

# カンデサルタン シレキセチル錠の 自然発症高血圧ラットにおける降圧作用及び SD ラットにおける急性毒性の評価

Meiji Seika ファルマ株式会社

矢 來 幸 弘   蓮 沼 恵 子   柴 崎 義 明  
土 屋 敏 行   梅 木 祐 仁

## 要 旨

Meiji Seika ファルマ株式会社が開発中のカンデサルタン シレキセチル錠（以下、試験製剤）は、アンジオテンシンII受容体阻害薬であり、高血圧症治療薬であるプロプレス<sup>®</sup>錠（武田薬品工業株式会社：以下、標準製剤）と有効成分を同量含有する同一剤型の後発医薬品である。

本稿では、自然発症高血圧ラット（SHR）を用いて、試験製剤の降圧作用を標準製剤と比較した。また、両製剤の非臨床における安全性確認のために、雄性 Sprague Dawley（SD）系ラットを用いた急性毒性試験を行った。

### 1) SHR を用いた降圧作用の評価

SHR に試験製剤及び標準製剤を、有効成分であるカンデサルタン シレキセチルとして1 mg/kg 及び10 mg/kg の2用量で1日1回、3日間反復経口投与し、初回投与日から最終投与5日後まで血圧を測定した。試験群は、陰性対照群（溶媒投与群）、試験製剤の低用量群及び高用量群、並びに標準製剤の低用量群及び高用量群の合計5群とし、各群の例数は6匹とした。血圧測定は覚醒下で非観血的に行い、評価には収縮期血圧を用いた。その結果、試験製剤群及び標準製剤群の血圧は、いずれの用量においても初回投与後から陰性対照群に比べ有意な低値を示した。最終投与の翌日以降、両製剤群とも徐々に血圧が回復し、投与終了後に投与前値よりも血圧が高くなるようなリバウンド現象は観察されなかった。試験製剤群と標準製剤群は試験期間を通じて同様の血圧の推移をたどり、両群の間に明らかな差は認められなかった。

### 2) SD 系ラットを用いた急性毒性の評価

SD 系ラットに試験製剤及び標準製剤を、有効成分であるカンデサルタン シレキセチルとして20 mg/kg の用量で単回経口投与し、急性期の毒性を評価した。試験群は、陰性対照群（溶媒投与群）、試験製剤群及び標準製剤群の3群とし、各群の例数は3匹とした。その結果、いずれの群にも死亡は認められず、投与後の一般状態にも変化は認められなかった。体重は、両製剤群ともに陰性対照群と同様に推移し、有意差は認められなかった。投与から7日後に実施した剖検では、いずれの群にも毒性所見は認められなかった。

以上より、SHR 及びSD 系ラットを用いた今回の評価において、Meiji Seika ファルマ株式会社が開発中のカンデサルタン シレキセチル錠は、プロプレス<sup>®</sup>錠と同様の有効性及び安全性を有していることが示唆され、臨床においてプロプレス<sup>®</sup>錠と同様な治療効果を発揮することが期待される。

キーワード：カンデサルタン シレキセチル、高血圧症、後発医薬品

## はじめに

カンデサルタン シレキセチルは非ペプチド型アンジオテンシンII受容体拮抗薬である。カンデサルタン シレキセチルは経口吸収後に小腸において活性代謝物であるカンデサルタンに代謝される。カンデサルタンがアンジオテンシンII受容体のサブタイプであるAT<sub>1</sub>受容体を選択的に結合し、昇圧因子として作用するアンジオテンシンIIに対して拮抗することにより降圧作用を示すことが知られている<sup>1)</sup>。

Meiji Seika ファルマ株式会社が開発中のカンデサルタン シレキセチル錠（以下、試験製剤）は、先発医薬品であるプロプレス<sup>®</sup>錠（以下、標準製剤）と有効成分であるカンデサルタン シレキセチルを同量含有する同一剤型の後発医薬品である。

本稿では、試験製剤の降圧作用について、自然発症高血圧ラット（SHR）を用いて標準製剤と比較検討を行った。また、両製剤の非臨床における安全性を確認するために、Sprague Dawley（SD）系ラットを用いた急性毒性試験を行った。

## I. 材料及び試験方法

### 1. 使用薬剤

試験製剤としてカンデサルタン シレキセチル錠（8 mg 錠、Meiji Seika ファルマ株式会社）を、標準製剤としてプロプレス<sup>®</sup>錠8（武田薬品工業株式会社）を使用した。各製剤をメノウ乳鉢及び乳棒を用いて磨砕し、0.5%メチルセルロース溶液を溶媒として懸濁液を調製した。

