

基礎WGの指示に基づき実施した非臨床試験及び自主的に実施した試験・解析の結果について
(その2)

2007年12月10日

中外製薬株式会社

F.Hoffmann-La Roche Ltd.

目的



オセルタミビル(OP)及び活性代謝物(OC)の中樞神経系(CNS)及び心血管系への安全性を評価するために、現在実施している非臨床試験及び分析結果を厚生労働省及び基礎的調査検討のためのワーキンググループ(基礎WG)に提供する

CNS

- 健康成人における脳脊髄液(CSF)中OP及びOC濃度
 - 成熟ラットにおけるCSF中及び脳中OP及びOC濃度
 - 脳組織におけるヒトCES活性に対するOP及びOCの作用の評価
 - 幼若ラットにおける脳中OP及びOC濃度並びにFOB変法を用いたOP及びOCの行動に対する影響の確認
 - サル脳由来ノイラミナーゼ活性に対するOP及びOCの作用の評価
- * CES:カルボキシルエステラーゼ

心血管系

- OP及びOCの影響の確認:
 - hERG 試験
 - モルモット乳頭筋活動電位試験

3

自主報告:健康ボランティア(日本人と白色人種)脳脊髄液のOP, OC濃度の評価

白人及び日本人の健康成人における血漿及び脳脊髄液中OP及びOCの探索的薬物動態学的検討(単施設, オープンラベル, 単回投与試験)

背景及び試験目的



- ・ 白人及び日本人の健康成人におけるCNS中へのオセルタミビル
の移行性を評価する
- ・ CNSへの移行性のサロゲートマーカーとしてCSF中OP及びOC濃
度を測定する

5

BP21288: 試験計画及び目的



試験計画:

- 単施設, オープンラベル, 8名の健康成人(白人4名, 日本人4名)
- 150mg 単回経口投与, 血漿及びCSF中濃度推移を投与24時間後まで評価,
フォローアップは投与10~12日まで実施

主要評価項目:

- ・ オセルタミビル150 mg単回経口投与時のCSF中OP及びOC濃度を測定する
- ・ オセルタミビル150 mg単回経口投与時のOP及びOCのCSF/血漿中曝露比を検討
する

副次的評価項目:

- ・ オセルタミビル150 mg単回経口投与時の安全性及び忍容性を確認する
- ・ 白人及び日本人におけるOP及びOCのCSFへの移行性の人種差について検討す
る

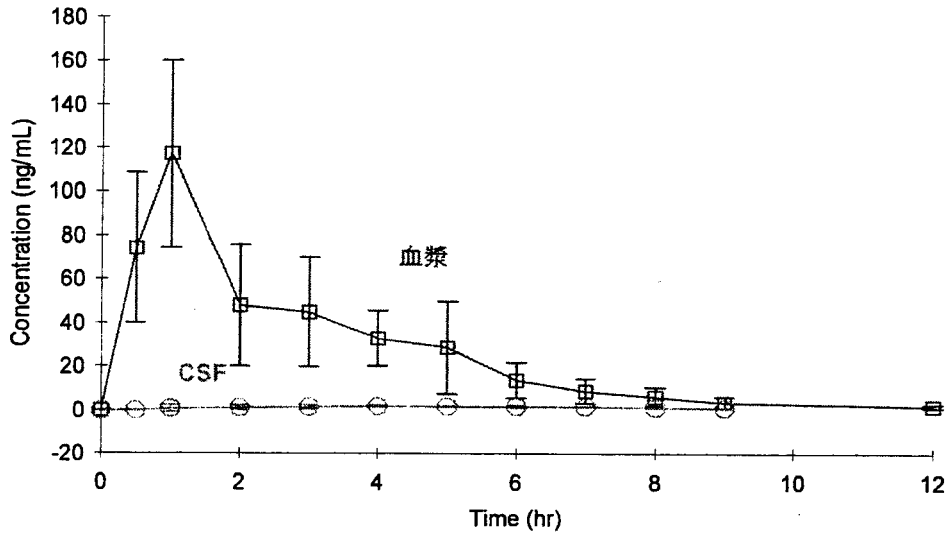
6

結果(1): 血漿中及びCSF中OP濃度推移



Roche ロシュグループ

健康成人(白人及び日本人)におけるオセルタミビル150 mg単回経口投与後の血漿及びCSF中OP濃度推移(平均値±標準偏差) (Study BP21288)



