

ジャヌビア[®]錠25mg/グラクティブ[®]錠25mg
ジャヌビア[®]錠50mg/グラクティブ[®]錠50mg
ジャヌビア[®]錠100mg/グラクティブ[®]錠100mg
(シタグリプチンリン酸塩水和物)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

萬有製薬株式会社／小野薬品工業株式会社

目次

	頁
表一覧.....	2
図一覧.....	3
1 まとめ.....	4
2 解析方法.....	5
3 吸収.....	5
3.1 ラット.....	5
3.2 イヌ.....	7
3.3 反復投与時の薬物動態.....	7
4 分布.....	10
4.1 ラットにおける組織分布.....	10
4.2 ラット及びウサギにおける胎盤移行性.....	13
4.3 In vitro 血漿タンパク結合率.....	13
4.4 In vitro 血液血漿濃度比.....	14
4.5 P糖タンパク質による in vitro 輸送.....	14
4.6 腎トランスポーターによる細胞内取込み.....	15
5 代謝.....	18
5.1 マウス及びウサギにおける in vivo 代謝.....	18
5.2 ラットにおける in vivo 代謝.....	19
5.3 イヌにおける in vivo 代謝.....	19
5.4 ヒトにおける in vivo 代謝.....	22
5.5 マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトにおける in vitro 代謝.....	23
5.6 シタグリプチンの代謝に関与する CYP 分子種の同定.....	23
5.7 シタグリプチンのヒト肝ミクロソーム由来 CYP 阻害能評価.....	24
5.8 シタグリプチンのヒト CYP3A4誘導能評価.....	24
6 排泄.....	24
6.1 ラット.....	24
6.2 イヌ.....	25
6.3 ラット乳汁中への移行.....	25
7 薬物動態学的薬物相互作用.....	26
8 その他の薬物動態試験.....	26
9 考察及び結論.....	26
10 参考文献.....	28

表一覧

	頁
表2.6.4: 1	6
ラットにシタグリブチンを静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ ^a	
表2.6.4: 2	9
イヌにシタグリブチンを静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ ^a	
表2.6.4: 3	11
ラットに ¹⁴ C-シタグリブチンを2 mg/kg で静脈内投与したときの各組織中放射能濃度	
表2.6.4: 4	12
ラットに ¹⁴ C-シタグリブチンを5 mg/kg で経口投与したときの各組織中放射能濃度	
表2.6.4: 5	13
ラット及びウサギに反復経口投与したときの妊娠第20日におけるシタグリブチン平均血漿中濃度	
表2.6.4: 6	14
マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿における ³ H-シタグリブチンの in vitro タンパク結合率	
表2.6.4: 7	15
LLC-PK1細胞、MDR1/Mdr1a 発現 LLC-PK1細胞におけるシタグリブチンの経細胞輸送	
表2.6.4: 8	21
¹⁴ C-シタグリブチンを静脈内又は経口単回投与したときのヒトの尿中／糞中、ラット及びイヌの尿中／胆汁中放射能に対する未変化体及び代謝物の割合 ^a	
表2.6.4: 9	25
ラット及びイヌに ¹⁴ C-シタグリブチンを単回静脈内及び経口投与したときの放射能排泄率	

図一覧

	頁
図2.6.4: 1	¹⁴ C-シタグリプチンの化学構造 5
図2.6.4: 2	雄ラットにシタグリプチンを静脈内及び経口投与したときの血漿中濃度 7
図2.6.4: 3	雄イヌにシタグリプチンを静脈内及び経口投与したときの血漿中濃度 9
図2.6.4: 4	hOAT3安定発現 CHO-K1細胞への ¹⁴ C-シタグリプチン (10 µM) の取込み及びプロベネシドによる阻害 16
図2.6.4: 5	hOAT1を介した ³ H-シドフォビル (10 µM) の細胞内取込みに対するシタグリプチンの影響 17
図2.6.4: 6	hOAT3を介した ³ H-シメチジン (10 µM) の細胞内取込みに対するシタグリプチンの影響 18
図2.6.4: 7	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトにおける ¹⁴ C-シタグリプチンの推定代謝経路 20
図2.6.4: 8	ラット (20 mg/kg)、イヌ (2 mg/kg) 及びヒト (83.04 mg) に ¹⁴ C-シタグリプチンを経口投与したときの血漿ラジオクロマトグラム 22

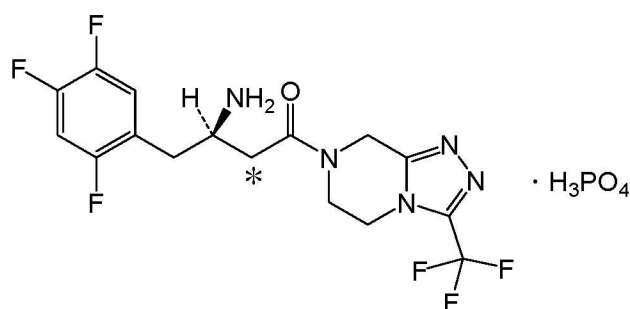
1 まとめ

シタグリプチンは、ヒトのジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4) の強力かつ選択的な阻害剤であり、2型糖尿病の治療を目的として開発された。本項では、シタグリプチンの毒性評価に選んだ2種の動物種、ラット及びイヌにおけるシタグリプチンの吸収、分布、代謝及び排泄 (ADME) について述べる。実施した非臨床 ADME 試験の一覧を[2.6.5.1項]の薬物動態試験概要表に示す。また、XXXXXXXXXX (ICR) BR XXXXXXXXXX マウス (がん原性試験に用いた動物2種のうちの1種) 及び Dutch-belted ウサギにおいても、シタグリプチンの代謝を検討した。ヒトと非臨床動物モデル間の種差を検討するため、ヒトでのシタグリプチンのタンパク結合性、代謝及び排泄についても考察した。

単回投与試験では、シタグリプチンリン酸塩無水物を生理食塩液に溶解して、静脈内投与及び経口投与を行った。胎盤移行試験及び乳汁移行試験では、シタグリプチンリン酸塩無水物を5 mM HCl 含有0.5%メチルセルロースに懸濁して用いた。代謝、排泄及び組織分布に関するほとんどの試験に、¹⁴C-シタグリプチン[図2.6.4: 1]を用いた。

非臨床 ADME 試験の結果から、シタグリプチンは中～高クリアランス型薬剤であり、血漿中半減期は比較的短いことが示された。ラット及びイヌにおいて、シタグリプチンは速やかに吸収され、良好な生物学的利用率を有した。経口投与後の薬物動態はイヌではおおむね線形であり、ラットでは $AUC_{0-\infty}$ は用量比をわずかに上回って増大した。反復経口投与毒性試験のトキシコキネティクスの結果 (イヌ及びサル) より、シタグリプチンの薬物動態は反復投与による影響を受けないと考えられた。¹⁴C-シタグリプチンをラットに単回静脈内及び経口投与したとき、放射能は速やかかつ広く全身に分布し、すべての組織から効率良く消失した。シタグリプチンはラット及びウサギの胎盤を通過し、またラット乳汁中に分泌されることが明らかになった。マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおいて、シタグリプチンは低い *in vitro* 血漿タンパク結合率を示した。シタグリプチンは、イヌ及びヒトでは主に腎臓から未変化体として排泄されたが、ラットでは腎排泄及び胆汁排泄により消失した。投与放射能の約5～16%が、第I相及び第II相の代謝物として排泄物中に回収された。シタグリプチンの代謝物は、一級アミンのN-硫酸化、N-カルバモイルグルクロン酸抱合化、トリアゾロピペラジン環の水酸化、ピペラジン環の酸化的不飽和化とそれに続く一級アミンの分子内環化反応により生じるが、血漿中では低濃度であった。なお、ヒトで同定された代謝物はすべて、非臨床動物種においてその曝露が確認されている。臨床で想定される濃度において、シタグリプチンはチトクロム P450 (CYP)、P 糖タンパク質及びヒト有機アニオントランスポーターhOAT1及びhOAT3を阻害せず、ヒト CYP3A4を誘導しないことが *in vitro* 試験により示された。また、シタグリプチンは、マウス及びヒトの P 糖タンパク質及びヒト腎の有機アニオントランスポーターhOAT3の基質であることが示された。

なお、動物種は特に記載がない場合、ラットでは Sprague Dawley 系、マウスでは CD-1系、ウサギでは New Zealand White 系、イヌではビーグル犬、サルではアカゲザルを用いた。



* は¹⁴C 標識の位置を示す。

図2.6.4: 1 ¹⁴C-シタグリプチンの化学構造

2 解析方法

バリデーションされた液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) 測定法により、シタグリプチン (フリー体の分子量は407.32) の血漿中濃度を測定した。測定法の定量下限値は、ラット及びイヌ血漿でそれぞれ1.0及び5.0 ng/mL (2.46及び12.3 nM) であり、ラット血漿では1.0～10,000 ng/mL、イヌ血漿では5.0～20,000 ng/mL の濃度範囲で、良好な直線性及び再現性が示された。品質管理試料の日内及び日間の精度は、ラット、イヌいずれの場合も \blacksquare %以下であった (定量下限値での精度は \blacksquare %より良好) [2.6.5.2項]。なお、反復経口投与毒性試験のトキシコキネティクスにおいても同様の測定法を用い、その定量下限値は、イヌ及びサル血漿でそれぞれ4.89 nM 及び19.6 nM (投与12週目は9.82 nM) であった。各組織、血液、血漿、尿、胆汁及び糞中の総放射能は、液体シンチレーションカウンターにより測定した (一部の試料では燃焼法を用いた)。代謝物の同定は LC/MS を用いて行なった。代謝物 M-1 (N-硫酸抱合体) では、化学合成した標準試料との比較も実施した。2種の代謝物 (M2及び M5、環化体のシス-トランス異性体) は、イヌの尿から精製し、重水素置換を含む NMR 解析により同定した。

3 吸収

3.1 ラット

雄ラットに0.5、2及び5 mg/kg、雌ラットに2 mg/kg シタグリプチンを単回静脈内投与したとき、未変化体の血漿中濃度は時間依存的に低下した[図2.6.4: 2]。薬物動態パラメータは、血漿中濃度-時間曲線のデータを用いノンコンパートメントモデル解析により算出した。雄ラットにおけるシタグリプチンの平均血漿クリアランス (CL_p) は、上記3用量で40～48 mL/min/kg であり、雌ラットでは67 mL/min/kg であった[表2.6.4: 1]。血中クリアランスは血漿クリアランスとほぼ同様であると推察された (血液血漿濃度比は約1 [2.6.4.4.4項])。雌雄ラットにおける定常状態の分布容積 ($V_{d,ss}$) 及び消失相半減期 ($t_{1/2}$) の平均値は、それぞれ7～9 L/kg 及び約2時間であった[表2.6.4: 1]。非結合型シタグリプチンの腎クリアランスは、平均総血漿クリアランス (約45 mL/min/kg) を血漿中非結合型分率 (0.67 [2.6.4.4.3項]) で除し、さらに未変化体尿中排泄量の投与量に対する割合

