)	心拍数で補正した QT
QTcR	one of corrected QT intervals for changes in heart rate	心拍数で補正した QT の 1 種
SEM	standard error of the mean	標準誤差
UCD	urea cycle disorder	尿素サイクル異常症

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1 GPB 及び PBA の生化学 11
2.6.2.3 副次的薬理試験 13
2.6.2.4 安全性薬理試験 14
2.6.2.4.1 中枢神経系に対する作用 14
2.6.2.4.1.1 サルにおける神経行動学的検査 14
2.6.2.4.2 循環器系に対する作用 14
2.6.2.4.2.1 *In vitro* 試験 14
2.6.2.4.2.1.1 PBA 及び PAA の hERG 電流への影響 14
2.6.2.4.2.1.2 PBA 及び PAA のウサギ心筋細胞のテール電流に及ぼす影響 15
2.6.2.4.2.2 *In vivo* 試験 17
2.6.2.4.2.2.1 麻酔下ウサギを用いた循環器への影響 17
2.6.2.4.2.2.2 サルテレメトリー試験における心血管系への影響 18
2.6.2.4.2.2.3 サルにおける呼吸器系への影響 19
2.6.2.4.3 その他の試験 20
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 21
2.6.2.6 考察及び結論 22
2.6.2.7 図表 24
2.6.2.8 参考文献 25

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

フェニル酪酸グリセロール（GPB、別名 GT4P 又は HPN-100）はグリセロール骨格にエステル結合を介して 3 分子の 4-フェニル酪酸（PBA）が結合したトリグリセリドである。GPB は経口投与後に、主にリパーゼにより消化管内でグリセロール骨格から遊離する。したがって GPB は PBA のプロドラッグであると言える。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 2012 年に国内で、1999 年に欧州にて、1996 年に米国にて尿素サイクル異常症（UCD）治療薬として、フェニル酪酸ナトリウム（NaPBA）製剤の形で承認されている。商品名は、ブフェニール®（日本）、AMMONAPS®（欧州）、BUPHENYL®（米国）である。GPB の代謝物として検出された代謝物は全て NaPBA の代謝物として検出されたものである。PBA が PAA に代謝された後の薬理メカニズムは、剰余窒素と結合することであり、その後ヒトを含む霊長類においてはフェニルアセチルグルタミン（PAGN）として、齧歯類などの動物ではフェニルアセチルグリシン（PAG）として排泄される。

生化学的には、ヒトを含む霊長類では PAA はグルタミンと結合して PAGN を形成し、霊長類以外の動物ではグルタミンではなくグリシンと結合し PAG が形成される。このことから、ヒトへの外挿性を考慮した場合、霊長類（サル）がより毒性試験に適切な動物種であると考えられる。

表 2.6.2-1 に、薬理データパッケージの要約を示した。PBA の薬理学的作用については、文献上で良く知られており、今回の申請では新たな非臨床薬理試験は実施しなかった。安全性薬理試験は、覚醒下のサルを用いて、GPB の中枢神経系、呼吸器系及び循環器系への影響を調べた。PBA 及び PAA について、ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子（hERG）をトランスフェクトしたヒト胎児腎細胞 293（HEK293）細胞及びウサギ心筋細胞を用いて *in vitro* 電気生理学的試験を行った。

これらの試験は医薬品規制調和国際会議（ICH）の安全性薬理試験ガイドラインである S7A 及び S7B ガイドラインに従い計画し、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。

表 2.6.2-1　GPB の薬理試験一覧（安全性薬理試験）

Type of Study	Species	Route	Dose	Duration	Study No./ Location
CNS and respiratory	Primate	Oral	0, 1, 4 g/kg	Single dose	[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 (0, 26.8, 85.3, 144.9, 894.2)[a] PAA (µg/mL): 0, 35, 345, 675, 1050 (0, 35.7, 303.1, 628.2, and 987.5)[a]	N/A	[redacted]1209-1 [4.2.1.3-1]
Myocardial clamp	Rabbit myocytes	*In vitro*	PBA (µg/mL) 0, 75, 225, 675, and 2225 (0, 88.9, 297.5, 875, 1591.8)[a] PAA (µg/mL) 0, 100, 300, 900, and 2700 (0, 105, 305.2, 909.3, 2636.9)[a]	N/A	[redacted]0109-1 [4.2.1.3-2]
Cardiovascular	Rabbit	Oral	0, 100, 300 mg/kg	Single dose	[redacted]0801 [4.2.1.3-3]
Cardiovascular	Primate	Oral	0, 1, 4 g/kg	Single dose	[redacted]Y 004[redacted] [4.2.1.3-4]

CNS = central nervous system; hERG = human ether-a-go-go related gene; HEK = human embryonic kidney; HEK293 = human embryonic kidney cell line 293; N/A = not applicable; PAA = phenylacetate; PBA = phenylbutyrate.
[a] Nominal (actual) concentrations

GPB をサルに経口投与した際、1 g/kg の用量では、神経行動学的あるいは呼吸器系への影響はなく、同用量が無毒性量と判断された。4 g/kg/日では、自発運動の低下、異常姿勢、協調低下、平衡障害などの中枢神経系の抑制性の変化が 4 例中 3 例で認められた［[redacted]Y 003[redacted]］。

In vitro での hERG 試験及びウサギ心筋細胞を用いた試験では QT 間隔に影響を及ぼすリスクが認められたが安全域が認められた［[redacted]1209-1］。PBA について、hERG アッセイでのテール電流ピークの阻害は 894.2 µg/mL で認められたが、ウサギ心筋細胞ではさらに高い 1591.8 µg/mL で影響が見られなかった［[redacted]0109-1］。これらの *in vitro* での PBA の濃度はサルに GPB を 0.6 g/kg の用量で投与したときの最高血中濃度（C_{max}）23.3 µg/mL の 38 倍～68 倍の濃度である。PBA のサルでのタンパク結合率が 75.4%～98%であることを考慮すると、遊離（非結合型）PBA としての安全域はさらに 4 倍以上大きくなる。また、健常人に GPB の 6 mL を 3 日間投与したときの PBA の C_{max} は 100 µg/mL［HPN-100-010 試験］であり、ヒトでのタンパク結合率は 80.6%～98%である［4.2.2.3-1］。したがってヒトでの遊離 PBA の安全域は十分に大きい（46 倍以上）。PAA について、*in vitro* hERG アッセイでのテール電流のピークの阻害は 987.5 µg/mL の濃度で生じ、サルに

GPB を 0.6 g/kg の用量で投与したときの C_{max} 38.5 µg/mL の 28 倍の濃度であった。サルでの PAA の血漿蛋白結合率は 18.4%～46.1%であり、遊離 PAA での安全域はさらに大きい。健康成人では、GPB を 6 mL の用量で 3 日間投与したときの PAA の C_{max} は 65 µg/mL［HPN-100-010 試験］であり、血漿タンパク結合率は 37.1%～65.6%であった［4.2.2.3-1］。したがってヒトの高用量投与においても遊離 PAA の観点での安全域は大きい（24 倍以上）。ウサギ心筋細胞での試験では 909.3 µg/mL 以上の濃度で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 の濃度ではテール電流のピークに影響しなかった）。

メトキサミン負荷麻酔下ウサギ（カールソンモデル）に 100 及び 300 mg/kg の用量で GPB を経口投与したところ、不整脈は認められなかった。一方、メトキサミン負荷麻酔下ウサギに GPB を 100 及び 300 mg/kg の用量で経口投与したところ、血圧の有意な上昇が観察された［[redacted]0801］。

サルに 1 又は 4 g/kg の GPB を単回経口投与したところ血圧や心拍数に影響を及ぼさなかった。心電図に対しては 1 g/kg で PR の短縮が認められたため無毒性量は 1 g/kg 未満であった。神経行動に及ぼす影響に対する無毒性量は 1 g/kg であり、4 g/kg の用量では、一般状態の変化、PR 間隔の短縮、QRS 及び心拍数で補正した QT 間隔（QTcR）の中等度の延長が認められた。補正しない QT 間隔、心電図波形及びリズムには投薬の影響は認められなかった［[redacted]Y 004[redacted]］。

以上の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果から、GPB の投与により QT 間隔延長の明確なリスクがあるとは判断されなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