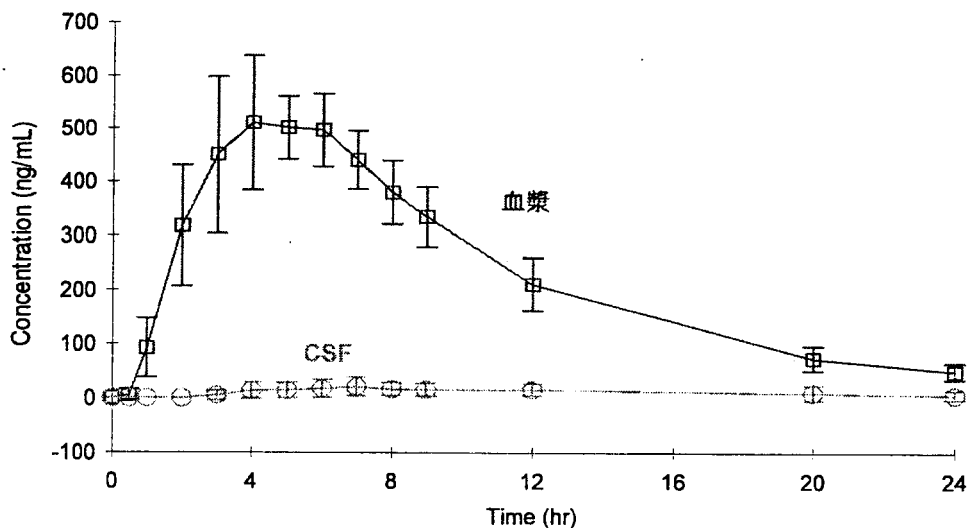
7

結果 (2): 血漿中及びCSF中OC濃度推移



Roche ロシュグループ

健康成人(白人及び日本人)におけるオセルタミビル150 mg単回経口投与後の血漿及びCSF中OC濃度推移(平均値±標準偏差) (Study BP21288)



8

結果 (3): CSF/血漿曝露比及び安全性



OP			OC		
健康成人	CSF/Plasma (%)		健康成人	CSF/Plasma (%)	
	Cmax	AUC		Cmax	AUC
白人 (n=4)	2.3%	2.9%	白人 (n=4)	3.5%	3.3%
日本人 (n=4)	1.9%	1.7%	日本人 (n=4)	3.5%	2.1%

安全性

健康成人にオセルタミビル150mgを単回経口投与した場合の忍容性は良好であった

観察されたほとんどの有害事象(頭痛, 背痛及び腰椎穿刺後症候群など)は, 腰椎のカテーテル処理に起因していた

それ以外には安全性プロファイル, ECG所見及び臨床検査値に関して顕著な所見は認められなかった

9

結論



CSF中へのOP及びOCへの移行は限られていた

- CSF中濃度は定量下限付近あるいはそれ以下の値を示した (定量下限値:10ng/mL [OC]; 1ng/mL [OP])
- インフルエンザ患者における下記の2つの報告と一致した
 - CSF: Straumanis et al. Pediatr Infect Dis J. 2002, 21, 173-175
 - Brain tissue: Fuke et al. Legal Medicine 2007 [accepted]
- 白人と日本人に人種差は認められなかった



Roche ロシュグループ

オセルタミビルの中枢神経系への安全性を裏付ける成績

新たな解析及び非臨床試験

主要な疑問点/課題	非臨床試験
脳中のOP及びOCの薬物動態はどうなっているのか？	健康成人におけるオセルタミビル単回経口投与後の血漿及びCSF中の曝露評価
	ラットにおけるオセルタミビル又は活性代謝物単回静脈内投与後の血漿及びCSF中の曝露評価
	ヒト脳エステラーゼによるオセルタミビルから活性代謝物への変換に関する <i>In vitro</i> 評価

