目次

略号一覧表 ....2
2.6.1 緒言 ....3
2.6.1.1 Oveporexton の構造式 ....3
2.6.1.2 Oveporexton の非臨床試験の要約 ....3
2.6.1.3 参考文献 ....4

図

図 2.6.1.1-1 Oveporexton の構造式 ....3

## 略号一覧表

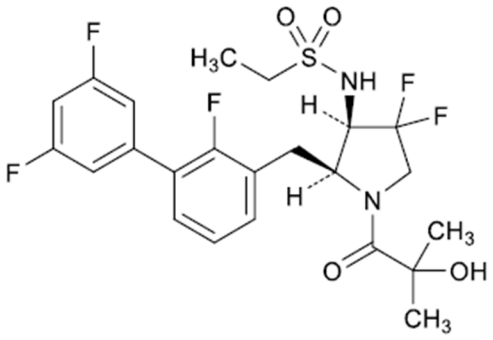
| 略号 | 略していない表現又は説明 |
|---|---|
| MC | methylcellulose（メチルセルロース） |
| NT1 | narcolepsy type 1（ナルコレプシータイプ 1） |
| OX | orexin（オレキシン） |
| OX1R | orexin receptor 1（オレキシン 1 受容体） |
| OX2R | orexin receptor 2（オレキシン 2 受容体） |
| Tg | transgenic（トランスジェニック） |
| w/v | weight per volume（重量／体積） |

## 2.6.1 緒言

Oveporexton（TAK-861）は新規作用機序を有するファースト・イン・クラスの NT1 治療薬として開発されている。Oveporexton は、脳移行性を有する低分子化合物であり、経口投与可能な OX2R 選択的作動薬である。OX 神経ペプチドは OX 受容体を活性化することにより、覚醒及び睡眠を調節する（de Lecea et al., 1998）。また、OX は注意力、気分、代謝及び呼吸機能を調節する（Peyron et al., 1998）。NT1 は、脳内の OX 産生神経細胞の脱落が原因となって引き起こされる（Krahn et al., 2002; De la Herrán-Arita and García-García, 2014）。Oveporexton は OX2R を活性化することにより、覚醒状態を持続させ、カタプレキシーを含む異常な急速眼球運動睡眠関連症状を減少させる。

### 2.6.1.1 Oveporexton の構造式

Oveporexton の化学構造式を図 2.6.1.1-1 に示した。




Chemical Name: *N*-{(2*S*,3*R*)-4,4-Difluoro-1-(2-hydroxy-2-methylpropanoyl)-2-[(2,3′,5′-trifluoro-[1,1′-biphenyl]-3-yl)methyl]pyrrolidin-3-yl}ethane-1-sulfonamide
Empirical Formula: $C_{23}H_{25}F_5N_2O_4S$
Molecular Weight: 520.51 g/mol

図 2.6.1.1-1　Oveporexton の構造式

### 2.6.1.2 Oveporexton の非臨床試験の要約

NT1 の治療薬としての承認の裏付けとなる oveporexton の非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を実施した（それぞれ 2.6.2、2.6.4 及び 2.6.6 に詳述）。In vivo 試験において、oveporexton は 0.5%（w/v）MC 溶液の懸濁液として投与し、対照群には 0.5%（w/v）MC 溶液のみを投与した。

Oveporexton の効力を裏付ける試験は、in vitro 及び in vivo の両モデルを用いて実施した。In vitro では、ヒト OX2R 又は OX1R を安定的に発現したチャイニーズハムスター卵巣-K1 細胞において、oveporexton の選択性が確認された。In vivo では、野生型マウス、OX2R ノックアウトマウス及び NT1 モデルマウスである OX/ataxin-3 Tg マウスを用いて、oveporexton の薬力学的作用を評価した。オレキシンの生理的濃度が低いと想定される睡眠期（Narita et al., 2023）に、各モデルマウスでの覚醒時間に対する oveporexton の作用を評価した。また、覚醒／睡眠の断片化及びカタプレキシー様症状などのナルコレプシーのいくつかの特徴が認められる活動期に、OX/ataxin-3 Tg マウスでの oveporexton の作用を更に評価した。げっ歯類は多相性の睡眠／覚醒パターンを示す夜行性動物であることから、ヒトと類

似した単相性の睡眠／覚醒パターンを示す昼行性動物のカニクイザルを用いて、睡眠期における oveporexton の覚醒作用を更に評価した。

Oveporexton の副次的薬理試験では、oveporexton のオフターゲット作用及び排尿機能への影響を評価した。Oveporexton の安全性薬理試験では、oveporexton が中枢神経系、心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を in vitro 及び in vivo で評価した。さらに、非臨床薬物依存性試験では、oveporexton の薬物依存性を評価した。

In vitro 試験並びにマウス、ラット及びサルを用いて経口及び静脈内投与した in vivo 試験において、oveporexton の薬物動態特性を評価した。Caco-2 細胞を用いて、oveporexton の膜透過性試験を実施した。アルビノラット及び有色ラットを用いて、oveporexton の組織分布を評価した。In vitro 試験及び in vivo 試験で oveporexton の血球への分布を評価した。妊娠中のラット又は授乳中のラット及びその胎児又は出生児において、oveporexton の組織分布を評価し、代謝物の同定を行った。In vitro 試験で、ラット、サル及びヒトの血漿タンパク結合率並びにヒト血清アルブミン、$\alpha_1$-酸性糖タンパク質及びヒト肝ミクロソームに対するタンパク結合率を評価した。In vitro 試験及び in vivo 試験で、マウス、ラット、サル及びヒトにおける[$^{14}$C]oveporexton の代謝を評価した。マウス、ラット、サル及びヒトの肝ミクロソーム並びにヒト肝細胞で oveporexton の共有結合性を評価した。マウス、ラット及びサルに単回経口投与したときの oveporexton の排泄を評価した。In vitro での oveporexton によるチトクローム P450 誘導試験及び阻害試験並びにトランスポーターとの相互作用試験を実施した。

Oveporexton の非臨床安全性を包括的に評価した。毒性試験には、ラットを用いた単回投与毒性試験、サルを用いた用量漸増投与毒性試験、ラット及びサルを用いた 2 週間の予備的な用量設定試験、ラットを用いた 4、13 及び 26 週間の反復投与毒性試験並びにサルを用いた 4、13 及び 39 週間の反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）が含まれる。細菌を用いた復帰突然変異試験、in vitro 及び in vivo 小核試験並びにコメットアッセイを実施し、oveporexton の遺伝毒性を評価した。rasH2-nonTg マウスを用いた 1 及び 4 週間用量設定試験、rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験並びに Sprague Dawley ラットを用いた 2 年間反復投与がん原性試験で、oveporexton のがん原性を評価した。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の他、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（予備試験を含む）、並びに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。幼若ラットに対する毒性評価では、予備試験として単回及び 2 週間反復投与試験、並びに本試験として 6 週間反復投与試験を実施した。光毒性を評価するため、紫外～可視光領域の吸収スペクトルを測定した。肝毒性を評価するための機作検討試験として、細胞毒性、ミトコンドリア毒性、cholyl-lysyl-fluorescein 排出阻害及び肝微小組織を用いた本質性肝毒性を評価した。

これらの試験の結果から、NT1 の治療薬として、oveporexton をヒトでの最大推奨用量である 2 mg で 1 日 2 回（4 mg/日）反復経口投与することが裏付けられた。

### 2.6.1.3 参考文献

De la Herrán-Arita, A. K. and García-García, F. 2014. Narcolepsy as an immune-mediated disease. *Sleep Disord*, 792687.

de Lecea, L., Kilduff, T. S., Peyron, C., Gao, X., Foye, P. E., Danielson, P. E., et al. 1998. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(1), 322-7.

Krahn, L. E., Pankratz, V. S., Oliver, L., Boeve, B. F. and Silber, M. H. 2002. Hypocretin (Orexin) levels in cerebrospinal fluid of patients with narcolepsy: relationship to cataplexy and HLA DQB1*0602 status. *Sleep*, 25(7), 733-6.

Narita, N., Yamada, R., Kakehi, M. and Kimura, H. 2023. Diurnal fluctuations of orexin-A and -B in cynomolgus monkey cerebrospinal fluid determined by a novel analytical method using antiadsorptive additive treatment followed by nanoflow liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *ACS Chem Neurosci*, 14(4), 609-18.

Peyron, C., Tighe, D. K., van den Pol, A. N., de Lecea, L., Heller, H. C., Sutcliffe, J. G., et al. 1998. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci*, 18(23), 9996-10015.

目次

略号一覧表 ....3
2.6.2 薬理試験の概要文 ....5
2.6.2.1 まとめ ....5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 ....6
2.6.2.2.1 In vitro 試験 ....6
2.6.2.2.2 マウスを用いた in vivo 試験 ....7
2.6.2.2.3 サルを用いた in vivo 試験 .... 13
2.6.2.3 副次的薬理試験 .... 14
2.6.2.3.1 Oveporexton の in vitro におけるオフターゲット評価 .... 14
2.6.2.3.2 規制物質に対する oveporexton のコンピューターショナル構造類似性解析 .... 15
2.6.2.3.3 C57BL/6J マウスの排尿に対する oveporexton の影響 .... 15
2.6.2.4 安全性薬理試験 .... 17
2.6.2.4.1 中枢神経系 .... 18
2.6.2.4.2 In vivo 薬物依存性試験 .... 18
2.6.2.4.3 心血管系 .... 25
2.6.2.4.4 呼吸系 .... 29
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 .... 29
2.6.2.6 考察及び結論 .... 29
2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験 .... 29
2.6.2.6.2 副次的薬理試験 .... 30
2.6.2.6.3 安全性薬理試験 .... 31
2.6.2.6.4 結論 .... 32
2.6.2.7 参考文献一覧 .... 32

表

表 2.6.2.4-1 Oveporexton の GLP 適用反復投与毒性試験における ECG 測定時期の要約 .... 28
表 2.6.2.4-2 サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験における心血管系に対する oveporexton の曝露量比 .... 28

図

図 2.6.2.2-1 C57BL/6J マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用 ....8
図 2.6.2.2-2 WT マウス及び OX2R KO マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用 ....9
図 2.6.2.2-3 OX/ataxin-3 Tg マウス及び non-Tg マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用 .... 10

図 2.6.2.2-4 OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期における覚醒時間並びに覚醒の回数及び持続時間に対する oveporexton の作用 ..... 11
図 2.6.2.2-5 OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期におけるカタプレキシー様症状に対する oveporexton の作用 ..... 12
図 2.6.2.2-6 OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期における oveporexton を 1 日及び 14 日間投与したときの覚醒時間に対する oveporexton の作用 ..... 13
図 2.6.2.2-7 カニクイザルの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用 ..... 14
図 2.6.2.3-1 C57BL/6J マウスの排尿に対する oveporexton の影響 ..... 17
図 2.6.2.4-1 アンフェタミン弁別雄性 Lister Hooded ラットにおける oveporexton の薬物弁別 ..... 20
図 2.6.2.4-2 雄性 Lister Hooded ラットにおける oveporexton の静脈内自己投与 ..... 23

## 略号一覧表

| 略号 | 略していない表現又は説明 |
|---|---|
| 5-HT | 5-hydroxytryptamine（セロトニン） |
| $AUC_{24}$ | area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours（投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積） |
| BID | twice daily（1 日 2 回） |
| $C_0$ | initial concentration after intravenous administration（静脈内投与直後の血漿中濃度） |
| CB1 | cannabinoid receptor type 1（カンナビノイド受容体タイプ 1） |
| CHO | Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣） |
| $C_{max}$ | maximum observed concentration（最高血漿中濃度） |
| $C_{max,ss}$ | maximum observed concentration at steady state（定常状態における最高血漿中濃度） |
| $C_{max,ss,unbound}$ | maximum observed concentration at steady state, unbound（定常状態における非結合型最高血漿中濃度） |
| CSA | Controlled Substances Act（規制物質法） |
| DMSO | dimethyl sulfoxide（ジメチルスルホキシド） |
| $EC_{50}$ | half-maximal effective concentration（50%有効濃度） |
| ECG | electrocardiogram（心電図） |
| EEG | electroencephalogram（脳波） |
| EMA | European Medicines Agency（欧州医薬品庁） |
| EMG | electromyogram（筋電図） |
| EOG | electrooculogram（眼電図） |
| FDA | Food and Drug Administration（米国食品医薬品局） |
| FR | fixed ratio（固定比率） |
| GABA | gamma-aminobutyric acid（γ-アミノ酪酸） |
| GLP | Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準） |
| hERG | human ether-à-go-go-related gene（ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子） |
| $IC_{50}$ | 50% inhibitory concentration（50%阻害濃度） |
| ICH | International Council for Harmonisation（医薬品規制調和国際会議） |
| IV | intravenous（静脈内） |
| KO | knockout（ノックアウト） |
| LOEL | lowest-observed-effect level（最小影響量） |
| LV dP/dt max | maximum rate of left ventricular pressure rise（左心室内圧最大上昇速度） |
| MC | methylcellulose（メチルセルロース） |
| MRHD | maximum recommended human dose（ヒトでの最大推奨用量） |
| NOEL | no-observed-effect level（無影響量） |
| NMDA | N-methyl-D-aspartate（N-メチル-D-アスパラギン酸） |
| NREM | non-rapid eye movement（非急速眼球運動） |
| NT1 | narcolepsy type 1（ナルコレプシータイプ 1） |
| OX | orexin（オレキシン） |
| OX-A | orexin A（オレキシン A） |
| OX-B | orexin B（オレキシン B） |
| OX1R | orexin receptor 1（オレキシン 1 受容体） |
| OX2R | orexin receptor 2（オレキシン 2 受容体） |
| PR-B | progesterone receptor B（プロゲステロン受容体 B） |
| PO | oral(ly)（経口） |
| QD | once daily（1 日 1 回） |

略号一覧表（続き）

| 略号 | 略していない表現又は説明 |
|---|---|
| QTc | corrected QT interval（補正した QT 間隔） |
| REM | rapid eye movement（急速眼球運動） |
| SC | subcutaneous(ly)（皮下） |
| SEM | standard error of the mean（標準誤差） |
| $t_{max}$ | time of first occurrence of $C_{max}$（最高血漿中濃度到達時間） |
| Tg | transgenic（トランスジェニック） |
| TK | toxicokinetic(s)（トキシコキネティクス） |
| WT | wild-type（野生型） |
| w/v | weight per volume（重量／体積） |
| ZT | zeitgeber time（ツァイトゲーバー時間） |

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### 2.6.2.1 まとめ

Oveporexton（TAK-861）は、脳移行性を有する新規の OX2R 選択的作動薬であり、経口投与可能な NT1 の治療薬として開発された。OX 神経ペプチドは OX 受容体を活性化することにより、覚醒及び睡眠を調節する（de Lecea et al., 1998）。また、OX は注意力、気分、代謝及び呼吸機能を調節する（Peyron et al., 1998）。NT1 は、脳内の OX 産生神経細胞の脱落が原因となって引き起こされる（De la Herrán-Arita and García-García, 2014; Krahn et al., 2002）。Oveporexton は OX2R を活性化することにより覚醒状態を持続させ、カタプレキシーを含む異常な REM 睡眠関連症状を減少させる。

2 つの OX 神経ペプチドである OX-A 及び OX-B は共通の前駆ペプチドを由来とし（Sakurai, 2007）、ヒトとマウスの間で高度に保存されており、OX-A のアミノ酸配列は同一で、OX-B には 2 つのアミノ酸置換が存在する（Sakurai et al., 1998）。OX の作用は、2 つのシナプス後 G タンパク質共役型受容体である OX1R 及び OX2R によって介在される（Sakurai et al., 1998）。OX-A は OX1R と OX2R に同程度の結合親和性を示し、OX-B は OX1R と比較し OX2R に高い結合親和性を示す（Sakurai et al., 1998）。OX2R は哺乳類全体で高度に保存されており、ヒトとラットでアミノ酸配列 95%が一致し（Sakurai et al., 1998）、ヒトとサルで 98%～99%が一致する（米国国立衛生研究所、米国国立医学図書館、Protein BLAST、2025 年 3 月閲覧）。この高い類似性から、OX2R の機能特性はこれらの動物種全体で高度に保存されており、これらの動物種で oveporexton の薬力学的作用に関連があると考えられる。

さらに、ナルコレプシーの複数のモデルマウスも確立されている。OX2R 遺伝子 KO マウス（以下、OX2R KO マウス）ではナルコレプシー様症状が認められるが、OX1R KO マウスでは明らかな行動異常は認められない（Sakurai, 2007; Willie et al., 2003）。OX/ataxin-3 Tg マウスは NT1 のモデルマウスであり、視床下部における OX 産生神経細胞の 99%超が第 12 週までに選択的に脱落する（Hara et al., 2001）。OX/ataxin-3 Tg マウスは、覚醒／睡眠の断片化及びカタプレキシーに似た行動停止など、NT1 の複数の表現型の特徴を示す（Hara et al., 2001）。

