

塩負荷を行った。19 週齢まで観察したところ、Vehicle 群では週齢とともに収縮期血圧（以下、SBP）は上昇したが、この上昇を本薬群では 100~1,000ng/h で用量依存的に抑制し、1,000ng/h 投与群では 16 週齢以降、100 及び 300ng/h 投与群では 17 週齢以降で対照群に比べ有意（ $p < 0.05$ 、分散分析）に低値を示した。

② アルドステロン/食塩負荷誘発性高血圧ラットに対する作用（添付資料ホ-2）

Sprague-Dawley（以下、SD）系雄性ラット（体重 250~270g、 $n=7\sim9$ ）を用い、アルドステロン持続投与/食塩負荷、一側腎摘出高血圧ラット（食塩負荷誘発性の低/正常レニン型の高血圧モデル）を作製した。4 週間後の平均 SBP は、本薬非投与群の $220\pm4\text{mmHg}$ に対し、本薬 100mg/kg/日の混餌投与群では $179\pm4\text{mmHg}$ と有意（ $p < 0.05$ 、分散分析）な低値を示した。

③ 脳卒中易発症性自然発症高血圧ラット（以下、SHRSP）に対する作用（添付資料ホ-3）

食塩非感受性の高レニン型の遺伝的高血圧モデルである SHRSP（13.5 週齢、 $n=7\sim10$ ）において、本薬（100mg/kg/日）2 週間単独経口投与では Vehicle 投与群で観察された持続的な SBP の上昇を抑え、投与前値をほぼ維持した。リシノプリル（20mg/kg/日）単独投与では SBP は投与前値以下に低下し、本薬及びリシノプリルの併用経口投与では血圧を正常血圧レベルまで降下させた。降圧作用は、リシノプリル単独及び本薬とリシノプリルの併用投与群では投与開始後 0.3 週、本薬単独投与群では投与開始後 1.3 週に発現した。また、リシノプリル群及び併用群では、対照群において観察された心重量の増加を有意（ $p < 0.05$ 、分散分析）に抑制したが、左心室肥大等の抑制に関して、併用による付加的な作用はみられなかった。

④ 11- β -hydroxysteroid dehydrogenase 2（以下、11- β -HSD2）阻害高血圧モデルに対する作用（参考資料ホ-1）

アルドステロン様の作用を示す糖質コルチコイドを失活させる酵素 11- β -HSD2 の特異的阻害剤（glycyrrhizic acid（以下、GA））投与により高アルドステロン症類似の高血圧が発症する。Wistar-Kyoto 系雄性ラット（13 週齢）の飲料水に GA（3g/L）を混ぜ、21 日間投与により、SBP は GA 非投与対照群（ $n=7$ ）の $142\pm8\text{mmHg}$ に対して GA 投与群（ $n=7$ ）で $185\pm9\text{mmHg}$ となったが、本薬又はスピロノラクトン（混餌による平均投与量：それぞれ $182\pm13\text{mg/kg/日}$ 、 $5.8\pm0.6\text{mg/kg/日}$ 、GA 投与開始 7 日目から）投与群（ $n=7$ ）では、GA 投与による血圧上昇は抑制され、本薬投与群の SBP はスピロノラクトン投与群及び GA 非投与対照群と同程度（GA 投与開始 14 及び 21 日目）であった。

2) 受容体結合及び特異性（*in vitro*）の検討

① ラット鉱質コルチコイド受容体に対する結合及び特異性（参考資料ホ-2）

本薬は、ラット鉱質コルチコイド受容体分画（両副腎摘出術後 3~20 日のラット腎組織由来）に対する ^3H -標識アルドステロンの結合を選択的に阻害し、非標識リガンドに対する相対的親和性は 0.51 であり、本薬の鉱質コルチコイド受容体に対する親和性は、スピロノラクトンと比較して 1/20 程度であった。一方、糖質コルチコイド受容体（両副腎摘出術後 3~20 日のラット腎組織由来）に対しては鉱質コルチコイド受容体に対する作用の 1/20 以下、アンドロゲン受容体（去勢後 21~27 時間のラット前立腺由来）及びプロゲステロン受容体（1 週間エストロゲン処理を行ったウサギ子宮由来）に対する作用は 1/100 以下であり、これらの受容体に対する作用はスピロノラクトンより弱かった。

② アルドステロンによるヒト鉱質コルチコイド受容体活性化に対する作用（添付資料ホ-4）

COS7 細胞に、ヒト鉱質コルチコイド受容体遺伝子を含むプラスミド及び mouse mammary tumor virus promoter を含むルシフェラーゼレポーター遺伝子を導入し、ルシフェラーゼ活性を指標に、アルドステロン刺激によるヒト鉱質コルチコイド受容体を介した転写活性化に対する本薬の作用を検討した。遺伝子導入約 30 時間後の細胞を 1nmol/L~10 μ mol/L の本薬で 15 分間処理し、100pmol/L のアルドステロンで細胞を刺激した。刺激 16~18 時間後のルシフェラーゼ活性は本薬の濃度依存的に抑制された (50%阻害濃度 (以下、IC₅₀) =291nmol/L)。

③ ヒト由来の各種ステロイド受容体を用いた受容体特異性の検討 (添付資料ホ-5)

③-1 ヒト鉱質コルチコイド受容体に対する結合特性

COS7 細胞に pFC3Luc expression vector を用いてヒト鉱質コルチコイド受容体の遺伝子を発現させ、調製した受容体分画において、5nmol/L の ³H-標識アルドステロンを添加した時の鉱質コルチコイド受容体へのアルドステロンの結合を本薬 (10nmol/L~10 μ mol/L) は濃度依存的に阻害した (IC₅₀=約 0.5 μ mol/L)。一方、スピロノラクトンは 0.05 μ mol/L で 42.3%の結合阻害率を示した。