(約0.5 [2.6.4.5.2項] [2.6.4.6.1項]) を乗じて、約34 mL/min/kg と算出された。この値は糸球体ろ過速度 (ラットで約5 mL/min/kg [資料4.3: 31]) を超えるもので、ラットではシタグリプチンが能動的に腎排泄を受けたことを意味する。

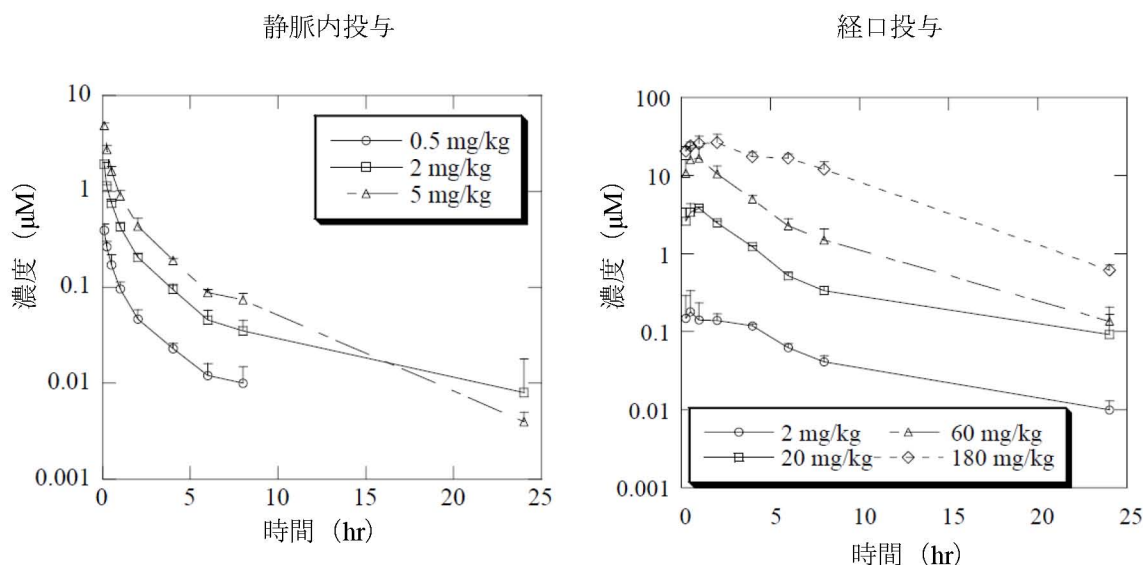
表2.6.4: 1 ラットにシタグリプチンを静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ^a

I. 静脈内投与						
性別	用量 (mg/kg) ^b	AUC _{0-∞} (μM•hr)	CL _p (mL/min/kg)	Vd _{ss} (L/kg)	t _{1/2} (hr)	
雄	0.5	0.46 ± 0.10	46 ± 8.2	8.8 ± 3.4	1.7 ± 0.3	
	2	2.05 ± 0.05	40 ± 0.96	8.1 ± 2.0	1.9 ± 0.3	
	5	4.28 ± 0.32	48 ± 3.6	7.4 ± 1.2	1.8 ± 0.2	
雌	2	1.23 ± 0.14	67 ± 7.1	9.0 ± 2.0	2.1 ± 0.1	
II. 経口投与						
性別	用量 (mg/kg) ^b	AUC _{0-∞} (μM•hr)	C _{max} (μM)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	F (%)
雄	2	1.20 ± 0.178	0.210 ± 0.132	0.5 - 4	2.6 ± 0.40	59 ^c
	20	15.2 ± 2.04	4.00 ± 0.384	0.5 - 1	2.1 ± 0.26	n.d. ^d
	60	60.9 ± 6.78	17.1 ± 6.57	0.5 - 1	2.3 ± 0.62	n.d.
	180	217 ± 26.9	27.8 ± 6.73	0.5 - 2	4.0 ± 0.17	n.d.
雌	2	1.01 ± 0.127	0.212 ± 0.046	0.5 - 2	2.4 ± 0.24	82 ^c
	180	161 ± 34.5	34.1 ± 4.81	0.25 - 2	2.9 ± 0.30	n.d.

^a 雌雄のラットに生理食塩水を媒体として、シタグリプチンリン酸塩無水物溶液を投与した。数値は平均±標準偏差を示す (n=3又は4)。ただし、T_{max}では実測値の範囲を示した。
^b 用量はフリー体 mg/kg 体重として示す。
^c 生物学的利用率 F (%) は、2 mg/kg 静脈内投与時の平均 AUC_{0-∞}に対する各用量の経口投与による平均 AUC_{0-∞}の割合として算出した。
^d n.d.=対応する用量の静脈内投与の結果を欠くため、算出しなかった。

[2.6.5.2項] [2.6.5.3項]

雄ラットに2、20、60及び180 mg/kg、雌ラットに2及び180 mg/kg の用量で、シタグリプチンを単回経口投与し、経口投与時の薬物動態の用量依存性を評価した[表2.6.4: 1]。雄ラットの血漿中濃度-時間曲線を[図2.6.4: 2]に示す。検討した用量範囲でシタグリプチンの吸収に飽和は認められなかったが、2 mg/kg と180 mg/kg の用量間において雄及び雌ラットの AUC は、それぞれ181及び159倍に増加しており、用量に伴い、消失が若干遅延する傾向が認められた。2 mg/kg 用量で経口投与したときの生物学的利用率は、雄及び雌ラットでそれぞれ59及び82%であった。



平均値±標準偏差 (n=3又は4) [2.6.5.2項] [2.6.5.3項]

図2.6.4.2 雄ラットにシタグリプチンを静脈内及び経口投与したときの血漿中濃度

3.2 イヌ

イヌにシタグリプチンを0.5及び1.5 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中濃度-時間曲線を[図2.6.4.3]に示す。平均 CL_p 、 Vd_{ss} 及び $t_{1/2}$ はそれぞれ、約9 mL/min/kg、3 L/kg 及び4時間であった[表2.6.4.2]。血中クリアランスは血漿クリアランスとほぼ同様であると推察された(血液血漿濃度比は約1 [2.6.4.4.4項])。

イヌにシタグリプチンを0.4、1.6、10及び30 mg/kg で単回経口投与し、経口投与時の薬物動態の用量依存性を評価した。血漿中濃度-時間曲線を[図2.6.4.3]に示す。AUCは用量に比例して増加し、検討した用量範囲では、シタグリプチンの吸収及び消失が飽和しないことが示された。経口投与時の生物学的利用率は、0.4 mg/kg で89%、1.6 mg/kg で97%であった[表2.6.4.2]。

3.3 反復投与時の薬物動態

雄イヌにシタグリプチンを2、10及び50 mg/kg/day で14週間反復経口投与したときの投与1日目の $AUC_{0-24\text{ hr}}$ は、それぞれ9.88、41.3及び217 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ 、投与13週目の $AUC_{0-24\text{ hr}}$ は、それぞれ9.41、47.6及び220 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ であり、いずれの用量においても投与1日目の $AUC_{0-24\text{ hr}}$ と投与13週目の $AUC_{0-24\text{ hr}}$ は類似していた[2.6.7.7.G項]。 C_{max} についても投与1日目(1.70、7.35及び39.3 μM)と投与13週目(1.67、8.22及び40.2 μM)で類似していた。 T_{max} はいずれの投与日においても0.5~1 hrの範囲内であり、吸収は速やかであった。また、雌イヌにおいてもシタグリプチンの薬物動態パラメータは、投与1日目と投与13週目で類似していた。

以上より、イヌにおけるシタグリプチンの薬物動態は、反復投与による影響を受けないと考えられた。

雄サルにシタグリプチンを10、30及び100 mg/kg/day で14週間反復経口投与したときの投与1日目の $AUC_{0-24\text{hr}}$ は、それぞれ12.4、45.2及び171 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ 、投与12週目の $AUC_{0-24\text{hr}}$ は、それぞれ15.0、46.0及び246 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ であり、いずれの用量においても投与1日目の $AUC_{0-24\text{hr}}$ と投与12週目の $AUC_{0-24\text{hr}}$ は、おおむね類似していた[表 2.6.6: 10] [表 2.6.6: 11]。 C_{max} についても投与1日目 (3.76、11.6及び37.6 μM) と投与12週目 (3.57、13.6及び42.5 μM) でおおむね類似していた。 T_{max} はいずれの投与日においても0.5~3 hr の範囲内であり、吸収は比較的速やかであった。また、雌サルにおいてもシタグリプチンの薬物動態パラメータは、投与1日目と投与12週目で類似していた。

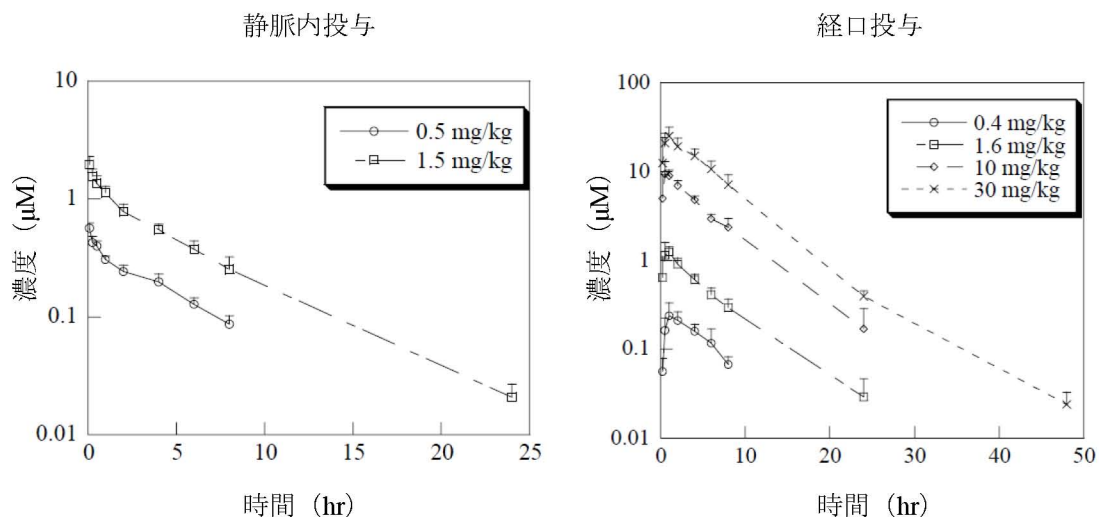
以上より、サルにおけるシタグリプチンの薬物動態は、反復投与による影響を受けないと考えられた。

表2.6.4: 2 イヌにシタグリプチンを静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ^a

I. 静脈内投与					
用量 (mg/kg) ^b	AUC _{0-∞} (μM•hr)	CL _p (mL/min/kg)	Vd _{ss} (L/kg)	t _{1/2} (hr)	
0.5	2.20 ± 0.36	9.3 ± 1.3	3.2 ± 0.1	4.0 ± 0.4	
1.5	7.11 ± 1.35	8.8 ± 1.5	3.4 ± 0.5	4.2 ± 0.2	
II. 経口投与					
用量 (mg/kg) ^b	AUC _{0-∞} (μM•hr)	C _{max} (μM)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	F (%)
0.4	1.62 ± 0.503	0.247 ± 0.080	1.0 - 2.0	3.8 ± 0.61	89 ± 20 ^c
1.6	7.18 ± 1.56	1.32 ± 0.240	0.5 - 1.0	4.5 ± 0.76	97 ± 29 ^c
10	54.2 ± 13.4	10.3 ± 2.05	0.5 - 1.0	4.7 ± 1.8	n.d. ^d
30	156 ± 29.2	26.5 ± 6.23	0.5 - 1.0	4.7 ± 0.29	n.d.