Oveporexton の効力を裏付ける試験は、in vitro 及び in vivo の両モデルを用いて実施した。In vitro では、ヒト OX2R 又は OX1R を安定的に発現した CHO-K1 細胞において、oveporexton の選択性が確認された。In vivo では、WT マウス、OX2R KO マウス、NT1 のモデルマウスである OX/ataxin-3 Tg マウスを用いて oveporexton の薬力学的作用を評価した。OX の生理的濃度が低いと想定される睡眠期（Narita et al., 2023）に、マウスの覚醒時間に対する oveporexton の作用を評価した。睡眠期に、WT マウスでは oveporexton による有意な覚醒時間の増加が認められたが、OX2R KO マウスでは同一用量で oveporexton による覚醒時間の増加が認められなかったことから、マウスにおける oveporexton の覚醒作用は OX2R の活性化を介していることが示された。また、oveporexton は OX/ataxin-3 Tg マウスでも覚醒作用を示した。

OX/ataxin-3 Tg マウスを用いて、覚醒／睡眠の断片化及びカタプレキシー様症状などのナルコレプシーのいくつかの特徴が認められる活動期に、oveporexton の作用を更に評価した。OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期において、oveporexton の投与により、覚醒／睡眠の断片

化及びカタプレキシー様症状はいずれも改善された。Oveporexton の覚醒作用は、反復投与後も持続し、OX2R の脱感作が生じる可能性は低いことが示された。さらに、ヒトと類似した単相の睡眠／覚醒パターンを示す昼行性の動物であるカニクイザルで、oveporexton の覚醒作用が認められた。これらの試験の結果から、当該動物モデルにおいて、oveporexton は覚醒作用を示し、ナルコレプシー様症状を改善できる OX2R 選択的作動薬であることが示された。

Oveporexton の副次的薬理試験では、安全性を評価するために推奨される重要な標的を含む様々な受容体、イオンチャネル及び酵素に対する in vitro でのオフターゲット作用を評価した（Bowes et al., 2012）。これらの試験の結果から、臨床使用において oveporexton がオフターゲット作用による影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。C57BL/6J マウスを用いた排尿機能への影響を評価した試験で、oveporexton は、総尿量及び総飲水量に影響を及ぼすことなく排尿頻度を増加させることが示された。

Oveporexton の安全性薬理試験では、oveporexton が中枢神経系、心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を in vitro 及び in vivo で評価した。これらの試験は、ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン（2001）」及び S7B「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価（2009）」のガイドラインに従い GLP 適用下で実施した。これらの試験の結果から、oveporexton は中枢神経系（ラットで 20 及び 100 mg/kg で体温上昇、1,000 mg/kg で体温低下、並びに 20 mg/kg 以上で活動亢進）、心血管系（サルで 3 mg/kg 以上で血圧及び左室収縮期圧の上昇）及び呼吸系（ラットで 20 及び 100 mg/kg で呼吸数増加、100 mg/kg で分時換気量増加）に影響を及ぼす可能性があることが示された。

さらに、FDA 及び EMA のガイドラインに従って実施した薬物依存性試験（GLP 適用）により、ラットにおける oveporexton の依存性を評価した。その結果、oveporexton は弱い強化効果を有するが、身体依存性は引き起こさないことが示唆された。

Oveporexton の効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験の個々の試験の詳細な説明及びヒトへの外挿性を以下の項に示し、対応する概要表を 2.6.3 に示した。

### 2.6.2.2 効力を裏付ける試験

#### 2.6.2.2.1 In vitro 試験

##### 2.6.2.2.1.1 $Ca^{2+}$動員反応における in vitro での oveporexton のヒト OX2R 及び OX1R に対する作動薬活性

**添付資料番号**：4.2.1.1-1（評価）、4.2.1.1-2（参考）

ヒト OX2R 又は OX1R（2.6.3.2A、[redacted] 及び [redacted]）のいずれかを安定的に発現した CHO-K1 細胞を用いて、in vitro で oveporexton のヒト OX2R 及び OX1R に対する作動薬活性を評価した。

OX2R 又は OX1R を発現した細胞を 384 ウェルプレートに 10,000 細胞／ウェルの密度で播種し、37°C、5% $CO_2$ 条件下で 1 日培養した。評価日に培地を除去し、カルシウム感受性色素（Fluo4-AM）含有緩衝液を加えて 37°C、5% $CO_2$ で 30 分間プレインキュベートした。室温で 30 分間インキュベートした後、oveporexton（OX2R 活性：0.03～1,000 nmol/L、OX1R 活性：0.003～30,000 nmol/L、4 ウェル／濃度）又は陽性対照として OX-A（OX2R 活性：0.003～100 nmol/L、OX1R 活性：0.00001～100 nmol/L、4 ウェル／濃度）（DMSO に溶

解）で細胞を刺激し、FDSS μCELL Kinetic Plate Imager（浜松ホトニクス）を用いて $Ca^{2+}$反応の強度を測定した。Oveporexton の作動薬活性の測定には、0.5% DMSO に対する反応を0%反応、0.5% DMSO 中 100 nmol/L の OX-A に対する反応を 100%反応とした。

Oveporexton は OX2R 発現細胞において濃度依存的に細胞内 $Ca^{2+}$の動員を誘導し、ヒト OX2R に対して作動薬活性を示した（$EC_{50}$ は 0.0025 μmol/L）。また、oveporexton は OX1R 発現細胞においても濃度依存的に細胞内 $Ca^{2+}$の動員を誘導し、ヒト OX1R に対して弱い作動薬活性を示した（$EC_{50}$ は 7.5 μmol/L）。これらの結果から、oveporexton は OX1R より OX2R に対し 3,000 倍高い選択性を示し、強力かつ選択性の高い OX2R 作動薬であることが示唆された。

#### 2.6.2.2.2 マウスを用いた in vivo 試験

マウスを用いた oveporexton の効力を裏付ける試験では、EEG/EMG 活動を同様の方法で記録した。これらの方法の簡単な説明をここに記載し、試験固有の情報については以下の項で考察した。マウスを 12 時間の明暗サイクルで飼育し、明期の開始を ZT0 とした（Mitsukawa et al., 2024）。マウスの頭蓋下皮質の硬膜上に 2 個のステンレス鋼製スクリュー電極を慢性的に植え込み（ブレグマの 1.0 mm 前方及び正中線から 1.5 mm 外側、ラムダの 1.0 mm 前方及び正中線から 1.5 mm 外側）、EEG を記録した。また、ステンレス鋼製ワイヤー電極を両側の頸背部筋に埋植し、EMG 活動を記録した。すべての電極をミニチュアレセプタクルに接続し、全体を歯科用セメントで頭蓋骨に固定した。マウスには、投与開始前に 7 日間以上の回復期間を設けた。

マウスの覚醒状態を判定するため、EEG/EMG 信号を増幅し、フィルタリングした（EEG：0.5～250 Hz、EMG：16～250 Hz）。さらに、サンプリングレート 200 Hz でデジタル化し、睡眠記録システム VitalRecorder（キッセイコムテック株式会社）を用いて記録した。SleepSign ソフトウェア（キッセイコムテック株式会社）を使用し、4 秒エポックにおける睡眠／覚醒状態を、覚醒（低振幅 EEG 及び高電位 EMG 活動）、NREM 睡眠（高振幅徐波 EEG 及び低電位 EMG 活動）又は REM 睡眠（θ 波優位 EEG 及び EMG の筋弛緩状態）に自動的に分類した。

記録時間中の覚醒状態、覚醒の回数及び持続時間並びにカタプレキシー様症状などの複数のパラメータを、SleepSign を用いて算出した。

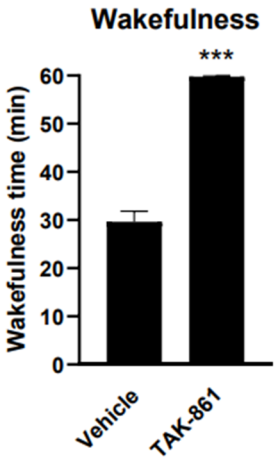
##### 2.6.2.2.2.1 C57BL/6J マウスの覚醒時間に対する oveporexton の作用

**添付資料番号：4.2.1.1-3（評価）**

成熟した雄性 WT C57BL/6J マウス（16 匹、11～13 週齢）を用いて、睡眠期の覚醒時間に対する oveporexton の作用を評価した（2.6.3.2B、[redacted]）。マウスに EEG/EMG 電極を埋め込み、回復させ、2.6.2.2.2 に記載した方法を用いて 12 時間の明暗サイクルで飼育した。

C57BL/6J マウスに対して、睡眠期（ZT5）に、クロスオーバーデザインを用いて oveporexton（10 mg/kg）又は媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を経口投与（10 mL/kg）した。投与後最初の 1 時間（ZT5～ZT6）の覚醒時間を、SleepSign を用いて算出した。

C57BL/6J マウスの睡眠期に oveporexton を 10 mg/kg で投与したとき、媒体を投与したマウスと比較して、覚醒時間が有意に増加した（p<0.001、図 2.6.2.2-1）。




Source: [redacted]
***: p <0.001: paired t test; compared to vehicle (0 mg/kg) treated mice.
Data are presented as the mean + standard error of the mean (SEM). N = 16/group.
Oveporexton (TAK-861) (10 mg/kg) or vehicle was administered orally (PO) to C57BL/6J mice at zeitgeber time 5 (ZT5) and wakefulness time during the first 1 hour after administration was analyzed.

図 2.6.2.2-1　C57BL/6J マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用

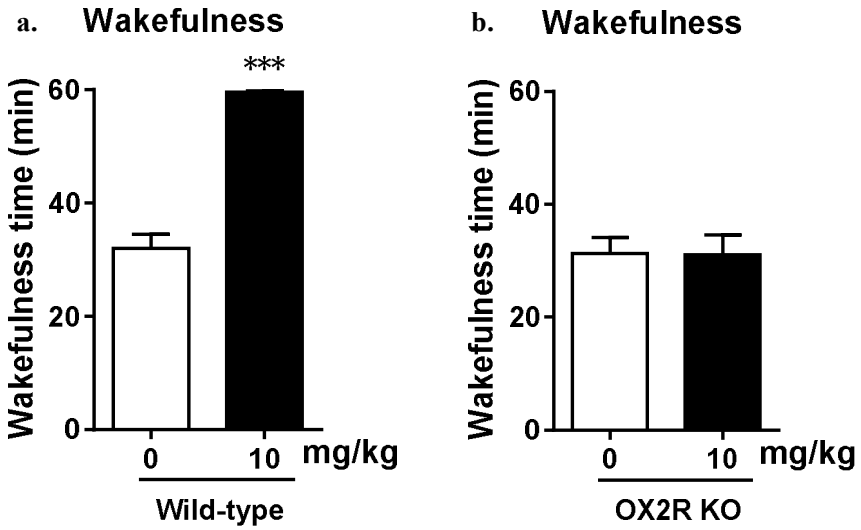
### 2.6.2.2.2.2 WT マウス及び OX2R KO マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用

**添付資料番号：4.2.1.1-4（参考）**

覚醒時間に対する oveporexton の作用が OX2R によって介在される可能性を評価するため、成熟（18 週齢）した雄性 OX2R KO マウス（8 匹）及びその同腹仔 WT マウス（7 匹、技術的な問題があった 1 匹を解析から除外）を用いて、睡眠期に oveporexton を投与後の覚醒時間を評価した（2.6.3.2B、[redacted]）。マウスに EEG/EMG 電極を埋め込み、回復させ、2.6.2.2.2 に記載した方法を用いて 12 時間の明暗サイクルで飼育した。

WT マウス又は OX2R KO マウスに対して、ZT5 に、クロスオーバーデザインを用いて oveporexton（10 mg/kg）又は媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を経口投与した。投与後最初の 1 時間（ZT5～ZT6）の覚醒時間を、SleepSign を用いて算出した。

睡眠期に oveporexton を 10 mg/kg で投与したとき、WT マウスでは覚醒時間が有意に増加した（p<0.001、図 2.6.2.2-2）。一方、OX2R KO マウスでは、oveporexton を投与後の覚醒時間に対する影響はなかった（図 2.6.2.2-2）。これらの結果から、覚醒に対する oveporexton の作用は OX2R によって介在されることが示された。




Source: [redacted]
***p < 0.001, compared with vehicle-treated mice (Paired t test).
Data are presented as the mean + standard error of the mean (SEM) (WT mice, n = 7; OX2R KO mice, n = 8).
Oveporexton (10 mg/kg) or vehicle was administered orally to WT mice (a) or OX2R KO mice (b) at zeitgeber time 5 (ZT5) and wakefulness time during the first 1 hour after administration was analyzed. One WT mouse was excluded from the analysis because the cable was disconnected during the recording and the data could not be obtained.

図 2.6.2.2-2　WT マウス及び OX2R KO マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用

### 2.6.2.2.2.3 OX/ataxin-3 Tg マウス及びその同腹仔 non-Tg マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用

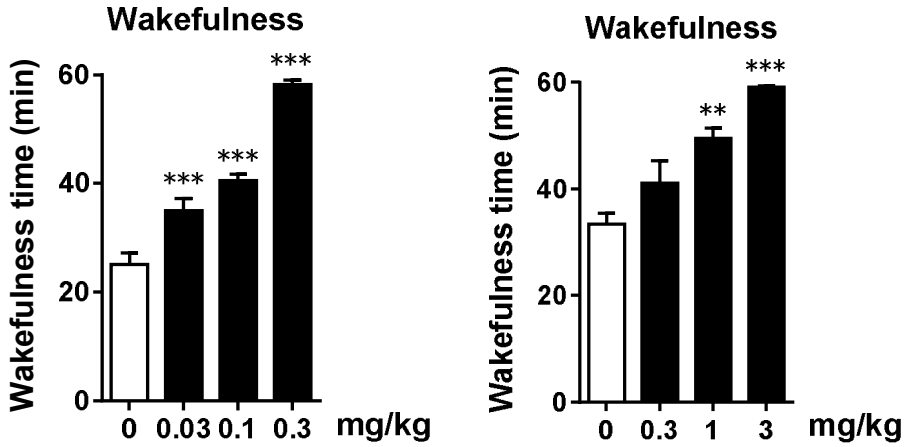
**添付資料番号：4.2.1.1-5（参考）**

成熟（26 週齢以上）した雄性 OX/ataxin-3 Tg マウス（8 匹）及びその同腹仔 non-Tg マウス（8 匹）を用いて、睡眠期の覚醒時間に対する oveporexton の作用を評価した（2.6.3.2B、[redacted]）。

本試験で使用するため、C57BL/6J を遺伝的背景とする OX/ataxin-3 Tg マウス及びその同腹仔 non-Tg マウスを飼育した。マウスに EEG/EMG 電極を埋め込み、回復させ、2.6.2.2.2 に記載した方法を用いて 12 時間の明暗サイクルで飼育した。OX/ataxin-3 Tg マウス（0、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg、8 匹／群）又はその同腹仔 non-Tg マウス（0、0.3、1 又は 3 mg/kg、8 匹／群）に対して、睡眠期（ZT5）に、oveporexton 又は媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を経口投与した。投与後最初の 1 時間（ZT5～ZT6）の覚醒時間を、SleepSign を用いて算出した。マウスにクロスオーバーデザインを用いて oveporexton を複数用量で投与した。

OX/ataxin-3 Tg マウスの睡眠期に oveporexton を 0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg で投与したとき、媒体を投与したマウスと比較して、覚醒時間が有意（いずれの用量でも $p<0.001$）かつ用量依存的に増加した（図 2.6.2.2-3）。また、non-Tg マウスの睡眠期に oveporexton を 0.3、1 及び 3 mg/kg で投与したときも、覚醒時間が用量依存的に増加し、1 mg/kg（$p<0.01$）及び 3 mg/kg（$p<0.001$）では有意な作用が認められた（図 2.6.2.2-3）。Oveporexton は OX/ataxin-3 Tg マウス及びその同腹仔 non-Tg マウスの睡眠期において、それぞれ 0.03 mg/kg

以下及び 1 mg/kg の最小有効用量で有意な覚醒作用を示したことから、OX/ataxin-3 Tg マウスとその同腹仔 non-Tg マウスで 30 倍以上の感受性の差があることが示唆された。しかし、同程度の覚醒作用を示すために必要な oveporexton の用量は、non-Tg マウスと比較して、OX/ataxin-3 Tg マウスでは約 10 分の 1 であった。以上より、NT1 のモデルマウスにおいて、oveporexton による覚醒作用がより低用量で認められた。




**a. OX/Ataxin-3 Tg**　　**b. non-Tg**

Source: [redacted]

**p < 0.01, ***: p <0.001: two-tailed Williams'/Shirley-Williams' test; compared to vehicle-treated mice.

Data are presented as the mean + standard error of the mean (SEM). N = 8/group.

a. Oveporexton (0.03, 0,1 or 0.3 mg/kg) or vehicle was administered orally (PO) to orexin (OX)/ataxin-3 transgenic (Tg) mice at zeitgeber time 5 (ZT5) and time in the wakefulness state was measured for 1 hour after administration.

b. Oveporexton (0.3, 1 or 3 mg/kg) or vehicle was administered PO to non-Tg mice at ZT5 and time in the wakefulness state was measured for 1 hour after administration.