### 2. 使用動物

降圧作用の評価には、雄性SHR（SHR/Izm）を7日間の検疫・馴化飼育の後、12週齢で試験に供した。急性毒性の評価には、雄性SD系ラット〔CrI:CD（SD）、日本チャールス・リバー株式会社〕を7日間の検疫・馴化飼育の後、6週齢で試験に供した。

動物は温度23±2°C、相対湿度55±10%、換気回数10回以上/時、照明時間7:00～19:00の環境下で飼育し、飲料水は塩素濃度2 ppm前後の塩素殺菌水を、飼料は固型飼料CRF-1（オリエンタル酵母工業株式会社）を自由摂取させた。

## 3. 動物倫理

本試験は、厚生労働省通知 科発第0601001号（平成18年6月1日）「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本方針」を遵守し、Meiji Seika ファルマ株式会社「動物実験管理に関する指針」に従い、動物実験管理委員会で審査・承認された方法で実施した。

## 4. 試験方法

### 4-1. SHRを用いた降圧作用の評価

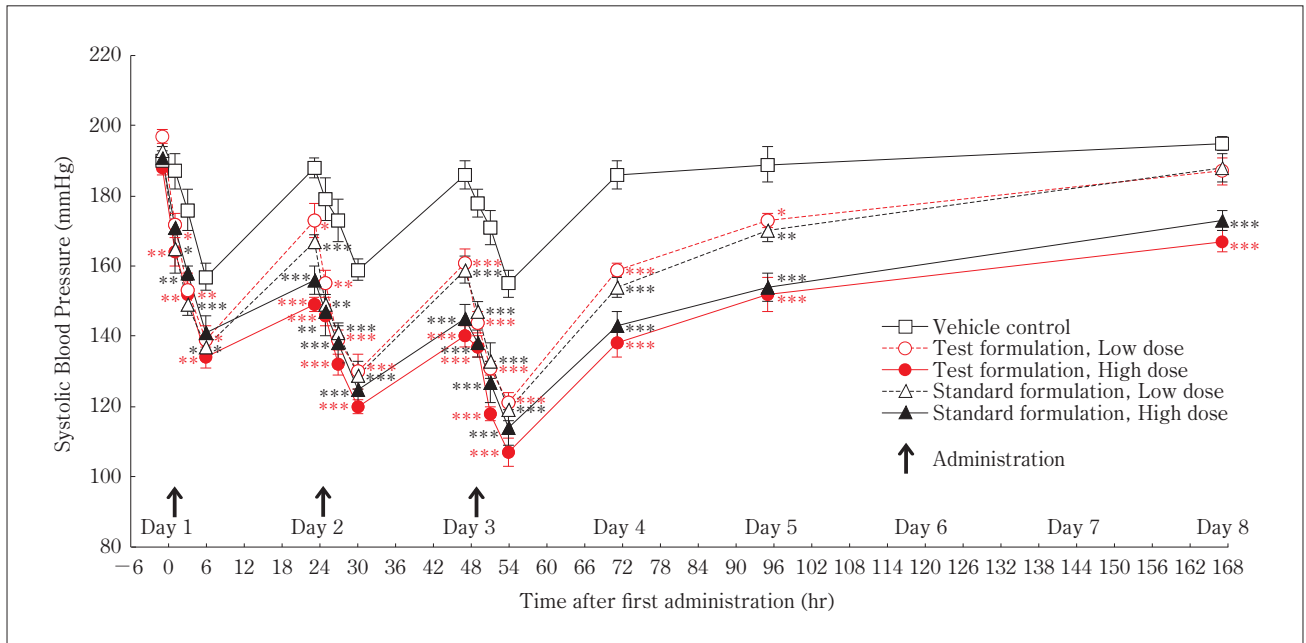
体重269～339 g、12週齢で収縮期血圧が170 mmHg以上の雄性SHRを用いた。試験群は、陰性対照群、試験製剤の低用量群及び高用量群、並びに標準製剤の低用量群及び高用量群の合計5群とし、各群の例数を6匹とした。試験製剤及び標準製剤の投与用量は、カンデサルタン シレキセチルとして低用量群で1 mg/kg、高用量群で10 mg/kgとした。投与容量は10 mL/kgとした。初回投与日をDay 1とし、Day 1～3の午前11時頃に、1日1回、3日間の反復経口投与を行った。陰性対照群には、溶媒である0.5%メチルセルロース溶液を同様の方法で投与した。最終投与の翌日であるDay 4よりDay 8まで5日間の回復期間を設けた。

