

エンパグリフロジン

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社

Proprietary confidential information

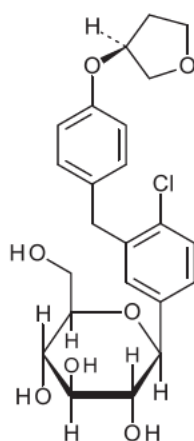
© 2013 **Boehringer Ingelheim International GmbH** or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

目 次

目 次.....	2
1. 緒 言	3

1. 緒言

エンパグリフロジン (INN) または BI 10773XX (企業コード) は 2 型糖尿病の経口治療薬として開発されている。エンパグリフロジンは化学的に (1*S*)-1,5-Anhydro-1-*C*-{4-chloro-3-[(4-{[(3*S*)-oxolan-3-yl]oxy}phenyl)methyl]phenyl}-*D*-glucitol と表される。フリー体の分子量は 450.91 g/mol である。



エンパグリフロジンは、2 型糖尿病患者における血糖コントロール改善のための食事療法および運動療法で効果がみられない場合の使用を予定している。エンパグリフロジンは経口投与可能なナトリウム-グルコース共役輸送担体 2 (SGLT2) 阻害剤であり、尿中へのグルコース排泄を促進して、2 型糖尿病患者の血糖値を低下させる。SGLT2 はナトリウム共役輸送担体の大きな 1 群、すなわち溶質キャリアー 5 (SLC5) 遺伝子ファミリー (通例 SGLT と表される) に属している。正常血糖下ではグルコースは腎臓の SGLT によってほぼ完全に再吸収されるが、腎臓の再取り込み能力は約 10~11 mM より高い血漿中グルコース濃度で飽和し、尿糖の増加をもたらす。2 型糖尿病患者は SGLT2 を含めて種々のグルコーストランスポーターをアップレギュレートしていることから、尿細管の最大グルコース再吸収能力が著しく増加している。したがって、SGLT2 の阻害によってグルコース再吸収能力を低下させるエンパグリフロジンは、新たな治療原理を示す。

エンパグリフロジンの最大推奨臨床用量は 25 mg 1 日 1 回である。臨床使用に対する曝露量比および安全域は、日本人の臨床試験で得られた $AUC_{0-24,ss}$: 6460 nM·h, $C_{max,ss}$: 869 nM [CTD5.3.4.2-2_U-2326] ならびに外国人の臨床試験で得られた $AUC_{0-24,ss}$: 4740 nM·h, $C_{max,ss}$: 687 nM [CTD5.3.4.2-1_U-1970] を用いて算出した。現時点ではエンパグリフロジンはどの国においても販売承認を取得していない。2 型糖尿病の治療薬としての販売承認を取得申請するために、エンパグリフロジンの非臨床薬理、薬物動態および毒性について評価した。エンパグリフロジンの開発中に実施されたすべての非臨床試験を、以下の概要文および概要表に示した。

エンパグリフロジン

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社

Proprietary confidential information

© 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

目 次

目 次	2
略号一覧表	4
1. まとめ	5
2. 効力を裏付ける試験	6
2.1 背景および根拠	6
2.2 SGLT2 阻害剤：作用機序	6
2.3 エンパグリフロジンの SGLT2 に対する <i>in vitro</i> 効力および選択性	7
2.3.1 SGLT2 および SGLT1 に対する阻害活性	7
2.3.2 他の SGLT サブタイプに対する阻害活性および SGLT2 選択性	7
2.3.3 GLUT に対する阻害作用	8
2.3.4 マウスの mSGLT1 および mSGLT2 に対する阻害活性	9
2.3.5 他の酵素および受容体に対する阻害活性	9
2.3.6 代謝物の SGLT2 に対する阻害作用	9
2.4 <i>In vivo</i> 試験	9
2.4.1 尿中グルコース排泄量に対する急性作用	9
2.4.2 血中グルコースに及ぼす急性効果	12
3. 副次的薬理試験	18
3.1 マウスにおける中枢神経系に対する作用	18
3.2 ラットにおける心血管系および呼吸系に対する作用	18
3.3 ラットにおける腎および肝機能ならびに臨床検査に対する作用	18
3.4 ラットにおける胃腸管系に対する作用	19
3.5 覚醒イヌにおける血行動態および心電図に対する作用	19
3.6 ラットにおけるエンパグリフロジンの体重増加抑制作用	22
3.7 1 型糖尿病動物モデルにおけるエンパグリフロジンの作用	22
3.8 効果を裏付ける試験，副次的薬理試験および臨床試験の曝露量の関係	25
4. 安全性薬理試験	27
4.1 ラットにおける中枢神経系に対する作用	27
4.2 心血管系に対する作用	27
4.2.1 <i>In vitro</i> の電気生理学的パラメータ	27
4.2.2 テレメータ装着イヌにおける <i>in vivo</i> での心血管系に対する作用	27
4.2.3 イヌ反復投与毒性試験における <i>in vivo</i> での心血管系に対する作用	27
4.3 呼吸系に対する作用	28
5. 薬力学的薬物相互作用	29
5.1 エンパグリフロジンとその他の糖尿病治療薬の併用作用	29
5.1.1 メトホルミンとの併用	29
5.1.2 インスリンとの併用	31