図 2.6.2.2-3　OX/ataxin-3 Tg マウス及び non-Tg マウスの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用

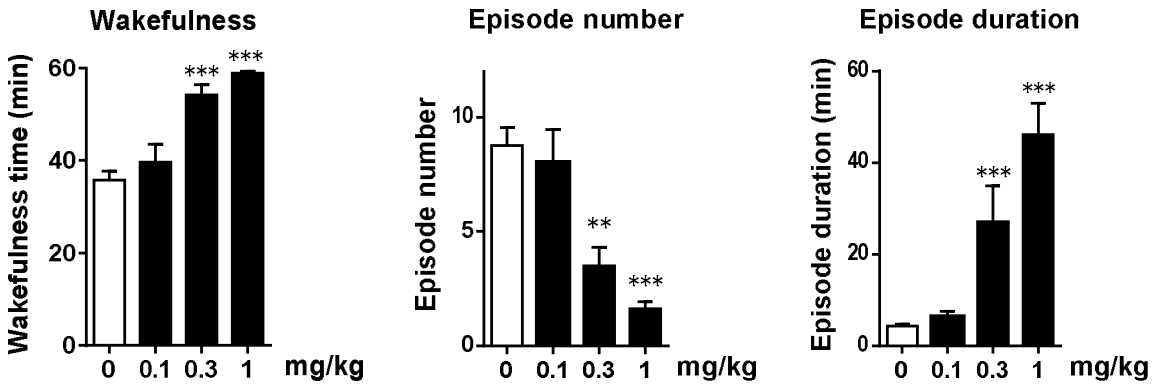
### 2.6.2.2.2.4 OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期における覚醒時間及び覚醒／睡眠の断片化に対する oveporexton の作用

**添付資料番号：4.2.1.1-6（参考）**

日中の過度の眠気はナルコレプシーの特徴であることから、成熟した雄性 OX/ataxin-3 Tg マウス（8 匹、28 週齢以上）を用いて、活動期の覚醒時間及び覚醒／睡眠の断片化（覚醒の回数及び持続時間によって測定）に対する oveporexton の作用を評価した（2.6.3.2B、[redacted]）。マウスに EEG/EMG 電極を埋め込み、回復させ、2.6.2.2.2 に記載した方法を用いて 12 時間の明暗サイクルで飼育した。

OX/ataxin-3 Tg マウス（8 匹／群）に対して、ZT12 に、クロスオーバーデザインを用いて oveporexton（0.1、0.3 又は 1 mg/kg）又は媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を経口投与した。本試験では投与後最初の 1 時間（ZT12～ZT13）の覚醒時間並びに覚醒の回数及び持続時間を、SleepSign を用いて算出した。

OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期に oveporexton を 0.3 及び 1 mg/kg で投与したとき、覚醒時間は有意かつ用量依存的に増加した（p<0.001、図 2.6.2.2-4）。また、0.3 及び 1 mg/kg のいずれの用量においても oveporexton は用量依存的かつ有意に覚醒の回数を減少させ（0.3 mg/kg で p<0.01、1 mg/kg で p<0.001）、覚醒の持続時間を増加させた（p<0.001）。以上より、NT1 のモデルマウスである OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期に oveporexton を投与したとき、覚醒時間は有意に増加し、覚醒／睡眠の断片化を改善することが示された。




Source: [redacted]

**p <0.01, ***p < 0.001; compared with vehicle-treated mice (two-tailed Shirley-Williams' test).
Data are presented as the mean + standard error of the mean (SEM) (n = 8).
Oveporexton (0.1, 0.3 or 1.0 mg/kg) or vehicle was administered orally (PO) to orexin (OX)/ataxin-3 transgenic (Tg) mice at zeitgeber time 12 (ZT12), and wakefulness time, and episode number and duration of wakefulness for 1 hour after administration were calculated.

図 2.6.2.2-4　OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期における覚醒時間並びに覚醒の回数及び持続時間に対する oveporexton の作用

### 2.6.2.2.2.5 OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期におけるカタプレキシー様症状に対する oveporexton の作用

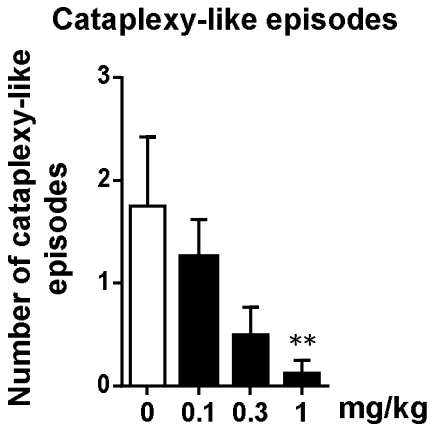
**添付資料番号：4.2.1.1-7（参考）**

マウスのカタプレキシー様症状は覚醒状態から筋緊張消失及び REM 睡眠と区別できない EEG 活動状態への突発的かつ直接的な移行である（Scammell et al., 2009）。また、マウスが活動期にチョコレートなどの嗜好性の高い食品を摂取すると、カタプレキシー様症状の発現回数が増加することが報告されている（Oishi et al., 2013）。本試験では、NT1 のモデルマウスである OX/ataxin-3 Tg マウスを用いて、チョコレート誘発性カタプレキシー様症状に対する oveporexton の抑制作用を評価した（2.6.3.2B、[redacted]）。成熟した雄性 OX/ataxin-3 Tg マウス（8 匹、28 週齢以上）に EEG/EMG 電極を埋め込み、回復させ、2.6.2.2.2 に記載した方法を用いて 12 時間の明暗サイクルで飼育した。

本試験では、嗜好性の高い物質としてチョコレートを用いて、記録期間中のカタプレキシー様症状の発現回数を増加させた。各セッション開始時、OX/ataxin-3 Tg マウス（8 匹／群）に対して、ZT12（活動期）に、クロスオーバーデザインを用いて oveporexton（0.1、0.3 又は 1 mg/kg）又は媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を経口投与した。その後、マウスのケージにミルクチョコレートを入れてカタプレキシー様症状を誘発した。カタプレキ

シー様症状とは、SleepSign を用いて評価される、覚醒状態から REM 睡眠に直接移行するエピソードと定義した。投与後 3 時間にわたり自発運動を追跡してエピソード中の行動の不動性を確認し、カタプレキシー様症状（覚醒状態から REM 睡眠への直接移行）の発現回数を測定した。

OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期に oveporexton を 0.1、0.3 及び 1 mg/kg で投与したとき、投与後 3 時間の間にカタプレキシー様症状の発現は用量依存的に抑制され、その作用は 1 mg/kg で統計学的に有意であった（$p<0.01$、図 2.6.2.2-5）。以上より、oveporexton は NT1 の特徴であるカタプレキシー様症状を改善できることが示された。




Source: [redacted]
**p < 0.01, compared with vehicle-treated mice (two-tailed Shirley-Williams' test).
Data are presented as the mean + standard error of the mean (SEM) (n = 8).
Oveporexton at 0.1, 0.3 or 1 mg/kg or vehicle was administered orally to OX/ataxin-3 Tg mice at zeitgeber time 12 (ZT12), then the milk chocolate was given to mice. The number of cataplexy-like episodes for 3 hours following administration were analyzed.

図 2.6.2.2-5　OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期におけるカタプレキシー様症状に対する oveporexton の作用

### 2.6.2.2.2.6 OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期における覚醒時間に対する oveporexton を反復投与したときの作用

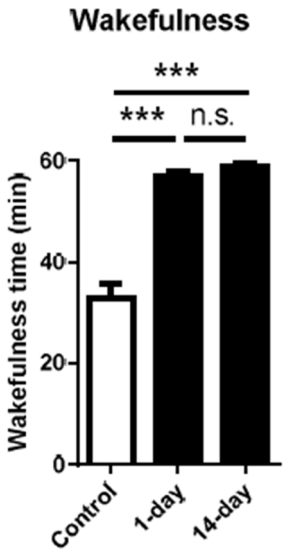
**添付資料番号：4.2.1.1-8（参考）**

Oveporexton の反復投与により OX2R の脱感作が生じる可能性を評価するため、成熟した雄性 OX/ataxin-3 Tg マウス（22 週齢以上）の活動期に oveporexton 又は媒体を単回投与（oveporexton のみ）及び反復投与し、覚醒時間を測定した（2.6.3.2 B、[redacted]）。マウスに EEG/EMG 電極を埋め込み、回復させ、2.6.2.2.2 に記載した方法を用いて 12 時間の明暗サイクルで飼育した。

成熟した雄性 OX/ataxin-3 Tg マウスを 3 つのコホートに群分けし（8 匹／群）、対照群、1 日 oveporexton 群及び 14 日 oveporexton 群とした。対照群では、OX/ataxin-3 Tg マウスに対して ZT12（活動期）に媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を QD 14 日間経口投与した。1 日 oveporexton 群では、OX/ataxin-3 Tg マウスに対して ZT12 に媒体を QD 13 日間経口投与した後、Day 14 に oveporexton を 1 mg/kg で経口投与した。14 日 oveporexton 群では、

OX/ataxin-3 Tg マウスに対して ZT12 に oveporexton を 1 mg/kg で QD 14 日間経口投与した。すべてのコホートにおいて、Day 14 に EEG/EMG 活動を記録し、投与後最初の 1 時間（ZT12～ZT13）の覚醒時間を、SleepSign を用いて算出した。

1 日 oveporexton 群及び 14 日 oveporexton 群では、対照群と比較して、いずれも覚醒時間が有意に増加した（p<0.001、図 2.6.2.2-6）。さらに、1 日 oveporexton 群と 14 日 oveporexton 群の覚醒時間の増加に、統計学的な有意差は認められなかった。これらの結果から、NT1 のモデルマウスに oveporexton を反復投与したとき、oveporexton の有効性が持続し、OX2R の脱感作が生じるリスクは低いことが示された。




Source: [redacted]
***p < 0.001, two-tailed Tukey's multiple comparison test.
n.s.: not significant; SEM: standard error of the mean.
Data are presented as the mean + SEM (n=8/group).
Oveporexton at 1 mg/kg (1-day or QD for 14-days) or vehicle (QD for 13- or 14-days) was administered orally to OX/ataxin-3 Tg mice at zeitgeber time 12 (ZT12) and wakefulness time was analyzed one hour after administration.

**図 2.6.2.2-6　OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期における oveporexton を 1 日及び 14 日間投与したときの覚醒時間に対する oveporexton の作用**

### 2.6.2.2.3 サルを用いた in vivo 試験

#### 2.6.2.2.3.1 カニクイザルの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用

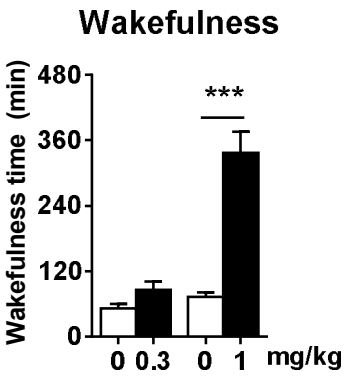
**添付資料番号：4.2.1.1-9（参考）**

マウスを用いた試験では、oveporexton の投与により覚醒時間が有意に増加し、これらの作用は OX2R の活性化を介していることが示された。しかし、マウスは睡眠／覚醒パターンが多相の夜行性動物であるのに対し、ヒトは睡眠／覚醒パターンが単相の昼行性動物である。したがって、ヒトと類似した単相の睡眠／覚醒パターンを示す昼行性動物のカニクイザルを用いて、テレメトリーシステムを装着した自由行動下で、睡眠期における oveporexton の覚醒作用を評価した（2.6.3.2B、[redacted]）。雄性カニクイザル（8 匹、3 歳）を 12 時間の明暗サイクルで飼育し、明期開始時を ZT0 と定義した。イソフルラン麻酔下（1%～5%）で無線テレメトリー発信機（TL10M3-D70-EEE、Data Sciences

International Inc.）を外科的に埋植した。EEG リードは頭頂部に定位固定法で配置し、硬膜と接触するステンレス鋼製スクリューで頭蓋に固定した。片側の EOG リードは片眼の眼窩上縁に配置した。両側の EMG リードを頸背筋に埋植した。ホームケージ内で 1 ヵ月以上の回復期間を設けた後、サルを記録チャンバー（防音・電気的に遮蔽された室内に設置したアクリル製ケージ 60 cm×55 cm×75 cm）に馴化させた。動物が実験室で十分に眠ったことを確認した後、Dataquest ART ソフトウェア（Data Sciences International Inc.）を用いて皮質 EEG、EOG 及び EMG 信号を記録した。睡眠スコアリングシステム（SleepSign、キッセイコムテック株式会社）により、20 秒エポックでシグナルを半自動的にスコア化した。

カニクイザルに対して ZT12 に oveporexton（0.3 又は 1 mg/kg）又は媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を経口投与し、EEG/EOG/EMG を 8 時間記録した。

カニクイザルの睡眠期に oveporexton を投与したとき、覚醒時間が用量依存的に増加し、1 mg/kg で有意に増加した（p<0.001）（図 2.6.2.2-7）。本試験では、正常な OX 濃度を有すると想定される単相性睡眠構造の非ヒト霊長類の睡眠期に oveporexton を投与したとき、有意な覚醒作用が認められることが示された。




Source: [redacted]
***p < 0.001, compared with vehicle-treated monkeys (Paired t test)
Data are presented as the mean + standard error of the mean (SEM) (n = 8)
Oveporexton (0.3 or 1 mg/kg) or vehicle was administered orally (PO) to cynomolgus monkeys at zeitgeber time 12 (ZT12) and wakefulness time over the 8 hours following administration was analyzed.

**図 2.6.2.2-7　カニクイザルの睡眠期における覚醒時間に対する oveporexton の作用**

## 2.6.2.3 副次的薬理試験

### 2.6.2.3.1 Oveporexton の in vitro におけるオフターゲット評価

**添付資料番号：4.2.1.2-1（参考）、4.2.1.2-2（参考）**

Oveporexton のオフターゲット作用を、受容体、イオンチャネル及び酵素を含む標的パネル（102 種の標的）を用いて in vitro で評価した（2.6.3.3、[redacted]）。阻害又は活性化の判定基準は、10 µmol/L の濃度で 50%以上とした。本アッセイには、オピオイド受容体、5-HT 及びドパミンのトランスポーター及び受容体、並びに NMDA、GABA、ニコチン性アセチルコリン及びカンナビノイドの受容体などの乱用に関連する標的を含めた。Oveporexton 10 µmol/L（5,205 ng/mL）は、CB1 及び PR-B（それぞれ

58%及び 62%阻害）を除き、評価したいずれの受容体、イオンチャネル又は酵素にも有意な作用を示さなかった。Oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ は 26.4 ng/mL（TAK-861_PopPK_Analysis_FINAL、3 時間間隔で BID 反復経口投与したときの母集団 PK モデルの最終モデルに基づく予測値の平均値、以下同様）、$C_{max,ss,unbound}$ は 0.98 ng/mL（ヒト血漿中の非結合型分率 0.037 に基づく）であることから、oveporexton が CB1 及び PR-B 受容体に影響を及ぼす濃度（5,205 ng/mL）は、臨床使用における $C_{max,ss,unbound}$ の 5,000 倍超であることが示された。このように曝露量比が大きいことを考慮すると、臨床使用において oveporexton がオフターゲット作用による影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

さらに、oveporexton の潜在的なオフターゲット作用を評価するための in vitro 評価を実施した（2.6.3.3、[redacted]）。この評価ではヒトの受容体、イオンチャネル及び酵素（計 47 種）をターゲットとし、安全性を評価するために推奨される重要な標的が含まれていた（Bowes et al., 2012）。本アッセイの条件下では、oveporexton は CB1 拮抗作用を除き、いずれの受容体、イオンチャネル又は酵素に対しても有意な作用（$IC_{50}$ 又は $EC_{50}$≤10 µmol/L と定義）を示さなかった。CB1 拮抗作用に対する oveporexton の $IC_{50}$ は 3.2 µmol/L（1,666 ng/mL）であり、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ に比べて 1,700 倍高い濃度であったことから、臨床使用において oveporexton がオフターゲット作用による影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

### 2.6.2.3.2 規制物質に対する oveporexton のコンピューテーショナル構造類似性解析

**添付資料番号：4.2.1.2-3（参考）**

薬物依存性評価の一環として、コンピューテーショナルアプローチにより、oveporexton とスケジュール I～V の物質を含む米国 CSA で規定された各規制物質との構造類似性を評価した（2.6.3.3、[redacted]）。その結果、スケジュール I～V の規制物質中に oveporexton と完全に一致するものはなかった。また、「合成薬物乱用防止法（Synthetic Drug Abuse Prevention Act 2012）」又は「フェンタニル関連物質」の一時的なスケジューリングに関連する一般的な（Markush）構造とも完全に一致するものはなく、最も高い類似係数は 0.1429 であった。得られたすべての類似係数は、文献で報告されている最も保守的な類似度閾値である Tanimoto 係数 0.6 をはるかに下回っており、CSA で規定された規制物質と oveporexton の構造的類似性はないことが示された（Cramer et al., 2004; O'Hagan and Kell., 2017; Dobson, Patel and Kell., 2009）。