11

試験名:ラットにおける脳、脳脊髄液及び血漿中濃度の測定

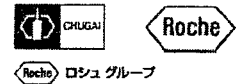
:代謝物の脳への透過を検討するための静脈内投与による薬物動態試験



Roche ロシュグループ

ラットにオセルタミビルあるいは活性代謝物を10及び100 mg/kg単回静脈内投与した場合の薬物動態試験: 血漿, 脳及びCSF中への曝露

背景及び試験目的



- これまで実施した試験から、げっ歯類の脳ホモジネート中にオセルタミビル (OP, RO0640796)及び量的には少ないが活性代謝物 (OC, RO0640802)が検出されることが示された
- ヒト脳中のOP及びOC濃度を予測するために、成熟ラットを用いて非臨床試験を実施した。血漿, CSF及び脳ホモジネートの3コンパートメントにおける各濃度の相関関係を明確にするために、各組織のOP及びOC濃度を測定した。このようなアプローチによりヒト血漿及びCSF中濃度から脳中濃度を予測することができると考える

13

試験方法



- OP及びOCを10あるいは100 mg/kg (フリーベース換算値)を緩やかに尾静脈内投与し、投与後5, 15, 30分及び1, 2, 6, 8時間(各時点2匹)にラットを安楽死させ、血漿, CSF及び脳組織を採取し、脳ホモジネートを調整した。OP投与試験では血漿に安定化剤としてdichlorvosを加えた
- OP及びOC濃度の測定はLC-MS/MS法を用いた
- 血漿, 脳ホモジネート及びCSF中の曝露について予備的な結果を示す

14



結果 (1)

オセルタミビル (OP)あるいは活性代謝物(OC)投与後の薬物動態

予備的な結果:

- OP (100 mg/kg) 投与時の脳ホモジネート/CSFの AUC比 (OP)は 2.0であった
- OC (100 mg/kg) 投与時の脳ホモジネート/CSFの AUC比は 2.8であった

15

結果(2)

オセルタミビル (OP) 投与後の薬物動態



OP 10及び100 mg/kg静脈内投与:

- 最高血漿中OP濃度は、初回採取時間である投与5分後に認められた
- CSF及び脳ホモジネート中OP濃度は血漿中濃度と比較して明らかに低値であった
 - OP 100 mg/kg投与後のCSF/血漿及び脳ホモジネート/血漿のAUC比率はそれぞれ約10及び19%であった
 - CSF中OC濃度はOP 100 mg/kg投与時にのみに測定可能であった。OCのCSF/血漿の濃度比率は極めて低かった

16

結果 (3)

活性代謝物 (OC) 投与後の薬物動態



Roche ロシュグループ

OC 10及び100 mg/kg静脈内投与:

- 最高血漿中OC濃度は、初回採取時間である投与5分後に認められた
- CSF/血漿及び脳ホモジネート/血漿の C_{max} 比率は極めて低かった
- OC 100 mg/kg投与時のCSF/血漿及び脳ホモジネート/血漿のAUC比率はそれぞれ1.1及び3.1%であった

17

雄ラットにOPあるいはOCを10及び100 mg/kg (フリーベース換算値) 単回静脈内投与した場合の薬物動態試験: 血漿, 脳及びCSF中への曝露



Roche ロシュグループ

Dosing: OP	Analyte: OP	Plasma		Brain Homogenate		CSF	
Parameter	Unit	10 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg
C_{max}	[ng/mL]	2890	36200	163	1780	222	3020
AUC(0-inf)	[h·ng/mL]	1430	18900	128*	3640	112	1820

Dosing: OP	Analyte: OC	Plasma		Brain Homogenate		CSF	
Parameter	Unit	10 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg
C_{max}	[ng/mL]	2150	25900	71.2	1010	BLQ**	106
AUC(0-inf)	[h·ng/mL]	3400	45300	NC***	1350	NC***	NC***

Dosing: OC	Analyte: OC	Plasma		Brain Homogenate		CSF	
Parameter	Unit	10 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg
C_{max}	[ng/mL]	13900	278000	400	7890	57.1	1870
AUC(0-inf)	[h·ng/mL]	7080	122000	186	3800	54.9*	1380