5.1.3	PPAR γ アゴニスト（ピオグリタゾン）との併用	32
5.1.4	グリピジドとの併用	34
5.1.5	リナグリプチンとの併用	35
5.1.6	エクセンジン-4 との併用	37
5.1.7	ボグリボースとの併用	38
6.	考察および結論	40
7.	参考文献	42

略号一覧表

ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the curve	時間曲線下面積
AUC _{0-t h}	Area under the curve between 0-t hours	0 時間から t 時間までの曲線下面積
b.w.	Body weight	体重
BI 10773	Empagliflozin	エンパグリフロジン
BUN	Blood urea nitrogen	血中尿素窒素
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid	相補的 DNA
CI	Confidence interval	信頼区間
Ctrl	Control	対照
CV% (CV)	Coefficient of variation in %	変動係数 (%)
DIO	Diet induced obesity	食事性肥満
DOG	Deoxyglucose	デオキシグルコース
DPP-4	Dipeptidyl peptidase-4	ジペプチジルペプチダーゼ-4
ECG	Electrocardiogram	心電図
ED ₅₀	Effective dose given 50% of the biological response	生体応答の 50%有効用量
GGT	Gamma glutamyltransferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
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
GLP-1	Glucagon Like Peptide 1	グルカゴン様ペプチド-1
GLUT1	glucose transporter 1	1 型糖輸送担体
HbA1c	Glycated hemoglobin A1c	ヘモグロビン A1c
HR	Heart rate	心拍数
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC ₅₀	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LV _{dP/dtmax}	Left ventricular contractility	心臓の収縮性の指標, 最大左室内圧上昇速度
LVP	Left ventricular pressure	左室内圧
n.s.	Not significant	有意差なし
OGTT	Oral glucose tolerance test	経口糖負荷試験
p (P)	Probability (significant at p < 0.05)	有意確率 (p<0.05 のとき有意)
qd	Once daily	1 日 1 回
SD	Standard deviation	標準偏差
SEM	Standard error of the mean	標準誤差
SGLT	Sodium-dependent glucose co-transporter	ナトリウム-グルコース共役輸送担体
Sign	Significance	有意性
SPF	Specific pathogen-free	特定病原体が存在しない状態
STZ	Streptozotocin	ストレプトゾトシン
ZDF	Zucker diabetic fatty	Zucker 糖尿病肥満

1. まとめ

エンパグリフロジン (BI 10773) はヒトナトリウム-グルコース共役輸送担体 2 (SGLT2) の強力かつ選択的な阻害剤で、 IC_{50} は 1.3 nM であり、ヒト SGLT1 (IC_{50} : 6278 nM) と比較して約 5000 倍の選択性を示した。

腎臓では、ろ過されたグルコースはネフロン近位尿細管 S1 および S3 セグメントにそれぞれ存在する SGLT2 と SGLT1 によってほぼ完全に (約 90% は SGLT2 を介し、残りは SGLT1 を介して) 再吸収される。

エンパグリフロジンは糖尿病および正常血糖動物において腎臓によるグルコースの再吸収を阻害し、尿中グルコース排泄量を増加させる。この作用機序により、単回および反復経口投与した糖尿病げっ歯類において、血中グルコース濃度を低下させた。糖尿病ラットにおける 1 日 1 回反復経口投与は、摂食時および空腹時血中グルコース濃度の低下から明らかなように、血糖コントロールの著明改善をもたらし、耐糖能を増強し、HbA1c 値を低下させた。

エンパグリフロジンの作用機序は、インスリン経路および β 細胞機能に依存したものではなく、現在臨床において使用されている 2 型糖尿病治療薬の機序とも異なっており、従来の薬剤の機序を補完するものである。したがって、Zucker 糖尿病肥満 (ZDF) ラットにおいて評価したところ、エンパグリフロジンは作用機序の異なるビッグアナイド薬、スルホニル尿素薬、 α -グルコシダーゼ阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4) 阻害剤、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) 受容体アゴニスト、インスリンおよびチアゾリジン薬などのすべての薬剤の作用に対して付加的な作用を示すことが明らかとなった。

また、エンパグリフロジンは高脂肪食下のげっ歯類において、尿糖排泄作用により尿中への熱量消失を引き起こし、結果として体重増加を抑えた。

最後に、エンパグリフロジンは 1 型糖尿病の非臨床モデルにおいても糖尿病治療効果を示し、その作用機序はインスリンに依存しないことが明らかとなった。

エンパグリフロジンのその他の作用は一連の副次的薬理および安全性薬理試験で評価した。エンパグリフロジンは中枢神経系、呼吸系、胃腸管系、肝臓および心血管系に対して影響を及ぼさなかった。腎機能に対する影響は予想される薬理作用に限定されていた。

また、エンパグリフロジンの低血糖リスクは低く、体重増加を抑制させる可能性があり、大血管および細小血管合併症の抑制効果が見込まれることから、2 型糖尿病患者に対する革新的な治療法となり得ると結論づけられる。