### 2.6.2.3.3 C57BL/6J マウスの排尿に対する oveporexton の影響

**添付資料番号：4.2.1.2-4（参考）**

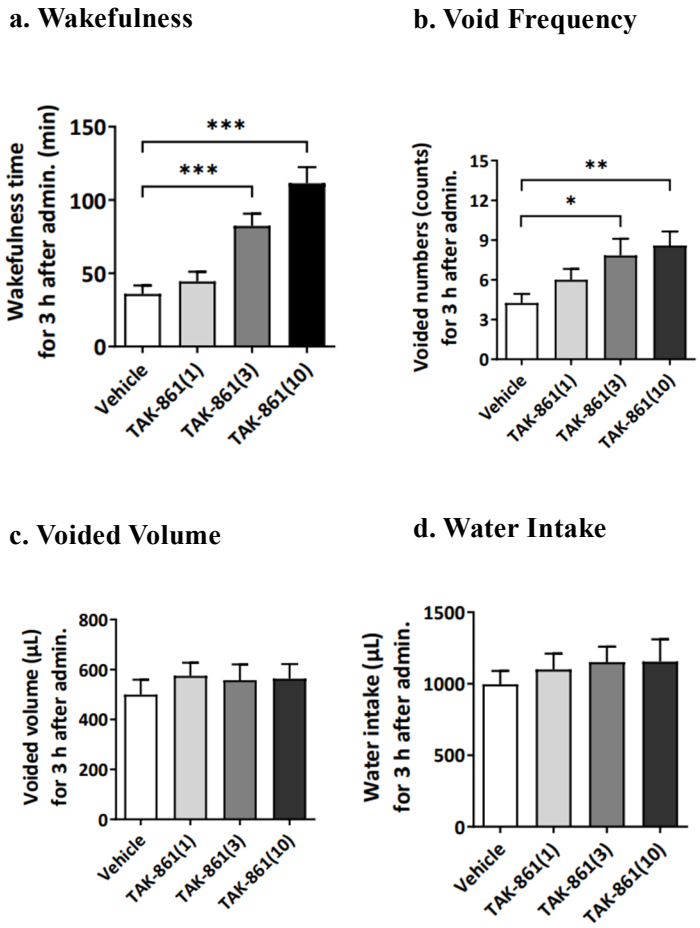
OX2R 作動薬は、患者の尿意切迫及び頻尿の増加に関連することから（Mignot et al., 2023）、成熟した雄性 C57BL/6J マウス（10～14 週齢）を用いて、oveporexton の排尿機能への影響を評価した（2.6.3.3、[redacted]）。覚醒時間は睡眠期に評価し（10 匹／群）、排尿機能は活動期に評価した（12 匹／群）。覚醒時間を評価する試験に

おいて、マウスに EEG/EMG 電極を埋め込み、回復後に 2.6.2.2.2 に記載した方法を用いて 12 時間の明暗サイクルで飼育した。

C57BL/6J マウス（10 匹）に対して、ZT5 に、クロスオーバーデザインを用いて oveporexton（1、3 又は 10 mg/kg）又は媒体〔蒸留水に溶解した 0.5%（w/v）MC〕を単回経口投与した。投与後 3 時間（ZT5～ZT8）の覚醒時間を、SleepSign を用いて算出した。

排尿機能を評価する試験では、Power Lab データ収録システム（AD Instruments Co., Ltd.）、パワーユニット（Bio Research Center Co., Ltd.）、及び代謝ケージから構成される小動物用排尿機能測定装置（株式会社シンファクトリー）を用いて、覚醒下のマウスの自発的な排尿行動を記録した。C57BL/6J マウス（12 匹）に対して、活動期（ZT14）に、クロスオーバーデザインを用いて oveporexton（1、3 又は 10 mg/kg）又は媒体を単回経口投与し、投与後 3 時間（ZT14～ZT17）の排尿機能及び飲水量を記録した。

Oveporexton を 3 及び 10 mg/kg で投与したとき、睡眠期の投与後最初の 3 時間に、マウスの覚醒時間が用量依存的かつ有意に増加した（$p<0.001$）。また、oveporexton を 3 及び 10 mg/kg で投与したとき、活動期に排尿頻度が有意に増加（3 mg/kg で $p<0.05$、10 mg/kg で $p<0.01$）したが、総尿量及び総飲水量に有意な影響はなかった（図 2.6.2.3-1）。これらの結果は、マウスに対する oveporexton の投与が総尿量及び総飲水量に影響を及ぼすことなく排尿頻度の増加を誘発する可能性があることを示している。




Source: [redacted]

*p < 0.05, **p < 0.01, ***p <0.001: two-tailed Williams' multiple comparison test; compared to vehicle treated (0 mg/kg) mice.
Data are presented as the mean + standard error of the mean (SEM). N = 10 for wakefulness; N = 12 for urinary parameters.
In the wakefulness arm, oveporexton (TAK-861) (1, 3, or 10 mg/kg) or vehicle was administered orally to C57BL/6J mice at zeitgeber time 5 (ZT5) and (a) wakefulness time during 3 hours after administration was analyzed. In the urinary function arm, oveporexton (TAK-861) (1, 3, or 10 mg/kg) or vehicle was administered orally to C57BL/6J mice at ZT14 and (b) void frequency, (c) void volume, and (d) water intake were analyzed for 3 hours following administration.

図 2.6.2.3-1　C57BL/6J マウスの排尿に対する oveporexton の影響

### 2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験において、中枢神経系、心血管系及び呼吸系機能に対する oveporexton の影響を評価した。心血管系への影響は、in vitro 試験に加え、覚醒下のサルにおけるテレメトリーシステムを用いた単回投与試験及び反復投与毒性試験（テレメトリーシステム不使用）において評価した。呼吸系への影響は、ラットを用いて評価した。強化効果を評価するために実施した静脈内投与による薬物依存性試験を除き、すべての in vivo 試験は強制経口投与により実施した。心血管系における予備的な試験を除き、すべての試験は GLP 適用下で実施した。また、ラットを用いて薬物依存性を評価した。中枢神経系、心血管系及び呼吸系機能に関する試験は、ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン（2001）」及び S7B「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価（2009）」に従って実施された。薬物依存性試験は、FDA ガイダンス：Center for Drug Evaluation and Research：Assessment of Abuse Potential of Drugs, Guidance for Industry（2017 年

1 月）及び EMA の Guideline on the Non-clinical Investigation of the Dependence Potential of Medicinal Products（2006 年 3 月）に従って実施された。

血漿中の oveporexton の非結合型分率はラット、サル及びヒトで同程度であったことから（ラット=0.045、サル=0.028、ヒト=0.037）（[redacted]）、in vivo 試験については、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ に基づき曝露量比を算出した。In vitro 試験については、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ に基づき曝露量比を算出した。

### 2.6.2.4.1 中枢神経系

#### 2.6.2.4.1.1 In vivo 中枢神経系評価（ラット）

**添付資料番号**：4.2.1.3-1（評価）

中枢神経系に対する oveporexton の影響を、雄性 Sprague-Dawley ラット（6 匹／群、6 週齢）を用いて GLP 適用下で検討した（2.6.3.4、[redacted]）。体温及び行動を含む一般状態への影響を、Irwin 多次元観察に準じて検討した。観察項目として、ケージ内観察（常同行動、身づくろい、落ち着きのなさ、自発運動、体姿勢、ライジング反応、立毛、皮膚の色及び呼吸）、ハンドリング観察（受動性、正向反射、握力、体幹緊張度、腹筋緊張度、四肢筋緊張度、同側屈筋反射、流涎、流涙及び下痢）、オープンフィールド観察（挙尾、振戦、攣縮、痙攣、よろめき歩行、異常歩行、自発運動、閉眼及び眼球突出）、聴覚反応（警戒性、驚き反応）、発声、被刺激性、触反応及び瞳孔径並びに感覚運動反射（耳介反射、角膜反射、疼痛反応）を含めた。各群に、oveporexton を 0〔0.5%（w/v）MC 溶液〕、20、100 又は 1,000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前並びに投与後 1、2、4、8 及び 24 時間に観察及び測定を行った。

投与後 1 及び 2 時間には、20 及び 100 mg/kg 群の全動物及び 1,000 mg/kg 群の 3 匹で軽度の落ち着きのなさが認められた。20 mg/kg 群では、投与後 1 時間に 3 匹で軽度の警戒性の亢進が認められ、20 及び 100 mg/kg 群では、投与後 1～2 時間に 1 又は 2 匹で自発運動のわずかな増加が認められた。これらの所見は、いずれの用量でも投与後 4 時間以降には認められなかった。

20 及び 100 mg/kg 群では、投与後 1 及び 2 時間に体温が統計学的に有意に上昇し（$p<0.05$）、対照群の平均値との差の最大値はそれぞれ 1°C 及び 0.5°C であった。1,000 mg/kg 群では、投与後 2、4 及び 8 時間に体温の統計学的に有意な低下（$p<0.05$）が認められ、群平均値の対照群からの最大変化量は、投与後 4 時間において-0.7°C であった。

結論として、oveporexton に関連する中枢神経系の所見として、20 及び 100 mg/kg 群で体温上昇、1,000 mg/kg 群で体温低下、20 mg/kg 以上で活動量の亢進が認められた。ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験（[redacted]）で oveporexton 20 mg/kg を投与したときの Day 1 の雄の $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 127 倍であった。

### 2.6.2.4.2 In vivo 薬物依存性試験

FDA ガイダンス：Center for Drug Evaluation and Research：Assessment of Abuse Potential of Drugs, Guidance for Industry（2017 年 1 月）及び EMA の Guideline on the Non-clinical

Investigation of the Dependence Potential of Medicinal Products（2006 年 3 月）に従って実施した薬物依存性試験（GLP 適用）により、oveporexton の薬物依存性を評価した。依存性評価に関する非臨床試験は、FDA の Controlled Substance Staff によるプロトコールレビュー（20[redacted] 年 [redacted] 月受領）に基づき計画及び実施された。非臨床薬物依存性試験の結果を総合的に評価した結果、oveporexton は弱い強化効果を有するが、身体依存性は引き起こさないと考えられた。

### 2.6.2.4.2.1 ラットにおける薬物弁別試験（アンフェタミン弁別動物を用いた試験）

**添付資料番号**：4.2.1.3-2（評価）

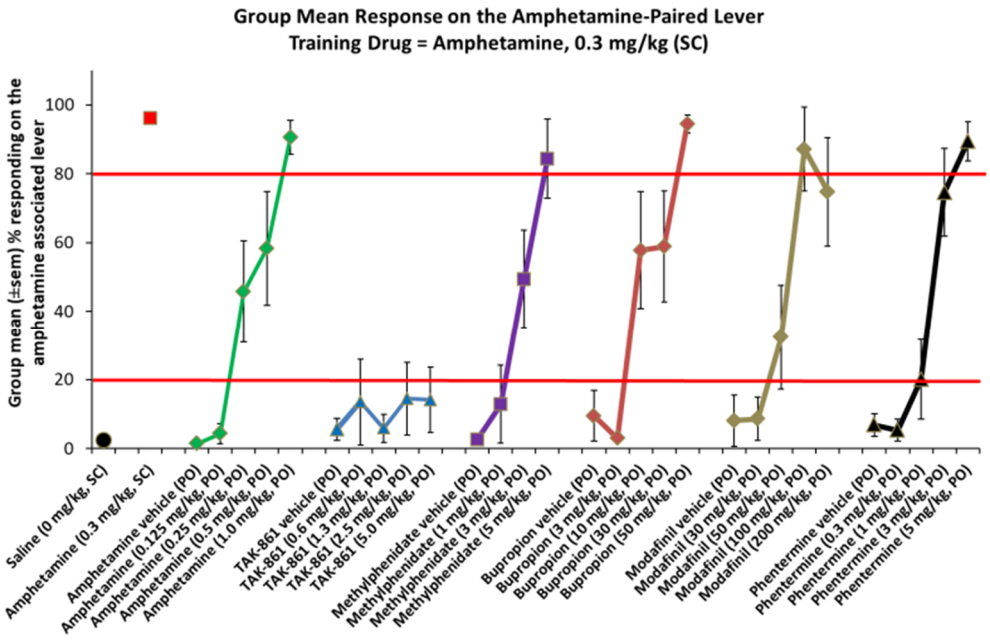
ドパミン作動性刺激薬であるアンフェタミンによって生じる摂取感覚効果に対して、oveporexton が般化する可能性を検討した（2.6.3.4、[redacted]）。薬物弁別試験には 2 レバー選択オペラント条件付け法により、アンフェタミンと媒体（生理食塩水）を弁別するよう訓練された雄性 Lister Hooded ラットを用いた。陽性対照薬としてアンフェタミン、比較薬としてメチルフェニデート、ブプロピオン、モダフィニル及び phentermine を用いた。

主試験では、ラット 40 匹に対してスクロースペレットの報酬に反応してレバーを押すよう訓練した。レバー押し行動の確立後、ラットを皮下投与によるアンフェタミン 0.3 mg/kg と生理食塩水を弁別するよう訓練した。動物が最終訓練基準を満たした後、8 匹／用量の動物を用い、陽性対照アンフェタミン（媒体又はアンフェタミン 0.125、0.25、0.5 又は 1.0 mg/kg の単回経口投与）、次に oveporexton（媒体又は oveporexton 0.6、1.3、2.5 又は 5 mg/kg の単回経口投与）について、般化の用量反応曲線を得た。比較薬のメチルフェニデート、ブプロピオン、モダフィニル及び phentermine についても、般化の用量反応曲線を得た。

アンフェタミンを経口投与したとき、予想されたとおりの般化用量反応曲線が得られ、この用量反応曲線には、媒体による無般化及びアンフェタミンによる完全般化が含まれていたことから、試験系の妥当性が確認された（図 2.6.2.4-1）。

本試験で、oveporexton を 0.6、1.3、2.5 及び 5.0 mg/kg の用量で単回経口投与したときに、アンフェタミンとの般化はみられず、媒体様の反応が認められた（図 2.6.2.4-1）。

さらに、比較薬であるメチルフェニデート、ブプロピオン、モダフィニル及び phentermine を投与したときのアンフェタミンに対する完全般化及び媒体による無般化を含む、般化の用量反応曲線を得た（図 2.6.2.4-1）。比較薬は、いずれも中枢神経刺激薬であり、そのうち 2 剤（メチルフェニデート及びモダフィニル）はナルコレプシーの治療に使用されることから選択した。現在、ナルコレプシーの治療薬として承認されている薬剤は、アンフェタミン様の向精神作用を共通して有する。Oveporexton はアンフェタミンに対して部分般化も示さず、媒体様の反応を示したことから、既存のナルコレプシー治療薬の作用と異なることが示された。




Source: [redacted]

PO: oral(ly); SC: subcutaneous(ly); SEM: standard error of the mean.

Data are presented as group mean (±SEM) for the percent of male Lister Hooded rats responding to the amphetamine paired lever for saline, amphetamine (SC and PO), oveporexton (TAK-861), methylphenidate, bupropion, modafinil, and phentermine. Training drug: amphetamine 0.3 mg/kg SC. Red bars represent thresholds for generalization criterion: ≤20% = no generalization; ≥80% = full generalization.