GPB は PBA のプロドラッグであり、血漿中で未変化体の形では基本的に検出されないこと、PBA は NaPBA の製剤として長期間市販されていることから、今回の申請にあたり、GPB の効力を裏付ける試験は実施しなかった。GPB（GT4P 又は HPN-100）及び GPB の代謝物（PAA、PAG、PAGN 及び PBA）を検索用語として米国国立医学図書館の PubMed データベースを利用して薬理作用及び薬力学的作用について文献検索を行った。GPB の作用又は効果の機序を裏付ける試験に関する文献の概要を、*in vitro* 試験（表 2.6.2-2）及び *in vivo* 試験（表 2.6.2-3）に示した。PBA、PAA 及び PAGN に関する科学論文は豊富であり、プロドラッグである PBA 及び活性代謝物である PAA が残余窒素と結合して PAGN として排出されるという薬理学的作用[James MO, 1972]は十分に証明されていると考えられた。GPB の代謝物である PBA、PAA 及び PAGN は NaPBA のフリー体及び代謝物と同様である。本章では関連する論文の要約を提示する。GPB の薬物動態と薬力学は密接に関連する。GPB の薬物動態については Module2.6.4 に記載した。

- *In vitro* 試験

表 2.6.2-2 GBP の作用又は効果の機序を裏付ける試験の概要（*In vitro*）

文献	目的	方法	被験物質（濃度）	主要な結果及び結論
[Moldave, 1957]（4.3-31）	ヒトにおけるフェニルアセチルグルタミン（PAGN）の合成の検証	^{14}C 標識 L-グルタミンとヒト腎臓抽出液をインキュベート後、クロマトグラフィーにより代謝物を解析した。	^{14}C 標識 L-グルタミン（1.26 μM）フェニルアセチル CoA（2.25 μM）	ヒトでは、PAGN はグルタミン N-アセチルトランスフェラーゼにより、フェニルアセチル CoA と L-グルタミンから合成されることが確認された。ラットと比較してヒトにおける PAGN 産生の特異性が示された。
[Schachter, 1954]（4.3-37）	グリシン N-アシラーゼの精製と特性の解析	ウシ肝臓のミトコンドリア画分からグリシン N-アシラーゼを精製し、グリシン N-アシラーゼの基質選択性を酵素アッセイにより検証した。	グリシン N-アシラーゼ	グリシン N-アシラーゼは、さまざまな鎖長の脂肪族及び芳香族アシル CoA（PAA 含む）を N-アシル誘導体に変換する反応を触媒した。グリシン N-アシラーゼの生理学的な重要性が示された。
[Sugahara, 2020]	OTC 患者由来肝細胞を用いたヒト化肝臓マウスモデルの確立	OTC 患者由来肝細胞を SCID マウスに移植した。マウスの体内で増殖した患者由来肝細胞を、10 mM NH_4Cl と PBA（0.01, 0.1 又は 1 mM）の存在下で 2 週間培養後、上清中のアンモニア濃度を測定した。	PBA（0.01, 0.1 又は 1 mM）	PBA はアンモニア濃度を減少させ、1 mM の濃度で最も顕著な効果を示した。また、稀少な OTC 患者由来細胞を安定的に増殖させる *in vivo* 増幅系を確立した。これにより、OTC 患者由来細胞を用いた大規模で再現性のある *in vitro* アッセイ系の構築が可能になると考えられた。

表 2.6.2-2 GBP の作用又は効果の機序を裏付ける試験の概要（*In vitro*）（続き）

文献	目的	方法	被験物質（濃度）	主要な結果及び結論
[Webster, 1976]（4.3-41）	アシル-CoA:グリシン及びアシル-CoA:L-グルタミン N-アシルトランスフェラーゼ活性の測定	ヒト及びアカゲザルの肝臓抽出液からミトコンドリア画分を調製し、アシル-CoA 供与体存在下の酵素反応を比色定量法により解析した。	ヒト及びアカゲザルの肝臓抽出液のミトコンドリア画分	ヒト及びアカゲザルの肝臓のミトコンドリアにはグリシンと L-グルタミンに対する特異的なアシル-CoA:N-アセチルトランスフェラーゼが存在することが示唆された。グリシンはベンゾイル CoA やブチリル CoA を、L-グルタミンはフェニルアセチル-CoA とインドールアセチル-CoA を基質として使用するという基質特異性が観察された。

PAA=フェニル酢酸、PAGN=フェニルアセチルグルタミン、PBA=フェニル酪酸、OTC=オルニチントランスカルバミラーゼ

- *In vivo* 試験

表 2.6.2-3　GBP の作用又は効果の機序を裏付ける試験の概要（*In vivo*）

文献	試験動物（性別、週齢、例数）	被験物質	投与方法（媒体）	投与期間	用量	測定項目	主要な結果及び結論
[James, 1972]（4.3-19）フェニル酢酸（PAA）の代謝産物の検討	ヒト（男性：n=2）、旧世界サル（8 種、雌雄：n=1-2）、新世界サル（3 種、雌雄：n=2-3）、マウス、ラット、イヌ、ウサギを含む 13 種の動物（雌雄：n=1-4）	^{14}C 標識 PAA	ヒト：経口投与、その他の種：経口、筋肉内又は腹腔内投与（炭酸水素ナトリウム緩衝液）	単回投与	ヒト： 5 μCi（80 mg/kg）、その他の種：0.1-20 μCi	被験物質投与後 24 時間以内の尿中の代謝物	ヒトでは、24 時間以内に PA は主にフェニルアセチルグルタミン（PAGN、平均 91%）として尿中排出されることが確認された。また、フェニル酢酸の代謝には種間差が認められ、それぞれの種における酵素活性や代謝経路に違いがあることが示唆された。マウス、ラット、イヌ、及びウサギではグリシン抱合体は認められたが、グルタミン抱合体は認められなかった。
[Kasumov, 2004]（4.3-20）フェニル酪酸（PBA）の新規代謝物の特定	ヒト（男性：n=3、女性：n=4）、ラット（n=5-7/群）	NaPB、PBA 及び GPB	ヒト：経口投与、ラット：経口投与（Tween）もしくは肝灌流（クレブス-リンガー炭酸水素緩衝液）	単回投与	ヒト： 0.36 mmol/kg (5 g/75 kg) ラット：2.15 mM NaPB 相当/kg、肝灌流試験は 5 mM NaPB	ヒト尿サンプル、ラット血液サンプル及び肝灌流液サンプルを質量分析法及び核磁気共鳴法により解析し、代謝物の構造を決定	PBA の代謝物としてヒトの尿中では PAA 及び PBA のグルタミン抱合体である PAGN、PBGN が主代謝物として認められたほか、新規の代謝物として、ヒドロキシ-4-フェニル酪酸（PHB）、フェニルアセトン、1-フェニル-2-プロパノールが同定された。一方で、ラット肝灌流液中では PAGN、PBGN は認められず、グリシン抱合体 PAG、PHB、PBA や PAA のグルクロン酸抱合体などが主要な代謝物として認められた。なお、ラットでは NaPB 及び GPB を含む各種エステルの生物学的利用率を測定する試験も実施され、この時の GPB の生物学的利用率は NaPB 投与時と比較して低かった。

表 2.6.2-3　GBP の作用又は効果の機序を裏付ける試験の概要（*In vivo*）（続き）

文献	試験動物（性別、週齢、例数）	被験物質	投与方法（媒体）	投与期間	用量	測定項目	主要な結果及び結論
[Raper, 1928]（4.3-35）イヌにおけるフェニル脂肪酸の酸化に関する定量的研究	イヌ（雌）	PBA などのフェニル脂肪酸	皮下投与	単回投与	1g/動物	被験物質投与後 3 日間尿サンプルを採取し、尿中に排出される脂肪酸の酸化を解析	フェニルプロピオン酸、PBA、フェニルカプロン酸などのフェニル脂肪酸を投与したイヌ体内において β 酸化理論に従って予測された量の生成物（ベンゾイル酸または PAA）が生成された。