2. 効力を裏付ける試験

2.1 背景および根拠

2 型糖尿病は肥満と強い関連性があり、インスリン欠乏およびインスリン抵抗性を特徴とし、高血糖ならびに細小血管および大血管合併症のリスク増加をもたらす慢性疾患である。慢性的な高血糖は代謝障害および糖毒性の悪循環を招いて、インスリン抵抗性を悪化させ、 β 細胞不全を促進し、インスリン生成を減少させて、疾患進行を引き起こす。最近の 2 型糖尿病治療薬は副作用（低血糖、体重増加、消化器系副作用、悪心等）を誘発する可能性があることから使用が制限されることがある。さらに、インスリンおよび β 細胞の機能性に依存している現在の血糖降下療法の多くは、インスリン抵抗性の悪化および β 細胞機能の低下により疾患が進行するにつれて作用が減弱する。その結果、多くの患者においては複数の血糖降下療法が必要となり、いずれは個々の血糖目標値を達成・維持するためにインスリンの投与を受けるようになる。

このため、単独投与としてまたは現在の治療と併用で使用可能な新しい作用機序を有する治療薬を開発するための探究が続いている。

2.2 SGLT2 阻害剤：作用機序

腎臓によるグルコースのろ過および再取り込みは、幾つかある作用機序の中で、定常状態の血漿中グルコース濃度維持に寄与するので、2 型糖尿病の治療の新規のターゲットとなり得る [CTD 4.3-23_R11-4288, CTD 4.3-24_P12-00692]。正常血糖状態では、腎臓によってろ過されたグルコース（約 180 g/日）は、腎近位尿細管の S3 および S1 セグメントに存在する SGLT1 および SGLT2 によってほぼ完全に再吸収される。実際には主に腎臓に発現する SGLT2（低親和性高輸送能の糖輸送担体）が通常、腎臓におけるグルコース再吸収の 90%を占めているが、高親和性低輸送能の糖輸送担体である SGLT1 も正常状態で、腎臓でグルコース再吸収に対してわずかながら役割を果たしている。血漿中グルコース濃度が腎臓の SGLT 系の最大再吸収能力（血漿中グルコース濃度で約 10~11 mM）を超えると、尿糖排泄が生じる。SGLT2 阻害剤を用いると、ろ過されたが SGLT2 によって再吸収されなかったグルコースの一部が、続いて近位尿細管の遠位部分で SGLT1 によって再吸収される。このように SGLT2 阻害剤は腎臓におけるグルコース再吸収の閾値低下をもたらし、グルコース排泄が低い血糖値で生じるようになる。

さらに、SGLT2 阻害剤の効果はインスリンの働きおよび β 細胞の機能には依存していない。そのため、このクラスの薬剤は、2 型糖尿病のどのようなステージにおいても、そして上市されている他の薬剤との併用で、従来からの作用機序に新たな機序が加わることによって、効率よく血糖をコントロールすることができる。インスリンおよび β 細胞に依存しないことで、SGLT2 阻害剤は β 細胞を守り、 β 細胞の機能低下を遅らせる能力を備えると同時に、1 型糖尿病患者においても有効であることが非臨床モデルでの試験結果から示唆されている [CTD 4.3-25_P12-01206, CTD 4.2.1.2-8_U-1767]。最後に、SGLT2 阻害剤の尿糖排泄作用は負のエネルギーバランスおよび浸透圧利尿をもたらす。したがって、この新しいクラスの薬剤は体重増加抑制や血圧低下につなが

る可能性があり、肥満および／または高血圧を有する 2 型糖尿病患者に対しさらに有用と考えられる。

2.3 エンパグリフロジンの SGLT2 に対する *in vitro* 効力および選択性

2.3.1 SGLT2 および SGLT1 に対する阻害活性

エンパグリフロジンの SGLT2 阻害活性およびその選択性を、それぞれの輸送担体の全長相補的 DNA (cDNA) 配列を安定的に遺伝子導入したヒト胎児由来腎臓 (HEK) 細胞における、 $[^{14}\text{C}]$ - α -メチル-グルコピラノシド ($[^{14}\text{C}]$ -AMG) の取り込み阻害として測定した。エンパグリフロジンは良好な *in vitro* SGLT2 阻害活性を示した (IC_{50} : ヒト SGLT2 では 1.3 nM, ラット SGLT2 では 1.7 nM)。ヒト SGLT2 に対する選択性は、ヒト SGLT1 (IC_{50} : 6278 nM) の約 5000 倍であった [CTD 4.2.1.1-3_U-1742]。

2.3.2 他の SGLT サブタイプに対する阻害活性および SGLT2 選択性

また、その他のナトリウム-グルコース共役輸送担体 SGLT4, SGLT5 および SGLT6 (SGLT2 および SGLT1 よりはるかに少ないが腎臓で発現) に対するエンパグリフロジンの選択性も、入手したヒト SGLT 分子種を安定的に遺伝子導入した HEK293 細胞株を用いて検討した。SGLT3 は糖を輸送しないため、この分子種に関する試験は実施していない。試験 (CTD 4.2.1.1-3_U-1742) および Grempler らの公表論文 [CTD 4.2.1.1-10_P11-13842] に報告されたデータを以下の表に要約する。

表 2.3.2: 1 ヒトナトリウム-グルコース共役輸送担体に対するエンパグリフロジンの IC_{50} 値のデータ

IC_{50} (nM)	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1	ヒト SGLT4	ヒト SGLT5	ヒト SGLT6
CTD 4.2.1.1-10_P11-13842	3.1	8300	11000	1100	2000
CTD 4.2.1.1-3_U-1742	1.3	6278	n.m.	n.m.	n.m.