^a 生理食塩水を媒体として、シタグリプチンリン酸塩無水物溶液を雄のイヌに投与した。数値は平均±標準偏差を示す (n=3又は6)。ただし、T_{max}は実測値の範囲を示した。
^b 用量はフリー体 mg/kg 体重として示す。
^c 生物学的利用率 F (%) は、0.5及び1.5 mg/kg 静脈内投与時の動物ごと又は平均の AUC_{0-∞} に対する、それぞれ0.4及び1.6 mg/kg 経口投与による個々の AUC_{0-∞} の割合として算出した。
^d n.d.=対応する用量の静脈内投与の結果を欠くため、算出しなかった。

[2.6.5.2項] [2.6.5.3項]



平均値±標準偏差 (n=3又は6) [2.6.5.2項] [2.6.5.3項]

図2.6.4: 3 雄イヌにシタグリプチンを静脈内及び経口投与したときの血漿中濃度

4 分布

4.1 ラットにおける組織分布

ラットに¹⁴C-シタグリプチンを2 mg/kg で単回静脈内投与又は5 mg/kg で単回経口投与したとき、放射能は速やかかつ広く全身に分布した[2.6.5.4項]。

単回静脈内投与時の最高放射能濃度（シタグリプチン換算の放射能当量：μg eq./g 組織）は、血液（0.84 μg eq./g）、血漿（0.73 μg eq./g）のほか、ほとんどの組織で投与後5分に認められ、C_{max}到達後、放射能濃度は経時的に低下した[表2.6.4: 3]。投与後5分が高い放射能濃度（μg eq./g）を示した組織は、腎臓（9.72）、肝臓（8.46）、副腎（5.66）、甲状腺（5.52）、下垂体（5.48）、膵臓（4.75）、肺（4.63）及び膀胱（4.40）であった。投与後4時間までの組織中放射能濃度—時間曲線は、おおむね血中及び血漿中のそれと類似した。放射能濃度は速やかに低下し、24時間後には血液、血漿を含めて全組織中の濃度が0.4 μg eq./g 以下となった。

多くの組織において、組織／血漿の放射能濃度比は投与後4時間まで1を上回り、薬剤排泄に関わる臓器である肝臓（約12～35）、腎臓（約13～25）及び膀胱（約6～23）などで最も高い値を示した。一方で、この比は脳（約0.1）、脂肪組織（0.6～1）及び眼（約1）で最低値を示した。

単回静脈内投与後5分の時点で総投与量の約79%が、消化管及びその内容物を含めて各組織から回収され、特に骨格筋（約31%）、肝臓（約14%）及び皮膚（約7.7%）で最も高かった。投与後24時間では、各組織からの総回収量が平均で約1.9%となり、投与放射能の大半が24時間までに排泄されることが示された。

胃、小腸、盲腸及び大腸では、それぞれ投与後5分、1時間、4時間及び5分で C_{max}（それぞれ2.80、5.06、3.93、2.23 μg eq./g）に達した。静脈内投与後1時間及び4時間に、それぞれ投与量の約17.7及び28.6%と高い含量で放射能が消化管内容物にも認められたことから、未変化体及びその代謝物の消失に胆汁排泄の関与が示唆され、これは排泄試験の結果[2.6.4.6.1項]に一致した。

ラットに¹⁴C-シタグリプチンを5 mg/kg で単回経口投与したときの最高放射能濃度（シタグリプチン換算の放射能当量：μg eq./g 組織）は、血液、血漿のほか、ほとんどの組織で投与後1時間に認められ、C_{max}到達後、放射能濃度は経時的に低下した[表2.6.4: 4]。投与後1時間が高い放射能濃度（μg eq./g）を示した組織は、肝臓（8.09）、腎臓（5.37）、肺（2.64）、膵臓（2.50）、副腎（2.43）及び膀胱（1.72）であった。投与後8時間では、肝臓、腎臓、肺及び腸でのみ1 μg eq./g を超える組織中濃度を示した。また、投与後24時間には、肝臓と腎臓以外のすべての組織で、放射能濃度は0.2 μg eq./g 以下となった。

経口投与後の各組織／血漿放射能濃度比は、おおむね静脈内投与後の値と類似した[2.6.5.4項]。投与後8時間までの濃度比は、肝臓（22.0～30.7）、腎臓（14.7～28.0）、膀胱（3.98～10.1）、肺（6.35～11.7）、副腎（5.50～7.34）及び膵臓（4.54～8.75）で高い値を示し、脳（0.08～0.10）、脂肪（0.72～1.04）及び眼（0.37～0.63）で低い値を示した。

表2.6.4: 3 ラットに¹⁴C-シタグリプチンを2 mg/kg で静脈内投与したときの各組織中放射能濃度

組織	シタグリプチン放射能当量 (µg eq./g 組織) ^a			
	0.08時間	1時間	4時間	24時間
副腎	5.66 ± 2.19	1.64 ± 0.07	0.50 ± 0.10	0.02 ± 0.01
血液	0.84 ± 0.07	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.01	<0.01
骨 (大腿骨)	0.78 ± 0.14	0.23 ± 0.04	0.06 ± 0.01	<0.01
骨髓 (大腿骨)	1.47 ± 0.58	0.64 ± 0.25	0.13 ± 0.04	<0.01
脳	0.05 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00	<0.01
盲腸	1.80 ± 0.04	1.11 ± 0.19	3.93 ± 0.98	0.14 ± 0.08
精巣上体	0.58 ± 0.17	0.67 ± 0.06	0.41 ± 0.02	0.04 ± 0.01
眼	0.73 ± 0.20	0.21 ± 0.01	0.06 ± 0.02	<0.01
脂肪 (腸間膜)	0.45 ± 0.14	0.14 ± 0.05	0.06 ± 0.02	0.01 ± 0.02
心臓	2.39 ± 0.17	0.55 ± 0.13	0.15 ± 0.01	0.01 ± 0.00
大腸	2.23 ± 0.10	1.10 ± 0.12	1.81 ± 0.67	0.06 ± 0.02
小腸	4.21 ± 0.20	5.06 ± 0.16	2.74 ± 0.83	0.05 ± 0.01
腸内容物	0.82 ± 0.30	5.96 ± 1.45	5.36 ± 0.45	0.21 ± 0.12
腎臓	9.72 ± 1.45	2.96 ± 0.30	1.52 ± 0.04	0.40 ± 0.13
肝臓	8.46 ± 0.63	3.30 ± 0.40	1.96 ± 0.24	0.38 ± 0.07
肺	4.63 ± 0.37	1.92 ± 0.38	0.84 ± 0.09	0.06 ± 0.01
リンパ節 (上腕)	2.74 ± 0.68	0.87 ± 0.26	0.21 ± 0.04	0.01 ± 0.00
リンパ節 (腸間膜)	1.18 ± 0.39	0.30 ± 0.17	0.12	0.02 ± 0.02
筋肉 (骨格筋)	1.20 ± 0.46	0.89 ± 0.10	0.19 ± 0.02	<0.01
膵臓	4.75 ± 0.96	1.68 ± 0.52	0.36 ± 0.05	0.02 ± 0.01
血漿	0.73 ± 0.06	0.21 ± 0.02	0.06 ± 0.01	<0.01
下垂体	5.48 ± 3.71	1.39 ± 1.03	0.55 ± 0.41	<0.01
前立腺	2.40 ± 0.27	1.29 ± 0.84	0.33 ± 0.17	0.01 ± 0.01
皮膚 (肩甲下)	0.93 ± 0.15	0.52 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.01 ± 0.01
脾臓	3.97 ± 0.28	0.73 ± 0.34	0.58 ± 0.45	0.03 ± 0.01
胃	2.80 ± 0.04	1.32 ± 0.19	0.24 ± 0.03	0.03 ± 0.03
胃内容物	0.19 ± 0.23	0.10 ± 0.04	0.02 ± 0.01	<0.01
精巣	0.17 ± 0.04	0.32 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.03 ± 0.01
胸腺	1.29 ± 0.06	0.91 ± 0.02	0.30 ± 0.06	0.02 ± 0.00
甲状腺	5.52 ± 0.60	0.70 ± 0.11	0.27 ± 0.10	<0.01
膀胱	4.40 ± 1.31	4.75 ± 3.60	1.26 ± 0.59	0.01 ± 0.01

^a 数値は平均±標準偏差 (各時点で n=3) 又は平均値 (同 n=2) を示す。

[2.6.5.4項]