GPB=フェニル酪酸グリセロール、PAA=フェニル酢酸、PAG=フェニルアセチルグリシン、PAGN=フェニルアセチルグルタミン、PBA=フェニル酪酸、PBGN=フェニルブチリルグルタミン、PHB=ヒドロキシ-4-フェニル酪酸、NaPB=フェニル酪酸ナトリウム

2.6.2.2.1 GPB 及び PBA の生化学

GPB は PBA のプロドラッグであり、PBA 3 分子がエステル結合でグリセロール骨格と結合している。PBA は主にリパーゼにより消化管内で遊離する［4.2.2.4-2～4.2.2.4-7］。Lowe 2009 試験［4.2.2.4-2］では、新生児から成人まで消化管に存在する膵リパーゼ類（リコンビナント）が GPB から PBA への加水分解を行うことが示された。特に、膵リパーゼ関連タンパク質 2（PLRP2）、カルボキシルエステルリパーゼ（CEL）及び膵トリグリセリドリパーゼ（PTL）がいずれも GPB から PBA への切断を行うことが示された。さらに、一連の *in vitro* 試験［4.2.2.4-3～4.2.2.4-7］により、GPB の急速かつ強い加水分解反応をリパーゼが行い、代謝物 PBA の産生の主要な酵素であることが確認された。*In vitro* 試験での、膵リパーゼ存在下での GPB の半減期は 1 分以内である。

GPB をラット又はサルに経口投与した場合、GPB は血漿中で検出されなかった［4.2.3.1-1, 4.2.3.2-4, 4.2.3.1-2, 4.2.3.2-7］。また、 不純物P* あるいは 不純物N* の不純物についてもラット、サルの単回経口投与時に血漿中で検出されなかった［4.2.3.1-1, 4.2.3.1-2］。一方で十分な濃度の PBA が血漿中から検出され、GPB の経口投与後に PBA が遊離したことが示された。PAA、PAG（ラット）及び PAGN（サル）も血漿中及び尿中で検出され、GPB から遊離した PBA がさらに PAA に代謝されることが示された（図 2.6.2-1）。

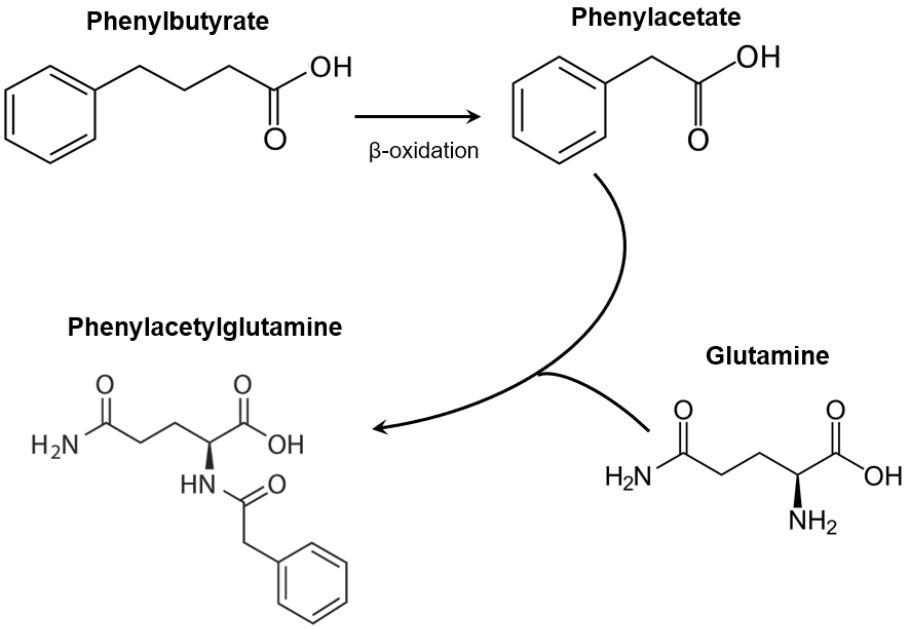
皮下投与後に PBA はβ酸化を受けて PAA となる[Raper HS, 1928]。PAA は肝及び腎において、フェニルアセチル CoA：L-グルタミン N-アセチルトランスフェラーゼ酵素を介してグルタミン抱合を受ける代謝反応の基質となり、PAGN が生成され[Batshaw ML, 2001][Moldave K, 1957][Webster LT, 1976]、糸球体ろ過及び尿細管分泌により尿中に排泄される[James MO, 1972]。PAA は外因性としては、腸内細菌によるフェニルアラニンの分解生成物として産生され、内因性としてはフェニルアラニンから生じたフェネチルアミンの酸化的脱アミン反応により生じ、サルではグルタミンに抱合される[Seakins JW, 1971]。グルタミン抱合体 PAGN は高等霊長類及びヒトでのみ産生される[James MO, 1972][Kasumov T, 2004]。

Phenylacetyl-CoA + L-glutamine → CoA + α-N-phenylacetyl-L-glutamine

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に抱合され、PAGN でなく PAG が形成される[Moldave K, 1957]。イヌに PAA を混餌投与したところ、24 時間で通常の 7 倍のグリシンが尿中に排泄された[Quick AJ, 1932]。ヒトを含む霊長類と他のほ乳類での PAA の抱合様式の違いは、肝及び腎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依存している[Schachter D, 1954][Webster LT, 1976]。

*: 新薬承認情報提供時に置き換え

図 2.6.2-1 フェニルアセチルグルタミン（PAGN）の生化学的産生



PAA は、グルタミン（霊長類）又はグリシン（他の種）に抱合された後さらにグルクロン酸に抱合された形でも尿中に検出される[McQuade PS, 1984][Teuchy H, 1971]。

2.6.2.3 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。

2.6.2.4 安全性薬理試験

GPB の単回投与後に生じる望ましくない薬力学的特性を検出する目的で安全性薬理試験を実施した。PBA 及び PAA の代謝反応過程がヒトに類似していることからサルを選択した（4.2.2.4-1）。安全性試験では中枢神経系、呼吸器系、循環器系機能について検討を行った。GPB の代謝物である PBA 及び PBA の β 酸化産物である PAA については、心電気生理学的な特性を hERG 強制発現 HEK293 細胞及びウサギ心筋細胞を用いて検討した。さらに GPB の催不整脈作用はカールソンモデルウサギを用いて検討した。

試験の選択とデザインは安全性薬理に関する ICH ガイダンス（ICH S7A）及び QT 延長に関する評価に関するガイダンス（ICH S7B）に従い、GLP 基準を遵守して実施した。

2.6.2.4.1 中枢神経系に対する作用

2.6.2.4.1.1 サルにおける神経行動学的検査

［試験番号：[redacted]Y 003[redacted]、資料番号：4.2.1.3-5］

GPB の中枢神経系に及ぼす影響についてサル（雌雄各 2 匹、3 から 4 歳）を用いて評価した。GPB はコーン油を媒体として 1 及び 4 g/kg の用量で漸増投与した。神経行動学的検査を投与前、投与中及び投与 24 時間後まで観察記録した。

GPB は 1 g/kg の用量の経口投与では神経行動学的パラメータ及び深部体温に影響を及ぼさなかった。

高用量の 4 g/kg では自発運動の低下、異常姿勢、協調性の低下、平衡異常などの中枢神経系の抑制兆候が 4 匹中 3 匹の動物で見られた。これらの所見は投与 8 時間後から 24 時間後に認められた。軽度であるが統計学的に有意な体温の低下が 4 g/kg 投与の 2 時間後に認められた。神経行動学的機能及び体温に対する無毒性量は 1 g/kg と判断された。

2.6.2.4.2 循環器系に対する作用

2.6.2.4.2.1 *In vitro* 試験

GPB はプロドラッグであり経口投与後に速やかに PBA が遊離する。したがって、hERG 発現 HEK293 細胞及びウサギ心筋細胞を用いて PBA の作用を評価した。また、PBA の β 酸化産物である PAA についても併せて評価した。