③-2 ヒト由来の各種ステロイド受容体の転写活性に対する影響

ヒト鉱質コルチコイド受容体遺伝子を含むプラスミドを導入した COS7 細胞において、本薬及びスピロノラクトンはアルドステロンによる転写活性上昇を用量依存的に阻害した (IC₅₀: 2 及び 0.05 μ mol/L)。ヒト糖質コルチコイド受容体発現細胞では、本薬 10 μ mol/L はアゴニスト及びアンタゴニスト活性共に示さなかったが、スピロノラクトン 10 μ mol/L はアンタゴニスト活性を示した。ヒトプロゲステロン受容体発現細胞では、本薬 10 μ mol/L はアゴニスト及びアンタゴニスト活性共にほとんど示さなかったが、スピロノラクトン 10 μ mol/L はアゴニスト及びアンタゴニスト活性を示した。ヒトアンドロゲン受容体発現細胞では、本薬 10 μ mol/L はアゴニスト及びアンタゴニスト活性共にほとんど示さなかったが、スピロノラクトン 10 μ mol/L はアゴニスト及びアンタゴニスト活性を示した。

3) 受容体結合及び特異性 (*in vivo*) の検討

① ラット鉱質コルチコイド受容体拮抗作用の検討 (参考資料ホ-2)

雄性 Ivanovas ラットにおいて、本薬又はスピロノラクトン経口投与 30 分後に皮下投与 (1 μ g/kg) した ³H-標識アルドステロンの腎臓組織への結合を 50%阻害する用量は、本薬では 0.8mg/kg、スピロノラクトンでは 1.7mg/kg であった。

② ラット鉱質コルチコイド受容体刺激阻害作用 (添付資料ホ-6)

副腎摘出 SD 系雄性ラット (平均体重 100g) において、0.9%NaCl 溶液を飲料水として飼育を開始し、翌日、完全に排尿させ、3mL の 0.9%NaCl 溶液を腹腔内投与した。1 時間後に膀胱内の尿を回収し、尿中 Na⁺及び K⁺濃度の薬剤処置前値を測定した。動物を対照群、アルドステロン (1 μ g/kg) 投与群、アルドステロンと本薬 (30、100、300 又は 1,000 μ g/kg) 併用投与群及びアルドステロンとスピロノラクトン (30、100、300 又は 1,000 μ g/kg) 併用投与群に割付け、各薬剤を皮下投与とした。本薬は、アルドステロンによる投与 3 時間後の回収尿中 Na⁺/K⁺比の減少 (腎からの Na⁺再吸収の促進) を用量依存的に抑制し、300 μ g/kg 以上で有意 (p<0.05) であった。本薬及びスピロノラクトンによる抑制活性に大きな違いは見られなかった。

③ ラットアンドロゲン受容体への作用 (参考資料ホ-2)

雄性 Tif:RAIf ラット (平均体重 50g) に、去勢日から 7 日間テストステロンプロピオネート

を皮下投与した。本薬は、180mg/kg/日の経口投与（去勢日から7日間）で、テストステロンの標的臓器（球海綿体筋、肛門挙筋、前立腺、精嚢、精巣及び副睾丸）のうち精嚢重量にのみ弱い増加抑制作用を示したが、この抑制作用はスピロラクトンの1/10程度であった（スピロラクトン（180mg/kg/日）は精巣を除く各臓器の重量増加を有意に抑制）。

④ ウサギ及びラットプロゲステロン受容体への作用（参考資料ホ-2）

④-1 Clauberg test

卵巣摘出後、エストロゲンで感作した雌性幼若 Belgian Hare ウサギ（体重900～1,200g）に、10及び100mg/kgの本薬又はスピロラクトンを4日間経口投与し、5日目に摘出した子宮内膜において、McPhailスコアは、スピロラクトン100mg/kg群で2.5～3であり、プロゲステロン様作用ありと判定されたが、同用量の本薬群では1であり、プロゲステロン様作用なしと判定された。

④-2 成熟雌性ラットの排卵性周期への影響

性周期の正常な成熟雌性 Tif:RAIf ラット（平均体重200g）に、30及び100mg/kgの本薬又はスピロラクトンを4日間経口投与した時、5日目の排卵をスピロラクトンは100mg/kg/日で完全に抑制したが、本薬は同用量で影響しなかった。

⑤ ラット糖質コルチコイド受容体への作用（参考資料ホ-3）

SD ラット（体重100～135g）の副腎を摘出し、対照群、デキサメタゾン投与群（飲料水中50µg/L）、デキサメタゾン及び本薬（100mg/rat/日、経口投与）併用投与群並びに本薬単独投与群に割付け、薬物投与8日後の体重あたりの胸腺重量（デキサメタゾン投与により有意に減少）に対する影響を指標に、糖質コルチコイド受容体への作用を検討したところ、本薬は糖質コルチコイド受容体に対しアンタゴニスト及びアゴニストのいずれの活性も示さなかった。

4) 作用機序の検討

本薬は1,000µg/kg以上の用量で、ラットでのアルドステロン皮下投与による尿中Na⁺/K⁺比の減少を有意に抑制し（参考資料ホ-4）、本薬の降圧作用機序の一つが腎尿細管の鉍質コルチコイド受容体への作用を介した、腎におけるアルドステロンのNa⁺再吸収促進の阻害であることが示された。本薬は、SHRSPラットの尿量、尿中Na⁺排泄量及び尿中Na⁺/K⁺比に影響を与えなかった（参考資料ホ-5）ことから、SHRSPで認められた本薬（100mg/kg/日、3週間経口投与）の降圧作用（添付資料ホ-3）は腎でのアルドステロン拮抗作用とは別の経路を介している可能性が示唆された。また、本薬が降圧作用を示す11-β-HSD2阻害剤投与高血圧ラットで誘発されるエンドセリンに対する血管の収縮性増強、アセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応の低下及び内皮細胞における一酸化窒素合成酵素発現量の減少を本薬（平均投与量：182±13mg/kg/日、混餌投与）は有意に抑制し（参考資料ホ-1）、鉍質コルチコイド受容体刺激による血管の機能的変化に対して抑制作用を有することが示された。一方、本薬21µmol/Lはアルドステロン処理20分後の摘出SD系雄性ラット大動脈標本におけるNa⁺/K⁺-ATPase活性（細胞外液から細胞内への⁸⁶Rbの取り込みで評価）の一過性低下（141.75±17.26→4.24±4.70 nmol/min/g tissue）を有意に抑制（132.55±17.19nmol/min/g tissue）し（添付資料ホ-7）、アルドステロンのnon-genomic actionに対しても抑制作用を示した。