表2.6.4: 4 ラットに¹⁴C-シタグリプチンを5 mg/kg で経口投与したときの各組織中放射能濃度

組織	シタグリプチン放射能当量 (µg eq./g 組織) ^a				
	0.5時間	1時間	4時間	8時間	24時間
副腎	1.75 ± 0.86	2.43 ± 0.38	1.87 ± 0.24	0.62 ± 0.08	0.05 ± 0.01
血液	0.32 ± 0.09	0.36 ± 0.08	0.33 ± 0.05	0.10 ± 0.01	0.01 ± 0.00
骨	0.29 ± 0.13	0.39 ± 0.05	0.33 ± 0.09	0.11 ± 0.00	0.01 ± 0.00
骨髄	0.58 ± 0.29	0.74 ± 0.18	0.59 ± 0.08	0.22 ± 0.02	0.02 ± 0.01
脳	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
眼 (両眼)	0.12 ± 0.06	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.03	0.06 ± 0.01	0.01 ± 0.00
脂肪 (生殖器)	0.22 ± 0.09	0.32 ± 0.06	0.32 ± 0.16	0.10 ± 0.03	0.01 ± 0.00
心臓	0.83 ± 0.23	1.00 ± 0.22	0.83 ± 0.16	0.23 ± 0.03	0.02 ± 0.01
腎臓	5.04 ± 0.71	5.37 ± 1.06	4.42 ± 0.59	2.72 ± 0.09	1.10 ± 0.11
大腸 (盲腸含む)	1.05 ± 0.50	1.36 ± 0.21	7.59 ± 4.41	5.56 ± 1.32	0.17 ± 0.06
大腸内容物/洗液	0.07 ± 0.04	0.09 ± 0.02	4.16 ± 2.29	20.20 ± 6.10	0.21 ± 0.09
肝臓	8.31 ± 1.65	8.09 ± 0.56	6.67 ± 1.18	2.99 ± 0.20	0.91 ± 0.10
肺	1.95 ± 0.57	2.64 ± 0.48	2.73 ± 0.37	1.13 ± 0.13	0.12 ± 0.01
リンパ節 (腸間膜)	1.00 ± 0.46	1.17 ± 0.24	0.94 ± 0.21	0.24 ± 0.02	0.03 ± 0.01
筋肉 (大腿)	0.36 ± 0.24	0.68 ± 0.21	0.66 ± 0.07	0.18 ± 0.02	0.01 ± 0.00
膵臓	2.52 ± 0.75	2.50 ± 0.30	1.73 ± 0.36	0.45 ± 0.08	0.04 ± 0.01
前立腺	1.07 ± 0.66	1.41 ± 0.14	2.90 ± 1.77	0.56 ± 0.19	0.03 ± 0.01
血漿	0.31 ± 0.09	0.33 ± 0.06	0.30 ± 0.05	0.10 ± 0.01	0.01 ± 0.00
唾液腺	1.49 ± 0.81	1.93 ± 0.59	1.50 ± 0.35	0.53 ± 0.09	0.04 ± 0.01
皮膚 (非色素性)	0.35 ± 0.19	0.56 ± 0.12	0.51 ± 0.04	0.17 ± 0.03	0.03 ± 0.00
小腸	35.60 ± 4.80	31.70 ± 2.40	18.90 ± 5.90	1.68 ± 0.25	0.07 ± 0.01
小腸内容物/洗液	29.70 ± 8.20	21.00 ± 4.40	12.70 ± 5.00	1.58 ± 0.38	0.05 ± 0.01
脾臓	1.03 ± 0.32	1.23 ± 0.20	0.98 ± 0.19	0.38 ± 0.02	0.06 ± 0.00
胃	23.00 ± 17.10	5.45 ± 3.68	1.47 ± 0.17	0.30 ± 0.07	0.03 ± 0.01
胃内容物/洗液	4.57 ± 3.28	2.29 ± 2.78	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.07	0.00 ± 0.00
精巣	0.09 ± 0.05	0.20 ± 0.04	0.45 ± 0.04	0.35 ± 0.04	0.05 ± 0.01
胸腺	0.45 ± 0.25	0.85 ± 0.23	0.93 ± 0.09	0.35 ± 0.04	0.04 ± 0.01
甲状腺	1.04 ± 0.44	1.19 ± 0.17	0.85 ± 0.20	0.18 ± 0.15	0.01 ± 0.02
膀胱	1.26 ± 0.75	1.72 ± 0.68	2.42 ± 1.20	0.96 ± 0.43	0.03 ± 0.02

^a 数値は平均±標準偏差 (各時点で n=3)

[2.6.5.4項]

4.2 ラット及びウサギにおける胎盤移行性

妊娠したラット及びウサギを用い、ラットには妊娠（GD）6～20日まで250及び1000 mg/kg/dayの用量で、ウサギにはGD7～20日まで125 mg/kg/dayの用量でシタグリプチンを反復経口投与し、GD20日に測定した母動物及び胎児血漿中の未変化体濃度より、シタグリプチンの胎盤移行性を検討した。血液試料は、GD20日の最終投与後0.5、1、2、4、8、12及び24時間（母体）、並びに2及び24時間（胎児）の各時点で採取した。ラット母動物のAUC、C_{max}及びT_{max}値は、250 mg/kg/day投与でそれぞれ276±20.0 µM·hr、26.5±5.80 µM及び1.0時間であり、1000 mg/kg/day投与では862±47.7 µM·hr、56.9±17.1 µM及び1.0時間であり、125 mg/kg/day投与のウサギ母動物では189±10.4 µM·hr、54.8±4.08 µM及び0.5時間であった[2.6.5.5項]。[表2.6.4: 5]に示すように、投与後2及び24時間におけるラット胎児の平均血漿中濃度は、両用量ともに母動物血漿中濃度のそれぞれ約45及び約80%であった。また、ウサギ胎児の平均血漿中濃度は投与後2及び24時間の時点で、母動物血漿中濃度のそれぞれ約66及び約30%であった。これらの結果から、シタグリプチンはラット及びウサギの胎盤を通過することが明らかになった。

表2.6.4: 5 ラット及びウサギに反復経口投与したときの妊娠第20日におけるシタグリプチン平均血漿中濃度

動物種	用量 (mg/kg/day)	時間 (hr)	血漿中濃度 (µM)		濃度比 (胎児/母動物)
			母動物	胎児	
ラット	250	2	11.7 ± 3.23	5.52 ± 1.67	0.463 ± 0.0274
		24	1.33 ± 0.258	0.990 ± 0.106	0.807 ± 0.111
	1000	2	41.3 ± 6.35	17.9 ± 2.90	0.435 ± 0.0196
		24	7.44 ± 2.54	5.27 ± 1.15	0.787 ± 0.0779
ウサギ	125	2	31.9 ± 4.95	18.1 ± 3.66	0.663 ± 0.205
		24	0.847 ± 0.0674	0.247 ± 0.00531	0.296 ± 0.0195

平均±標準誤差（各測定時点でn=4）、[2.6.5.5項]

4.3 In vitro 血漿タンパク結合率

超遠心分離法により、血漿タンパクと³H-シタグリプチンの可逆的結合を評価した[2.6.5.6項]。血漿タンパク結合率は検討したすべての動物種で類似し、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトで、それぞれ平均値として32、33、32、33及び38%であった[表2.6.4: 6]。動物種間で検討した濃度は若干異なる（各動物種で臨床的に妥当な用量に基づいて濃度を調整した）が、タンパク結合率は濃度に依存せず一定であった。ただし、ウサギ血漿では、タンパク結合率が0.02 µMでは42%であったのに対し0.2 µMで29%、2 µMで24%と低下する傾向を示した。標準偏差値を考慮すると、ヒトにおける血漿タンパク結合率の個体差は、大きくないと考えられた。

血漿タンパクであるアルブミン及び $\alpha 1$ -酸性糖タンパク質溶液を、生体内濃度（それぞれ40及び0.4 mg/mL）で³H-シタグリプチンとインキュベートした結果、タンパク結合率は $\alpha 1$ -酸性糖タンパク質（25%）よりもアルブミン（64%）で高い値を示した[2.6.5.7項]。

表2.6.4: 6 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿における³H-シタグリプチンの in vitro タンパク結合率

濃度 (μM)	結合率 (%) ^a				
	マウス	ラット	ウサギ	イヌ	ヒト
0.02	34 ± 1.1	n.d. ^b	42 ± 1.6	n.d.	46 ± 2.7
0.1	n.d.	36 ± 0.6	n.d.	32	41 ± 3.6
0.2	29 ± 2.2	n.d.	29 ± 1.1	n.d.	37
1.0	n.d.	32 ± 0.7	n.d.	37	37 ± 2.2
2.0	27 ± 0.2	n.d.	24 ± 0.6	n.d.	36 ± 3.3
5.0	34 ± 2.1	36 ± 1.3	n.d.	n.d.	36 ± 6.3
10	n.d.	32 ± 0.5	n.d.	31	34 ± 1.0
50	34 ± 1.1	34 ± 1.2	n.d.	n.d.	n.d.
200	33 ± 0.9	28 ± 1.6	n.d.	n.d.	n.d.
平均±標準偏差	32 ± 3.1	33 ± 3.0	32 ± 9.3	33 ± 3.2	38 ± 4.1

^a 数値は少なくとも3回の測定による平均±標準偏差であるが、標準偏差が示されない場合、数値は1又は2回の測定結果を示す。ヒト血漿の結合率データは、標準偏差を伴う場合は3又は4名の被験者から得た血漿を用いて、6又は12回の測定を行った結果を示す（ただし、0.2及び10 μM の場合は、1名の被験者から得た血漿を用いて、それぞれ1回及び3回の測定を行った結果である）。

^b n.d.=測定せず。

[2.6.5.6項]

4.4 In vitro 血液血漿濃度比

³H-シタグリプチン0.1、1及び10 μM とヘパリン添加新鮮血とをインキュベーションし、シタグリプチンの血球移行について評価した。その結果、平衡状態にある³H-シタグリプチンの血液血漿濃度比は、検討した3濃度において類似し、その平均値はラット、イヌ及びヒトにおいてそれぞれ1.08、1.04及び1.21であった[2.6.5.8項]。以上の結果から、これらの動物種で血中クリアランスは血漿クリアランスと類似することが示唆された。

4.5 P糖タンパク質による in vitro 輸送

シタグリプチン（10 μM ）の経細胞輸送について、LLC-PK1細胞と、ヒト及びマウス P糖タンパク質（Pgp）をコードする遺伝子である MDR1及び Mdr1a をそれぞれ発現させた LLC-PK1細胞を用いて評価した。LLC-PK1親細胞株の単層細胞中における、シタグリプチンの受動拡散はわず

かであった（4時間で4%未満）が、MDR1及び Mdr1a 発現細胞では、シタグリプチンの輸送は頂端膜から基底膜（A→B）方向より、基底膜から頂端膜（B→A）方向への輸送を示したので、シタグリプチンがヒト及びマウス Pgp の基質であることが示された[表2.6.4: 7]。