2.6.2.4.2.1.1 PBA 及び PAA の hERG 電流への影響

［試験番号：[redacted]1209-1、資料番号：4.2.1.3-1］

安定的に hERG を発現させた HEK293 細胞に対して、外部等張溶液（pH 7.3）中に PBA を 0（溶媒）、25、75、125 及び 750 µg/mL の名目濃度[1]（実測でそれぞれ 26.8、85.3、144.9 及び 894.2 µg/mL）又は PAA を 0（溶媒）、35、345、675 及び 1050 µg/mL の名目濃度[2]（実測でそれぞれ 35.7、303.1、628.2 及びび 987.5 µg/mL）で暴露し、遅延整流 IKr（カリウムチャネル）電流への影響を、ホールセルパッチクランプ法を用いて評価した。陽性対照として E-4031[3]（0.5 µmol/L）を使用した。

---

[1] 最高濃度はサルに 0.6 g/kg の GPB を投与したときの総（遊離型+結合型）PBA の C_{max}（23.3 µg/mL）の 38 倍である［4.2.2.2-2］。

[2] 最高濃度はサルに 0.6 g/kg の GPB を投与したときの総（遊離型+結合型）PAA の C_{max}（38.5 µg/mL）の 28 倍である［4.2.2.2-2］。

[3] E-4031（N-(4-((1-(2-(6-methyl-2-pyridinyl)-ethyl)-4-piperidinyl)carbonyl)phenyl) methane sulfonamide (CAS# 113558-

PBA 濃度 144.9 µg/mL まで又は PAA 濃度 628.2 µg/mL までの濃度では、媒体対照群と比べて、hERG テール電流のピークに影響はなかった。PBA 濃度 894.2 µg/mL、PAA 濃度 987.5 µg/mL では、hERG テール電流が統計学的に有意に抑制された。本試験の PBA の濃度範囲では、テール電流には 50%抑制は生じなかった。PAA ではテール電流の 50%抑制濃度は 792 µg/mL であった。陽性対照の E-4031 は、hERG チャネルのテール電流のピークを有意に抑制した（表 2.6.2-4、表 2.6.2-5）。

表 2.6.2-4 PBA の hERG 電流への影響

Treatment	Concentration (µg/mL)		No. of Patched Cells	Net Normalized Current Density	
	Target	Measured		% of Control	SEM
Vehicle	0	-	7	100.0	0.0
PBA	25	26.8	7	100.2	4.4
PBA	75	85.3	7	89.1	3.2
PBA	125	144.9	7	92.3	3.3
PBA	750	894.2	7	63.8*	4.1
E-4031	500.0 nM	-	7	20.6*	4.2

Source: 4.2.1.3-1 in-text Table 4.
PBA = phenylbutyrate; SEM = standard error of the mean.
* $p \leq 0.05$ when compared to control value (Student's t-test).

表 2.6.2-5 PAA の hERG 電流への影響

Treatment	Concentration (µg/mL)		No. of Patched Cells	Net Normalized Current Density	
	Target	Measured		% of Control	SEM
Vehicle	0	-	7	100.0	0.0
PAA	35	35.7	7	90.3	3.1
PAA	345	303.1	7	92.0	4.7
PAA	675	628.2	7	84.7	5.6
PAA	1050	987.5	7	46.5*	5.9
E-4031	500.0 nM	-	6	17.3*	5.0

Source: 4.2.1.3-1 in-text Table 3.
PAA = phenylacetate; SEM = standard error of the mean.
* $p \leq 0.05$ when compared to control value (Student's t-test).

2.6.2.4.2.1.2 PBA 及び PAA のウサギ心筋細胞のテール電流に及ぼす影響

［試験番号：[redacted]0109-1、資料番号：4.2.1.3-2］

PBA 及び PAA がカリウムチャネル電流に及ぼす影響について検討する目的で、ウサギ心筋細胞を用いて PBA は 0（溶媒）、75、225、675 及び 2225 µg/mL 、PAA は 0（溶媒）、100、300、900 及び 2700 µg/mL の濃度でジメチルスルホキシド等張緩衝液（pH7.0）を溶媒として暴露し、ホールセルパッチクランプ法を用いて遅延整流 IKr 電流に及ぼす影響について評価した。実測された濃度は PBA（塩補正無）では 0（溶媒）、88.9、297.5、875 及び 1591.8 µg/mL、PAA（塩補正無）

89-7)）は選択的 hERG チャネルブロッカーである。

では 0（溶媒）、105、305.2、919.3 及び 2635.9 µg/mL であった。陽性対照として、E-4031（0.5 µmol/L）を使用した。

PBA 濃度 1591.8 µg/mL まで、又は PAA 濃度 305.2 µg/mL までの濃度では、テール電流のピークは媒体対照と比較して影響を受けなかった。PAA の高用量 919.3 µg/mL ではテール電流のピーク値が低下した（このときの濃度は一定でなく、PAA の影響を正確に評価できなかった）。2635.9 µg/mL では、テール電流は計測できなかった。

以上より、ウサギ心筋細胞を用いた *in vitro* 試験において、PBA は 1591.8 µg/mL、PAA は 305.2 µg/mL 濃度までテール電流のピークに影響を及ぼさなかった。919.3 µg/mL 以上の濃度の PAA は細胞膜の恒常性に影響を与え、評価が困難であった。（表 2.6.2-6 及び表 2.6.2-7）

表 2.6.2-6 PBA の心筋細胞を用いた IKr 電流への影響

Treatment	Concentration (µg/mL)		No. of Patched Cells	Net Normalized Current Density	
				Compared to Baseline Control	SEM
	Target	Measured			
Baseline		0	7	100.0	0.000
PBA	75	88.9	7	104.7	0.123
PBA	225	297.5	7	117.2	0.153
PBA	675	875	7	106.1	0.213
PBA	2225	1591.8	7	145.2	0.362
E-4031	500.0 nM		3	35.1	0.111

Source: 4.2.1.3-2, Table 5.
Net = current density corrected for time-dependent current run-down; Normalized = net current density data divided by net current density data recorded at the beginning of the experiment, in baseline conditions; PBA = phenylbutyrate; SEM = standard error of the mean.

表 2.6.2-7 PAA の心筋細胞を用いた IKr 電流への影響

Treatment	Concentration (µg/mL)		No. of Patched Cells	Net Normalized Current Density	
				% of Baseline Control	SEM
Baseline		0	7	100.0	0.0
PAA	100	105.0	7	100.3	6.2
PAA	300	305.2	7	92.8	8.6
PAA	900	919.3	[a]	[a]	[a]
PAA	2700	2635.9	[a]	[a]	[a]

Source: 4.2.1.3-2, Table 3.
Net = current density corrected for time-dependent current run-down; Normalized = net current density data divided by net current density data recorded at the beginning of the experiment, in baseline conditions; PAA = phenylacetate; SEM = standard error of the mean.
[a]: 919.3 µg/mL PAA was tested on seven cells, yielding net current density values of 67±14.8% of baseline levels. The data obtained in the presence of this concentration of the test article exhibited variability, which precluded the interpretation of the effects of PAA on patch cells. The patch-clamp data acquired in the presence of this concentration are thus excluded from this

table and from the conclusions of this report. No recordings of current could be obtained in the presence of 2635.9 µg/mL of PAA or during the post-PAA washout.

2.6.2.4.2.2 *In vivo* 試験

2.6.2.4.2.2.1 麻酔下ウサギを用いた循環器への影響

［試験番号：[redacted]0801、資料番号：4.2.1.3-3］

サルを用いた安全性薬理試験 2.6.2.4.2.2.2 において、4 g/kg の高用量で神経行動学的影響が心電図検査に及ぼしたと考えられたため、より感受性の高い動物モデルを用いて GPB の不整脈作用について検討した。本試験は、カールソンのメトキサミン負荷不整脈モデルウサギ[Carlsson L, 1990]を用いて GPB の催不整脈作用について検討した。各群 8 匹の雌の New Zealand White ウサギを用い、0（コーン油）、100 及び 300 mg/kg の GPB を単回強制経口投与した。GPB 投与 3 時間後にウサギを麻酔（ケタミン/キシラジン、筋肉内）し、メトキサミンを 20 µg/kg/分の速度で 50 分間静脈内投与した。メトキサミンの投与は GPB の活性代謝物 PAA の血中濃度の C_{max} のタイミングに合わせた。GPB 投与群以外に、8 匹のウサギにメトキサミン投与と同時にクロフィリウム（100 µg/kg/分）を静脈内投与し、陽性対照とした。平均動脈圧、収縮期動脈圧、拡張期動脈圧、心拍数、心電図パラメータ（PR、QRS 及び QTc 間隔）、不整脈の発生については、試験期間を通じて連続的にモニタリングした。GPB の代謝物の血漿濃度を、投与前の採血時点、投与約 3 時間後（メトキサミン投与直後）及び投与約 4 時間後（試験終了時）に測定した。