本薬は以上のような機序を介して、腎臓の集合管上皮のNa⁺/K⁺-ATPaseの活性化を介するNa⁺の蓄積及びそれに伴う水分子の体内保持に起因する循環血液量の減少による降圧作用、中枢に

における鉱質コルチコイド受容体での抗アルドステロン作用を介する降圧作用、アルドステロンによる鉱質コルチコイド受容体活性化に伴う様々な血管の機能的変化及び損傷の改善作用等により薬効を示すものと推察された。

(2) その他の薬理作用に関する試験

1) SHRSP における腎保護作用 (添付資料ホ-8)

1% NaCl 含有飲料水及び低 K・低蛋白質飼料で飼育した (8.1 週齢～) 雄性 SHRSP ラットにおいて、本薬 100mg/kg/日の 5 週間経口投与 (8.4 週齢～) は SBP には影響を及ぼさなかったが、尿中蛋白質排泄の亢進及び体重増加率の減少を有意に抑制した。また、対照群の動物で観察された糸球体及び血管損傷を有意に抑制した。

2) アルドステロン/食塩負荷誘発性高血圧ラットにおける腎血管損傷に対する影響 (添付資料ホ-2)

片側 (左側) の腎臓を摘出した SD 系雄性ラット (n=7~9、体重 250~270g) での 1%NaCl 含有飲水による食塩負荷及びアルドステロン持続皮下投与 (0.75µg/h) による血管炎症に起因すると考えられる尿中蛋白質排泄亢進・腎損傷・腎血管損傷等及び SBP 上昇を本薬 100mg/kg/日の経口投与 (混餌) は有意に抑制し (試験開始 28 日目)、腎における各種炎症性メディエータの mRNA の発現を抑制した。

3) アルドステロン/食塩負荷誘発性高血圧ラットにおける心保護作用 (添付資料ホ-2)

片側 (左側) の腎臓を摘出した SD 系雄性ラット (n=7~9、体重 250~270g) での 1%NaCl 含有飲水による食塩負荷及びアルドステロン持続皮下投与 (0.75µg/h) で 28 日目に観察された体重増加率の減少や心肥大を本薬 100mg/kg/日の経口投与 (混餌) は有意に抑制し、組織学的には広範な動脈の炎症、重度の白血球浸潤を伴う心血管組織の損傷及び心筋細胞の退化や壊死を伴う心筋損傷の軽減が観察され、心臓における炎症性メディエータの mRNA の発現を有意に抑制した。

4) Ang II/食塩負荷による心損傷モデルにおける心保護作用 (添付資料ホ-9)

Ang II 持続皮下投与 (25ng/min) 及び 1%NaCl 含有飲料水による食塩負荷により心臓を含む広範な臓器損傷を伴った重度高血圧発症 Wistar 系雄性ラット (体重 200g、n=10) において 3 週間後に観察された動脈のフィブリノイド壊死や血管炎症及び局所的な梗塞からなる心損傷を本薬 100mg/kg/日の反復経口投与は、食塩負荷のみの対照群程度に抑制した。また、本薬投与は心臓におけるシクロオキシゲナーゼ-2 及びオステオポンチンの発現を抑制した。

5) SHRSP における脳損傷保護作用 (添付資料ホ-10)

1% NaCl 含有飲水及び低 K・低蛋白質飼料で飼育した SHRSP (7.5 週齢、n=8~10) は、重症高血圧及び脳血管病変を発症し、15.6 週齢まで (平均 13.0±0.5 週齢) に全例が脳卒中様の症状を呈し死に至ったが、本薬 30~300mg/kg/日の経口投与で平均死亡週齢が延長した (300mg/kg/日では有意)。また、8.8 週齢の動物 (n=7~8) を用いた同様の実験では、12 週齢より脳卒中の兆候が現れ始め、17.7 週齢までに全例が死に至ったが、100mg/kg/日の本薬を経口投与した群で

は、1例を除き18週目まで脳卒中発症を疑わせる兆候は現れず、脳の組織学的検討においても、対照群で見られた脳血管損傷や脳実質部の損傷が低減した。

6) 代謝物の薬理作用の検討 (添付資料ホ-11、12、参考資料ホ-9)

本薬のラット及びヒトでの代謝物である SC-70303-FA、6 β -OH 体 (SC-71597)、21-OH 体及び 6 β ,21-OH 体について、鉱質コルチコイド受容体拮抗活性及び糖質コルチコイド受容体、アンドロゲン受容体、エストロゲン受容体に対する作用を *in vitro* で検討した。

SC-70303-FA 及び SC-71597 のラット鉱質コルチコイド受容体に対する阻害活性 (IC₅₀) は、本薬の 1/5 以下であった。また、21-OH 体及び 6 β ,21-OH 体のラット鉱質コルチコイド受容体への作用は更に弱く、IC₅₀ 値は 10 μ mol/L 以上であった。また、その他のラットステロイド系ホルモン (糖質コルチコイド、アンドロゲン及びエストロゲン) 受容体に対しては、10 μ mol/L まで作用は認められなかった。一方、SC-70303-FA 及び SC-71597 のヒト鉱質コルチコイド受容体への作用 (IC₅₀) は、本薬の 1/25 以下であった。ヒトにおいて、血漿中の本薬と代謝物の存在比を考慮すると、本薬の薬効発現へのこれら代謝物の寄与は低いと考えられる (へ項 1. (2) 2) 「ヒトにおける代謝物」参照)。

(3) 一般薬理試験

1) 症状及び行動に及ぼす影響の検討 (添付資料ホ-13、14)

本薬 1,000mg/kg のマウスへの経口投与では、投与 0.5 及び 1 時間後に軽度な自発運動の低下、投与 0.5、1 及び 2 時間後に眼裂狭窄が数例で観察されたが (300mg/kg では無影響)、3 時間後には正常状態に回復した。また、ラットに対する 4 日間の反復経口投与では、最高用量の 150mg/kg まで一般症状に影響を与えなかった。