**図 2.6.2.4-1　アンフェタミン弁別雄性 Lister Hooded ラットにおける oveporexton の薬物弁別**

TK 評価では、oveporexton を 0.15、0.5、1.5 及び 5.0 mg/kg の用量で単回経口投与したときの $C_{max}$ の平均値は、それぞれ 3.29、19.9、65.0 及び 592 ng/mL であった。以上の結果から、本試験のラットにおける oveporexton の血漿中濃度は、薬物弁別試験の評価範囲をカバーしており、評価した最高用量での oveporexton の血漿中濃度は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 20 倍超となることが示された。

結論として、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ と同程度又は 20 倍超の曝露量となる用量において、oveporexton がアンフェタミンと類似の弁別刺激効果を示す可能性は低いことが示された。これらの結果は、ナルコレプシーの治療薬として承認されている薬剤を含む各種中枢神経刺激薬と oveporexton は薬理学的に異なることを示している。

### 2.6.2.4.2.2 ラットにおける薬物弁別試験（oveporexton による弁別訓練）

**添付資料番号：4.2.1.3-3（評価）**

雄性 Lister Hooded ラットを用いた追加の薬物弁別試験を実施し、2 レバー選択オペラント条件付け法を用いて、oveporexton に対する薬物弁別能が確立するか否かを検討した。Oveporexton に対する薬物弁別能が確立した場合は、既知乱用薬物との摂取感覚効果の類似性を評価することとした（2.6.3.4、[redacted]）。

訓練では、8 週間の二重交替学習において 40 匹のラットに oveporexton を 3 mg/kg の用量で投与した。Oveporexton（薬剤に割り付けられたレバーに対して 80%超の反応）と媒体

（薬剤に割り付けられたレバーに対して 20%未満の反応）の弁別基準に 8 回連続で到達したラットを次の訓練に用いた。上記の基準を達成したラットの割合が 40%未満であったため、弁別基準の到達確率を向上させるために、oveporexton の用量を 5 mg/kg に増量し、その後 3 週間、上記と同様の条件で oveporexton と媒体を弁別させる訓練を実施した。同様に弁別基準を達成したラットを次の訓練に用いた。次の訓練では、二重交替学習と同じ基準を用いて最大 4 週間の単一交替学習を実施した。どちらのレバーにもスクロースペレットの報酬があり、いずれかのレバーを 10 回押すことでスクロースペレットの報酬が得られるチャレンジセッションを導入し、ラットが単一交替スケジュールで弁別基準に到達したのは、oveporexton と媒体の薬物弁別能を獲得したことによるものか、又は単にレバーを切り替えることを学習して、80%の弁別基準を満たしただけなのかを確認した。

Oveporexton 3 mg/kg を単回経口投与したとき、投与後 2 時間（アンフェタミン弁別ラットを用いた前述の薬物弁別試験における $t_{max}$ に相当）における oveporexton の血漿中濃度の平均値は 143 ng/mL であった（[redacted]）。本試験でラットに oveporexton 3 mg/kg を投与したときの曝露量は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける曝露量の 5.4 倍であった。過去の薬物弁別試験では、oveporexton 5 mg/kg を経口投与した場合、$C_{max}$（投与後 2 時間）は 592 ng/mL であり、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 20 倍超であった。弁別基準の到達確率を向上させるために、訓練フェーズにおける oveporexton の用量を 3 mg/kg から 5 mg/kg に増量したが、ラットは oveporexton に対する薬物弁別能を獲得せず、oveporexton と媒体に対する反応に差はみられなかった。

弁別訓練において、ラットに oveporexton を 3 又は 5 mg/kg のいずれの用量で投与しても、行動への影響は認められず、また食餌の報酬を得るためのラットのオペラント条件付け反応や意欲にも影響は認められなかったことから、oveporexton に対する薬物弁別能は確立されなかった。

以上より、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の約 5～20 倍超高い全身曝露量となる用量をラットに投与しても、oveporexton は薬物弁別刺激効果を引き起こさないことが示された。これらの結果に基づき、oveporexton は MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 20 倍超の曝露量において、薬物弁別能を確立するだけの十分な摂取感覚効果を示さなかったことから、ヒトで向精神作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

### 2.6.2.4.2.3 コカイン訓練ラットにおける静脈内自己投与試験

**添付資料番号**：4.2.1.3-4（評価）

Oveporexton の強化効果を、コカインの静脈内自己投与を訓練させた雄性成熟 Lister Hooded ラットの静脈内自己投与モデルで評価した。Oveporexton の用量を 0.01、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg/0.2 mL infusion とし、FR5 のスケジュールで自己投与セッションを行い、媒体対照群と比較した（2.6.3.4、[redacted]）。

用量設定フェーズでは、レバーを押すことでスクロースペレットの報酬が得られるように訓練を受けたラット（4 匹／群、主試験とは別の動物）に媒体対照〔10%（w/v）スルホブチルエーテル β-シクロデキストリンナトリウム／0.1%（w/v）ポリソルベート 80〕又は

oveporexton 0.01、0.03、0.08、0.2 若しくは 0.5 mg/kg を 0.2 mL の投与容量で単回静脈内投与した。

TK フェーズでは、主試験とは異なるラット（3 匹／群、TK 群）に、oveporexton 0.015、0.05、0.15 又は 0.5 mg/kg を 0.2 mL の投与容量で単回静脈内投与した。

主試験では、コカインに対する自己投与行動を獲得したラット（8 匹／群）を用いて、FR5 の強化スケジュールにより媒体対照又は oveporexton 0.01、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg/0.2 mL infusion を 5 秒間かけて静脈内自己投与する群（計 5 群）で評価した。さらに、同様に FR5 の強化スケジュールで、0.01、0.06、0.3、0.6 又は 1.0 mg/kg/0.2 mL infusion のコカイン（陽性対照）を評価した。

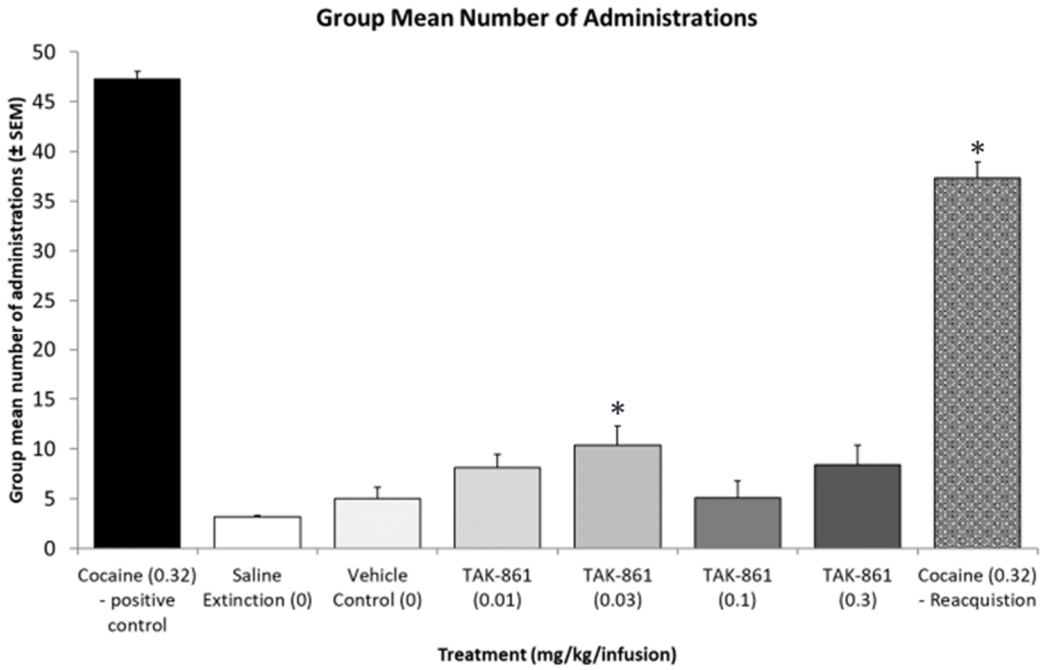
用量設定フェーズでは、oveporexton（0.01～0.5 mg/kg/0.2 mL）の単回静脈内投与によりレバー押し反応が低下することはなかった。

コカイン（陽性対照）を 0.32 mg/kg/0.2 mL infusion の用量で静脈内自己投与させた結果、媒体対照群と比較して統計学的に有意な投与回数の増加が認められ、試験系の妥当性が確認された。依存性薬物（Knackstedt and Kalivas., 2007）で報告されているように、0.01、0.06、0.3、0.6 又は 1.0 mg/kg/0.2 mL infusion のコカインの静脈内自己投与より、逆 U 字型の用量反応曲線が得られた。

Oveporexton を 0.01、0.1 又は 0.3 mg/kg/0.2 mL infusion の用量で自己投与（静脈内 infusion）させたとき、強化効果は認められなかった（$p>0.05$）。一方、0.03 mg/kg/0.2 mL infusion の用量では、媒体対照群と比較して弱いものの統計学的に有意な（$p<0.05$）自己投与回数の増加が認められた。この反応は、陽性対照であるコカインと比較して統計学的に有意に低かった（図 2.6.2.4-2）。

TK 評価では、oveporexton を 0.015、0.05、0.15 又は 0.5 mg/kg/0.2 mL の用量で単回静脈内投与したとき、$C_0$ の平均値はそれぞれ 59、119、353 又は 1,130 ng/mL であった。Oveporexton の $C_0$ に基づき、0.01、0.03 及び 0.1 mg/kg/0.2 mL infusion の用量で静脈内 infusion 投与したときの oveporexton の曝露量は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の約 1～9 倍に相当すると考えられた。Oveporexton を 0.3 mg/kg/0.2 mL infusion の用量でラットに単回投与したときの血漿中濃度は、MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の約 26 倍になると推定された。

結論として、oveporexton は自己投与モデルにおいて弱い強化効果を有することが示唆された。




Source: Adapted from [redacted]
*p < 0.05
FR5: fixed ratio 5; IV: intravenous(ly); SEM: standard error of the mean.
Data are presented as group mean number of IV self-administrations ±SEM over a 2-hour period to cocaine-maintained, adult, male, Lister Hooded rats on a FR5 schedule.

図 2.6.2.4-2　雄性 Lister Hooded ラットにおける oveporexton の静脈内自己投与

### 2.6.2.4.2.4 ラットにおける身体依存性試験

**添付資料番号：4.2.1.3-5（評価）**

雌性 Sprague-Dawley ラットに oveporexton を 28 日間反復経口投与した後、投与を中止して oveporexton に関連した退薬症候の発現の有無を検討した（2.6.3.4、[redacted]）。それぞれ主試験群（8 匹／群）及び TK 群（6 匹／群）のラットに、媒体対照（0.5% MC）又は oveporexton を 2、10 又は 50 mg/kg BID（4、20 又は 100 mg/kg/日）で 28 日間強制経口投与した。1 日のうち 2 回目の投与は 1 回目の投与後 7 時間に行った。主試験群又は TK 群のラットとは別のラット（8 匹／群）に、陽性対照としてリン酸コデイン（以下、コデイン）を 100 mg/kg BID（200 mg/kg/日）で投与した。

コデイン、媒体対照又は oveporexton の投与中止後 7 日間にわたり退薬症候の有無を評価した。この休薬期間は、oveporexton の半減期の 5 倍超とした。退薬症候の評価には、体重、体重変化、摂餌量、飲水量、体温、一般状態、誘発反応、アリーナでの定量的評価、アリーナ内での場所嗜好性、立ち上がり及び自発運動量が含まれた。

コデインの投与により、投与期間中の Day 1 から様々な行動変化が認められたが、投与最終週までに消失した。具体的には、聴覚性驚愕反応の亢進、洞毛運動、挙尾、頭部探索行動、握力低下及びハンドリングに対する反応性の欠如などが認められた。その他の行動は Day 5 以降（活動亢進及び縮瞳など）又は Day 22 以降（異常発声、ハンドリングに対する反応性亢進、疼痛及び接近反応、逃避企図など）に発現した。コデイン投与により、ラット

の生理機能変化も認められた。摂餌量は、コデインの投与期間中の最初の 2 週間に減少し、その後対照群の水準に戻った。飲水量は、投与期間中の Day 2～3 に統計学的に有意に増加したが、その後、残りの投与期間中の多くの時点で統計学的に有意に減少した。体温は Day 2 から投与終了時まで継続して上昇した。コデイン投与による体重又は体重変化量への明確な影響は認められなかった。

コデインの投与中止後に、身体依存性を示す様々な行動的、生理的及び身体的症状が発現した。著明な退薬症候として、円背位、活動性低下、立毛、易刺激性及び身震い行動が認められた。軽度の退薬症候として、頻呼吸、脇腹の窪み、伸筋突伸反応の低下、無形便及び肢のふらつきが認められた。また、休薬期間の Day 1～2 の初期の体重減少とその後の緩やかな回復を特徴とする、身体依存性を示す明らかな生理学的徴候も認められた。これは体重変化量の統計学的に有意な減少に反映され、その後の回復に伴い統計学的に有意に増加した。摂餌量及び飲水量は、休薬期間の初期における体重減少時には変化がなかったが、その後のコデイン退薬からの回復による急速な体重の回復に伴い、摂餌量及び飲水量は統計学的に有意に増加した。投与期間中の体温上昇は、休薬期間中に低下に転じた。

Oveporexton の 2 mg/kg BID（4 mg/kg/日）群では、28 日間の投与期間中、明確な影響は認められなかった。Oveporexton の 10 又は 50 mg/kg BID（それぞれ 20 又は 100 mg/kg/日）群では、投与期間中に統計学的に有意な多くの影響が認められた。10 mg/kg BID（20 mg/kg/日）群では投与 Day 19～22 に、50 mg/kg BID（100 mg/kg/日）群では投与 Day 22～26 に体重変化量が増加し、50 mg/kg BID（100 mg/kg/日）群で Day 21～22 及び Day 27～28 に飲水量が減少し、50 mg/kg BID（100 mg/kg/日）群では Day 1 に活動亢進及び立ち上がり行動の増加がみられた。

Oveporexton の投与中止後、いずれの用量でも身体依存性を示す退薬症候は認められなかった。10 mg/kg BID（20 mg/kg/日）群では、投与中止後に身体依存を示唆する行動上の所見が認められたが、より高用量の 50 mg/kg BID（100 mg/kg/日）群では再現されず、過度にみられることもなかった。

TK 評価では、Day 28 における oveporexton の 2、10 又は 50 mg/kg BID（それぞれ 4、20 又は 100 mg/kg/日）群の $C_{max}$ の平均値は、それぞれ 801、3,980 及び 10,800 ng/mL であった。Oveporexton を最低用量（2 mg/kg BID）及び最高用量（50 mg/kg BID）で投与したときの oveporexton の $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける oveporexton の $C_{max,ss}$ のそれぞれ約 30 倍及び 400 倍超であった。

結論として、oveporexton を 2、10 及び 50 mg/kg BID（それぞれ 4、20 及び 100 mg/kg/日）で投与したとき、休薬期間中に身体依存性を示す退薬症候は認められなかった。Oveporexton を最低用量（2 mg/kg BID）で投与したときのラットにおける曝露量は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける曝露量の約 30 倍であったことから、oveporexton は身体依存性を示さないと考えられた。この結論は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける曝露量の 400 倍を超える曝露量となる 50 mg/kg の用量で動物に 1 日 2 回投与したときに退薬症候が認められなかったことによっても裏付けられた。

### 2.6.2.4.3 心血管系

#### 2.6.2.4.3.1 In vitro 評価

hERG チャネルに対する oveporexton の作用を、室温及び生理的温度の両方で検討し、心血管系への影響を評価した。また、遅延性 Nav1.5 電流及び Cav1.2 電流に対する影響についても評価した。

##### 2.6.2.4.3.1.1 hERG 電流に対する oveporexton の作用

**添付資料番号**：4.2.1.3-6（評価）、4.2.1.3-7（評価）

hERG 電流に対する oveporexton の影響を、hERG チャネルを安定発現させた HEK293 細胞（1 濃度あたりの細胞数：4）を用い、室温でのホールセルパッチクランプ法により評価した（2.6.3.4、[redacted]）。室温下で、hERG 電流に対して設定したステップパルスにより誘発されるテール電流のピーク振幅を、溶媒（DMSO）、oveporexton 又は陽性対照（E-4031）の灌流前及び灌流約 10 分後に解析し、残留電流率（灌流前値に対する灌流後の相対値）を算出した。

溶媒及び oveporexton 適用後の残留電流率は、溶媒で 93.8%、oveporexton 0.3 µg/mL で 96.7%、1 µg/mL で 89.9%及び 3 µg/mL で 89.0%であり、いずれの濃度においても溶媒と比較して統計学的な有意差は認められなかった。0.3、1 及び 3 µg/mL における阻害率（溶媒の平均値で補正）は、それぞれ-3.1%、4.1%及び 5.2%であった。

陽性対照は 0.047 µg/mL（約 0.1 µmol/L）の濃度で、hERG 電流を顕著に抑制し、残留電流率は 9.0%であった。

以上より、室温下での hERG 電流評価において、3 µg/mL までの濃度で oveporexton の影響は認められず、本試験条件下での $IC_{50}$ は 3 µg/mL（5.8 µmol/L）超と推定された。

続いて、Comprehensive In Vitro Proarrhythmia Assay initiative で推奨された、組換え細胞株を用いた薬物－心臓イオンチャネル相互作用解析のための推奨電位プロトコル（2021）に準じた試験を、GLP 適用下で実施した。Oveporexton 0、0.3、1 及び 3 µg/mL の濃度で、ホールセルパッチクランプ法を用いて生理的温度で hERG チャネル電流を測定した（1 濃度あたりの細胞数：4）（2.6.3.4、[redacted]）。

媒体対照の平均値で補正した 0.3、1 及び 3 µg/mL における阻害率は、それぞれ 2.2%、-0.2%及び 9.0%であり、媒体対照と比較して 3 µg/mL で統計学的に有意（$p<0.025$）であった。

結論として、生理的条件において、oveporexton は 3 µg/mL の濃度で hERG 電流に対してわずかであるが統計学的に有意（$p<0.025$）な阻害作用を示し、$IC_{50}$ は 3 µg/mL（5.8 µmol/L）超と推定された。Oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ と比較すると、3 µg/mL での曝露量比は 3,000 倍超であった。

### 2.6.2.4.3.1.2 遅延性 Nav1.5 電流及び Cav1.2 電流に対する oveporexton の影響

**添付資料番号：4.2.1.3-8（評価）**

生理的温度での遅延性 Nav1.5 電流及び Cav1.2 電流の振幅に対する oveporexton の影響を、Nav1.5 及び Cav1.2 チャネルを安定発現させた HEK293 細胞を用いて 1、3、10 及び 100 µmol/L の濃度で評価した（2.6.3.4、[redacted]）。