PBA、PAA 及び PAG の血漿中濃度は他のウサギ試験（生殖発生毒性試験：［CTD 4.2.3.5.2-3］、［CTD 4.2.3.5.2-4］）での濃度と同等であり、GPB の代謝物の適切なレベルでの全身暴露が得られた（表 2.6.2-8）。

表 2.6.2-8 麻酔下ウサギにおける PBA、PAA 及び PGA の血漿中濃度

Treatment	Dose (mg/kg)	PBA (µg/mL)		PAA (µg/mL)		PAG (µg/mL)	
		3.6 h	4.5 h	3.6 h	4.5 h	3.6 h	4.5 h
Vehicle	0	0	0	0	0	0	0
GPB	100	1.15	0.13	46.83	29.56	6.80	9.28
GPB	300	3.14	1.15	119.88	115.24	9.81	14.13

Source: 4.2.1.3-3, Appendix 9.
0 = below the limit of quantitation; GPB = glycerol phenylbutyrate; PAA = phenylacetate; PAG = phenylacetylglycine; PBA = phenylbutyrate.

GPB の 100 及び 300 mg/kg 群において、心拍数、PR 間隔及び QRS 持続時間などの循環器系パラメータに、溶媒（コーン油）投与群と比較して明らかな差はなかった。また、投与前の値と比較して QTc 間隔又は JTc 間隔への明らかな影響もなかった。溶媒対照群及び GPB 投与群のいずれにも不整脈（期外収縮）が観察された。これらの不整脈の発生には投与量との関連性が認められず、メトキサミン及びケタミン/キシラジンの麻酔薬に起因すると考えられた。一方、陽性対照群では PR 間隔、QRS 持続時間、QTc[4]及び JTc 間隔の電気生理学的パラメータの変化、並びに房室ブロックがクロフィリウム投与に起因して生じ、カールソンのモデルが機能していることが示された。以上のように、GPB の経口投与に起因する定性的又は定量的な心電図所見は無かった。

GPB の 100 mg/kg 及び 300 mg/kg 群では平均血圧が有意に上昇した。本モデルはメトキサミン

[4] QTc = QT–0.175 × (RR-300) [Carlsson L, 1993].

による心負荷増加（昇圧）により薬剤の催不整脈作用を検出するモデルであり、血圧の評価には適していない。また、麻酔薬ケタミン/キシラジンの投与による試験系（血圧）への影響もあり、過度に血圧への影響が見られた可能性がある。

以上、GPB は 300 mg/kg までの用量でメトキサミン負荷麻酔ウサギにおいて不整脈を惹起しなかった。

2.6.2.4.2.2.2 サルテレメトリー試験における心血管系への影響

［試験番号：[redacted]Y 004[redacted]、資料番号：4.2.1.3-4］

GPB の心血管系への影響を、絶食、覚醒下、無拘束条件の雌雄カニクイザルテレメトリー試験において、単回漸増投与により評価した。雌雄各 2 匹のサルに GPB を溶媒（コーン油）、1 g/kg、4 g/kg の順に漸増単回投与した。それぞれの投与の間には最低 7 日間の休薬期間を置いた。血圧、心拍数及び心電図を投与後 24 時間モニターした。心電図のパラメータとして、PR 間隔、QRS 持続時間、QT 間隔及び心拍数で補正した QT 間隔（QTc）を測定した。

死亡例は無かった。溶媒対照群及び 1 g/kg 群では投与に起因した一般状態の変化はなかった。GPB の 4 g/kg 群では、全例において、活動性の低下、円背位、不安定歩行、立毛、嘔吐及び軟便が、投与 0.5 から 1.5 時間後に認められた。立毛、活動性の低下及び嘔吐は 24 時間後でも散見された。

GPB の 1 又は 4 g/kg の経口投与により、血圧あるいは心拍数には影響が見られなかった。心拍数は活動性の高い明期にはばらつきが大きく暗期では少なかった。GPB 投与サルでは、明期と暗期の双方で心拍数が低下した。溶媒群でも同様の傾向があったが溶媒群よりも変化の幅が大きかった（表 2.6.2-9）。本変化は一過性であり用量依存性は無かった。また、活動性の低下が見られた時間帯であった。

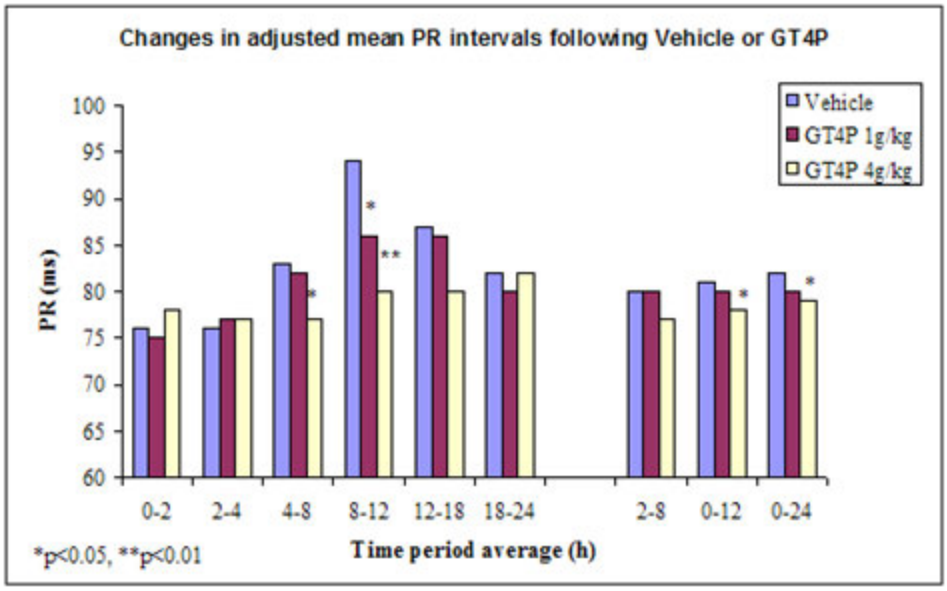
表 2.6.2-9 GPB 経口投与サルの心拍数の変化（投与 0-24 時間）

Observation Period	Mean Change in HR (relative to predose; beats/min)		
	Vehicle	1 g/kg GPB	4 g/kg GPB
Light phase Day 1 (0–6 h post-dosing)	-3	-33	-29
Dark phase (6–18 h post-dosing)	-19	-38	-30
Light phase Day 2 (18–24 h post-dosing)	-17	-33	-35

Source: 4.2.1.3-4, in-text Table D (page 29)
GPB = glycerol phenylbutyrate; HR = heart rate; min = minute

GPB の経口投与後の PR、QRS 及び QTc 間隔は、溶媒投与時とは異なっていた。GPB の 4 g/kg の経口投与 4～8 時間後及び 8～12 時間後、1 g/kg の経口投与 8～12 時間後の PR 間隔は、対照群よりも有意に短かった。また、4 g/kg 投与時は、0～12 時間及び 0～24 時間の長期間で平均した場合でも、PR 間隔は対照群よりも有意に短かった。図 2.6.2-2 に示したとおり、溶媒投与時と GPB 投与時の PR 間隔のこの違いは、GPB 処理群では試験期間を通じて PR 間隔が比較的一定であるのに対し、対照群では長くなる時間帯があることに依存している。

図 2.6.2-2 サルにおける GPB 単回投与後の PR 間隔



Source: 4.2.1.3-4 in-text Figure B (page 31)
GPB = glycerol phenylbutyrate; GT4P = glyceryl tri-4-(phenylbutyrate); PR = from the beginning of the P wave to the beginning of the QRS complex.
Note: GPB was called GT4P early in development. Thus, in this figure, GT4P = GPB

4 g/kg の GPB 投与後、明期（投与 2～4 時間後）には対照群と比較して QRS 持続時間が長かった。4 g/kg の他の時間帯、1 g/kg の用量では QRS への影響は無かった。