n.m.: 測定せず

このデータから、BI10773 は SGLT2 トランスポーターに対して、他の SGLT 分子種と比較して極めて強力かつ高度な選択性を有することが示され、ヒト SGLT2 に対する選択性はヒト SGLT1 に対して 2677 倍超、ヒト SGLT4 に対して 3500 倍超、ヒト SGLT5 に対して 350 倍超、ヒト SGLT6 に対して 600 倍超であった。

2.3.3 GLUT に対する阻害作用

1 型糖輸送担体 (GLUT1) 活性に対するエンパグリフロジンの作用を検討するために、遺伝子非導入 HEK293 細胞を使用した。GLUT1 はほとんどの細胞種に存在するナトリウム非依存性糖輸送担体であり、すべての組織の細胞膜を通じたグルコース輸送は極めて重要な生理的過程であるので、その安全性プロファイルを得るためにエンパグリフロジンの SGLT2 対 GLUT1 の選択性を検討した。ウェスタンブロット法で検討したところ、細胞は GLUT1 の発現を示した。GLUT1 の輸送担体活性は $[^{14}\text{C}]$ -デオキシ-グルコース ($[^{14}\text{C}]$ -DOG) の取り込みとして測定した。エンパグリフロジンは $10\ \mu\text{M}$ の濃度でヒト GLUT-1 に対して全く活性を示さなかった [CTD 4.2.1.1-3_U-1742]。

この試験では、GLUT1 の非特異的阻害薬であるサイトカラシン B を陽性対照として使用した。 $10\ \mu\text{M}$ サイトカラシン B を用いた 3 回の試験における $[^{14}\text{C}]$ -デオキシ-グルコースの取り込み輸送は阻害剤非存在下における総取り込み輸送に占めるノイズとみなされ、それぞれ $13 \pm 2\%$, $29 \pm 1\%$ および $19 \pm 2\%$ であった。 $10\ \mu\text{M}$ のエンパグリフロジンはヒト GLUT1 を介するグルコース輸送に対して全く影響を与えなかった ($99 \pm 4\%$ CTL) [CTD 4.2.1.1-3_U-1742]。

さらに、GLUT 輸送担体のクラス II ファミリーに属する糖輸送担体 GLUT9 に対するエンパグリフロジンの活性も検討した。この輸送担体は、腎臓における尿酸または尿酸塩の再吸収に関与することが報告 (CTD 4.3-1_R14-1724) されているためである。インキュベーション溶液中に初期濃度 $10\ \mu\text{M}$, $100\ \mu\text{M}$ あるいは $1000\ \mu\text{M}$ の尿酸塩とエンパグリフロジン $100\ \mu\text{M}$ をインキュベーションした。卵母細胞に発現させた遺伝子組換えヒト GLUT9a および b 蛋白のいずれについても、試験濃度 $100\ \text{mM}$ のエンパグリフロジンと尿酸塩の取り込みとの相互作用は認められず、エンパグリフロジンは GLUT9 分子種を阻害しないことが示された (下表) (CTD 4.2.1.1-9_n00231735)。

表 2.3.3: 1 10 個の卵母細胞から得た尿酸塩の平均取り込み (pmoles/oocyte/ 30 mins)

尿酸塩濃度	$10\ \mu\text{M}$	$100\ \mu\text{M}$	$1000\ \mu\text{M}$
コントロール (SEM)	$1.1 (\pm 0.4)$	$69 (\pm 3)$	$538 (\pm 27)$
エンパグリフロジン (SEM)	$3 (\pm 0.3)$	$89 (\pm 5)$	$536 (\pm 37)$

SEM : 卵母細胞の各バッチの平均値に対する標準誤差

2.3.4 マウスの mSGLT1 および mSGLT2 に対する阻害活性

BI10773 がマウス SGLT1 および SGLT2 を阻害する機能の効力を、放射能取り込み試験でマウス SGLT1 または SGLT2 を過剰発現させた細胞を用いて測定した。試験の結果、BI10773 はマウス SGLT2 を IC₅₀ 値 1.7 nM で強力に阻害することが示されたが、SGLT1 に対する効力は IC₅₀ 値 28 μM で極めて低いことが判明した。これらのデータは、BI10773 の SGLT2 に対する高い効力と SGLT1 に対する選択性を示すものである。

2.3.5 他の酵素および受容体に対する阻害活性

さらに、エンパグリフロジンはその他の 98 の酵素および受容体と比べて SGLT2 への高い選択性を示した [CTD 4.2.1.1-1_U-1039, CTD 4.2.1.1-2_U-1040]。