2) 中枢神経系に及ぼす影響の検討 (添付資料ホ-13、14、参考資料ホ-10)

本薬 1,000mg/kg 経口投与 0.5 及び 1 時間後に軽度にマウス自発運動量が低下した (300mg/kg では無影響)。また、別の試験で、300 及び 1,000mg/kg の経口投与で弱い一過性の鎮静作用を示した。ラットへの 4 日間反復経口投与では、45 及び 150mg/kg 投与の雌で投与 1 日目に、150mg/kg 投与の雄で投与 1 日目及び 4 日目に軽微な自発運動量の減少を示した。フィゾスチグミン誘発中毒に対しては最高用量の 50mg/kg 経口投与で、チオペンタール誘発睡眠、電撃痙攣及びペンテトラゾール誘発性痙攣に対しては最高用量の 1,000mg/kg までの経口投与で影響を及ぼさず、鎮痛作用もなかった。1,000mg/kg 投与 1 時間後に有意な体温低下を示したが、2 時間後には回復した。アポモルヒネ誘発低体温に対しては 50mg/kg まで影響を及ぼさなかった。

3) 呼吸・循環器系に及ぼす影響の検討 (添付資料ホ-13、15、16)

麻酔モルモットにおいて、本薬の静脈内投与は最高用量 (負荷量 4.675mg/kg/維持量 4.05mg/kg) まで、呼吸・循環器系のパラメータに影響を及ぼさなかった。覚醒ビーグル犬においても、静脈内投与 (最高用量: 負荷量 1.88mg/kg/維持量 0.59mg/kg) 及び経口投与 (22mg/kg) で心血管系パラメータに影響を及ぼさなかった。なお、いずれの試験においても心電図波形に異常は認められなかった。麻酔ビーグル犬では、4mg/kg 静脈内投与まで、呼吸・循環器系のパラメータに対して本薬投与に起因する影響は観察されず、心電図において、4mg/kg 投与終了 10 分後の

P-R 間隔並びに 1mg/kg 投与 5 及び 10 分後の QTc 間隔が有意に延長したが、用量依存性は認められなかった。human ether-a-go-go related gene (以下、hERG) チャネルを発現させたヒト胎児性腎細胞 (HEK293) において、本薬は hERG 電流 (指標: 遅延整流性 K 電流 (I_{Kr})) を 15 μ mol/L (6.22 μ g/mL) で 12.1%抑制したが、臨床用量 100mg/日における非結合形本薬の C_{max} (1.12 μ g/mL) の 5.6 倍の濃度であり、臨床において本薬が QT を延長させる可能性は低いものと考えられた。

4) 消化器系に及ぼす影響の検討 (添付資料ホ-13)

本薬は、1,000mg/kg の経口投与で、マウスの腸管内輸送能を軽度抑制した。

5) 水及び電解質代謝に及ぼす影響の検討 (添付資料ホ-13)

ラットにおいて、本薬は、100mg/kg 経口投与により尿中 Na^+ 濃度上昇、300mg/kg で Na^+ 及び塩化物イオン (以下、Cl) 総排泄量増加、1,000mg/kg で尿中 Na^+ 濃度上昇、 Na^+ 及び Cl 総排泄量増加を示した。また、100mg/kg 以上の投与で Na^+/K^+ 比が上昇した。これらの水及び電解質代謝に及ぼす影響は、腎におけるアルドステロンの作用に対する本薬の拮抗作用に起因しているものと考えられた。

2. 機構における審査の概要

機構は、効力を裏付ける *in vivo* の薬理試験において、1 試験 (Dahl 食塩感受性ラットにおける持続静脈内投与の血圧への影響) を除き 100 又は 182mg/kg の 1 用量のみで本薬の作用が検討されていることの妥当性を尋ねた。

申請者は、以下のように回答した。日本人における高血圧症の最も一般的なタイプである食塩感受性の低/正常レニン型の高血圧に最も近いと考えられている動物モデルは Dahl 食塩感受性高血圧ラットであり、本薬の降圧作用の用量反応性は最も妥当と考えられる本モデルで検討した。また、降圧作用以外の指標である血中アルドステロン濃度はラット毒性試験にて、アルドステロンによる Na^+ 再吸収促進作用に対する拮抗作用は副腎摘出、食塩及びアルドステロン処置ラットにて用量反応性は示されている。Dahl 食塩感受性ラット以外の試験では、本薬の有効性を確認することを目的とし、種々の高血圧モデルにおける本薬の作用を妥当な投与量である 1 用量のみ用いて検討を行った。1 用量で検討した試験では、予備的検討成績より、本薬の血中濃度が常に IC_{50} 値以上となるような用量を用いた。結果的にも、モデル動物における本薬の曝露量がヒトにおいて降圧作用を示す際の量とほぼ同程度であったことから、臨床効果を推定するのに妥当な用量が使用されており、今回提出した資料は本薬の効力を裏付ける試験として妥当である。

機構は、*in vivo* 薬理試験における投与時期の妥当性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。高血圧動物モデルにおける本薬の降圧作用を調べた試験 (Dahl 食塩感受性ラット及びアルドステロン/食塩負荷誘発性高血圧ラット) では、他剤との比較を可能とする目的で、血圧が上昇する前の時点で投与するという意味で実験間の条件を統一するために高血圧発症前に本薬の投与を開始している。一方、11- β -HSD2 阻害高血圧ラットを用いた試験の目的は、重度の高血圧を伴う高アルドステロン症に似た病態における本薬の作用を検討することであるため、高血圧発症後に本薬を投与した。