表2.6.4: 7 LLC-PK1細胞、MDR1/Mdr1a 発現 LLC-PK1細胞におけるシタグリプチンの経細胞輸送

時間 (hr)	輸送率 (%)			
	1	2	3	4
LLC-PK1 A→B	1.0	0.7	2.4	3.1
LLC-PK1 B→A	0.7	1.6	2.5	3.9
LLC-Mdr1a A→B	0.2	0.3	0.5	0.4
LLC-Mdr1a B→A	1.3	2.9	4.3	6.4
LLC-MDR1 A→B	0.6	0.6	0.7	0.9
LLC-MDR1 B→A	1.9	3.3	4.8	7.7
時間 (hr)	B→A/A→B 比			
	1	2	3	4
LLC-PK1	0.7	2.3	1.0	1.3
LLC-Mdr1a	6.5	9.7	8.6	16.0
LLC-MDR1	3.2	5.5	6.9	8.6

[2.6.5.9項]

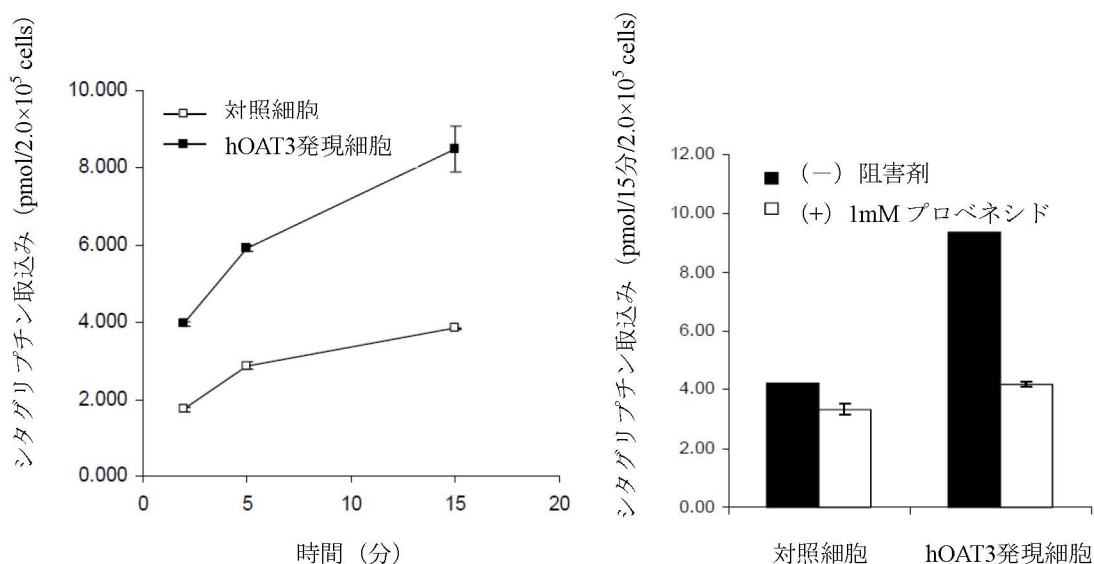
LLC-PK1細胞とヒト MDR1安定発現 LLC-PK1細胞を用いて、経細胞輸送試験を行い、数種の既知基質の Pgp を介する排出輸送に対する、シタグリプチンの影響を評価した。シタグリプチンは0.3～500 μM の濃度範囲で、Pgp を介するジゴキシシン、ベラパミル、リトナビル及びビンブラスチンの輸送に対して阻害作用を示さなかった。シタグリプチンは500 μM の濃度で、キニジンの Pgp を介する輸送を約30%とわずかに阻害したが、0.3～250 μM の濃度範囲では阻害作用を示さなかった。これに対し、Pgp の強力な阻害剤であるシクロスポリン A は、IC₅₀ = 1.1 ± 0.3 μM で Pgp によるシタグリプチン輸送を有意に阻害した[2.6.5.18項]。

4.6 腎トランスポーターによる細胞内取込み

ヒトの有機カチオントランスポーター2 (hOCT2)、有機アニオントランスポーター1、3及び4 (hOAT1、hOAT3及び hOAT4)、並びにペプチドトランスポーターhPEPT1を発現する細胞におけるシタグリプチンの細胞内取込みについて、これらのトランスポーターをコードする cDNA を一過性又は安定的に遺伝子導入した HEK-293、CHO-K1又は HeLa 細胞株を用いて検討した[2.6.5.10項]。その結果、hOCT2、hOAT1、hOAT3及び hOAT4を発現した HeLa 細胞では、¹⁴C-シタグリプチンの能動的な取込みは認められなかった。また、hOCT2及び hPEPT1を発現した HEK-293細胞

への取込みも認められなかった。一方、基質としてテトラエチルアンモニウム (hOCT2の標準基質)、パラアミノ馬尿酸 (hOAT1の標準基質) 及びグリシルサルコシン (hPEPT1の標準基質) を用いた場合は、能動的な取込みが認められ、hOCT2、hOAT1及び hPEPT1発現細胞における輸送活性が確認された。以上の結果から、これら実験条件下では、シタグリプチンは、hOCT2、hOAT1 及び hPEPT1の基質とならないことが示された。なお、hOAT3及び hOAT4の検討では、陽性対照を用いなかったことから、これら細胞株における hOAT3及び hOAT4によるシタグリプチン輸送に関する結果については、明確な判断は出来ないと考えられる。

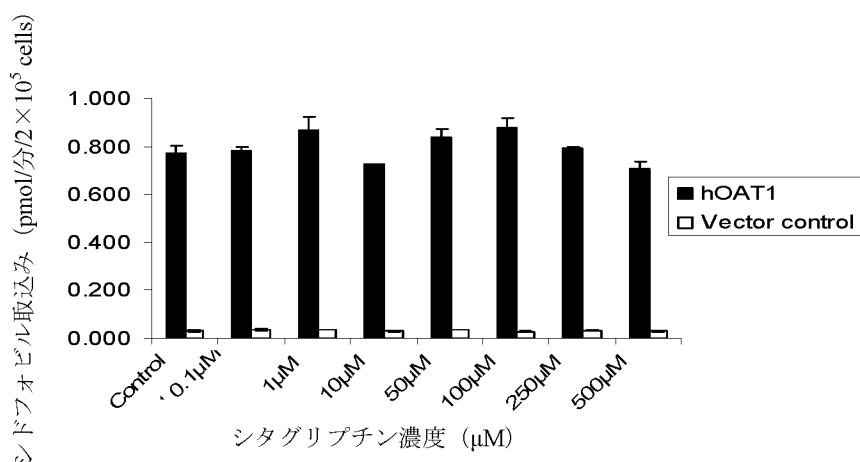
hOAT3安定発現 CHO-K1細胞を用いて、hOAT3によるシタグリプチン輸送を再評価した。 [図 2.6.4: 4]に示すとおり、hOAT3安定発現 CHO-K1細胞における¹⁴C-シタグリプチン10 μMの取込みは時間依存的であり、対照細胞による取込みを上回った。また、hOAT3介するシタグリプチンの輸送は、有機アニオントランスポーターの阻害剤であるプロベネシド (1 mM) により完全に阻害された[図2.6.4: 4]ことから、シタグリプチンはhOAT3の基質であることが示唆された。さらに、標準基質である³H-硫酸エストロンを用いた場合にも、hOAT3による時間依存的な取込みが認められ、hOAT3発現細胞における輸送活性が確認された。反応速度論的解析から、hOAT3を介するシタグリプチンの取込みのK_mは162 μMで、飽和性を有することが示された[2.6.5.10項]。



数値は平均±標準誤差 (n=3) 又は平均値 (n=2) [2.6.5.10項]

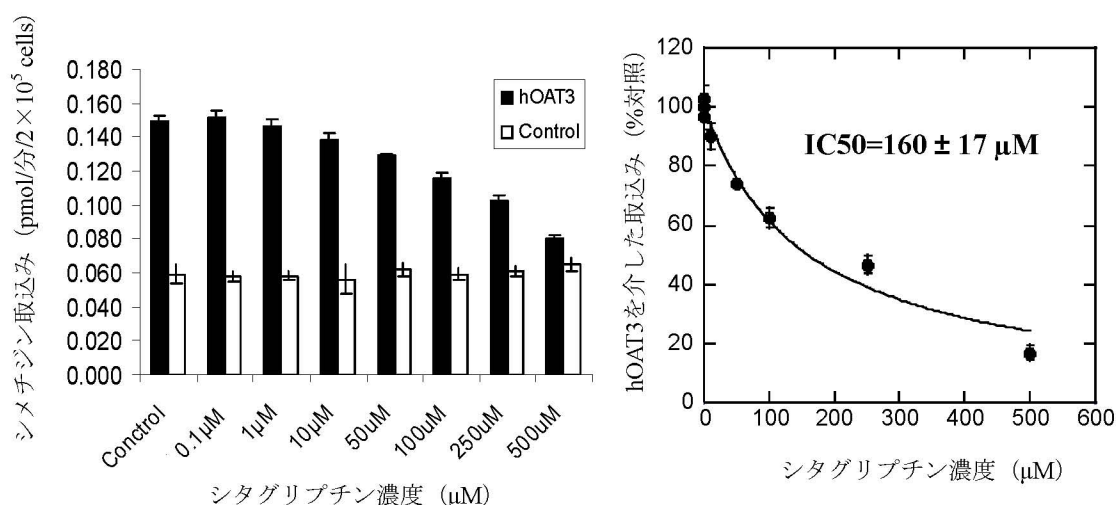
図2.6.4: 4 hOAT3安定発現 CHO-K1細胞への¹⁴C-シタグリプチン (10 μM) の取込み及びプロベネシドによる阻害

ヒト腎有機アニオントランスポーターhOAT1/3の基質として知られる化合物の、それらトランスポーターを介した輸送に対するシタグリプチンの影響について、hOAT1又はhOAT3を一過性又は安定的に遺伝子導入したCHO-K1細胞株を用いて検討した。シタグリプチンは、0.1から500 µMの濃度で、hOAT1を介した³H-シドフォビルの取込みを阻害しなかったが[図2.6.4: 5]、有機アニオントランスポーターの阻害剤であるプロベネシドは3.9±0.9 µMのIC₅₀値で、強力な阻害作用を示した。また、シタグリプチンはhOAT3を介した³H-シメチジンの取込みに対して160±17 µMのIC₅₀値で、弱い阻害作用を示し[図2.6.4: 6]、プロベネシドはhOAT3を介したシメチジンの取込みを、3.1±1.2 µMのIC₅₀値で有意に阻害した[2.6.5.10項]。



数値は平均±標準誤差 (n=3) [2.6.5.10項]

図2.6.4: 5 hOAT1を介した³H-シドフォビル (10 µM) の細胞内取込みに対するシタグリプチンの影響



数値は平均±標準誤差 (n=3) [2.6.5.10項]