2.3.6 代謝物の SGLT2 に対する阻害作用

ヒト ADME 試験において、最も多く認められたエンパグリフロジンの 3 種類のヒト代謝物、すなわち 2-O, 3-O および 6-O グルクロン酸抱合体が同定された。これらのグルクロン酸抱合体はいずれも微量であったが、合計すると未変化体の 20%程度になった。そこで、これらのヒト代謝物を合成し、SGLT2 に対する薬理活性を評価した。いずれも SGLT2 に対する活性は極めて弱く、2-O, 3-O および 6-O グルクロン酸抱合体の IC₅₀ 値はそれぞれ 1019 nM, 1213 nM, 1426 nM であった [CTD 4.2.1.1-6_U-2000]。したがって、多く認められたエンパグリフロジンのこれらのヒト代謝物は、エンパグリフロジンの全般的な薬理作用と関連がないと考えられる。同定された残りの 3 種類のヒト代謝物はそれほど多くなく、テトラヒドロフラン環が開環したカルボン酸代謝物 (M482/1; 血漿中の総放射能の 1.2~3.1%)、テトラヒドロフラン環が開環したジヒドロキシ化代謝物 (M468/1; 血漿中の総放射能の<0.4%) および酸化/脱水素代謝物 (M464/1; 血漿中の総放射能の 0.4~1.1%) であった。これらの代謝物は極めて低濃度で存在していたので、合成は行わず、薬理作用への寄与の評価は行わなかった。

2.4 *In vivo* 試験

2.4.1 尿中グルコース排泄量に対する急性作用

糖尿病 *db/db* マウス、糖尿病 ZDF ラットおよび正常血糖ビーグル犬を用いて、単回経口投与後のエンパグリフロジンの *in vivo* における尿中グルコース排泄への作用などを検討した [CTD 4.2.1.1-4_U-2214]。

これらの試験は 10-14 週齢の雄肥満 *db/db* マウス、1-15 週齢の雄 ZDF ラット、37 ヶ月齢の正常血糖雄ビーグル犬を用いて実施した。

エンパグリフロジンは検討したすべての動物種において、尿中グルコース排泄量を増加させた。糖尿病げっ歯類モデル (表 2.4.1: 1) さらに非糖尿病イヌ (表 2.4.2: 2) においても、急性投与後の尿中グルコース排泄量の増加は尿量の増加をもたらした。

表 2.4.1: 1 3 mg/kg のエンパグリフロジンをげっ歯類に単回経口投与後の各種動物種における平均尿量および平均尿中グルコース濃度

		尿量 (mL)			尿中グルコース濃度 (mmol)		
採尿時間		0-3 時間	3-7 時間	7-24 時間	0-3 時間	3-7 時間	7-24 時間
db/db マウス	対照群	0.3	0.4	2.9	0.09	0.23	1.72
	3 mg/kg	1.1	1	3.4	0.61	0.74	2.68
	# - 対照群	0.8	0.6	0.5	0.52	0.51	0.96
	* 1 時間あたり	0.26	0.15	0.03	0.17	0.12	0.06
ZDF ラット	対照群	4.9	3.9	8.8	1.5	1.5	3.0
	3 mg/kg	7.0	4.9	11.9	2.9	3.0	5.9
	# - 対照群	2.1	1.0	3.2	1.4	1.5	2.9
	* 1 時間あたり	0.71	0.26	0.18	0.45	0.38	0.17

溶媒またはエンパグリフロジン 3 mg/kg の投与後 0～3 時間、3～7 時間および 7～24 時間に採取した尿の平均尿量および尿中グルコース。

尿量およびグルコース排泄量の投与群と対照群の差。

* 1 時間あたりの平均作用推定のため、群間差を採尿時間幅で除した。

° 7～24 時間の間、動物は飼料を自由に摂取できた点に留意する。

エンパグリフロジンを経口投与後の $t_{\max}$ は雄 CD-1 マウスでは 0.67 時間、ZDF ラットでは 2 時間であることから、尿の第 1 分画（0-3 時間）は薬理作用の発現が始まる薬物吸収相および最大作用を示す最高血中濃度の到達点が含まれる。半減期が雄 CD-1 マウスで 1.26 時間、ZDF ラットで 1.48 時間と短いこと考慮すると、第 2 の採取期間は有効性が持続する薬物排出の初期相と一部重複するが、最終分画（7-24 時間）には有効性が低下する薬物排出の後期相が含まれる。

表 2.4.1: 2 10 mg/kg のエンパグリフロジンを非糖尿病ビーグル犬に単回経口投与後の平均尿量および平均尿中グルコース濃度

		尿量 (mL)		尿中グルコース濃度 (mmol)	
採尿時間		0-7 時間	7-24 時間	0-7 時間	7-24 時間
ビーグル犬	10 mg/kg	70	481	17	145
	* 1 時間あたり	10	28	2.5	8.5

エンパグリフロジン 10 mg/kg の投与後 0～7 時間および 7～27 時間に採取した尿の平均尿量および尿中グルコース。対照群では 0～24 時間の採尿しか行っていないため対照群の値を示さないが、参考までに 0～24 時間の尿量は 151 mL、グルコース排泄量は 0.42 mmol であった。

* 1 時間あたりの平均作用推定のため、群間差を採尿時間幅で除した。

半減期がはるかに短いげっ歯類と異なり、イヌでは 1 時間あたりの作用がより長い第 2 採尿期間に高くなった。イヌにおける半減期は 6.3 時間 ($t_{\max}=1$ 時間) であり、薬物の有効曝露量の平均 AUC は 17 時間を網羅する第 2 採尿期間 (7～24 時間) において最初の 7 時間よりも大きかった。これらのデータおよび PK パラメーターから、10 mg/kg の単回経口投与後 24 時間ではウォッシュアウトが不完全であり、なお顕著なグルコース排泄が残存していると考えられる。