機構は、対照薬を用いなかった場合はその妥当性、用いた場合は対照薬選択理由について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。Dahl 食塩感受性ラット及びアルドステロン/食塩負荷誘発性高血圧ラットと基本的に同じと考えられる Deoxycorticosterone acetate/食塩負荷誘発性モデルにおける標準的な降圧薬の反応はよく知られていることから、公表データを用いることで本薬と他剤の降圧作用の比較をすることは可能であると判断した。同様に、腎及び心臓に臓器損傷を発症する SHRSP 等の各種動物モデルにおける臓器保護作用を示すことも文献的に他の降圧剤との比較が可能である。レニン-アンジオテンシン系の活性化を伴う食塩非感受性の高レニン型の遺伝的高血圧モデルである SHRSP では、高血圧の発症機序からアンジオテンシン変換酵素（以下、ACE）阻害薬が有効と考えられたため、リシノプリルを対照薬とした。また、SHRSP は重症高血圧発症モデルであり、重症高血圧を発症したヒトでは降圧薬の併用投与が考えられるため、本モデルでは本薬と ACE 阻害薬との併用投与での効果も評価した。11-β-HSD2 阻害高血圧ラットを用いた試験では、11-β-HSD2 の特異的阻害剤投与により糖質コルチコイドの不活性化が阻害されることにより糖質コルチコイドが鉱質コルチコイド受容体を過剰刺激することにより高血圧を発症する機序を考慮し、鉱質コルチコイド受容体拮抗薬であるスピロラクトンを対照薬とした。受容体結合能及び特異性を調べた *in vitro* 及び *in vivo* 試験では、アルドステロンに似た構造を有し、鉱質コルチコイド受容体に対するアルドステロンの作用に拮抗することが知られているスピロラクトンに対照薬とした。アルドステロンによるヒト鉱質コルチコイド受容体活性化に対する作用を調べた試験は本薬の転写活性化の抑制をより詳細に調べる目的で行われたため、対照薬との比較は行わなかった。ラット鉱質コルチコイド受容体への作用を検討した *in vivo* 試験では、鉱質コルチコイド受容体に対する本薬の作用が *in vitro* 試験において対照薬として適当と思われるスピロラクトンと比較されていることから、本薬の作用についてのみ検討した。また、作用機序に関する試験では、本薬の作用機序を検討することを目的とし、他剤との比較は行わなかった。

機構は、Dahl 食塩感受性ラットにおいて、本薬による SBP の有意な抑制効果の発現までに 4 週間を要した理由を尋ねた。

申請者は、以下のように回答した。アルドステロンによる中枢鉱質コルチコイド受容体の活性化を介した血圧上昇は、十分な作用発現までに数日かかる。本薬は腎臓でのアルドステロン作用を阻害することにより循環体液量の増加を抑制するとともに、中枢でのアルドステロン作用を阻害することで血圧を下げる可能性が考えられており、血圧下降作用を十分に示すまでには時間がかかるものと考えられる。また、Dahl 食塩感受性ラットの実験では、血圧測定法として測定誤差が大きい tail-cuff 法を用いたため、有意差が検出されにくかった可能性も考えられる。

機構は、SHRSP における降圧作用の発現がリシノプリルでは投与開始後 0.3 週でみられたが、本薬では 1.3 週後までみられなかった理由を尋ねた。

申請者は、以下のように回答した。本薬の降圧作用には、中枢におけるアルドステロン誘発性の血圧上昇抑制、心血管系の線維化抑制、血管の機能的変化の改善等も寄与している可能性が考えられ、特に SHRSP では、脳内の鉱質コルチコイド受容体の遮断によって本薬が降圧効果を示す可能性が高い。アルドステロンの脳内投与により正常動物において血圧上昇が投与数日後に発現するが、Ang II の投与後では非常に急速に観察される (J Human Hypertens. 2002; 16: S64-S70.)。これらのホルモンによる血圧上昇のメカニズムに基づき、特に中枢では、アルドステロン作用の阻害による降圧作用は、ACE 阻害薬による Ang II の産生阻害による場合と比較して作用発現が遅いため、ACE 阻害薬のリシノプリルに比べ本薬の作用発現により時間を要したと考える。

機構は、以上の回答も踏まえ、本薬の降圧作用について、公表論文等を参考に他の降圧薬と比較

することには限界があり、また、比較的高用量での検討も多いが、一定の説明は可能な試験条件でも薬効薬理試験が実施され、降圧作用は認められていることから、本薬の臨床における降圧作用は提出された資料から推定できると判断した。

へ. 吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

1. 提出された資料の概要

(1) 非臨床薬物動態試験成績

本薬の薬物動態は、非標識体及び ^{14}C -及び $^{13}\text{CD}_3$ -標識体を用い、主にラット及びイヌへの静脈内及び経口投与により検討された。標識体投与時の生体試料中の放射能は液体シンチレーションカウンタを用いて測定し、非標識体投与時の未変化体及び代謝物は、固相抽出を行った後、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) 法を用いて測定した。

1) 吸収 (添付資料へ-1~6、ニ-8、19)

① 単回投与

雌雄ラットに本薬の ^{14}C -標識体 15mg/kg を単回経口投与した時、雌における本薬の $\text{AUC}_{0-\infty}$ は雄の約 3.5 倍であったが、単回静脈内投与時には雌雄差は認められなかった。胆管カニューレーションを施した雌雄ラットに本薬の ^{14}C -標識体 20mg/kg を単回経口投与した時の投与 48 時間後までの投与放射能の胆汁、尿及び糞中からの回収率より、経口投与時の吸収率は、雄ラットで 91.4%以上、雌ラットで 93.6%以上と考えられた。経口投与時の消失半減期 (以下、 $t_{1/2}$) は雄で 0.678 時間、雌で 1.22 時間 (以下、同順)、静脈内投与時の $t_{1/2}$ は 0.803 及び 1.14 時間であり、経口投与時のバイオアベイラビリティ (以下、F) は 19.2 及び 66.2%であり、雌雄差の主な要因は、初回通過効果の相違と考えられた。SC-70303-FA (本薬のラクトン環の開環体の遊離酸、可逆的反応により生成) の平均血漿中濃度推移は雌雄共に本薬とほぼ同様の推移を示した。