図2.6.4: 6 hOAT3を介した³H-シメチジン (10 μM) の細胞内取込みに対するシタグリプチンの影響

hOAT3を介したシタグリプチンの取込みに対する種々化合物の影響を、hOAT3安定発現CHO-K1細胞を用いて検討した。その結果、プロベネシド、イブプロフェン、フロセミド、フェノフィブリック酸、キナプリル、インダパミド及びシメチジンは、それぞれ5.6±1.4 μM、3.7±0.3 μM、1.7±0.4 μM、2.2±0.1 μM、6.2±1.7 μM、11.1±1.7 μM及び78.6±19.8 μMのIC₅₀値でhOAT3を介したシタグリプチンの取込みを阻害した。エナラプリラート、フェノフィブラート及びガバペンチンは、100 μMの濃度までシタグリプチンの取込みに対して影響を及ぼさなかった。エナラプリルは100 μMの濃度でhOAT3を介したシタグリプチンの取込みを、コントロールの43±1.7%まで阻害した[2.6.5.10項]。

5 代謝

5.1 マウス及びウサギにおける in vivo 代謝

雄のマウス及び雌のウサギ (Dutch-belted 系) に¹⁴C-シタグリプチンを20 mg/kgで単回経口投与し、代謝について検討した[2.6.5.11項]。投与後8時間まで、血漿中の主要な放射性成分は未変化体であり、マウスでは放射能の43~68%、ウサギでは59~63%を占めた。代謝物は数種検出されたが、血漿中放射性成分としてはいずれも14%以下であった。これらの代謝物は一級アミンのN-硫酸化 (M1)、N-カルバモイルグルクロン酸抱合化 (M4)、ピペラジン環の酸化的不飽和化とそれに続く一級アミンの分子内環化 (M2及びM5)、トリアゾロピペラジン環の水酸化 (M6、2種類の位置異性体)、水酸化とそれに続くO-グルクロン酸抱合化 (M3)により生ずる[図2.6.4: 7]。これ

らの代謝物のうち、M1及びM6異性体の1つはウサギ血漿にのみ検出された。

5.2 ラットにおける in vivo 代謝

胆管カニューレ処理した雄のラットに、¹⁴C-シタグリプチンを2 mg/kg で単回静脈内投与及び5及び20 mg/kg で単回経口投与し、代謝について検討した[2.6.5.11項]。これらの用量で、投与放射能のそれぞれ約55、46及び53%が尿中に、21、22及び29%が胆汁中に回収された。糞中の放射能は測定しなかった。単回経口投与後に、胆汁及び尿から高い放射能回収率が得られたことから、シタグリプチンの高い吸収性が示された。尿及び胆汁中に回収された放射能のそれぞれ99%及び73~78%が未変化体に相当しており、in vivo 代謝の寄与はわずかであった[表2.6.4: 8]。未変化体以外では、M1、M4（微量）、水酸化体（M6）、グルタチオン抱合体、M3及びM2（20 mg/kg 経口投与でのみ微量）が胆汁中に検出された。尿中には、微量のM2、M3、M4、M5及びM6が認められた[表2.6.4: 8]。

ラットに¹⁴C-シタグリプチンを20 mg/kg で単回経口投与した場合、血漿中に回収される放射性成分は、主として未変化体であり、投与後1、4及び8時間に循環血中に検出される放射能の87~92%を占めた。また、微量のM1、M2、M3、M5及びM6代謝物が認められ、いずれも循環血中に検出される放射能の5%以下であった[図2.6.4: 8]。

以上の結果から、シタグリプチンのラットにおける代謝の寄与は小さく（回収量の5~8%）血漿中では、未変化体が主要な放射性成分であることが示された。

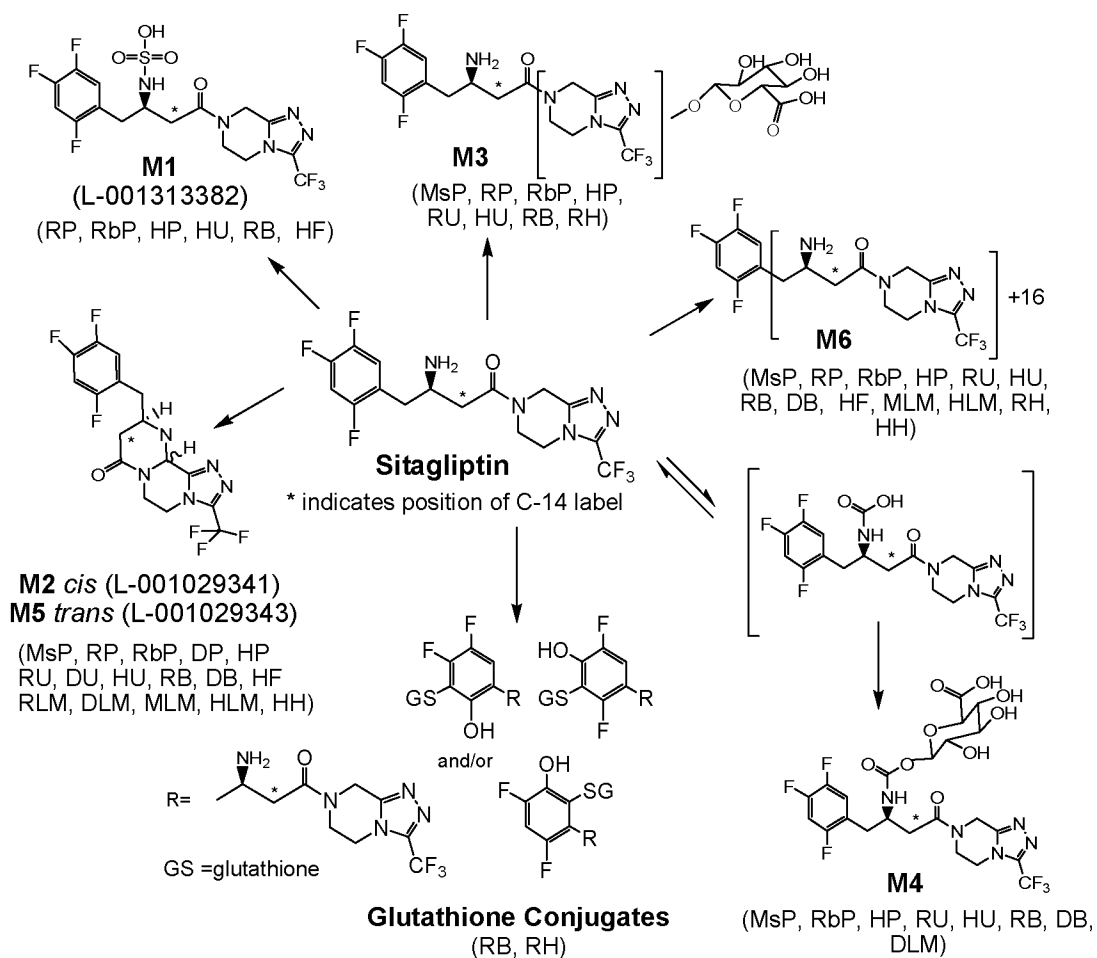
5.3 イヌにおける in vivo 代謝

胆管カニューレ処理した雄イヌに、¹⁴C-シタグリプチンを0.5 mg/kg で単回静脈内投与及び2 mg/kg で単回経口投与し、代謝について検討した[2.6.5.11項]。いずれの投与経路においても、大半の放射能は尿中に回収され（静脈内投与量及び経口投与量のそれぞれ約75及び77%）、わずかに約8%が胆汁中に排泄された。経口投与後に、胆汁及び尿から高い放射能回収率が得られたことから、シタグリプチンの高い吸収性が示された。胆汁及び尿に回収された放射能のほとんどが未変化体であり、単回静脈内投与及び単回経口投与後の胆汁中放射能のそれぞれ45及び38%、尿中放射能の99及び97%が未変化体に相当している。したがって、イヌにおける代謝の寄与はわずかであり[表2.6.4: 8]、静脈内投与及び経口投与した放射能のそれぞれ約77及び78%が、未変化体として排泄された。イヌ胆汁における主な代謝物は、N-カルバモイルグルクロン酸抱合体（M4）であり、これは胆汁中放射能の34~53%、また総投与放射能の3~4%に相当した。これら以外に胆汁中に回収された放射能は、水酸化体（M6）及び環化体M2及びM5であり、M2及びM5は微量ながら尿中で認められた唯一の代謝物であった[表2.6.4: 8]。

イヌに¹⁴C-シタグリプチンを2 mg/kg で経口投与した場合、血漿中に回収される放射性成分は主として未変化体であり、投与後1~12時間まで、循環血中に検出される放射能の53~96%を占めた

[2.6.5.11項]。これ以外の放射性成分は主として M5で、投与後1時間の4%から7時間で25%、12時間で32%、24時間時には48%に増加した。イヌ血漿中では、他に M2が唯一代謝物として検出されたが、これは投与後早期に微量に認められ、7~24時間では循環血中に存在する放射能の8%まで増加した[図2.6.4: 8] [2.6.5.11項]。

以上の結果から、シタグリプチンのイヌにおける代謝の寄与は小さく（回収量の約9%）、血漿中では、未変化体が主要な放射性成分であることが示された。



括弧内の略語は、シタグリプチン代謝物を検出した生体試料を示す：MsP=マウス血漿、RP=ラット血漿、RU=ラット尿、RB=ラット胆汁、RbP=ウサギ血漿、DP=イヌ血漿、DU=イヌ尿、DB=イヌ胆汁、HP=ヒト血漿、HU=ヒト尿、HF=ヒト糞、RLM=ラット肝ミクロソーム、DLM=イヌ肝ミクロソーム、MLM=サル肝ミクロソーム、HLM=ヒト肝ミクロソーム、RH=ラット肝細胞、HH=ヒト肝細胞[2.6.5.14項]