1 g/kg の GPB 投与後には、QT 及び QTc への影響は無かった。4 g/kg の GPB 投与後にも QT への影響は無かったが、QTc については、投与 2 時間から 12 時間後の間に延長が認められた。

1 及び 4 g/kg の GPB 投与後に心電図波形には影響は見られなかった。

本試験における無毒性量は、神経行動学的には 1 g/kg、心電図に及ぼす影響については、1 g/kg 投与時に対照群との PR 間隔の有意な差が認められたことから 1 g/kg 未満とした。4 g/kg 投与時には、心臓伝導又は心室再分極に有害な可能性のある心電図の変化（QRS、QTc）が生じた。これらの変化は一般状態の変化が生じた変化と同用量で生じたが、関連があるかどうかは不明である。血圧及び心拍数に対する無毒性量は 4 g/kg である。

2.6.2.4.2.2.3 サルにおける呼吸器系への影響

［試験番号：[redacted]Y 003[redacted]、資料番号：4.2.1.3-5］

雌雄各 2 例の覚醒下カニクイザルを用いて 4 g/kg の GPB を単回強制経口投与し、呼吸器系への影響を評価した。呼吸数は呼吸運動記録器を用いて計測した。血液を採取し、酸素分圧（pO_2）、二酸化炭素分圧（pCO_2）、酸素飽和度、水素イオン指数（pH）、重炭酸塩及び塩基平衡過剰（ABE）を分析した。

GPB は 4 g/kg 単回投与で呼吸機能に影響を及ぼさなかった。拘束下で投与 2 時間 15 分後から短時間の無呼吸所見が得られた動物が 1 例認められた。本試験の神経行動学的な状態に鑑み、呼吸の質は正常であった。GPB は 4 g/kg 単回投与で血液の pO_2、pCO_2、酸素飽和度、pH、重炭酸塩及び ABE に影響を及ぼさなかった。

GPB のサルの呼吸器系に対する無毒性量は 4 g/kg と判断された。

2.6.2.4.3 その他の試験

PAA の単回投与による種々の生化学的パラメータに及ぼす影響についてモルモット、ウサギ、ネコを用いて調べた結果が報告されている[Stewart GA, 1962]。PAA を絶食下モルモットに 380、500、750 mg/kg の用量で経口投与すると血糖値が投与 2 から 4 時間後に投与前の 13%、44%、60%に低下する。ウサギは PAA の血糖低下作用においてモルモットと同等である。ネコに 62 mg/kg の PAA を静脈内投与したところ、顕著な血糖降下が少なくとも 5 時間継続した。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

PBA を含む承認薬（ブフェニール®、AMMONAPS®）は、尿素サイクル異常症の治療において、効果的な窒素スカベンジャーとして作用することが示されている。GPB は 3 分子の 4-PBA を構造に含む PBA のプロドラッグである。非臨床薬物動態試験及び毒性試験において GPB は血漿中に検出されなかったことから、消化管内において GPB から PBA が遊離され、その後活性代謝物である PAA に変換されることが示された。

安全性薬理試験において、サルに 1 g/kg の GPB を投与したところ、神経行動学、呼吸器系、心血管系への影響は認められなかった。4 g/kg 投与時には、中枢神経系の抑制（活動性低下、運動失調及び異常姿勢）、低体温、無呼吸、徐脈及び心電図パラメータ（PR、QRS 及び QTc）の変化が認められた。

In vitro 試験では、hERG アッセイにおいて PBA の 849.2 µg/mL 又は PAA の 987.5 µg/mL の濃度でテール電流のピークが 40%から 60%減少した。これらの *in vitro* 試験の濃度は、サルへの 0.6 g/kg の GPB の単回経口投与後の C_{max} に対して、PBA で約 38 倍、PAA で約 28 倍の濃度である。健常人において、GPB の 6 mL を 3 日間投与した場合、PBA と PAA の C_{max} 値はそれぞれ 100 µg/mL 及び 65 µg/mL であった［HPN-100-010 試験］。ヒトの血漿タンパク結合率は、PBA が 80.6-98.0%、PAA が 37.1-65.6%である［4.2.2.3-1］。したがって、ヒトにおける遊離（非結合）の PBA と PAA のマージンは十分に広い（それぞれ 46 倍以上、24 倍以上）。PBA の 144.9 µg/mL 又は PAA の 628.2 µg/mL の濃度では、カリウムチャネル電流に影響を与えなかった。カニクイザルに GPB を 1 g/kg 又は 4 g/kg の用量で経口投与した場合、血圧又は心拍数に有意な変化は認められなかった。4 g/kg の用量では、非拘束下のサルでは QTc 間隔の延長が記録されたが、中枢神経系の抑制が関連していると考えられた。4 g/kg の用量でも心電図波形やリズムには有害な影響は無かった。本試験における無毒性量は、神経行動学的には 1 g/kg、心電図に及ぼす影響については、1 g/kg 投与時に対照群との PR 間隔の有意な差が認められたことから 1 g/kg 未満であった。4 g/kg 投与時には、心臓伝導又は心室再分極に有害な可能性のある心電図の変化（QRS、QTc）が生じた。これらの変化は一般状態の変化が生じた変化と同用量で生じたが、関連があるかどうかは不明である。血圧及び心拍数に対する無毒性量は 4 g/kg であった。

サルの 4 g/kg 投与時に一般状態の変化が心電図評価に影響を及ぼしたことが考えられたため、より感受性の高い動物モデルを用いて催不整脈作用について検討した。メトキサミン負荷麻酔下ウサギに 100 又は 300 mg/kg の GPB を投与したところ、不整脈は生じなかった。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。

以上より、心血管系の安全性薬理試験において不整脈を生じるような QT 延長のリスクは示されなかった。GPB のサルでの 1.5 g/kg/日の 52 週間反復投与毒性試験において、一般状態の変化は認められたものの心電図には毒性変化が認められなかったことからも裏付けられる。また GPB の健常人での Thorough QT 試験が実施された［HPN-100-010 試験］。この試験では、定常状態での 12 誘導心電図への影響を、被験者毎の補正式で心拍数で補正した QT 間隔（QTcI）を主要評価項目として実施した。その結果、心拍数の増加が認められ、PR 間隔や QRS 間隔の測定により房室伝導又は脱分極に関連する影響は認められなかった。

GPB の 4 g/kg の単回投与により、サルの呼吸器系には影響は無く、4 g/kg が無毒性量と判断さ

れた。

結論として、文献的に知られている薬理作用及び安全性薬理試験の結果は、GPB の UCD 患者への使用を支持するものであった。

2.6.2.7 図表

本文中に示した。

2.6.2.8 参考文献

Batshaw ML, MacArthur RB, and Tuchman M.: Alternative pathway therapy for urea cycle disorders: twenty years later. J Pediatr. 2001; 138(1 Suppl): S46-55.

Carlsson L, Almgren O, and 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): 276-285.

Carlsson L, Abrahamsson C, Andersson B, Duker G, Schiller-Linhardt G.: Proarrhythmic effects of the class III agent almokalant: importance of infusion rate, QT dispersion, and early afterdepolarisations. Cardiovasc Res. 1993 Dec; 27(12): 2186-2193.

James MO, Smith RL, Williams RT, and 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 25; 182(1066): 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. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1984; 8(4-6): 607-614.

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

Quick AJ.: The relationship between chemical structure and physiological response: I. The conjugation of substituted benzoic acids. J Biol Chem. 1932; 96: 83-101.

Raper HS, and Wayne EJ.: A quantitative study of the oxidation of phenyl-fatty acids in the animal organism. Biochem J. 1928; 22(1): 188-197.

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

Seakins JW.: The determination of urinary phenylacetylglutamine as phenylacetic acid. Studies on its origin in normal subjects and children with cystic fibrosis. Clin Chim Acta. 1971 Nov; 35(1): 121-131.

Stewart GA.: Pharmacological studies on oral hypoglycemic agents. Anglo-Germ Med Rev. 1962; 1: 334-337.

Sugahara G, Yamasaki C, Yanagi A, Furukawa S, Ogawa Y, Fukuda A et al.: Humanized liver mouse model with transplanted human hepatocytes from patients with ornithine transcarbamylase deficiency. J Inherit Metab Dis. 2021;44(3):618-628.