血圧の測定は、38°Cに設定した保定装置でSHRを予備保温した後、非観血自動血圧測定装置（BP-98A、株式会社ソフトロン）を用いて尾動脈の収縮期血圧を測定した。測定は、投与期間中は投与1時間前（午前10時頃）、投与1、3及び6時間後に行い、回復期間中はDay 4、5、8の午前10時頃に1回行った。

### 4-2. SD系ラットを用いた急性毒性試験

体重176～183 g、6週齢の雄性SD系ラットを用いた。試験群は、陰性対照群、試験製剤群及び標準製剤群の3群とし、各群の例数を3匹とした。約17時間の絶食の後、Day 1に試験製剤または標準製剤をカンデサルタン シレキセチルとして20 mg/kgの用量で単回経口投与した。投与容量は10 mL/kgとした。陰性対照群には、溶媒である0.5%メチルセルロース溶液を同様の方法で投与した。投与翌日より剖検日まで7日間（Day 2～8）の観察期間を設けた。

試験期間中は生死を含む一般状態観察及び体重測定を行い、観察最終日にイソフルラン麻酔下でラットを放血安楽死させた後、剖検を行った。剖検の対



**Figure 1** Effect of Candesartan Cilexetil on systolic blood pressure (SBP) in SHR

Each value represents the mean  $\pm$  SE (n=6).

SBP was analyzed using Dunnett's test between vehicle control group and test formulation groups or standard formulation groups at the same time points.

P < 0.05 (two-tail) was considered statistically significant; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 and \*\*\*P < 0.001 vs control group

Dosage: Low dose, 1 mg/kg; High dose, 10 mg/kg

象臓器は脳、心臓、脾臓、肺、気管、食道、胃、小腸、大腸、膵臓、肝臓、腎臓、副腎、膀胱、精巣、前立腺、精囊、胸腺、甲状腺、腸間膜リンパ節、皮膚及び大腿部骨格筋とし、肉眼的観察を行った。

## 5. 統計学的処理

検定はいずれの評価試験にも EXSUS Ver.8.0 (株式会社 CAC エクシケア) を使用し、有意水準は両側 5%とした。

### 5-1. SHR を用いた降圧作用の評価

収縮期血圧値の平均値及び標準誤差を算出した。各測定時点において、陰性対照群と試験製剤の低用量群及び高用量群、並びに陰性対照群と標準製剤の低用量群及び高用量群について、Bartlett 検定による等分散性の検定を行い、等分散の場合は Dunnett の多重比較検定を、非等分散の場合は Dunnett の多重比較検定 (Joint ranking) を実施した。

### 5-2. SD 系ラットを用いた急性毒性試験

体重の平均値及び標準誤差を算出した。各測定時点において、陰性対照群と試験製剤群間、並びに陰性対照群と標準製剤群間で Student の t 検定を実施した。

## II. 結 果

### 1. SHR を用いた降圧作用の評価

陰性対照群の血圧は昼間に低下し、いわゆる日内変動が認められた。

試験製剤群及び標準製剤群の血圧は、いずれの用量においても初回投与後から陰性対照群に比べ低値を示し、有意差が認められた (Figure 1)。両製剤とも、投与期間中 (Day 1~3) の血圧の低下は、高用量群の方が低用量群に比べてより顕著であった。最終投与終了後 (Day 4~8) は、両製剤のいずれの用量群においても徐々に血圧が回復した。

試験製剤群及び標準製剤群の血圧は、いずれの用量においても、試験期間を通じて同様の推移をたどり、両製剤間に明らかな差は認められなかった。

### 2. SD 系ラットを用いた急性毒性試験

いずれの群にも、投与日から剖検日まで死亡は認められず、一般状態の異常も認められなかった (Table 1)。体重は試験製剤群及び標準製剤群ともに、陰性対照群と同様に推移し、有意差は認められなかった (Table 2)。投与から 7 日後に実施した剖検でも、いずれの群にも毒性所見は認められなかつ