ビーグル犬 (n=3-4) では投与後 0～24 時間に、グルコース排泄量に対する用量依存的な作用が認められた (図 2.4.1: 1)。尿中グルコース排泄の平均累積量は、対照群では 1 $\mu\text{mol/kg/h}$ 、10 mg/kg 投与群では 548 $\mu\text{mol/kg/h}$ であった。これらのデータから求めた尿中グルコース排泄量の ED_{50} 値は 0.9 mg/kg であった (95%信頼区間 0.3～2.2 mg/kg) であり、最大排泄量計算値は 600 $\mu\text{mol/kg/h}$ であった。これを図示したところ、予想どおり SGLT2 輸送担体阻害に続いて尿分泌の飽和現象が認められた。

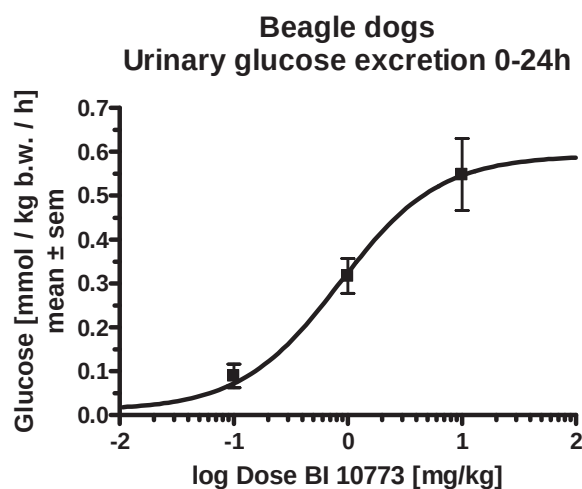


図 2.4.1: 1 エンパグリフロジンによる尿中グルコース排泄量のシグモイド型用量反応曲線。

ビーグル犬におけるエンパグリフロジンによるグルコース排泄量の ED_{50} は 0.9 mg/kg (95%CI 0.3~2.2 mg/kg)。

2.4.2 血中グルコースに及ぼす急性効果

セクション 2.4.1 に記載したとおり、エンパグリフロジンは単回経口投与で糖尿病動物モデルである *db/db* マウスおよび ZDF ラットにおいて、尿中グルコース排泄量を増加させ、その結果反復投与でも有効な血中グルコース低下作用を示した [CTD 4.3-26_P11-13839]。両げっ歯類モデルはレプチン受容体を欠損しており、血糖値および HbA1c 値が有意に上昇し、週齢に依存して明らかな糖尿病を示していた [CTD 4.2.1.1-4_U-2214, CTD 4.2.1.1-5_U-1071]。

a) 単回投与後の血中グルコース低下作用の経時推移

摂食時（非絶食動物）の食後血糖値に対するエンパグリフロジン（0.03~30 mg/kg）単回投与の影響を *db/db* マウスと ZDF ラットを用いて 1 日を通じた採血（投与後 0 から 7 時間までは約 1 時間ごとの採血、投与後 7-24 時間における効果の可逆性を評価するために最終的に投与 24 時間後に最後の採血）を行ない評価した。

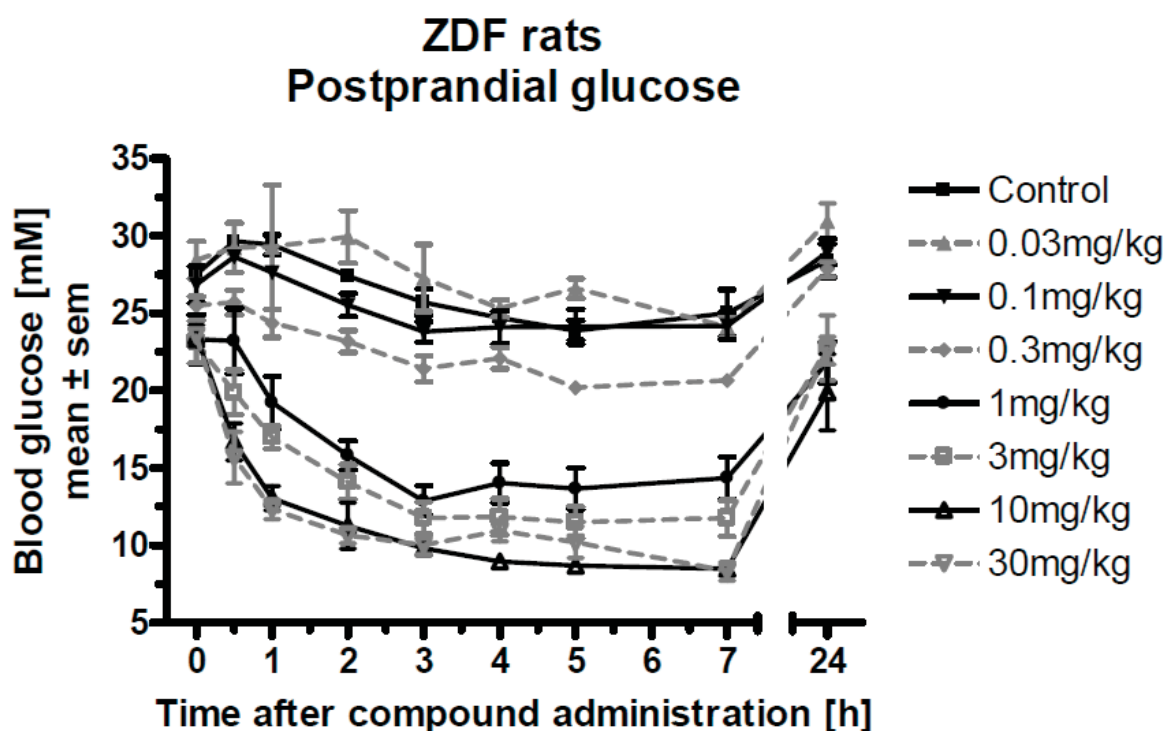


図 2.4.2: 1 エンパグリフロジン単回経口投与の ZDF ラットにおける血糖の時間的推移(1 時点あたり 2~4 匹)