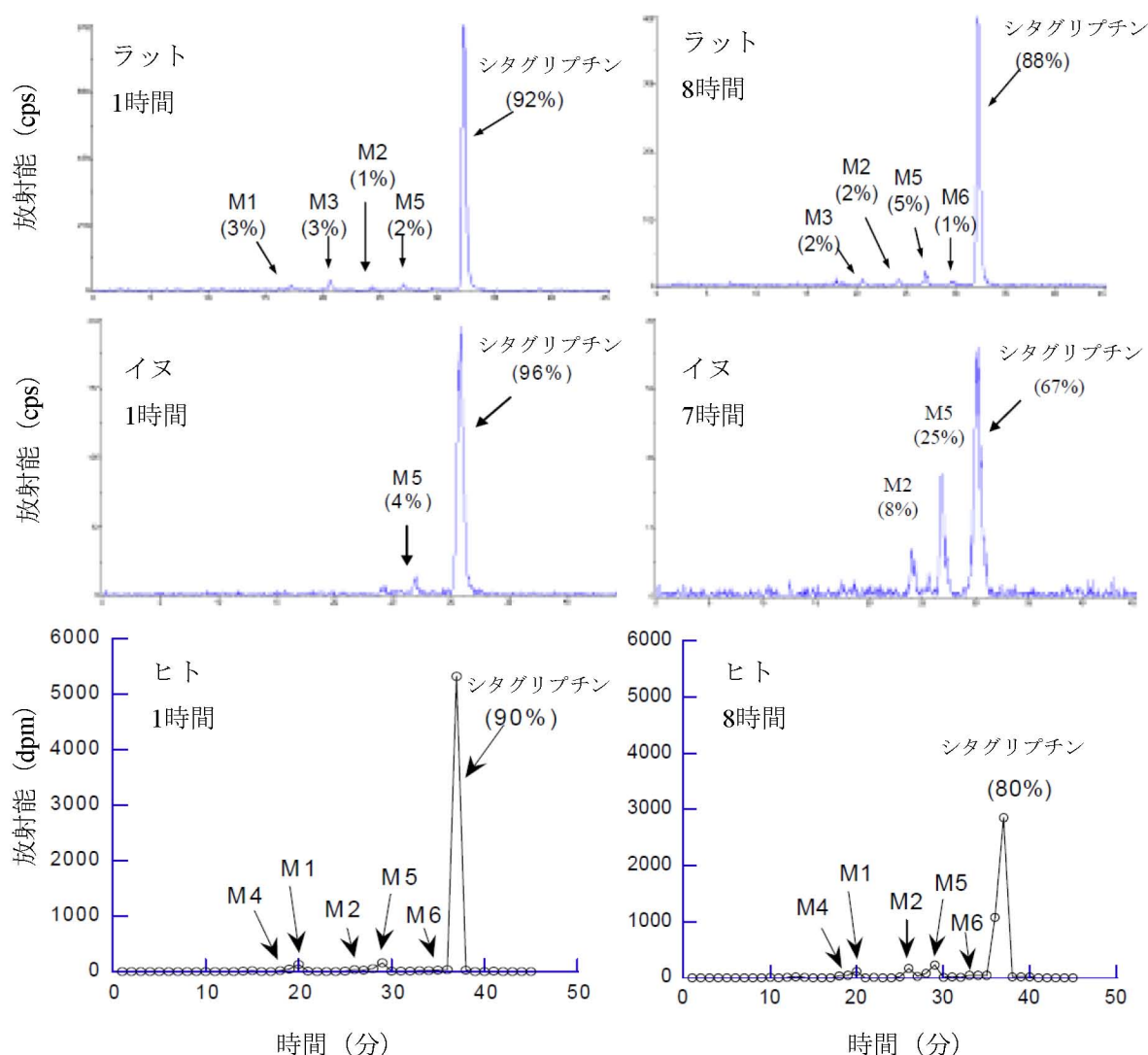
図2.6.4: 7 マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトにおける¹⁴C-シタグリプチンの推定代謝経路

表2.6.4: 8 ¹⁴C-シタグリプチンを静脈内又は経口単回投与したときのヒトの尿中／糞中、ラット及びイヌの尿中／胆汁中放射能に対する未変化体及び代謝物の割合^a

動物種	用量／経路	尿中放射能に対する割合 (%)							
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	GSH	シタグリプチン
ヒト	83.04／経口 ^b	4	2	4	2	1	2	n.d.	85
ラット	2／静脈内 ^c	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	99
	5／経口 ^c	n.d.	<1	<1	<1	<1	<1	n.d.	99
	20／経口 ^c	n.d.	<1	<1	n.d.	n.d.	<1	n.d.	99
イヌ	0.5／静脈内 ^d	n.d.	<1	n.d.	n.d.	<1	n.d.	n.d.	99
	2／経口 ^d	n.d.	2	n.d.	n.d.	2	n.d.	n.d.	97
動物種	用量／経路	糞又は胆汁中放射能に対する割合 (%)							
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	GSH	シタグリプチン
ヒト (糞)	83.04／経口 ^e	3	2	n.d.	n.d.	2	10	n.d.	79
ラット (胆汁)	2／静脈内 ^f	14	n.d.	5	n.d.	n.d.	5	4	73
	5／経口 ^f	8	n.d.	5	<1	n.d.	4	5	78
	20／経口 ^f	10	2	6	2	n.d.	3	3	74
イヌ (胆汁)	0.5／静脈内 ^g	n.d.	4	n.d.	34	n.d.	n.d.	n.d.	45
	2／経口 ^g	n.d.	4	n.d.	53	<1	5	n.d.	38

^a ラット3例、イヌ3例及びヒト5名から集めた検体抽出物の、HPLCによるラジオクロマトグラムで得たシタグリプチン及び代謝物の放射能割合 (%) を概略で示す。
^b 80 mg を健康男性被験者に投与した (n=5)。投与後0～168時間の蓄尿を分析した。この蓄尿期間で得られた平均の尿中放射能回収率は投与量の87±5.2%であった。
^c 用量：胆管カニューレ処理ラットに対し、2 mg/kg で静脈内投与、5 mg/kg で経口投与又は20 mg/kg で経口投与を行った (n=3/群)。投与後0～24時間の蓄尿を分析した。この蓄尿時間で得られた平均の尿中放射能回収率は、投与量のそれぞれ53、45及び50%であった。投与後24～72時間の回収率は投与量の2%以下であった。
^d 用量：胆管カニューレ処理イヌに対し、0.5 mg/kg で静脈内投与又は2 mg/kg で経口投与を行った (n=3/投与経路)。投与後0～72時間の蓄尿を分析した。この蓄尿期間で得られた平均の尿中放射能回収率は、投与量のそれぞれ74及び77%であった。投与後72～120時間の回収率は投与量の0.5%以下であった。
^e 80 mg を健康男性被験者に投与した (n=5)。投与後0～96時間に採取した糞を分析した。この期間で得られた平均の糞中放射能回収率は投与量の13±5.3%であった。投与後96～168時間の回収率は投与量の約0.1%であった。
^f 用量：胆管カニューレ処理ラットに対し、2 mg/kg で静脈内投与、5 mg/kg で経口投与又は20 mg/kg で経口投与を行った (n=3/群)。投与後0～24時間に採取した胆汁を分析した。この時間で得られた平均の胆汁中回収率は、投与量のそれぞれ20、22及び29%であった。投与後24～72時間の回収率は投与量の0.5%未満であった。
^g 用量：胆管カニューレ処理イヌに対し、0.5 mg/kg で静脈内投与又は2 mg/kg で経口投与を行った (n=3/投与経路)。投与後0～72時間に採取した胆汁を分析した。この期間で得られた平均の胆汁中回収率は、静脈内／経口いずれの経路とも投与量の7.7%であった。投与後72～120時間の回収率は投与量の0.5%未満であった。
 n.d.：検出限界以下
 GSH：グルタチオン抱合体

[2.6.5.11項]



[2.6.5.11項]

図2.6.4: 8 ラット (20 mg/kg)、イヌ (2 mg/kg) 及びヒト (83.04 mg) に¹⁴C-シタグリプチンを経口投与したときの血漿ラジオクロマトグラム

5.4 ヒトにおける in vivo 代謝

健康男性被験者6例に¹⁴C-シタグリプチン83.04 mg (193.16 μCi) を経口投与し、シタグリプチンの代謝及び排泄を検討した[2.6.5.11項]。6例中5例では排泄物中の放射能総回収率はほぼ100%で、そのうち投与量の87%が尿中に回収された。また、投与量の大部分(約78%)が、投与後24時間以内に排泄された。6例中1例の被験者において放射能回収率が30%となり、他の5例の平均回収率(100%)を大きく下回った。回収率が低値を示した理由が不明であったため、当該被験者の結果は使用しなかった。

ヒト血漿中に検出される放射性成分は、主として未変化体であり、投与後1~18時間まで血漿中

放射能の78～90%を占めた。また、6種の代謝物が微量で検出され、それぞれ血漿中放射能の1%未満～7%を占めた。これらの代謝物はマウス、ラット、ウサギ及びイヌに一致して、M1、M2、M3、M4、M5及びM6であった[図2.6.4: 7] [図2.6.4: 8]。

未変化体は尿中及び糞中放射能のそれぞれ約85及び79%を占めた。尿中に回収された未変化体以外の放射能は、血漿中に検出された6種の代謝物と同様であり、いずれも総放射能の4%以下であった。糞中の代謝物組成は、尿中及び血漿中のそれと類似したが、グルクロン酸抱合体 (M3及びM4) は糞中に検出されなかった[表2.6.4: 8]。

以上の結果から、ヒトにおいて、シタグリブチンは主として未変化体として排泄されており、ラット及びイヌと同様の傾向を示した。ヒトの血漿、尿及び糞中に検出された代謝物はいずれも、ラット及びイヌの血漿、尿又は胆汁において認められた[図2.6.4: 7] [表2.6.4: 8]。血漿では未変化体が主要な放射性成分であった。血漿中に数種の代謝物がわずかに検出された (循環血中に回収される放射能の1%未満～7%) が、シタグリブチンの経口投与後に認められる薬理作用には寄与しないと考えられた。なお、代謝物 M1、M2及びM5はシタグリブチンと比較して、DPP-4阻害活性がそれぞれ約1/300、1/1000及び1/1000であることが示されている (シタグリブチンの $IC_{50} = 18$ nM に対し、それぞれ約5 μ M、>20 μ M 及び>20 μ M) [2.6.5.11項]。また、M3、M4及びM6の DPP-4阻害活性については評価されていない。

5.5 マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトにおける *in vitro* 代謝

ヒト及び非臨床動物種 (マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサル) の肝より調製したミクロソーム及び肝細胞を用いて、シタグリブチンの *in vitro* 代謝を検討した[2.6.5.12項]。その結果、検討したすべての動物種において、シタグリブチンは肝ミクロソーム及び肝細胞により、わずかに代謝された。 ^{14}C -シタグリブチン10 μ M を NADPH 産生系下で、雌雄のマウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト由来の肝ミクロソームと1時間インキュベートした結果、代謝された未変化体は13%以下であった。同様に、 ^{14}C -シタグリブチン10 μ M をラット、イヌ及びヒトの肝細胞と4時間インキュベートした結果、代謝された未変化体は15%未満であった。ミクロソーム及び肝細胞をインキュベーション後、抽出物を LC-MS/MS 分析した結果、雄のラット、イヌ、サル、ヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞中に M2及びM5、雄ラット肝細胞中に M3、雄のサル肝ミクロソーム、ヒト肝ミクロソーム、ラット及びヒト肝細胞中に M6、雄のラット肝細胞中に2種のグルタチオン抱合体が検出された。また、UDP-グルクロン酸及び CO_2 添加条件において、イヌ肝ミクロソームとのインキュベーションにより微量の M4が生じた。