雌性イヌに本薬 7.5mg/kg を胃、十二指腸、空腸及び結腸から投与した後の血漿中濃度より、本薬の吸収は、十二指腸、空腸及び結腸で同程度であると考えられた。雄性イヌに本薬の ^{14}C -標識体 15mg/kg を単回経口投与した時、血漿中放射能濃度は投与 1.25 時間後に C_{\max} となり、 $t_{1/2}$ は 4.72 時間であった。雌性イヌに本薬の $^{13}\text{CD}_3$ -標識体 10mg/kg を経口投与した時の F は 90.4%であった。また、SC-70303 (SC-70303-FA の K 塩) から本薬への変換の平均速度定数 (4.09h^{-1}) は、本薬から SC-70303 への変換 (0.646h^{-1}) の約 6 倍と考えられた。

② 反復投与

雌雄ラットに本薬 20 及び 100mg/kg を 1 日 1 回 86 日間反復経口投与 (投与 1、37 及び 86 日目では本薬の代わりに本薬の ^{14}C -標識体を投与) した時、1、37 及び 86 日目における血漿中放射能の C_{\max} に到達する時間 (以下、 t_{\max})、 C_{\max} 及び AUC_{0-24} は雌雄及び投与期間にかかわらず、ほぼ同様の値を示した。

雌雄ラットに本薬 20、75 及び 250mg/kg を 1 日 1 回 358 日間反復経口投与した時、250mg/kg 群では投与 358 日目の AUC_{0-24} 及び C_{\max} は、投与 1 日目と比較して減少したことから、250mg/kg の反復投与時には酵素誘導の可能性が考えられた。

雌雄イヌに本薬 1.5、5 及び 100mg/kg を 1 日 1 回 363 日間反復経口投与した時、本薬 1.5 及び 5mg/kg の投与量では本薬の C_{\max} 及び AUC_{0-24} は投与量にほぼ比例して増加し、投与 1、91、180 及び 363 日目で変化しなかったが、100mg/kg 群では投与量比より低値を示し、投与 91 日

目における本薬の C_{max} 及び AUC_{0-24} はいずれも投与 1 日目と比較して減少したが、投与 363 日目では投与 1 日目と同様の値を示した。

2) 分布 (添付資料へ-7、8、9)

① 臓器・組織内分布

雄性有色ラットに本薬の ^{14}C -標識体 20mg/kg を単回経口投与した時、ほとんどの組織内放射能濃度は投与 0.5 時間後に最高値に達し、消化管以外では肝臓、脾臓及び腎臓で高値であった。投与 96 時間後の放射能は、肝臓、腎臓、大腸及び盲腸以外の臓器において検出限界以下であった。白色及び有色皮膚における最高濃度は同程度であったが、 $t_{1/2}$ は白色皮膚で 1.21h、有色皮膚では 16.1h であったことから、有色皮膚部分に存在するメラニンに対する本薬の親和性が考えられた。

白色の雌性ラット及び雌雄ラットを用いた全身オートラジオグラフィーの検討において投与放射能の大部分は、消化管及びその内容物に存在し、有色の雄性ラットを用いた試験とほぼ同様であった。

② 胎児への移行 (添付資料ニ-10)

妊娠 6 日目よりラットに本薬 100、300 及び 1,000mg/kg を 1 日 1 回反復経口投与した時、妊娠 19 日目の投与 24 時間後及び 20 日目の投与 1 時間後の母体及び胎児の血漿中本薬濃度は、胎児の血漿中で検出されなかった 100mg 群の妊娠 19 日目の 24 時間後以外は、すべての投与量及び測定時点において同程度であり、本薬は母体から胎児に移行することが示された。

③ 血漿蛋白結合及び血球への分配 (添付資料へ-3、6、10~13)

本薬の ^{14}C -標識体の最終濃度 0.02、0.2、1、5 及び 60 μ g/mL におけるラット及びイヌの血漿蛋白結合率は 13.1~25.2% であり、ラット及びイヌに本薬の ^{14}C -標識体を単回又は反復投与した時の血球及び血漿中放射能の比較より、本薬は血球と特異的に結合しないと考えられた。

3) 代謝 (添付資料へ-11、14~20、参考資料へ-7~9)

動物 (ラット、イヌ、マウス) の主代謝経路は、CYP3A による 6 β 位の酸化であり、雌雄ラットに本薬の ^{14}C -標識体 20mg/kg を単回経口投与した 1 時間後 (C_{max} 付近) の未変化体及び各代謝物の血漿中放射能の総放射能に対する割合は、総エプレレノン (本薬と SC-70303-FA の和) で雄 34.47%、雌 67.2%、SC-71597 (本薬の 6 β -OH 体) で雄 38.22%、雌 12.48%、本薬の 3,6 β -OH 体で雄 17.49%、雌 12.79% であった。尿中の放射能は、雄ラットではほとんどが 6 β -OH 体、雌ラットでは総エプレレノン、6 β -OH 体及び 3,6 β -OH 体が同程度の割合で認められ、糞中の放射能は、雄ラットでは 3,6 β -OH 体が最も多く、6 β -OH 体、未同定代謝物 RM1、雌ラットでは 3,6 β -OH 体が最も多く、総エプレレノン、6 β -OH 体及び RM1 の順で認められた。

雌雄イヌに本薬の ^{14}C -標識体 15mg/kg を単回経口投与した時、血漿中放射能は、総エプレレノンのみ、尿中の主な放射能は、21-OH 体、総エプレレノン、6 β -OH 体であり、糞中の主な放射能は、雄イヌで 21-OH 体、総エプレレノン、16 β -OH 体並びに未同定代謝物 DM3 及び DM10 で、雌イヌで 21-OH 体、総エプレレノン、6 β -、21-OH 体並びに DM3 及び DM10 であった。

雌雄マウスにおける血漿中放射能は、主に総エプレレノンと SC-71597 であり、尿及び糞中の主な放射能は雌雄共に 6 β -OH 体、総エプレレノン、21-OH 体及び 2 種類の未同定代謝物であった。