その結果, db/db マウスおよび ZDF マウスの PK パラメーターから, 投与 0~7 時間に認められた作用には, 作用の発現開始, $t_{\max}$ 付近での作用, および薬物消失相初期の作用が含まれた。摂餌が再開された 7~24 時間の AUC_{7-24h} (図 2.4.2.1) は薬物消失相後期に相当し, この期間は作用の減退がみられるが, 摂餌が再開されこれに伴うグルコース吸収が起こる期間でもあった。

エンパグリフロジンの単回投与で有意な血中グルコース低下作用が認められたが, 検討した最高用量 (30 mg/kg) でも低血糖は生じなかった。げっ歯類は 7 時間にわたって血漿中グルコース濃度が 5 mM を下回らず, 代償的機構および/またはその他の腎の糖輸送担体, たとえば SGLT1 によりグルコース恒常性が維持されていることが示唆された (図 2.4.2: 1)。

データから, 糖尿病 ZDF ラットにおいてエンパグリフロジンの単回経口投与は検討した用量で少なくとも 7 時間まで, 低血糖を引き起こすことなく, 血中グルコース濃度を効果的に低下させることが示された。糖尿病 db/db マウスにおいても同様の結果が認められた。

比較のため, db/db マウスおよび ZDF ラットにエンパグリフロジン 3 mg/kg を単回投与後 0~7 時間の平均血中グルコース低下度および有効用量 ED₅₀ の範囲を表 2.4.2: 1 に要約した。

表 2.4.2: 1 糖尿病げっ歯類における対照群と比較したエンパグリフロジン 3 mg/kg を単回経口投与後 0~7 時間の血中グルコース低下度

動物種	エンパグリフロジン 3 mg/kg 投与群と対照群の 平均グルコース AUC _{0-7h} の差 (%) (p 値)	ED ₅₀ AUC _{0-7h} エンパグリフロジン mg/kg
db/db マウス (1 時点あたり n=5)	-36.6% (p=0.0001)	0.6 (0.3-1.2)
ZDF ラット (1 時点あたり n=2-4)	-46.4% (p=0.00002)	0.6 (0.4-1.0)

注：対照群と比較した p 値

b) 単回投与後の経口糖負荷試験 (OGTT)

さらに、db/db マウスおよび ZDF ラットにおける、エンパグリフロジンの経口耐糖能改善効果を検討した。エンパグリフロジン投与 30 分後、OGTT (糖負荷) を開始し、グルコース負荷後の 180 分までの血中グルコースを測定した。後 30 分のグルコース変動に対するエンパグリフロジン 3 mg/kg 単回経口投与の作用を、対照群と比較して表 2.4.2: 2 に要約した。マウスとラットの $t_{\max}$ はそれぞれ 0.67 時間と 2 時間、半減期はそれぞれ 1.26 時間と 1.48 時間であり、薬物投与後の OGTT のために選択した時間間隔は最適であった。

表 2.4.2: 2 に糖負荷後 30 分のグルコース変動に対するエンパグリフロジン 3 mg/kg 単回経口投与の作用を要約した。

表 2.4.2: 2 糖尿病げっ歯類においてエンパグリフロジン 3 mg/kg を単回経口投与し、経口糖負荷試験実施時の糖負荷後 30 分のグルコース変動の平均低下度

動物種	対照群と比較したエンパグリフロジン 3 mg/kg 投与による 30 分目の血中グルコース低下度
db/db マウス (n=6)	-40.2% (p < 0.002)
ZDF ラット (n=6)	-45.8% (p < 0.001)

c) *In vivo* における反復投与試験

糖尿病 ZDF ラット (試験開始時 12 週齢, n=7-8 匹/群) において、エンパグリフロジン 0.3, 1 または 3 mg/kg を 1 日 1 回反復経口投与後の血糖コントロール作用を検討した。本剤は忍容性が良好であり、明らかな副作用は認められなかった。対照群とエンパグリフロジン群の体重に有意差は認められず (n=8 匹/群), 平均 24 時間摂餌量に対する重大な影響もなかった [CTD 4.2.1.1-5_U-1071]。

糖尿病動物においてエンパグリフロジン投与は、食後の血中グルコース濃度を低下させた。食後グルコース低下作用（Day 23 に-19%，対照群との比較で $p < 0.05$ ， $n = 8$ 匹/群）は、3 mg/kg の投与後 16 時間でもなお顕著であった。単回投与でも認められたように、ラットにおけるエンパグリフロジンの作用持続時間は 24 時間に至らなかった。