**Table 1** Clinical observation in SD rats treated with Candesartan Cilexetil

Group	Findings	Day 1 (The day of administration)					Day							
		Pre	0-0.2 hr	1 hr	3 hr	6 hr	2	3	4	5	6	7	8	
Vehicle control	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Remarkable changes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Test formulation	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Remarkable changes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Standard formulation	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Remarkable changes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

n, Number of animals

Dosage: 20 mg/kg

**Table 2** Body weight changes in SD rats treated with Candesartan Cilexetil

Group	Body weight (g)			
	Day - 1	Day 1	Day 4	Day 8
Vehicle control	202.3 ± 2.3	180.0 ± 1.5	231.0 ± 2.9	270.7 ± 3.5
Test formulation	201.3 ± 1.2	180.3 ± 2.2	231.0 ± 2.6	270.0 ± 4.5
Standard formulation	201.3 ± 1.5	177.3 ± 0.9	228.0 ± 2.3	264.7 ± 5.6

Each value represents the mean ± SE (n=3).

Dosage: 20 mg/kg

No significant difference from vehicle control group (Student's t-test).

た。

### Ⅲ. 考 察

Meiji Seika ファルマ株式会社が開発中のカンデサルタン シレキセチル錠は、アンジオテンシンⅡのAT<sub>1</sub>受容体の選択的拮抗薬であり、高血圧症治療薬であるプロプレス®錠（武田薬品工業株式会社：以下、標準製剤）と有効成分を同量含有する同一剤型の後発医薬品である。

後発医薬品は、「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン」に従い製剤評価（溶出試験及びヒトでの生物学的同等性試験）を実施し、先発医薬品と同等であることが認められ、製造販売承認される医薬品である。さらに、後発医薬品はこれら承認申請に必要なデータのほかに、可能な限り品質や治療効果、副作用に関する情報提供が必要と考えられる。本稿では試験製剤が非臨床において先発医薬品と同様の有効性及び安全性を示すか検討した。有効性評価としてSHRを用いた降圧効果の評価を行い、安全性評価としてSD系ラットを用いた急性毒性の評価を行った。

SHRに試験製剤及び標準製剤をカンデサルタン

シレキセチルとして1 mg/kg及び10 mg/kgの2用量で1日1回、3日間反復経口投与し、収縮期血圧を測定した。すべての群において血圧の日内変動が認められた。両製剤群は、陰性対照群に比べ初回投与後から血圧が有意に低下した。両製剤とも、投与期間中の血圧の低下は、高用量群の方が低用量群に比べてより顕著であった。投与期間中は効果が持続し、最終投与終了後は両製剤群とも徐々に血圧が回復した。カンデサルタン シレキセチルはSHRを用いた評価において、投与終了後に投与前値よりも血圧が高くなるようなリバウンド現象が観察されないことが明らかとなっている<sup>2)</sup>。本稿においても、試験製剤及び標準製剤の両製剤群でリバウンド現象は認められなかった。また、試験製剤群と標準製剤群は、試験期間を通じて同様の血圧の推移をたどった。

SD系ラットに試験製剤及び標準製剤をカンデサルタン シレキセチルとして20 mg/kgの用量で単回経口投与し、一般状態観察、体重測定及び剖検を行った。その結果、両製剤群とも一般状態に変化はなく、体重の推移及び剖検に異常は認められなかった。なお、本試験の投与用量である20 mg/kgは、

成人の体重を 60 kg として換算した場合, 1200 mg (= 20 mg/kg × 60 kg) となり, プロプレス<sup>®</sup>錠の臨床での1日の最大用量 (12 mg)<sup>1)</sup> の100倍の用量であった。

以上より, Meiji Seika ファルマ株式会社が開発中のカンデサルタン シレキセチル錠は, プロプレス<sup>®</sup>錠と同程度の有効性及び安全性を有していることが示唆され, 臨床においてプロプレス<sup>®</sup>錠と同様な治療効果を発揮することが期待される。

#### 参 考 文 献

- 1) 医薬品インタビューフォーム. 日本薬局方 カンデサルタン シレキセチル錠, プロプレス<sup>®</sup>錠 2・4・8・12. 武田薬品工業株式会社, 2013年3月改訂 (改訂第8版)
- 2) Inada Y, Wada T, Shibouta Y, et al: Antihypertensive effects of a highly potent and long-acting angiotensin II subtype-1 receptor antagonist, (+-)-1-(cyclohexyloxycarbonyloxy) ethyl 2-ethoxy-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1H-benzimidazole-7-carboxylate (TCV-116), in various hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* **268**: 1540-1547, 1994.