胆管カニューレーションを施した雌雄ラットに本薬の ^{14}C -標識体 20mg/kg を単回経口投与した時、投与 24 時間後までの胆汁中の主な放射能は、雄ラットで 3, 6 β -OH 体、未同定代謝物 RM1、6 β -OH 体、総エプレレノン、6 β ,21-OH 体及び 6 β ,15 β -OH 体、雌ラットでは 3, 6 β -OH 体及び総エプレレノンであった。

雌雄ラットに本薬 20、100 及び 500mg/kg を 1 日 1 回 35 日間反復経口投与した時、投与 7、24 及び 36 日目のいずれの時点においても CYP3A4 活性（テストステロン 6 β -水酸化酵素活性及びエリスロマイシン *N*-脱メチル化酵素活性）は本薬の投与量の増加に伴い高くなり、雌雄ラット共に本薬による CYP3A の誘導が認められたが、その他の酵素への影響は認められないか、わずかであった。CYP1A2、2C9、2C19、2D6 及び 3A4 活性に対する本薬 (0.1~300 $\mu\text{mol/L}$) の IC_{50} 値はいずれも 300 $\mu\text{mol/L}$ 以上であった。

4) 排泄（添付資料へ-3、6、7、13、21、22）

雌雄ラットに本薬の ^{14}C -標識体 15mg/kg を単回経口投与した時、投与後 168 時間までの投与放射能に対する総放射能の回収率は、雄で 97.8%、雌で 98.6%であり、尿及び糞中からそれぞれ雄 18.1%及び 79.2%、雌 20.6%及び 77.8%であった。

雌雄ラットに本薬 20 及び 100mg/kg を 1 日 1 回 86 日間経口投与した時、投与 1、37 及び 86 日目の尿及び糞中への総放射能の回収率は、いずれの投与量又は投与期間（投与 1、37 及び 86 日目）においても、投与後 168 時間までに雌雄共に 70.0~84.6%が糞中に、15.5~25.4%が尿中に排泄された。

雌雄イヌに本薬 15 及び 100mg/kg を 1 日 1 回 85 日間反復経口投与した時、投与 1、38 及び 85 日目のいずれにおいても雌雄ともに放射能は主に糞中に排泄された。

胆管カニューレーションを施した雌雄ラットに本薬の ^{14}C -標識体 20mg/kg を単回経口投与した時、投与 48 時間後までの胆汁、尿及び糞中からの投与放射能の回収率は、雄で 79.6%、11.8%及び 4.5%、雌で 77.5%、16.1%及び 2.5%であった。また、再吸収率は雄ラットで胆汁中放射能の少なくとも 49.1%、雌ラットで 85.9%と考えられ、腸肝循環に雌雄差が認められた。

分娩後の授乳ラットに本薬の ^{14}C -標識体 2mg/kg を単回経口投与した時、血漿中放射能に対する乳汁中放射能の C_{max} 及び $\text{AUC}_{0-\infty}$ の比は 0.96 及び 0.85 であり、薬物由来の放射能は速やかに乳汁へ移行し、その後血漿中放射能濃度と同様に消失することが示された。

(2) 臨床薬物動態試験成績

1) 血漿蛋白結合（添付資料へ-10~12）

本薬の ^{14}C -標識体濃度 0.02、0.2、1、5 及び 60 $\mu\text{g/mL}$ のヒト血漿蛋白への *in vitro* 結合率は 16.8~60.6%であり、本薬の濃度増加に伴い血漿蛋白への結合率が減少した。健康成人男性（8 例）に本薬の ^{14}C -標識体 100mg を単回経口投与した 1.5 時間後の放射能の平均血漿蛋白結合率は 49.4%であった。

2) ヒトにおける代謝物（添付資料へ-11、14~20、参考資料へ-7~9）

健康成人男性（8 例）に本薬の ^{14}C -標識体 100mg を単回経口投与した時、尿中（投与 48 時間

まで)及び糞中(投与96時間まで)の投与放射能に対する割合は、62.2%及び31.3%であり、尿中の主な代謝物は6 β -OH体(28.3%)及び6 β ,21-OH体(13.1%)、糞中の主な代謝物は6 β ,21-OH体(7.4%)、6 β -OH体(3.7%)及び3 α ,6 β ,21-OH体(3.4%)であった。尿中及び糞中の総エプレレノン(EP)は6.8及び3.2%であった。

3) 健康成人を対象とした試験

① 単回投与試験

①-1 400 試験 (添付資料へ-H1)

日本人健康成人男性30例(1群6例)に本薬50、100、200、400及び600mg(カプセル剤)を空腹時単回経口投与した時、投与1.6~2.7時間後にC_{max}(746、1,330、2,260、3,530及び4,080ng/mL)に達し、AUC_{0-∞}は5,280、9,490、18,800、31,600及び38,400ng・h/mLであった。C_{max}及びAUC_{0-∞}の増加は50~200mgで概ね用量に比例したが、200~600mgでは、比例関係から予想される値よりも低値を示した。終末相のt_{1/2}は3~5hであった。また、SC-70303-FAは投与1.3~3.0時間後にC_{max}(45.8、85.2、185、320及び462ng/mL)に達し、AUC_{0-∞}は296、546、1,100、2,530及び3,330ng・h/mLであった。C_{max}及びAUC_{0-∞}の増加は50~600mgで概ね用量に比例した。t_{1/2}は3~4hであった。

①-2 001 試験 (添付資料へ-H4)

欧米人健康男性40例(1群8例)に本薬10、50、100、300及び1,000mg(カプセル剤)を空腹時単回経口投与した時、投与1.3~1.5時間後にC_{max}(191、797、1,510、2,970及び7,260ng/mL)に達し、AUC₀₋₉₆は942、4,020、7,940、18,500及び56,400ng・h/mLであった。C_{max}及びAUC_{0-∞}の増加は10~100mgで概ね用量に比例したが、100~1,000mgでは、比例関係から予想される値よりも低値を示した。t_{1/2}は2.1~4.9hであった。SC-70303-FAは投与1.0~2.5時間後にC_{max}に達し、t_{1/2}は2.6~2.8hであった。本薬50、100、300又は1,000mg群におけるSC-70303-FAのC_{max}はそれぞれ36.4、60.4、212及び522ng/mL、AUC₀₋₉₆は143、247、1,070及び3,480ng・h/mLであった。10mg群の血漿中濃度はほとんどが定量限界(7.77ng/mL)以下であった。