* Rough estimates ** Below limit of quantification (OC): 10 ng/mL *** not calculated

18

結論



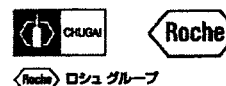
- CSF/血漿比率はOP及びOC共に非常に低く、CNSへの移行性は限られていた
- 我々の試験の予備的な結果では、OP及びOCの脳ホモジネート/CSFのAUC比は約2~3である
- 脳内の血液の影響により、脳ホモジネート中濃度が実際よりも高く見積もられている可能性があるが、現在実施している脳を還流する手技により解決されると考えている
- 今回のこれらの予備的な結果からは、CSF中への曝露はOP及びOCの脳中への曝露の適切なサロゲートとなることを示唆しており、ヒト脳中濃度を推定する際の一助となる
- このことは、検討された多くの化合物の脳中濃度はCSF濃度で推定できるという一般的な考え方と一致している (Liu et al. 2006; Shen et al. 2004)

Liu X. et al. *Drug Metab Dispos.* 2006 Sep;34:1443-7;

Shen DD et al. 2004: *Adv Drug Delivery Rev* 56; 1825-1857

19

オセルタミビルの中樞神経系への安全性を裏付ける成績



新たな解析及び非臨床試験

主要な疑問点/課題	非臨床試験
脳中のOP及びOCの薬物動態はどうなっているのか？	健康成人におけるオセルタミビル単回経口投与後の血漿及びCSF中の曝露評価
	ラットにおけるオセルタミビル又は活性代謝物単回静脈内投与後の血漿及びCSF中の曝露評価
	ヒト脳エステラーゼによるオセルタミビルから活性代謝物への変換に関する <i>In vitro</i> 評価

20

試験名: 脳内のカルボキシエステラーゼ1 (hCE1) による未変化体の代謝 (エステル加水分解) に関する *in vitro* 試験



Roche ロシュグループ

ヒト脳における活性代謝物の薬物動態: *in situ* 試験におけるカルボキシルエステラーゼによるオセルタミビル代謝寄与の可能性

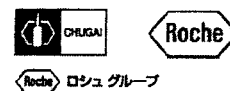
背景及び目的



Roche ロシュグループ

- CNSにおける活性代謝物濃度には以下のことが影響すると考えられる:
 - 全身濃度 (または血漿中濃度)
 - 血液脳関門における受動拡散/能動輸送
 - 脳におけるオセルタミビルの加水分解
- オセルタミビルは肝臓において加水分解されることが知られているが、ヒト脳における加水分解に関しては報告されていない

試験方法



- オセルタミビルのエステラーゼ代謝活性を以下の試料を用いて *in vitro* にて評価した：
 - 2個体の個体別ヒト脳S9画分
 - 4個体をプールしたヒト脳S9画分(可溶性画分及び膜結合性の細胞蛋白・酵素を含む)
- 一般的なエステラーゼ活性(各試料の酵素活性の陽性対照)は *paranitrophenyl acetate* を基質に用いて評価した

23

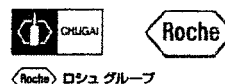
結果



- ヒト脳S9画分はエステラーゼ活性を有していた
- いずれのヒト脳S9画分試料においてもオセルタミビル・エステラーゼ代謝活性は非常に低かった
 - エステラーゼ代謝活性の値は定量下限値(0.3 pmoles/min/mg S9 protein) 付近もしくはそれを下回るものであった

24

個体別(2個体)及びプール(4個体)ヒト脳S9 によるオセルタミビルの加水分解



オセルタミビルとParanitrophenyl Acetate に対する個体別ヒト脳S9画分のエステラーゼ活性

Sample Reference	Gender	Age (years)	Paranitrophenol Generation Rate (nmol/min/mg)	Percent Oseltamivir Conversion to Oseltamivir Carboxylate ^a	Oseltamivir Carboxylate Generation Rate ^b (pmol/min/mg)
99-21	Male	86	128, 137	<LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ
01-43	Male	77	159, 169	<LOQ, <LOQ, 0.12	<LOQ, <LOQ, 0.39
Human liver S9 (Gentest) Cat.No.452961			574	3.57 ±0.02	119 ±1

^a Individual values or mean of triplicate values ±1 standard deviation shown. Limit of quantitation: 0.1% turnover above background.