Oveporexton は、検討した最高濃度まで遅延性 Nav1.5 電流を阻害しなかった。100 µmol/L では、遅延性 Nav1.5 電流に対して 1.4%±1.4%（ステップパルス）及び 1.7%±1.0%（ランプパルス）の低下がみられた。Oveporexton は Cav1.2 電流を阻害し、$IC_{50}$ はステップパルスで 85.8 µmol/L（44,660 ng/mL）、ランプパルスで 7.9 µmol/L（4,112 ng/mL）であった。Oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ と比較すると、7.9 µmol/L での曝露量比は 4,000 倍超であった。

### 2.6.2.4.3.2 テレメトリー装着覚醒サルにおける心血管系への影響

カニクイザルを用いて、oveporexton の心血管機能に対する影響を予備試験及び GLP 適用試験で評価した。

### 2.6.2.4.3.2.1 覚醒下のサルにおける心血管機能の評価（予備試験）

**添付資料番号：4.2.1.3-9（参考）**

心血管系に対する oveporexton の影響を、テレメトリー送信機を埋め込んだ雄性カニクイザル（3 匹）を用いて検討した（2.6.3.4、[redacted]）。Oveporexton を 0.5%（w/v）MC 溶液に懸濁し、覚醒状態のカニクイザルに 0（媒体）、30 及び 300 mg/kg の用量でラテン方格法により 6 又は 8 日間隔で単回経口投与した。血圧（収縮期、拡張期及び平均）、心拍数、ECG パラメータ（PR 間隔、QRS 幅、QT 間隔及び QTc）、体温、呼吸数及び活動量を投与前 1 時間、投与後 1、2、4、8、12、18 及び 24 時間に解析した。また、各解析時点前後の ECG 波形も評価した。

30 mg/kg 以上では、投与後 1 時間の血圧（収縮期、拡張期及び平均）に統計学的に有意な上昇が認められた（$p \leq 0.05$、分散分析）。30 mg/kg 以上では、投与後 2 時間に 2 匹又は全動物で、30 mg/kg では更に投与後 4 時間に 1 匹で血圧（収縮期、拡張期及び平均）が上昇した。収縮期圧、拡張期圧及び平均血圧の、媒体対照群との差の最大値は、30 mg/kg 群の投与後 1 時間に認められ、それぞれ+25、+21 及び+23 mmHg であった。

300 mg/kg の投与後 8 時間に 2 匹で、投与後 24 時間に 1 匹で嘔吐が認められた。血圧の上昇は、嘔吐がみられなかった 30 mg/kg 群においても認められ、血圧の上昇に明確な用量依存性が認められなかったことから、300 mg/kg 群での血圧上昇は、嘔吐による影響を受けたものではないと考えられた。

いずれの用量でも、心拍数、ECG パラメータ、ECG 波形、体温、呼吸数又は活動量に oveporexton に関連した変化は認められなかった。

結論として、テレメトリー送信機を埋め込んだ覚醒下のサルにおいて、oveporexton は 30 mg/kg 以上の用量で血圧の軽微かつ一過性の上昇を誘発した。

### 2.6.2.4.3.2.2 覚醒下のサルにおける心血管機能の評価（GLP 適用試験）

**添付資料番号：4.2.1.3-10（評価）**

心血管系に対する oveporexton の影響を、テレメトリー送信機を埋め込んだ雄性カニクイザル（4 匹、5～6 歳）を用いて GLP 適用下で検討した（2.6.3.4、[redacted]）。Oveporexton を 0〔0.5%（w/v）MC 溶液〕、3、30 及び 300 mg/kg の用量で、ラテン方格法により、各動物に週 1 回、経口投与した。投与前 1 時間及び投与後 1、2、4、8、12、18 及び 24 時間の時点で、全身血圧（収縮期、拡張期及び平均）、左室圧（左室収縮期圧、左室拡張末期圧及び LV dP/dt max）、心拍数及び ECG パラメータ（PR 間隔、QRS 幅、QT 間隔及び QTc）を測定した。一般状態観察及び ECG 波形の定性的評価も実施した。また、テレメトリーデータを取得後、同一動物に oveporexton を 3 mg/kg の用量で経口投与し、TK 解析を実施した。

いずれの用量でも、左室拡張末期圧、ECG パラメータ又は ECG 波形の定性的評価において oveporexton に関連した変化はなかった。

全用量で、投与後 1～4 時間に全身血圧及び左室収縮期圧の上昇が認められ、300 mg/kg では、収縮期圧、拡張期圧、平均血圧及び左室収縮期圧の対照群との差は投与後 1 時間で最大となり、それぞれ+27、+19、+23 及び+28 mmHg であった。300 mg/kg では、投与後 1 時間に 1 匹で LV dP/dt max 及び心拍数の顕著な増加が認められ、LV dP/dt max 及び心拍数でそれぞれ+1,618 mmHg/秒及び+42 拍／分であった。これらの変化はいずれも軽微、及び／又は一過性であったことから、有害な変化ではないと判断された。300 mg/kg の投与後 8～18 時間に LV dP/dt max の低下（投与後 8 時間で最大-639 mmHg/秒）が認められたが、同時点で他の血行動態パラメータ（血圧又は心拍数）に影響がなかったため、これらは有害な変化ではないと判断された。

一般状態観察では、300 mg/kg の投与後約 15～17 時間に 4 匹中 1 匹で嘔吐が認められた。

Oveporexton を 3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの、$C_{max}$、$t_{max}$ 及び $AUC_{24}$ の平均値は、それぞれ 449 ng/mL、2.3 時間及び 5,100 h*ng/mL であった。

結論として、雄性カニクイザルに oveporexton を 3～300 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、全身血圧及び左室収縮期圧の上昇が認められた。300 mg/kg では LV dP/dt max 及び心拍数一過性に上昇し、その後、LV dP/dt max は低下した。いずれも、有害な変化ではないと判断された。Oveporexton を LOEL である 3 mg/kg で投与したときの $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 17 倍であった。

### 2.6.2.4.3.3 反復投与毒性試験における心血管系の評価

**添付資料番号：4.2.3.2-6（評価）、4.2.3.2-7（評価）、4.2.3.2-8（評価）**

サルを用いた 4、13 及び 39 週間 GLP 適用反復投与毒性試験において、ECG 及び ECG 波形を評価した〔2.6.7.7D（[redacted]）、2.6.7.7E（[redacted]）及び 2.6.7.7F（[redacted]）〕。いずれの試験においても、oveporexton に関連した心臓の病理組織学的変化は認められなかった。ECG 及びその波形の評価に関する試験の詳細及び結果を以下に示す。

雌雄のサル（3～4 匹／性／群）を用いた最長 39 週間の反復投与毒性試験で、媒体〔0.5%（w/v）MC 溶液〕又は oveporexton を 30、100 又は 300 mg/kg/日の用量で QD 強制経口投与した。投与前及び投与期間終了時に、椅子に保定した覚醒下のサルを用いて、標準的な四肢誘導で ECG を測定した。記録した ECG から心拍数、PR 間隔、QT 間隔、QRS 幅、QTc（Bazett の補正式）を算出し、ECG 波形を評価した。各反復投与毒性試験における動物数及び ECG 測定時期の詳細を表 2.6.2.4-1 に要約する。

表 2.6.2.4-1　Oveporexton の GLP 適用反復投与毒性試験における ECG 測定時期の要約

| Study (Report) | Animals/ Sex | Week of ECG Measurement | Timing of ECG Measurement |
|---|---|---|---|
| 4-Week study ([redacted]) | 3 | Predose (Week −2) and Week 4 | Week −2: Twice in the morning and afternoon<br>Week 4: Predose and 6 hours postdose |
| 13-Week study ([redacted]) | 3 | Predose (Week −3) and Week 12 | Week −3: Twice in the morning and afternoon<br>Week 12: Predose and 4 hours postdose |
| 39-Week study ([redacted]) | 4 | Predose (Week −3) and Week 38 | Week −3: Twice in the morning and afternoon<br>Week 38: Predose and 4 hours postdose |

Source: [redacted], [redacted] and [redacted]
ECG: electrocardiography; GLP: good laboratory practice

いずれの試験でも、oveporexton に関連した ECG パラメータの変化は認められなかった。39 週試験の ECG パラメータに対する NOEL である 300 mg/kg/日は、サルの試験で検討した最高用量であり、同投与量における雌雄の曝露量の平均値は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ の 429 倍であった（表 2.6.2.4-2）。

表 2.6.2.4-2　サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験における心血管系に対する oveporexton の曝露量比

| Study | NOEL for ECG parameters (mg/kg/day) | $C_{max,ss}$ (ng/mL) [a] | $C_{max,ss,unbound}$ (ng/mL) [b] | Safety Margin [c] | Report No. |
|---|---|---|---|---|---|
| 4-Week repeat-dose toxicity | 300 | 19,400 | 543 | 554 | [redacted] |
| 13-Week repeat-dose toxicity | 300 | 28,250 | 791 | 807 | [redacted] |
| 39-Week repeat-dose toxicity | 300 | 15,000 | 420 | 429 | [redacted] |

Source: [redacted], [redacted], [redacted] and [redacted]
$C_{max}$: maximum observed concentration; $C_{max,ss}$: maximum observed concentration at steady state; $C_{max,ss,unbound}$: unbound maximum observed concentration at steady state; CYP: cytochrome P450 enzyme; ECG: electrocardiography; GLP: Good Laboratory Practice; NOEL: no-observed-effect level.
[a] Sex combined values of the last measured $C_{max,ss}$ values in the study.
[b] $C_{max,ss,unbound}$ = $C_{max,ss}$ multiplied by the unbound fraction (fu=0.028) in monkey plasma at 5 µg/mL [redacted].
[c] Safety margin = $C_{max,ss,unbound}$ at the NOEL for ECGs in monkeys / $C_{max,ss,unbound}$ at 4 mg/day (2 mg BID) in human (Human exposure is 0.98 ng/mL at the MRHD).

#### 2.6.2.4.4 呼吸系

##### 2.6.2.4.4.1 In vivo 呼吸機能評価

**添付資料番号：4.2.1.3-11（評価）**

呼吸系に対する oveporexton の影響を、非拘束覚醒下の雄性 Sprague-Dawley ラット（8 匹／群、6 週齢）を用いて検討した。呼吸数、1 回換気量及び分時換気量は、全身プレチスモグラフィーシステムを用いて測定した（2.6.3.4、[redacted]）。Oveporexton を 0〔0.5%（w/v）MC 溶液〕、20、100 又は 1,000 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与前及び投与後 1、2、4、8 及び 24 時間に呼吸機能を評価した。

Oveporexton を投与したいずれの群においても、投与後 1、2 及び 4 時間の呼吸系パラメータは、oveporexton の薬理作用によるものと考えられる活動性亢進のため測定できなかった。しかし、本試験の投与量における oveporexton の血漿中濃度は、先行試験では投与後 1～8 時間までほぼ一定であったことを考慮すると、呼吸系パラメータに対する oveporexton の影響は、投与後 8 及び 24 時間の時点で適切に評価可能と考えられた。

対照群と比較して、20 及び 100 mg/kg で投与後 8 時間に呼吸数が、100 mg/kg で投与後 8 時間に分時換気量が、統計学的に有意に増加した。1,000 mg/kg 群では、呼吸数及び分時換気量に統計学的有意差は認められなかった。いずれの投与量及び時点においても、1 回換気量に oveporexton に関連する変化は認められなかった。

結論として、ラットにおいて 20 及び 100 mg/kg で呼吸数の増加、100 mg/kg で分時換気量の増加が認められた。1,000 mg/kg では、ラットの呼吸系への影響は認められなかった。ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験（[redacted]）で、oveporexton を呼吸系への影響に関する LOEL 20 mg/kg で投与したときの Day 1 の雄の $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 127 倍であった。

### 2.6.2.5 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ていない。

### 2.6.2.6 考察及び結論

#### 2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験

##### 2.6.2.6.1.1 In vitro 試験

ヒト OX2R 又は OX1R のいずれかを安定的に発現した CHO-K1 細胞を用いた in vitro 試験で、oveporexton は細胞内 $Ca^{2+}$の動員で評価される OX2R 及び OX1R の活性を濃度依存的に刺激した。Oveporexton はヒト OX2R 及び OX1R に対して作動薬活性を示し、その $EC_{50}$ はそれぞれ 0.0025 µmol/L 及び 7.5 µmol/L であったことから、oveporexton は OX2R に対し OX1R より 3,000 倍高い選択性を示す、強力な OX2R 作動薬であることが示唆された。

##### 2.6.2.6.1.2 In vivo 試験

WT マウス、OX2R KO マウス、NT1 のモデルマウスである OX/ataxin-3 Tg マウス及びカニクイザルを用いて、oveporexton の薬力学的作用を評価した。初めに、OX の生理的濃度が低いと想定される睡眠期（Narita et al., 2023）に、マウスの覚醒時間に対する oveporexton の作用を評価した。

睡眠期に oveporexton を 10 mg/kg で投与したとき、WT マウスでは覚醒時間が有意に増加したが、OX2R KO マウスでは同一用量で覚醒時間に対する作用が認められなかった。以上より、マウスにおいて、oveporexton は OX2R の活性化を介して覚醒作用を引き起こすことが示された。OX/ataxin-3 Tg マウス及びその同腹仔 non-Tg マウスの睡眠期では、それぞれ最小有効用量 0.03 mg/kg 以下及び 1 mg/kg で oveporexton の覚醒作用が示された。最小有効用量に基づくと、OX/ataxin-3 Tg マウスの oveporexton に対する感受性は、non-Tg マウスと比較して約 30 倍高かった。ただし、同程度の覚醒作用を示すために必要な oveporexton の用量は、non-Tg マウスと比較して、OX/ataxin-3 Tg マウスでは約 10 分の 1 であった。以上より、NT1 のモデルマウスである OX/ataxin-3 Tg マウスにおいて、non-Tg マウスと比較して、oveporexton による覚醒作用がより低用量で認められた。

また、OX/ataxin-3 Tg マウスでは、活動期に oveporexton を 0.3 及び 1 mg/kg で経口投与したときに覚醒／睡眠の断片化が有意に改善し、oveporexton を 1 mg/kg で経口投与したときにカタプレキシー様症状の発現が有意に抑制された。以上より、oveporexton は OX/ataxin-3 Tg マウスの活動期にみられるナルコレプシー様症状を改善することが示された。OX/ataxin-3 Tg マウスでは oveporexton（1 mg/kg、経口投与）を 14 日間反復投与したとき、覚醒作用が投与 14 日後も持続したことから、NT1 のモデルマウスに oveporexton を反復投与後に OX2R の脱感作が生じるリスクは低いことが示された。

マウスは睡眠／覚醒パターンが多相の夜行性動物であるのに対し、カニクイザルのような非ヒト霊長類は睡眠／覚醒パターンが単相の昼行性動物である。カニクイザルでは、睡眠期に oveporexton を 1 mg/kg で経口投与したとき、有意な覚醒作用が認められた。これらの結果から、多相性睡眠構造を呈するマウスだけでなく、単相性睡眠構造の非ヒト霊長類において、また、OX 濃度の減少を伴った NT1 モデルだけでなく、正常な OX 濃度を有する場合でも、oveporexton は覚醒作用を示すことが示唆された。

以上より、oveporexton は、脳内の OX2R で OX の神経伝達を回復させることにより、NT1 患者の幅広い症状の治療薬となる可能性が示された。

### 2.6.2.6.2 副次的薬理試験

Oveporexton 10 µmol/L は、in vitro 試験において、CB1 及び PR-B を除き、いずれの受容体、イオンチャネル及び酵素にも有意な作用を示さなかった。CB1 及び PR-B に対しては、それぞれ 58%及び 62%の阻害が認められたが、10 µmol/L（5,205 ng/mL）は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ の 5,000 倍超であることを考慮すると、oveporexton がヒトにオフターゲット作用による影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。また、oveporexton の潜在的なオフターゲット作用に関する in vitro での薬理学的プロファイリングでは、oveporexton は CB1 拮抗作用を除き、いずれの受容体、イオンチャネル又は酵素に対しても有意な作用は認められなかった。CB1 拮抗作用の $IC_{50}$ である 3.2 µmol/L（1,666 ng/mL）は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ の 1,700 倍であることから、ヒトにおいてオフターゲット作用を及ぼす可能性は低いと考えられた。

米国 CSA で規定された各規制物質と、oveporexton との構造類似性を評価した試験において、oveporexton は CSA に規定されたいずれの構造とも類似性を持たないことが示された。

OX2R 作動薬は、患者の尿意切迫及び頻尿の増加に関連しているため（Mignot et al., 2023）、oveporexton の排尿機能に及ぼす影響を、マウスを用い評価した。C57BL/6J マウスにおいて、oveporexton は 3 及び 10 mg/kg の用量で排尿頻度を有意に増加させたが、総尿量及び総飲水量に有意な影響を及ぼさなかった。以上の結果から、oveporexton は総尿量及び総飲水量に影響を及ぼすことなく排尿頻度が増加する可能性が示唆される。