①-3 054 試験 (参考資料へ-H3)

欧米人健康成人16例(男性14例、女性2例)に2期クロスオーバー法にて本薬50mgを単回静脈内持続投与(持続投与時間■時間)及び100mgを単回経口投与した時、Fは69.0%と算出された。

①-4 002 試験 (添付資料へ-11 及びへ-H7)

欧米人健康男性8例に本薬の¹⁴C-標識体100mgを溶液で単回経口投与した時、血漿中放射能は投与1.3時間後にC_{max}(2,490ng・当量(以下、eq)/mL)に達し、AUC_{0-∞}は18,400ng・eq・h/mLであった。血液中放射能は投与1.2時間後にC_{max}(1,770ng・eq/mL)に達し、AUC_{0-∞}は12,800ng・eq・h/mLであった。血液中放射能C_{max}の血漿中放射能C_{max}に対する割合は約0.7であり、放射能は血球よりも血漿成分に多く分布することが示唆された。

放射能は、大部分は投与24時間後までに尿中及び糞中に排泄され、168時間までに回収された放射能は投与量の98.5%であり、呼気中に放射能は検出されなかった。尿中及び糞中に排泄された割合は投与放射能の66.6及び32.0%であり、投与放射能の約1.65及び0.8%が未変化体に相当すると考えられた。投与48時間後までのSC-70303-FA累積尿中回収率は投与量の4.98%であり、投与96時間後までの累積糞中回収率は1.65%であった。

以上より、ヒトにおける本薬の吸収率は 66%以上であることが示唆され、主要消失経路は腎排泄ではなく代謝によるものと考えられた。

② 反復投与試験

②-1 401 試験 (添付資料〜H12)

日本人健康成人男性 6 例に本薬 400mg のカプセル剤を 1 日 1 回食後 7 日間反復経口投与した時、1 及び 7 日目の血漿中本薬濃度の C_{max} は 4,680 及び 4,120ng/mL (7 日目/1 日目比: 0.88、以下同様) であり、 AUC_{0-24} は 30,500 及び 26,300ng・h/mL (0.86) であった。また、反復投与期間中の本薬のトラフ濃度に大きな変動はみられず、本薬の蓄積性はないことが示唆された。また、1 及び 7 日目の SC-70303-FA の C_{max} は 309 及び 311ng/mL (1.01)、 AUC_{0-24} は 2,460 及び 1,770ng・h/mL (0.72) であった。

②-2 053 試験 (添付資料〜H3)

日本人健康成人男性及び未治療軽症高血圧症成人男性患者 (坐位 SBP \leq 165mmHg 又は拡張期血圧 (以下、DBP) \leq 95mmHg) 12 例に本薬 100mg 錠を 1 日 1 回 7 日間空腹時反復経口投与した時、1 及び 7 日目の血漿中本薬濃度は投与 1.42 及び 1.46 時間後に C_{max} (1,460 及び 1,780ng/mL、7 日目/1 日目比: 1.22) に達し、 AUC は 7,630 及び 12,300ng・h/mL (7 日目/1 日目比: 1.61、以下同様) であった。 $t_{1/2}$ は 2.62 及び 5h であった。尿中に未変化体 2.29mg (投与量の約 2%) が排泄された。1 及び 7 日目の血漿中 SC-70303-FA 濃度の C_{max} は 119 及び 137ng/mL (1.15) であり、 AUC は 509 及び 766ng・h/mL (1.50) であった。血漿中 SC-71597 (6 β -OH 体) 濃度の 1 及び 7 日目の C_{max} は 641 及び 570ng/mL (0.89) であり、 $AUC_{0-\infty}$ は 5,400 及び 5,840ng・h/mL (1.08) であった。7 日目における $t_{1/2}$ は 6.07h であった。

②-3 004 試験 (添付資料〜H6)

欧米人健康男性 24 例 (1 群 8 例) に本薬 100、300 及び 1,000mg (カプセル剤) を 1 日目及び 3~13 日目の 11 日間 1 日 1 回反復経口投与した時、1 日目の血漿中本薬濃度は投与 1.8~2.4 時間後に C_{max} (1,750、3,230 及び 6,890ng/mL) に達し、 AUC は 11,300、23,900 及び 62,100ng・h/mL であった。 $t_{1/2}$ は 4~9h であった。反復投与後 11 日目は投与 1.1~1.8 時間後に C_{max} (1,900、3,580 及び 7,390ng/mL) に到達し、 AUC_{0-24} は 11,800、26,500 及び 63,200ng・h/mL であった。 $t_{1/2}$ は 4~6h であった。反復投与期間中、各投与日における本薬のトラフ濃度は 4 日目以降ほぼ同様に、1 日 1 回反復投与開始後ほぼ 2 日で定常状態に達したと考えられた。100、300 及び 1,000mg 群において、SC-70303-FA の C_{max} の 11 日目/1 日目比は 1.19、1.25 及び 1.06、 AUC は 1.08、1.20 及び 1.07 であり、反復投与により SC-70303-FA の薬物動態は変化しないと考えられた。

4) 食事の影響について

① 400 試験 (添付資料〜H1)

日本人健康成人男性 6 例に本薬 100mg (カプセル剤) を 2 期クロスオーバー法にて空腹時及び食後 (451.7kcal、脂肪含有量 13.5g) に単回経口投与した時、本薬の $AUC_{0-\infty}$ は 9,490 及び 11,200ng・h/mL、 C_{max} は 1,330 及び 1,530ng/mL であり、両群間に有意差が認められた。また、 t_{max} はそれぞれ 2.3 及び 3.2h であった。SC-70303-FA の空腹時及び食後投与における $AUC_{0-\infty}$ は 546 及び 580ng・h/mL、 C_{max} は 85.2 及び 88.2ng/mL と両群間で同程度の値を示し、 t_{max} は 2.3 及び 3.2h であった。

② 005 試験 (添付資料〜H5)