Teuchy H, Quatacker J, Wolf G, and Van Sumere CF.: Quantitative investigation of the hippuric acid formation in the rat after administration of some possible aromatic and hydroaromatic precursors. Arch Int Physiol Biochim. 1971 Aug; 79(3): 573-587.

Webster LT, Siddiqui UA, Lucas SV, Strong JM, and 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 10; 251(11): 3352-3358.

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
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.3 薬理試験概要表

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）
CNS	central nervous system	中枢神経系
ECG	electrocardiogram	心電図
F	female	雌
GPB	glycerol phenylbutyrate	フェニル酪酸グリセロール
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
HEK293	human embryonic kidney cells, line 293	ヒト胎児腎細胞 293
IC_{50}	concentration of inhibition by 50%	50%抑制濃度
IKr	delayed rectifier potassium current	遅延整流カリウムチャネル電流
M	male	雄
NOAEL	no observable adverse effect level	無毒性量
PAA	phenylacetate	フェニル酢酸
PBA	phenylbutyrate	フェニル酪酸
pCO_2	partial pressure of carbon dioxide	二酸化炭素分圧
pH	potential of hydrogen	水素イオン指数
pO_2	partial pressure of oxygen	酸素分圧
QTc	corrected QT (interval)	心拍数で補正した QT
QTcR	one of corrected QT intervals for changes in heart rate	心拍数で補正した QT の 1 種
SEM	standard error of the mean	標準誤差

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.3 薬理試験概要表 4
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 4
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 15

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

表 2.6.3-1 一覧表

Overview			Test Article: Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA), Glycerol Phenylbutyrate (GPB)		
Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Safety Pharmacology					
Cardiovascular: hERG assay	HEK293 Transfected cells[a,c]	*In vitro*	IPS Therapeutique Inc., Sherbrooke, Quebec, Canada	[redacted]1209-1[b]	[4.2.1.3-1]
Cardiovascular: Myocardial clamp	Rabbit myocytes[a,c]	*In vitro*	IPS Therapeutique Inc., Sherbrooke, Quebec, Canada	[redacted]0109-1[b]	[4.2.1.3-2]
Cardiovascular: Arrhythmogenic potential via the Carlsson Model	Rabbit[d]	Oral	CorDynamics, Inc., Chicago, IL	[redacted]0801[b]	[4.2.1.3-3]
Cardiovascular	Cynomolgus Monkey[d]	Oral	Huntingdon Life Sciences Ltd., Cambridgeshire, England	[redacted]Y 004[redacted][b]	[4.2.1.3-4]
Central Nervous System & Respiration	Cynomolgus Monkey[d]	Oral	Huntingdon Life Sciences Ltd., Cambridgeshire, England	[redacted]Y 003[redacted][b]	[4.2.1.3-5]

hERG= human ether-a-go-go related gene, HEK293= human embryonic kidney cells, line 293
[a]: Test article=phenylacetic acid (PAA)
[b]: Study report contains a GLP Compliance statement
[c]: Test article=4-phenylbutyric acid (PBA)
[d]: Test article=glycerol phenylbutyrate (GPB)

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

GPB 及びその代謝物について、効力を裏付ける試験は実施しなかった。

2.6.3.3 副次的薬理試験

GPB 及びその代謝物について、副次的薬理試験は実施しなかった。

2.6.3.4 安全性薬理試験

表 2.6.3-2 安全性薬理試験

Test Article:
Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Cardiovascular: Cardiac QT interval in hERG assay	Human embryonic kidney (HEK293) cells transfected with hERG gene	*In vitro*	PAA: 0 (vehicle), 35, 345, 675, and 1050 µg/mL (35.7, 303.1, 628.2 and 987.5 µg/mL)[a] PBA: 0 (vehicle), 25, 75, 125, and 750 µg/mL (26.8, 85.3, 144.9, 894.2 µg/mL)[a] Vehicle: hERG external isotonic solution (pH 7.3) Positive control: E-4031[b]	N/A	PBA: 894.2 µg/mL: a statistically significant inhibition of hERG tail current by 63.8% of the control. Inhibition was reversible with PBA administration. PBA (µg/mL) / Net Normalized Current Density[c] 0 / 100.0 (0.0) 26.8 / 100.2 (4.4) 85.3 / 89.1 (3.2) 144.9 / 92.3 (3.3) 894.2 / 63.8 (4.1)* E-4031[d] / 20.6 (4.2)* *p<0.05, compared to the vehicle control (Student's t-test) IC_{50} for PBA could not be calculated because 50% inhibition of the current was not achieved within the range of PBA concentrations tested. *Continued on next page*	Yes	[redacted]1209-1 [4.2.1.3-1]

[a]: Data represents nominal concentration with actual measured concentration in parentheses
[b]: N-(4-((1-(2-(6-methyl-2-pyridinyl)ethyl)-4-piperidinyl)carbonyl)phenyl) methane sulfonamide (CAS # 113558-89-7) is a selective hERG channel blocker.
[c]: % of control (SEM)
[d]: 500 nM
GPB=glycerol phenylbutyrate, HEK293= human embryonic kidney cells, line 293, hERG= human ether-a-go-go related gene, IC_{50}=Concentration of inhibition by 50%, N/A=not applicable, PAA=phenylacetate, PBA=phenylbutyrate, QT interval=Duration of ventricular depolarization and repolarization, SEM=Standard error of the mean

表 2.6.3-2　安全性薬理試験（続き）

Test Article:
Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Cardiovascular: Cardiac QT interval in hERG assay	Human embryonic kidney (HEK293) cells transfected with hERG gene	*In vitro*	PAA: 0 (vehicle), 35, 345, 675, and 1050 µg/mL (35.7, 303.1, 628.2 and 987.5 µg/mL)[a] PBA: 0 (vehicle), 25, 75, 125, and 750 µg/mL (26.8, 85.3, 144.9, 894.2 µg/mL)[a] Vehicle: hERG external isotonic solution (pH 7.3) Positive control: E-4031 [b]	N/A	*Continued from previous page* PAA: 987.5 µg/mL: statistically significant inhibition of hERG tail current by 46.5% of the control. PAA (µg/mL) / Net Normalized Current Density[b] 0 / 100.0 (0.0) 35.7 / 90.3 (3.1) 303.1 / 92.0 (4.7) 628.2 / 84.7 (5.6) 987.5 / 46.5 (5.9)* E-4031[c] / 17.3 (5.0)* *p<0.05, compared to the vehicle control (Student's t-test) IC_{50} for PAA was 792 µg/ml.	Yes	[redacted]1209-1 ［4.2.1.3-1］

[a]: Data represents nominal concentration with actual measured concentration in parentheses
[b]: N-(4-((1-(2-(6-methyl-2-pyridinyl)ethyl)-4-piperidinyl)carbonyl)phenyl) methane sulfonamide (CAS # 113558-89-7) is a selective hERG channel blocker.
[c]: % of control (SEM)
[d]: 500 nM
GPB=glycerol phenylbutyrate, HEK293= human embryonic kidney cells, line 293, hERG= human ether-a-go-go related gene, IC_{50}=Concentration of inhibition by 50%, N/A=not applicable, PAA=phenylacetate, PBA=phenylbutyrate, QT interval=Duration of ventricular depolarization and repolarization, SEM=Standard error of the mean

表 2.6.3-2 安全性薬理試験（続き）

Test Article:
Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Cardiovascular: Myocardial clamp assay	Rabbit myocyte	*In vitro*	PBA 0 (vehicle), 75, 225, 675 and 2225 µg/mL (88.9, 297.5, 875 and 1591.8 µg/mL)[a, b] PAA 0 (vehicle), 100, 300, 900 and 2700 µg/mL (105, 305.2, 919.3 and 2636.9 µg/mL)[b] Vehicle IK_r/ DMSO/ isotonic buffered solution (pH 7.4) Positive control: E-4031[c]	N/A	PBA: No effect on maximal (peak) tail current at any concentration relative to the vehicle control. PBA (µg/mL) / Net Normalized Current Density[d] 0 / 1.000 (0.000) 88.9 / 1.047 (0.123) 297.5 / 1.172 (0.153) 875 / 1.061 (0.213) 1591.8 / 1.452 (0.362) E-4031 / 0.351 (0.111) *Continued on next page*	Yes	[redacted]0109-1 [4.2.1.3-2]