5.6 シタグリブチンの代謝に関与する CYP 分子種の同定

組換え CYP 分子種 (CYP2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6及び3A4) とシタグリブチンをインキュベートした結果、CYP3A4に代謝活性が示され、CYP2C8にも弱いながら代謝活性が認められた。また、ヒト肝ミクロソームを抗 CYP3A4モノクローナル抗体とプレインキュベートした結

果、M5及びM6の生成が94%阻害され、M2生成も96%阻害された。同様の実験で、抗CYP2C8抗体はM2及びM5の生成を52～54%阻害したが、M6生成には影響しなかった。以上の結果から、CYP3A4はシタグリプチンの酸化的代謝物(M2、M5及びM6)の生成に関与する主要なCYP分子種であり、CYP2C8はM2及びM5の生成に部分的に関与すると結論された[2.6.5.13項]。

5.7 シタグリプチンのヒト肝ミクロソーム由来CYP阻害能評価

ヒト肝ミクロソーム中のCYP分子種(7種)に対する、シタグリプチンの可逆的阻害作用を評価した。検討したすべてのCYP分子種(CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6及び3A4)に対するシタグリプチンのIC₅₀は、100 µMより高値を示した[2.6.5.15項]。

また、ヒト肝CYP3A4(テストステロン6β-ヒドロキシラーゼ)活性に対する、プレインキュベーション時間依存的な阻害作用についても評価した。その結果、シタグリプチンはCYP3A4に対して時間依存的な阻害作用を示さなかった[2.6.5.16項]。

5.8 シタグリプチンのヒトCYP3A4誘導能評価

3名の臓器提供者より調製した初代培養肝細胞を用いて、シタグリプチンによるCYP3A4 mRNAの発現量及び酵素活性誘導作用について評価した。1及び10 µMのシタグリプチンで処理後、初代培養肝細胞におけるCYP3A4 mRNAの発現量及びCYP3A4活性(テストステロン6β-ヒドロキシラーゼ活性)を定量し、媒体対照及び陽性対照(10 µM リファンピシン)と比較した。その結果、1及び10 µMのシタグリプチン処理により、CYP3A4 mRNAの発現量及び酵素活性は、明らかな影響を受けなかった。すなわち、シタグリプチン処理後のCYP3A4 mRNA発現量及び酵素活性は、媒体処理肝細胞の数値と比較して10～30%以内であった(1 µMシタグリプチンとインキュベートした肝細胞の1検体のみ、mRNA発現量が媒体対照の数値を約50%下回った)。陽性対照のリファンピシン(10 µM)の処理後には、CYP3A4 mRNA発現量は7.9～10倍上昇し、CYP3A4活性の8.4～15倍上昇した。以上の結果より、シタグリプチンはCYP3A4を誘導しないことが示唆された[2.6.5.17項]。

6 排泄

6.1 ラット

ラットに¹⁴C-シタグリプチンを2 mg/kgで単回静脈内又は5 mg/kgで単回経口投与した後、5日間採尿したときの放射能回収率は、投与量のそれぞれ約53及び37%であり、最初の24時間での回収率は、それぞれ約52及び36%であった。また、糞中には静脈内投与の約40%、経口投与の約59%が回収された[表2.6.4: 9]。胆管カニューレ処理ラットでも同様の排泄傾向が認められたが、胆汁中の放射能回収率は、2 mg/kgで単回静脈内投与したときに投与量の21%、5及び20 mg/kgで単回経口投与したときではそれぞれ22%、29%であり[2.6.5.20項]、無処置ラットの糞中回収率を明らかに下回った。

表2.6.4: 9 ラット及びイヌに¹⁴C-シタグリプチンを単回静脈内及び経口投与したときの放射能排泄率

ラット (0~120時間)				
用量 (mg/kg)	投与経路	投与量に対する割合 (%)		
		尿	糞便	計
2	静脈内	53.5 ± 5.8	40.2 ± 3.2	94.8 ± 2.8
5	経口	37.3 ± 2.6	58.9 ± 2.5	97.3 ± 0.6
イヌ (0~96時間)				
0.5	静脈内	62.0 ± 14.2	9.8 ± 4.5	89.0 ± 5.6
2	経口	64.6 ± 6.4	17.3 ± 16.8	94.3 ± 17.4

数値は平均±標準偏差 (各投与経路とも n=3)。
 総回収率 (計) にはケージ洗浄液及び残屑の放射能も含む。

[2.6.5.19項]

6.2 イヌ

イヌに¹⁴C-シタグリプチンを0.5 mg/kg で単回静脈内投与したとき、平均で投与放射エネルギーの89%が排泄物中に回収され、特に投与量の約62%が尿中に排泄された。また、2 mg/kg で単回経口投与したときにも同様の排泄傾向が認められた[表2.6.4: 9]。排泄は速やかで、静脈内及び経口投与放射エネルギーのそれぞれ約77及び74%が、48時間以内に排泄物中に排泄された。

また、胆管カニューレ処理したイヌに、¹⁴C-シタグリプチンを0.5 mg/kg で単回静脈内投与及び2 mg/kg で単回経口投与し、胆汁及び尿中の放射能回収率を評価した。イヌ (n=3) に経口投与したとき、投与量に対する平均総放射能回収率 (0~120時間) は93%であり (ケージ洗浄液及び残屑を含む)、尿、胆汁及び糞中にはそれぞれ77、7.8及び4.2%が回収された。また、静脈内投与でも同様の排泄傾向が認められた[2.6.5.20項]。

6.3 ラット乳汁中への移行

授乳中のラットにおけるシタグリプチンの乳汁移行について検討するため、シタグリプチン (250又は1000 mg/kg) を妊娠 (GD) 6日から授乳 (LD) 14日まで反復経口投与し、LD14日に母動物血漿中及び乳汁中の未変化体濃度を測定した[2.6.5.21項]。LD14日の最終投与後2時間の時点で眼窩洞から血液を採取し、直ちにオキシトシン1単位を筋肉内投与した。約5分後、乳汁を10分かけて吸引採取した。250 mg/kg/day 投与におけるシタグリプチンの平均血漿中及び乳汁中濃度は、それぞれ14.8及び60.9 µM であり、1000 mg/kg/day 投与では、それぞれ33.5及び136 µM であった。検討した2用量とも、乳汁中のシタグリプチン濃度は母体血漿中濃度に比べ約4倍高かった。これらの結果から、授乳中のラットにおいて、シタグリプチンが体循環系より乳汁中に明らかに移行

することが示された。

7 薬物動態学的薬物相互作用

薬物代謝に基づく薬物相互作用の可能性について、*in vitro* で評価を行った[2.6.4.4.5項][2.6.4.4.6項][2.6.4.5.6項][2.6.4.5.7項][2.6.4.5.8項]。臨床で想定される濃度において、シタグリプチンはCYP活性を阻害せず、CYP3A4を誘導せず、またP糖タンパク質及びヒト有機アニオントランスポーターhOAT1/3を介した輸送を阻害しなかった[2.6.5.10項]。以上の結果から、シタグリプチンは薬物代謝に基づく薬物相互作用を誘発することはないと考えられる。

8 その他の薬物動態試験

他の薬物動態試験は行わなかった。

9 考察及び結論

シタグリプチンは、中（イヌ）～高（ラット）クリアランス型薬剤であり、短時間～中程度の血漿中消失半減期（2～4時間）を示す。ラット及びイヌにおいて、シタグリプチンは、経口投与後に速やかに吸収され、良好な生物学的利用率（60～100%）を示す。検討した用量範囲（ラット：2～180 mg/kg、イヌ：0.4～30 mg/kg）で、経口投与後のシタグリプチンの薬物動態はイヌではほぼ線形であったが、ラットではAUC_{0-∞}は用量比をわずかに上回って増大し消失に若干の飽和性が認められた。反復経口投与毒性試験のトキシコキネティクスの結果（イヌ及びサル）より、シタグリプチンの薬物動態は反復投与による影響を受けないと考えられた。ラットに¹⁴C-シタグリプチンを単回静脈内及び経口投与したとき、放射能は速やかかつ広く全身に分布し、静脈内投与と経口投与で類似した分布を示した。各組織/血漿の濃度比は、脳、脂肪組織及び眼を除くすべての組織で1を上回るが、すべての組織で放射能濃度は時間とともに低下する。シタグリプチンはラット及びウサギの胎盤を通過し、授乳中のラットでは乳汁中に移行する。マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおける、シタグリプチンの可逆的血漿タンパク結合率は低くその範囲は32～38%であった。シタグリプチンは、主に未変化体として尿（ラット、イヌ、ヒト）及び胆汁（ラット）中に排泄される。すなわち、ラット、イヌ及びヒトに¹⁴C-シタグリプチンを投与したとき、投与放射能のそれぞれ約50、60及び85%が主に未変化体として尿中に排泄される。またこれらの動物種では、投与した¹⁴C-シタグリプチンの5～16%が、排泄物中に代謝物として回収される。マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの血漿中では、未変化体が主要な放射性成分である。ヒトにおけるシタグリプチンの酸化的代謝は、非臨床動物種における代謝と類似し、マウス、ラット、ウサギ及びイヌでは、ヒトに存在するすべての代謝物（第I相及び第II相反応）による曝露が認められた。ヒト肝ミクロソームにおけるシタグリプチンの酸化的代謝は、CYP3A4によるが、一部CYP2C8も関与する。In vitro 試験により、シタグリプチンはP糖タンパク質及び腎の有機アニオントランスポーターhOAT3の基質であることが示された。臨床で想定される濃度において、シタグリプチンはCYP活性を阻害せず、CYP3A4を誘導せず、P糖タンパク質及びヒト有機アニ

シタグリブチンリン酸塩水和物 錠剤
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.4 薬物動態試験の概要文

オントランスポーター（hOAT1及び3）を介した輸送を阻害しなかった。

シタグリプチンリン酸塩水和物 錠剤
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.4 薬物動態試験の概要文

10 参考文献

[資料4.3: 31] Caron N, Kramp R. Measurement of changes in glomerular filtration rate induced by atrial natriuretic peptide in the rat kidney. *Exp Phys.* 1999; 84:689-96.