^b Individual values or mean of triplicate values ±1 standard deviation shown. Limit of quantitation: 0.3 pmol/min/mg

オセルタミビルとParanitrophenyl Acetate に対するプールヒト脳S9画分(市販品)のエステラーゼ活性

S9 Fraction Tested	Paranitrophenol Generation Rate (nmol/min/mg)	Percent Oseltamivir Conversion to Oseltamivir Carboxylate ^a	Oseltamivir Carboxylate Generation Rate ^b (pmol/min/mg)
Human Brain S9 (In Vitro Technologies)	49, 62	<LOQ, <LOQ, 0.10	<LOQ, <LOQ, 0.32
Human liver S9 (Gentest) Cat.No.452961	482	3.79 ±0.09	126 ±3

^a Individual values or mean of triplicate values ±1 standard deviation shown. Limit of quantitation: 0.1% turnover above background.

^b Individual values or mean of triplicate values ±1 standard deviation shown. Limit of quantitation: 0.3 pmol/min/mg

25

結論



- ヒト脳試料において、オセルタミビルから活性代謝物への加水分解は速やかではなかった。この知見はラット脳試料で得られた結果と一致する
- ヒト肝S9試料におけるオセルタミビルの加水分解は、ヒト脳S9試料に比較して、少なくとも300倍速かった
- したがって、ヒト脳CES活性は肝CES活性に比較して低いと考えられる

26



Roche ロシュグループ

オセルタミビルの中枢神経系への安全性を裏付ける試験

新たな解析 / 非臨床試験

主要な疑問点 / 課題	非臨床試験
7日齢幼若ラットにおけるオセルタミビルの安全性	OPの行動機能及び死亡発現に対する影響並びにOP及びOCの脳/血漿中濃度比の検討

27

試験名: 幼若ラット及び成熟ラットを用いた毒性試験(行動、脳内移行性等について検索)



Roche ロシュグループ

タミフル(リン酸オセルタミビル)の幼若ラットにおける経口(強制)投与毒性試験(新規幼若ラット試験)

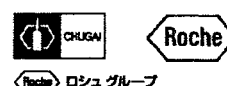
背景及び目的



- 前回, 7, 14, 24及び42日齢のラットに, リン酸オセルタミビルを500から1000 mg/kg(リン酸塩換算)の用量で単回経口投与したGLP試験を, CRO(2社)に委託して実施した
 - NOAELは7日齢ラットにおいて500 mg/kgであった: 薬物に関連した死亡例は7日齢ラットにおいて700及び1000 mg/kg群で認められたが, 14日齢以上のラットでは死亡例はみられなかった
 - 幼若動物, 特に7日齢ラットの脳中OP濃度は高値を示した
- 今回, 幼若7日齢ラットに対しリン酸オセルタミビルの単回経口投与後, 行動機能観察, 脳の病理組織検査, 及び脳中曝露に対する影響を精査するために, 新規のGLP試験を外部の別のCRO(2箇所)において実施した

29

前回の幼若ラット試験 誤って計算された脳中濃度



- 前回試験では, OPおよびOCの脳 / 血漿中濃度比は, 成熟ラットに比べて幼若ラットでより高値であった

	Dose OP (free base)	Brain/ Plasma Ratio Cmax		Brain/ Plasma Ratio AUC	
		OP	OC	OP	OC
PND7 Juvenile	761 mg/kg	405	0.67	243	0.67
PND14 Juvenile	761 mg/kg	63	0.22	93	0.22
Adult	761 mg/kg	0.82	0.18	1.4	0.18

- 前回試験では, OPの血漿中曝露量は, 成熟ラットに比べて幼若ラットでより高値であった

	Dose OP (free base)	Plasma AUC ratio (Juvenile/adult)		Brain AUC Ratio (Juvenile/adult)	
		OP	OC	OP	OC
PND7 Juvenile	761 mg/kg	9.11	0.93	1540	3.08
PND14 Juvenile	761 mg/kg	10.0	1.94	649	2.95

30