### 2.6.2.6.3 安全性薬理試験

雄性ラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響を検討した試験で、oveporexton は 20 及び 100 mg/kg で体温上昇、1,000 mg/kg で体温低下作用を示した。内因性ペプチドリガンドである OX-A は、ラットで体温低下と体温上昇の両方を誘導し、OX-B は体温上昇を誘導することが報告されている（Székely et al., 2002）。したがって、上述の体温変化は oveporexton の薬理作用に関連するものと考えられた。また、OX2R 作動薬を投与したラットにおいて自発運動が亢進することが報告されていることから（Samson et al., 2010）、20 mg/kg 以上で認められた活動亢進は、oveporexton の薬理作用に起因するものと考えられた。Oveporexton を中枢神経系への作用に関する LOEL 20 mg/kg で投与したときの $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD である 4 mg/日（2 mg BID）で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 127 倍であった。

In vivo 薬物依存性試験（GLP 適用）により、oveporexton の薬物依存性を評価した。ラットの身体依存性試験で、oveporexton による身体依存性は認められず、検討した最低用量及び最高用量における $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ のそれぞれ約 30 倍及び 400 倍超であった。薬物弁別試験の結果から、oveporexton は、中枢神経刺激薬であるアンフェタミンと弁別刺激を般化しないことが示唆された。また、oveporexton そのものによる弁別刺激効果も引き起こさなかった。しかし、ラットを用いた自己投与試験では、oveporexton は弱い強化効果を示し、本試験における oveporexton の血漿中濃度は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の約 1～26 倍であった。

In vitro での心血管系に対する影響の評価で、oveporexton は、室温条件下では 3 µg/mL までの濃度で hERG チャネルの阻害を示さなかったが、生理的温度条件下では 3 µg/mL で hERG 電流に対する軽微な阻害作用を示した。hERG 阻害の $IC_{50}$ は 3 µg/mL（5.8 µmol/L）超と推定され、曝露量比は oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ の 3,000 倍超であった。生理的温度での遅延性 Nav1.5 電流及び Cav1.2 電流に対する oveporexton の影響を評価した in vitro 試験では、oveporexton は検討した最高濃度（100 µmol/L）まで遅延性 Nav1.5 電流を阻害しなかったが、Cav1.2 電流に対する阻害が認められ、$IC_{50}$ は、ステップパルス及びランプパルスでそれぞれ 85.8 µmol/L（44,660 ng/mL）及び 7.9 µmol/L（4,112 ng/mL）であった。7.9 µmol/L において、曝露量比は oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss,unbound}$ の 4,000 倍超であった。

In vivo での心血管系に対する影響の評価では、テレメトリー送信機を埋め込んだ覚醒下の雄性カニクイザルにおいて、oveporexton の 3 mg/kg 以上の用量で収縮期圧、拡張期圧、平均血圧及び左室収縮期圧が上昇した。300 mg/kg では、1 匹で LV dP/dt max 及び心拍数の上昇が認められた。これらは、軽微及び／又は一過性であったことから有害な変化ではないと判断された。ラットに OX を脳室内投与すると、主に OX2R を介して動脈圧及び心拍数が

上昇することが報告されていることから（Huang et al., 2010）、上述の変化は、中枢神経系における OX2R に対する oveporexton の薬理作用によるものであると考えられた。300 mg/kg では、LV dP/dt max の低下も認められた。この変化の機序は明らかではなかったが、同測定時点で他の血行動態パラメータ（全身血圧又は心拍数）に対する影響が認められなかったことから、LV dP/dt max の低下は有害な変化ではないと考えられた。Oveporexton を心血管系への作用に関する LOEL で投与したときの $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 17 倍であった。

ラットを用いた呼吸機能の評価において、oveporexton を 20 及び 100 mg/kg で投与したときに呼吸数の増加、100 mg/kg で投与したときに分時換気量の増加が認められたが、1,000 mg/kg では呼吸系への影響は認められなかった。呼吸数及び分時換気量の増加は、OX2R 作動薬の薬理作用による活動量の亢進により誘発された可能性が考えられた。しかし、OX1R 及び OX2R のいずれにも作用する OX-A（Sakurai et al., 1998）が心血管系及び呼吸興奮を惹起すること、また OX-A をウレタン麻酔下マウスの脳側室に投与すると呼吸数及び 1 回換気量が増加することが報告されていること（Zhang, Fukuda and Kuwaki, 2005）から、呼吸数及び分時換気量の増加は、中枢神経系を介した oveporexton の直接的な薬理作用に関連する可能性があると考えられた。Oveporexton を上記変化に対する LOEL で投与したときの $C_{max}$ は、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける $C_{max,ss}$ の 127 倍であった。

### 2.6.2.6.4 結論

Oveporexton は強力な OX2R 選択的作動薬である。In vivo 薬理試験結果から、NT1 のモデルマウスにおいて、oveporexton による OX2R 活性を介した有意な覚醒作用並びに覚醒／睡眠の断片化及びカタプレキシー様症状の改善が示された。ヒトにおいて、oveporexton はオフターゲット作用を示さないと予測された。一連の GLP 適用安全性薬理試験で、oveporexton による中枢神経系、心血管系及び呼吸系への影響が認められた。しかし、oveporexton を MRHD で投与したときのヒトにおける曝露量と比較すると、曝露量比は大きく、ヒトへのリスクは低いと考えられた。非臨床薬物依存性の評価では、oveporexton は弱い強化効果をもつが、身体依存性はなく、アンフェタミンのような中枢神経刺激薬と弁別刺激を般化せず、また oveporexton 自身にも薬物弁別刺激効果はないことが示唆された。

### 2.6.2.7 参考文献一覧

Bowes, J., Brown, A. J., Hamon, J., Jarolimek, W., Sridhar, A., Waldron, G., et al. 2012. Reducing safety-related drug attrition: the use of in vitro pharmacological profiling. *Nat Rev Drug Discov*, 11(12), 909-22.

Cramer, R.D., Jilek, R.J., Guessregen, S., Clark, S.J., Wendt, B., Clark, R.D. 2004. “Lead-hopping”. Validation of topomer similarity as a superior predictor of similar biological activities. *J Med Chem*, 47(27), 6777-91.（添付なし）

De la Herrán-Arita, A. K. and García-García, F. 2014. Narcolepsy as an immune-mediated disease. *Sleep Disord*, 792687.

Dobson, P.D., Patel, Y. and Kell, D.B. 2009. 'Metabolite-likeness' as a criterion in the design and selection of pharmaceutical drug libraries. *Drug Discov Today*, 14(1-2), 31-40.（添付なし）

de Lecea, L., Kilduff, T. S., Peyron, C., Gao, X., Foye, P. E., Danielson, P. E., et al. 1998. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(1), 322-7.

Hara, J., Beuckmann, C. T., Nambu, T., Willie, J. T., Chemelli, R. M., Sinton, C. M., et al. 2001. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron*, 30(2), 345-54.

Huang, S. C., Dai, Y. W., Lee, Y. H., Chiou, L. C. and Hwang, L. L. 2010. Orexins depolarize rostral ventrolateral medulla neurons and increase arterial pressure and heart rate in rats mainly via orexin 2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 334(2), 522-9.（添付なし）

Knackstedt, L.A. and Kalivas, P.W. 2007. Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *J Pharmacol Exp Ther*, 322(3), 1103-9.（添付なし）

Krahn, L. E., Pankratz, V. S., Oliver, L., Boeve, B. F. and Silber, M. H. 2002. Hypocretin (Orexin) levels in cerebrospinal fluid of patients with narcolepsy: relationship to cataplexy and HLA DQB1*0602 status. *Sleep*, 25(7), 733-6.

Mignot, E., Bogan, R. K., Emsellem, H., Foldvary-Schaefer, N., Naylor, M., Neuwirth, R., et al. 2023. Safety and pharmacodynamics of a single infusion of danavorexton in adults with idiopathic hypersomnia. *Sleep*, 46(9), zsad049.

Mitsukawa, K., Terada, M., Yamada, R., Monjo, T., Hiyoshi, T., Nakakariya, M., et al. 2024. TAK-861, a potent, orally available orexin receptor 2-selective agonist, produces wakefulness in monkeys and improves narcolepsy-like phenotypes in mouse models. *Sci Rep*, 14(1), 20838.（添付なし）

Narita, N., Yamada, R., Kakehi, M. and Kimura, H. 2023. Diurnal fluctuations of orexin-A and -B in cynomolgus monkey cerebrospinal fluid determined by a novel analytical method using antiadsorptive additive treatment followed by nanoflow liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *ACS Chem Neurosci*, 14(4), 609-18.

O'Hagan, S. and Kell, D.B. 2017. Consensus rank orderings of molecular fingerprints illustrate the 'most genuine' similarities between marketed drugs and small endogenous human metabolites, but highlight exogenous natural products as the most important 'natural' drug transporter substrates. bioRxiv version. doi:10.1101/110437.（添付なし）

Oishi, Y., Williams, R. H., Agostinelli, L., Arrigoni, E., Fuller, P. M., Mochizuki, T., et al. 2013. Role of the medial prefrontal cortex in cataplexy. *J Neurosci*, 33(23), 9743-51.（添付なし）

Peyron, C., Tighe, D. K., van den Pol, A. N., de Lecea, L., Heller, H. C., Sutcliffe, J. G., et al. 1998. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci*, 18(23), 9996-10015.

Sakurai, T. 2007. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nat Rev Neurosci*, 8(3), 171-81.

Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., Matsuzaki, I., Chemelli, R. M., Tanaka, H., et al. 1998. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, 92(4), 573-85.

Samson, W. K., Bagley, S. L., Ferguson, A. V. and White, M. M. 2010. Orexin receptor subtype activation and locomotor behaviour in the rat. *Acta Physiol (Oxf)*, 198(3), 313-24.（添付なし）

Scammell, T. E., Willie, J. T., Guilleminault, C., Siegel, J. M. and International Working Group on Rodent Models of Narcolepsy. 2009. A consensus definition of cataplexy in mouse models of narcolepsy. *Sleep*, 32(1), 111-6.

Székely, M., Pétervári, E., Balaskó, M., Hernádi, I. and Uzsoki, B. 2002. Effects of orexins on energy balance and thermoregulation. *Regul Pept*, 104(1-3), 47-53.（添付なし）

Willie, J. T., Chemelli, R. M., Sinton, C. M., Tokita, S., Williams, S. C., Kisanuki, Y. Y., et al. 2003. Distinct narcolepsy syndromes in Orexin receptor-2 and Orexin null mice: molecular genetic dissection of Non-REM and REM sleep regulatory processes. *Neuron*, 38(5), 715-30.（添付なし）

Zhang, W., Fukuda, Y. and Kuwaki, T. 2005. Respiratory and cardiovascular actions of orexin-A in mice. *Neurosci Lett*, 385(2), 131-6.（添付なし）

目次

2.6.3 薬理試験概要表 ....2
2.6.3.1 薬理試験：一覧表....2
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 .... 10
2.6.3.4 安全性薬理試験 .... 12
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験.... 16

## 2.6.3 薬理試験概要表

### 2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Oveporexton

| Type of Study | Test System | Route | GLP | Testing Facility | Report | 添付資料番号 | 区分 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Primary Pharmacodynamics | | | | | | | |
| Agonist activity of oveporexton on recombinant human OX2R | CHO-K1 cells stably expressing recombinant human OX2R | In vitro | Non-GLP | [redacted] Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-1 | 評価 |
| Agonist activity of oveporexton on recombinant human OX1R | CHO-K1 cells stably expressing recombinant human OX1R | In vitro | Non-GLP | [redacted] Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-2 | 参考 |
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase | Mouse, C57BL/6J | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-3 | 評価 |
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase | Mouse, OX2R KO and WT littermates | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-4 | 参考 |
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase | Mouse, OX/ataxin-3 Tg and non-Tg littermates | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-5 | 参考 |
| Effect of oveporexton on wakefulness time and fragmentation of wakefulness in active phase | Mouse, OX/ataxin-3 Tg | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-6 | 参考 |
| Effect of oveporexton on cataplexy-like episodes in active phase | Mouse, OX/ataxin-3 Tg | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-7 | 参考 |
| Effect of repeated administration of oveporexton on wakefulness time in active phase | Mouse, OX/ataxin-3 Tg | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceuticals Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-8 | 参考 |

## 2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: Oveporexton

| Type of Study | Test System | Route | GLP | Testing Facility | Report | 添付資料番号 | 区分 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase | Monkey, Cynomolgus | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.1-9 | 参考 |
| Secondary Pharmacodynamics | | | | | | | |
| Receptor binding, ion channels, and enzyme activity | In vitro radioligand binding assay | In vitro | Non-GLP | [redacted] Taiwan) | [redacted] | 4.2.1.2-1 | 参考 |
| Receptor binding, ion channels, and enzyme activity | In vitro radioligand binding assay | In vitro | Non-GLP | [redacted] USA) | [redacted] | 4.2.1.2-2 | 参考 |
| Computational structural assessment of oveporexton to controlled substances | Computational assessment | In silico | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.2-3 | 参考 |
| Effect of oveporexton on urinary function | Mouse, C57BL/6J | Oral gavage | Non-GLP | Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. (Fujisawa, Kanagawa, Japan) | [redacted] | 4.2.1.2-4 | 参考 |
| Safety Pharmacology | | | | | | | |
| CNS effects (via modified Irwin's multiple observation method) | Rat/Sprague-Dawley | Oral gavage | GLP | [redacted] a | [redacted] | 4.2.1.3-1 | 評価 |
| Abuse liability (amphetamine-cued drug discrimination effects) | Rat/Lister hooded | Oral gavage | GLP | [redacted] b | [redacted] | 4.2.1.3-2 | 評価 |
| Abuse liability (oveporexton-cued drug discrimination) | Rat/Lister hooded | Oral gavage | GLP | [redacted] b | [redacted] | 4.2.1.3-3 | 評価 |
| Abuse liability (self-administration in cocaine-maintained rats) | Rat/Lister hooded (cocaine-maintained) | IV infusion | GLP | [redacted] b | [redacted] | 4.2.1.3-4 | 評価 |
| Abuse liability (physical dependence potential) | Rat/Sprague-Dawley | Oral gavage | GLP | [redacted] b | [redacted] | 4.2.1.3-5 | 評価 |

## 2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: Oveporexton

| Type of Study | Test System | Route | GLP | Testing Facility | Report | 添付資料番号 | 区分 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| hERG current (whole cell patch clamp method at room temperature) | HEK293 cells stably expressing hERG channels | In vitro | GLP | [redacted] Japan) | [redacted] | 4.2.1.3-6 | 評価 |
| hERG current (whole cell patch clamp method at physiological temperature) | HEK293 cells stably expressing hERG channels | In vitro | GLP | [redacted] Japan) | [redacted] | 4.2.1.3-7 | 評価 |
| Late Nav1.5 and Cav1.2 channels at physiologic temperature | HEK293 cells stably expressing Nav1.5 and Cav1.2 channels | In vitro | GLP | [redacted] USA) | [redacted] | 4.2.1.3-8 | 評価 |
| Cardiovascular evaluation (via telemetry) | Monkey/cynomolgus | Oral gavage | Non-GLP | [redacted] Japan) | [redacted] | 4.2.1.3-9 | 参考 |
| Cardiovascular evaluation (via telemetry) | Monkey/cynomolgus | Oral gavage | GLP | [redacted] [c] | [redacted] | 4.2.1.3-10 | 評価 |
| Respiratory evaluation (via whole body plethysmography) | Rat/Sprague-Dawley | Oral gavage | GLP | [redacted] [a] | [redacted] | 4.2.1.3-11 | 評価 |

CHO: Chinese hamster ovary; CNS: central nervous system; GLP: Good Laboratory Practice; HEK: human embryonic kidney; hERG: human ether-à-go-go–related gene; IV: intravenous(ly); KO: knockout; OX: orexin; OX1R: orexin receptor 1; OX2R: orexin receptor 2; Tg: transgenic; WT: wild-type.

[a] [redacted] Japan.

[b] [redacted] England.

[c] [redacted] Japan.

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験

### 2.6.3.2A In vitro 試験

Test Article: Oveporexton

| System | Test System | Oveporexton Dose | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Agonist activity of oveporexton on recombinant human OX2R | CHO-K1 cells stably expressing recombinant human OX2R | 0.03 to 1000 nmol/L | Oveporexton activated recombinant human OX2R, measured by mobilization of intracellular $Ca^{2+}$ levels, in a concentration-dependent manner. $EC_{50}$ = 0.0025 µmol/L. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-1 |
| Agonist activity of oveporexton on recombinant human OX1R | CHO-K1 cells stably expressing recombinant human OX1R | 0.003 to 30,000 nmol/L | Oveporexton activated recombinant human OX1R, measured by mobilization of intracellular $Ca^{2+}$ levels, in a concentration-dependent manner. $EC_{50}$ = 7.5 µmol/L. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-2 |

CHO: Chinese hamster ovary; $EC_{50}$: half-maximal effective concentration; GLP: Good Laboratory Practice; OX1R: orexin receptor 1; OX2R: orexin receptor 2; $Ca^{2+}$: calcium.