[a]: Data represents nominal concentration with actual measured concentration in parentheses
[b]: uncorrected for the salt form
[c]: N-(4-((1-(2-(6-methyl-2-pyridinyl)ethyl)-4-piperidinyl)carbonyl)phenyl) methane sulfonamide (CAS # 113558-89-7) is a potent IKr inhibitor.
[d]: % of baseline control (SEM)
GPB=glycerol phenylbutyrate, HEK293= human embryonic kidney cells, line 293, hERG= human ether-a-go-go related gene, IC_{50}=Concentration of inhibition by 50%, N/A=not applicable, PAA=phenylacetate, PBA=phenylbutyrate, QT interval=Duration of ventricular depolarization and repolarization, SEM=Standard error of the mean

表 2.6.3-2 安全性薬理試験（続き）

Test Article:
Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Cardiovascular: Myocardial clamp assay	Rabbit myocyte	*In vitro*	PBA 0 (vehicle), 75, 225, 675 and 2225 µg/mL (88.9, 297.5, 875 and 1591.8 µg/mL)[a, b] PAA 0 (vehicle), 100, 300, 900 and 2700 µg/mL (105, 305.2, 919.3 and 2636.9 µg/mL)[a, b] Vehicle IK_r/ DMSO/ isotonic buffered solution (pH 7.4) Positive control: E-4031	N/A	*Continued from previous page* PAA ≤305.2 µg/mL: no effect on maximal (peak) tail current relative to the vehicle control 919.3 µg/mL: decrease in peak tail current[c] PAA (µg/mL) / Net Normalized Current Density[d] 0 / 100.0 (0.0) 105 / 100.3 (6.2) 305.2 / 92.8 (8.6) 919.3 / [e] [67 (14.8)] 2636.9 / [f]	Yes	[redacted]0109-1 ［4.2.1.3-2］

[a]: Data represents nominal concentration with actual measured concentration in parentheses
[b]: Uncorrected for the salt form
[c]: Peak tail current was not recordable at 919.3 µg/mL or 2636.9 µg/mL because of problems with micropipette-membrane seal.
[d]: % of baseline control (SEM)
[e]: At this level, variability occurred that precluded interpretation.
[f]: No recordings of current could be obtained at 2636.9 µg/mL
DMSO=dimethylsulfoxide, GPB=glycerol phenylbutyrate, IKr=Delayed rectifier potassium current, N/A=not applicable, PAA=phenylacetate, PBA=phenylbutyrate, SEM=Standard error of the mean

表 2.6.3-2 安全性薬理試験（続き）

				Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)			
Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Cardiovascular (Carlsson method)	Rabbit/ NZW Rabbits were methoxamine-sensitized using the Carlsson method	Oral	GPB: 0 (corn oil), 100, 300 mg/kg 3 hours after a single GPB dose, animals were anesthetized (ketamine/ xylazine) and given methoxamine (15 µg/kg/min) for 50 minutes. Positive control rabbits received IV clofilium (100 µg/kg/ min) with methoxamine.	8 females/ group in vehicle control and GPB groups; 7 females in postitive control group	GPB treatment caused no notable effects on HR, PR interval or QRS duration compared to vehicle control. GPB treatment had no notable effect on QTc interval compared to baseline. GBP treatment significantly increased arterial blood pressure. However, the result may have been confounded by the anesthetic (ketamine/xylazine). Thus, this change was not attributed to GPB. The positive control article behaved as expected.	Yes	[redacted]0801 [4.2.1.3-3]

GPB=glycerol phenylbutyrate, HR=heart rate, IV=intravenous, NZW=New Zealand White, PAA=phenylacetate, PBA=phenylbutyrate, PR interval=Measure of atrioventricular conduction, QRS interval=Ventricular depolarization, the spread of the wave of electrical excitation through the ventricles

表 2.6.3-2 安全性薬理試験（続き）

				Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)			
Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Cardiovascular	Cynomolgus Monkey	Oral	0 (corn oil), GPB: 1 and 4 g/kg Single dose followed by 24-hour observation period. Given in successive order for 3 weeks with a 6-day wash out period between doses	2 males 2 females	No GPB-related effects on blood pressure or heart rate were observed. No GPB-related effects on the rhythm or morphology of the ECG were observed. **ECG intervals:** ≥ 1 g/kg: Shortened PR interval (8 – 12 hours post dose) 4 g/kg: Shortened PR interval (4 – 8 hours post dose, 8 – 12 hours post dose, 0 – 12 hours post dose, and 0 – 24 hours post dose); QRS interval prolonged (2 – 4 hours post dose); moderate to marked prolongation QTcR (0 – 2 hours post dose, 4 – 8 hours post dose, 2 – 8 hours post dose, 0 – 12 hours post dose) **Behavioral changes:** 4 g/kg: Piloerection (M/F); unsteady gait (M/F), hunched posture (M/F); ↓activity (M/F); emesis (M/F); loose feces (F) Signs recovered by 29 hours post dose. NOAEL = 1 g/kg for behavioral effects NOAEL < 1 g/kg for cardiovascular effects	Yes	[redacted]Y 004[redacted] ［4.2.1.3-4］

ECG=Electrocardiogram, GPB=glycerol phenylbutyrate, M/F=male/female, NOAEL=No observable adverse effect level, PAA=phenylacetate, PBA=phenylbutyrate, PR interval=Measure of atrioventricular conduction, QRS interval=Ventricular depolarization, the spread of the wave of electrical excitation through the ventricles, QTcR=Corrected QT interval for changes in heart rate

表 2.6.3-2 安全性薬理試験（続き）

				Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)			
Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Evaluation of Central Nervous System & Respiratory Effects (with blood-gas assessment)	Cynomolgus Monkey	Oral	0 (corn oil), GPB: 1 or 4 g/kg	3 males and 2 females (1 male only dosed once at 4 g/kg for respiratory assessment)	**Neurobehavioral Effects:** No signs of autonomic nervous system activation were evident following treatment with either corn oil or GPB. 1 g/kg: No treatment related effects. Isolated incidence of transient increased arousal at 1.5-2 hours post dosing. 4 g/kg: isolated transient incidence of increased arousal at 1.5-2 hours post dosing. CNS depression in 3 of 4 animals (onset between 8 and 24 hours post dose). Signs included ↓ locomotor activity; decreased response to novel visual stimuli; impaired balance and posture; piloerection; decreased startle response; decreased alertness, ptosis **Effects on Body Temperature:** 1 g/kg: no changes in body temperature occurred. 4 g/kg: slight but statistically significant decrease at 2 hours post dose. *Continued on next page*	Yes	[redacted]Y 003[redacted] ［4.2.1.3-5］

表 2.6.3-2 安全性薬理試験（続き）

Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB), Phenylacetic Acid (PAA), 4-phenylbutyric acid (PBA)

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number [Location]
Evaluation of Central Nervous System & Respiratory Effects (with blood-gas assessment)	Cynomolgus Monkey	Oral	0 (corn oil), GPB: 1 or 4 g/kg	3 males and 2 females (1 male only dosed once at 4 g/kg for respiratory assessment)	*Continued from previous page* Respiratory Effects: No statistically significant changes in respiratory rate occurred. Slight changes that occurred included: 4 g/kg: slight decrease in respiratory rate (2 hours post dose), brief periods of apnea lasting until end of recording session in 1 male with forelimb tonus (2.25 hours post dose). During the respiratory session, sedation was noted in all animals from 3 hours post dose. Blood gas effects: No treatment related effects on blood gas parameters including pH, pO_2, pCO_2, oxygen saturation, bicarbonate, or actual base excess values. Overall NOAEL was 1 g/kg	Yes	[redacted]Y 003[redacted] ［4.2.1.3-5］

CNS=central nervous system, GPB=glycerol phenylbutyrate, NOAEL=No observable adverse effect level, PAA=phenylacetate, PBA=phenylbutyrate, pH=potential of hydrogen, pO_2=partial pressure of oxygen, pCO_2=partial pressure of carbon dioxide

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

GPB 及び代謝物について、薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。