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

### 2.6.3.2B In vivo 試験

Test Article: Oveporexton

| Study Type | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase (ZT5) | Mouse/ C57BL/6J | Oral gavage | 0 and 10 [single] | 16 males | As compared to vehicle-treated mice, oveporexton at 10 mg/kg significantly increased wakefulness time during the first 1 hour after administration in the sleep phase (ZT5) of C57BL/6J mice ($p<0.001$). | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-3 |
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase (ZT5) | Mouse/ OX2R KO and WT littermates | Oral gavage | 0 and 10 [single] | WT: 7 males OX2R KO: 8 males | As compared to vehicle-treated mice, oveporexton at 10 mg/kg significantly ($p<0.001$) increased wakefulness time during the first 1 hour following administration in WT mice in the sleep phase (ZT5), whereas oveporexton at 10 mg/kg had no effect on wakefulness time following administration in OX2R KO mice. These results indicate that the effect of oveporexton on wakefulness is mediated by OX2R. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-4 |

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

## 2.6.3.2B In vivo 試験（続き）

Test Article: Oveporexton

| Study Type | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase (ZT5) | Mouse/ OX/ataxin-3 Tg and non-Tg littermates | Oral gavage | Tg: 0, 0.03, 0.1, and 0.3 [single]<br>Non-Tg: 0, 0.3, 1, and 3 [single] | 8 males | As compared to vehicle-treated mice, oveporexton at 0.03, 0.1, and 0.3 mg/kg significantly ($p<0.001$ all doses) and dose-dependently increased wakefulness time during the first 1 hour after oveporexton administration to OX/ataxin-3 Tg mice (≥ 26 weeks old), a mouse model of NT1 that selectively eliminates over 99% of OX neurons in the hypothalamus by week 12 (Hara et al., 2001), in the sleep phase (ZT5).<br>Oveporexton dose-dependently increased wakefulness time during the first 1 hour following administration in the sleep phase of non-Tg mice, with significant effects observed at 1 ($p<0.01$) and 3 mg/kg ($p<0.001$).<br>Oveporexton had a significant arousal effect in both OX/ataxin-3 Tg mice and their non-Tg littermates with minimum effective doses of ≤0.03 and 1 mg/kg, respectively, indicating an approximately 30-fold difference in sensitivity. However, the oveporexton dose required to induce the same level of wakefulness was approximately 10-fold lower in OX/ataxin-3 Tg mice than in non-Tg mice, suggesting that oveporexton can produce wake-promoting effects at lower dose in a mouse model of NT1. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-5 |

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

## 2.6.3.2B In vivo 試験（続き）

Test Article: Oveporexton

| Study Type | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effect of oveporexton on wakefulness time and fragmentation of wakefulness in active phase (ZT12) | Mouse/ OX/ataxin-3 Tg | Oral gavage | 0, 0.1, 0.3, and 1 [single] | 8 males | As compared to vehicle-treated mice, oveporexton at 0.3 and 1 mg/kg significantly ($p<0.001$) and dose-dependently increased wakefulness time during the first 1 hour following administration to OX/ataxin-3 Tg mice (≥ 28 weeks old) in the active phase (ZT12).<br>Oveporexton at 0.3 and 1 mg/kg significantly and dose-dependently decreased the number of wakefulness episodes during the first 1 hour following administration ($p<0.01$ at 0.3 mg/kg and $p<0.001$ at 1 mg/kg).<br>Oveporexton at 0.3 and 1 mg/kg significantly ($p<0.001$) and dose-dependently increased the duration of the wakefulness episodes during the first 1 hour following administration. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-6 |
| Effect of oveporexton on cataplexy-like episodes in active phase (ZT12) | Mouse/ OX/ataxin-3 Tg | Oral gavage | 0, 0.1, 0.3, and 1 [single] | 8 males | As compared to vehicle-treated mice, oveporexton dose-dependently and significantly ($p<0.01$ at 1 mg/kg) suppressed cataplexy-like episodes in the presence of chocolate as an emotional stimulus during the first 3 hour following administration to OX/ataxin-3 Tg mice (≥ 28 weeks old) in the active phase (ZT12). | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-7 |

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

## 2.6.3.2B In vivo 試験（続き）

Test Article: Oveporexton

| Study Type | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effect of repeated administration of oveporexton on wakefulness time in active phase (ZT12) | Mouse/ OX/ataxin-3 Tg | Oral gavage | Control:<br>0 [QD, 14 days]<br>1-Day:<br>0 [QD, 13 days] then 1 [Day 14]<br>14-Day:<br>1 [QD, 14 days] | 8 males | Oveporexton at 1 mg/kg after pre-treatment with vehicle for 13 days significantly ($p<0.001$) increased wakefulness time during the first 1 hour after administration to OX/ataxin-3 Tg mice (≥22 weeks old) on Day 14 in active phase (ZT12).<br>Oveporexton at 1 mg/kg for 14 days significantly ($p<0.001$) increased wakefulness time during the first 1 hour after administration to OX/ataxin-3 Tg mice on Day 14.<br>There was no statistical difference when comparing the increases in wakefulness time between single (1-Day) and repeated (14-Days) oveporexton administration groups.<br>These data indicate both persistent efficacy of oveporexton and a low risk for OX2R desensitization after repeated administration in a mouse model of NT1. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-8 |
| Effect of oveporexton on wakefulness time in sleep phase (ZT12) | Monkey/ cynomolgus (telemetered) | Oral gavage | 0, 0.3, and 1 [single] | 8 males | Oveporexton dose-dependently and at 1 mg/kg significantly ($p<0.001$) increased wakefulness time in monkeys (3 years) for 8 hours after administration in sleep phase (ZT12). This study demonstrates that oveporexton is capable of producing significant arousal effects in diurnal non-human primates with normal OX levels during their sleep phase. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.1-9 |

GLP: Good Laboratory Practice; KO: knockout; NT1: narcolepsy type 1; OX: orexin; OX2R: orexin receptor 2; QD: once daily; Tg: transgenic; WT: wild-type; w/v: weight per volume; ZT: Zeitgeber time.

[a] Vehicle for all studies was 0.5% (w/v) methylcellulose solution.

## 2.6.3.3 副次的薬理試験

Test Article: Oveporexton

| Study Type | Test System | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Receptor binding, ion channels, and enzyme activity | In vitro radioligand binding assay | In vitro | 10 µmol/L | NA | Oveporexton at 10 µmol/L did not show significant activity (inhibition or stimulation ≥50%) on any receptors, ion channels, or enzymes, with the exceptions of cannabinoid CB1 (58% inhibition) and progesterone PR-B (62% inhibition). | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.2-1 |
| Receptor binding, ion channels, and enzyme activity | In vitro radioligand binding assay | In vitro | 10 µmol/L | NA | Oveporexton did not show significant activity (defined as $IC_{50}$ or $EC_{50}$ ≤10 µmol/L) on any receptors, ion channels, or enzymes except for cannabinoid CB1 antagonistic activity ($IC_{50}$ 3.2 µmol/L). | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.2-2 |
| Computational structural assessment of oveporexton to controlled substances | Computational assessment | In silico | NA | NA | There were no exact matches to any Schedule I through V controlled substance compounds, there were no matches to any generic (Markush) structures associated with the 'Synthetic Drug Abuse Prevention Act 2012' or the 'fentanyl-related substances' temporary scheduling, and the largest similarity coefficient reported was 0.1429. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.2-3 |

## 2.6.3.3 副次的薬理試験（続き）

Test Article: Oveporexton

| Study Type | Test System | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effect of oveporexton on urinary function | Mouse, C57BL/6J | Oral gavage | 0, 1, 3, and 10 [single] | 10 or 12 males [b] | Oveporexton dose-dependently and significantly at 3 and 10 mg/kg ($p<0.001$) increased wakefulness during the first 3 hours following administration in the sleep phase (ZT5) of C57BL/6J mice (10-14 weeks old).<br>Oveporexton at 3 and 10 mg/kg significantly increased total void number without altering total voided volume or total water intake during the first 3 hours following administration in active phase (ZT14) ($p<0.05$ at 3 mg/kg, $p<0.01$ at 10 mg/kg).<br>Oveporexton at wakefulness-promoting doses increased urinary frequency without affecting total voided volume and water intake. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.2-4 |

CB1: cannabinoid receptor type 1; $EC_{50}$: half-maximal effective concentration; GLP: Good Laboratory Practice; $IC_{50}$: half-maximal inhibitory concentration; n: number per group; NA: not applicable; PR-B: progesterone receptor B; w/v: weight per volume; ZT: Zeitgeber time.

[a] Vehicle for all studies was 0.5% (w/v) methylcellulose solution.

[b] n=10 for wakefulness evaluation and n=12 for urinary evaluation.

## 2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: Oveporexton

| Type of Study | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effects on the Central Nervous System | | | | | | | | |
| Effect on CNS (via modified Irwin's multiple observation method) | Rat/ Sprague-Dawley | Oral gavage | 0 [b], 20, 100, and 1000 | 6 males/ group | 20 and 100 mg/kg: ↑ alertness and/or spontaneous activity at 1 and/or 2 hours postdose.<br>≥ 20 mg/kg: ↑ restlessness at 1 and 2 hours postdose, and significant ($p<0.05$) body temperature changes (+1.0°C and +0.5°C at 20 and 100 mg/kg, respectively at 1 and 2 hours postdose, and −0.7°C at 1000 mg/kg at 2, 4, and 8 hours postdose relative to vehicle control). | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-1 |
| In Vivo Abuse Potential and Dependence Studies | | | | | | | | |
| Amphetamine-cued drug discrimination | Rat/ Lister hooded | Oral gavage | Main study: 0 [b], 0.6, 1.3, 2.5 and 5.0<br>TK arm: 0.15, 0.5, 1.5, and 5.0 | 8 males/ group (main study)<br>3 males/ group (TK arm) | The TK evaluation found that the mean $C_{max}$ for oveporexton at 0.15, 0.5, 1.5, and 5.0 mg/kg following a single oral administration was 3.29, 19.9, 65.0 and 592 ng/mL, respectively.<br>Results indicate that oveporexton is unlikely to produce amphetamine-like psychoactive effects. The results also demonstrated that oveporexton is pharmacologically different from various CNS stimulants (methylphenidate, bupropion, modafinil, phentermine) used as comparator drugs. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-2 |
| Oveporexton-cued drug discrimination | Rat/ Lister hooded | Oral gavage | Main study: 0 [b], 3, and 5 [c]<br>TK arm: 3 | 40 males (main study)<br>3 males (TK arm) | During discrimination training, no behavioral effects were observed in the rats after administration of oveporexton at either 3 or 5 mg/kg and there was no effect on operant responding or motivation of the rats to work for food rewards. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-3 |

## 2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test Article: Oveporexton

| Type of Study | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IV self-administration in cocaine-trained rats | Rat/ Lister hooded | IV infusion | Main study: 0 [d], 0.01, 0.03, 0.1 and 0.3 [self-administration] TK arm: 0.015, 0.05, 0.15, and 0.5 | 8 males/ group (main study) 3 males/ group (TK arm) | IV self-administration of oveporexton at 0.01, 0.1, or 0.3 mg/kg/infusion did not produce reinforcing effects ($p>0.05$). At 0.03 mg/kg/infusion, oveporexton produced a weak, but statistically significant ($p<0.05$) increase in stable response administrations compared to vehicle control. This response was statistically significantly lower than cocaine acquisition which served as the positive control. The results of this study suggest that the profile of oveporexton is typical of a weak reinforcer. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-4 |
| Physical dependence potential in rats | Rat/ Sprague-Dawley | Oral gavage | Main study and TK arm: 0 [b], 2, 10, and 50 [BID for 28 days] Codeine (positive control): 100 [BID for 28 Days] | 8 females/ group (main study) 6 females/ group (TK arm) | Oveporexton at 2, 10 and 50 mg/kg BID, no signals of physical dependence were observed as compared to vehicle. Some behavioral signs suggestive of physical dependence were observed after discontinuation of 10 mg/kg BID, but they were not replicated or exaggerated when the higher dose of 50 mg/kg BID was investigated. The Codeine comparator (positive control) produced behavioral, physiological and physical symptoms of withdrawal as compared to vehicle-treated animals. Overall, no signals of physical dependence were observed after discontinuation of oveporexton at any of the dose levels evaluated. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-5 |

## 2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test Article: Oveporexton

| Type of Study | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Effects on the Cardiovascular and Respiratory Systems | | | | | | | | |
| Effect of oveporexton on hERG currents at room temperature | HEK293 cells stably expressing hERG channels | In vitro | 0 [e], 0.3, 1, and 3 µg/mL | 4 patch clamp recordings/ concentration | Oveporexton had no effect on a room temperature assessment of hERG current at concentrations up to 3 µg/mL and the $IC_{50}$ value was estimated to be > 3 µg/mL. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-6 |
| Effect of oveporexton on hERG currents at physiological temperature | HEK293 cells stably expressing hERG channels | In vitro | 0 [e], 0.3, 1, and 3 µg/mL | 4 patch clamp recordings/ concentration | Oveporexton produced a minimul, but significant ($p<0.025$) inhibitory effect on the hERG current at 3 µg/mL under physiological conditions with an $IC_{50}$ value estimated to be >3 µg/mL. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-7 |
| Effect of oveporexton on Nav1.5 and Cav1.2 currents at physiological temperature | HEK293 cells stably expressing Nav1.5 and Cav1.2 channels | In vitro | 0 [f], 1, 3, 10, 100 µmol/L | 4 to 6 patch clamp recordings/ concentration | Oveporexton did not block late Nav1.5 current up to the highest concentration tested. At 100 µmol/L, oveporexton produced a reduction of 1.4 ± 1.4% (step voltage) and 1.7 ± 1.0% (ramp voltage). Oveporexton blocked Cav1.2 current with an $IC_{50}$ of 85.8 µmol/L (step current) and 7.9 µmol/L (ramp current). | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-8 |
| Cardiovascular evaluation | Monkey/ cynomolgus | Oral gavage | 0 [b], 30, 300 Doses were administered in a Latin square design with washout periods of 6 or 8 days between dosing. | 3 males | ≥30 mg/kg: ↑ SBP, ↑ DBP, and ↑ MBP at 1 and 2 hours postdose (also observed in 1 animal at 30 mg/kg at 4 hours postdose). 300 mg/kg: Vomiting at 8 or 24 hours postdose. | Non-GLP | [redacted] | 4.2.1.3-9 |

## 2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test Article: Oveporexton

| Type of Study | Species/ Strain | Route | Oveporexton Dose (mg/kg) [Frequency and Duration] [a] | No. and Sex per Group | Noteworthy Findings | GLP | Report | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cardiovascular evaluation | Monkey/ cynomolgus | Oral gavage | 0 [b], 3, 30, and 300 Doses were administered in a Latin square design with washout period of 7 or 14 days between dosing. | 4 males | ≥3 mg/kg: ↑ SBP; ↑ DBP, ↑ MBP, ↑ LVSP between 1 and 4 hours postdose.<br>300 mg/kg: ↑ LV dP/dt max, ↑ HR at 1 hour postdose, vomiting (1M) at approximately 15 to 17 hours postdose, ↓ LV dP/dt max between 8 and 18 hours postdose.<br>TK: Mean plasma $C_{max}$, $t_{max}$, and $AUC_{24}$ at 3 mg/kg were 449 ng/mL, 2.3 hours, and 5100 h*ng/mL, respectively. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-10 |
| Respiratory evaluation [g] | Rat/ Sprague-Dawley | Oral gavage | 0 [b], 20, 100, and 1000 | 8 males | 20 and 100 mg/kg: ↑ RR at 8 hours postdose.<br>100 mg/kg: ↑ MV at 8 hours postdose. | GLP | [redacted] | 4.2.1.3-11 |

↑ : significantly increased ($p \leq 0.05$); ↓ : significantly decreased ($p \leq 0.05$); $AUC_{24}$: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID: twice daily; CNS: central nervous system; $C_{max}$: maximum observed concentration; DBP: diastolic blood pressure; DMSO: dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practice, hERG: human ether-à-go-go-related gene, HEK: human embryonic kidney, HEPES: 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid; HR: heart rate; $IC_{50}$: half-maximal inhibitory concentration, IV: intravenous(ly); LV dP/dt max: maximum rate of left ventricular pressure rise; LVSP: left ventricular systolic pressure; M: male(s); MBP: mean blood pressure; MV: minute volume; RR: respiratory rate; SBP: systolic blood pressure; TK: toxicokinetic(s); $t_{max}$: time of first occurrence of $C_{max}$; w/v: weight per volume.

[a] Single dose unless specified otherwise.

[b] Vehicle was 0.5% (w/v) methycellulose solution.

[c] As a result of fewer than 40% of rats in this group meeting the acceptance criterion, the training dose of oveporexton was increased to 5 mg/kg.

[d] Vehicle was 10% (w/v) betadex sulfobutyl ether sodium solution containing 0.1% (w/v) polysorbate 80 in 1:1 mixture of 0.9% (w/v) saline:water.

[e] Vehicle was 0.3% (w/v) dimethyl sulfoxide.

[f] 1% DMSO in HEPES buffers saline.

[g] At 1, 2, and 4 hours postdose, respiratory parameters could not be obtained in any test article-treated groups due to body movement, which was attributed to the pharmacological action of oveporexton.

### 2.6.3.5 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ていない。