対照群 ZDF ラットにおける空腹時血中グルコース濃度は投与開始前 5 日の 7.4 ± 0.4 mM から試験期間中に 15.2 ± 1.4 mM へと増加し、糖尿病状況の悪化が示唆された。空腹時グルコースのこのような増加はエンパグリフロジンの反復経口投与によって著しく抑制され、血中グルコース濃度は最高用量において 9.3 ± 0.6 mM に留まった。表 2.4.2: 3 に投与後 35 日の空腹時グルコースに対するエンパグリフロジン 3 用量の作用を要約した。

表 2.4.2: 3 糖尿病 ZDF ラットにおける対照群と比較した投与後 37 日のエンパグリフロジンによる空腹時血中グルコース低下 ($n = 7-8$)

ベースライン 投与開始前 5 日 溶媒対照	投与開始後 37 日 溶媒対照	0.3 mg/kg qd	1 mg/kg qd	3 mg/kg qd
7.4 ± 0.4 mM	15.2 ± 1.4 mM	14.6 ± 1.0 mM	11.2 ± 1.0 mM	9.3 ± 0.6 mM
		-3.9% ($p = 0.7$)	-26.1% ($p < 0.05$)	-38.5% ($p < 0.01$)

2 群の平均値の差 (%) (投与後 5 週間のエンパグリフロジン用量群と溶媒対照群の比較)

エンパグリフロジンの反復経口投与後に耐糖能は改善した。糖負荷試験後の食後高血糖は既に単回投与で低下することが明らかであるが、反復投与後の耐糖能に対する作用は空腹時（ベースライン）グルコース濃度に対する追加作用のため、より顕著であった。表 2.4.2: 4 に反復投与した各用量のエンパグリフロジンの ZDF ラットの耐糖能に対する作用を要約した。

表 2.4.2: 4 ZDF ラットにおいて 37 日間反復投与後に対照群と比較したエンパグリフロジンによる耐糖能改善

グルコース AUC _{0-3h} の 2 群の平均値の差 (%) (エンパグリフロジン用量群と対照群の比較)			
動物種	0.3 mg/kg qd	1 mg/kg qd	3 mg/kg qd
ZDF ラット ($n = 8$)	-6.0% ($p = 0.3$)	-31.3% ($p < 0.01$)	-36.1% ($p < 0.001$)

血中のグルコース恒常性の長期指標である HbA1c は試験期間中に対照群では上昇し、この動物モデルにおける糖尿病の進行を反映していた。これに対し、エンパグリフロジン投与群では反復投与後に空腹時グルコースの低下および耐糖能改善、さらには食後高血糖の抑制などにより、HbA1c が低下した（図 2.4.2: 2）。エンパグリフロジン 3 mg/kg 1 日 1 回投与では、HbA1c の数値がベースライン（投与前）の値より 2.2%低くなった ($p < 0.01$)。

これらのデータを総合すると、糖尿病 ZDF ラットにおける SGLT2 阻害剤エンパグリフロジンの 5 週間反復投与後の血糖コントロールに対する作用が明らかとなった。

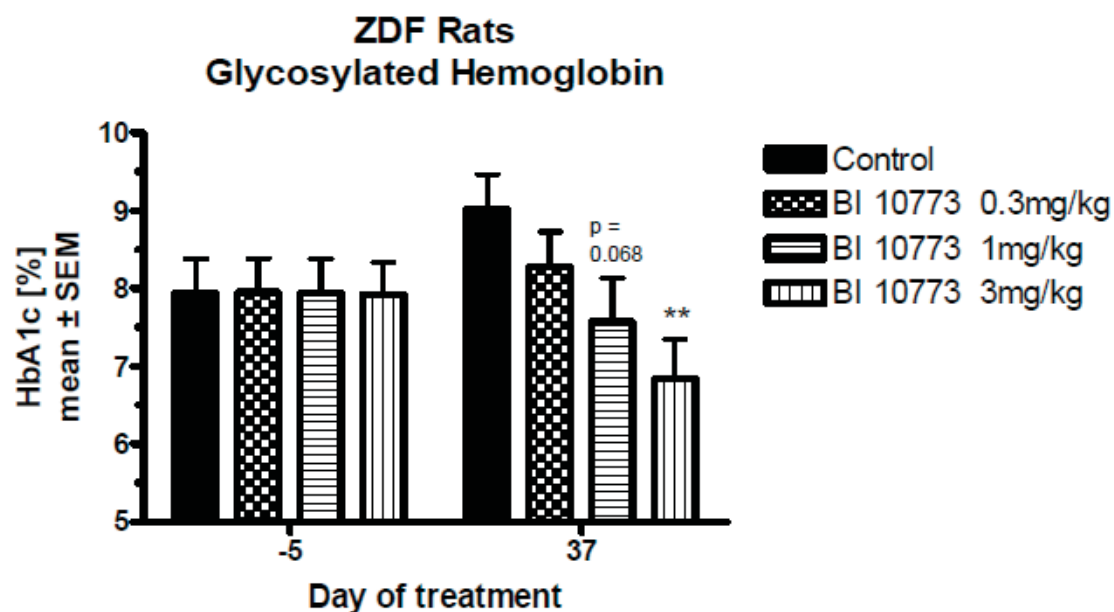


図 2.4.2: 2 ZDF ラットにおけるエンパグリフロジン投与開始前（Day -5）および反復経口投与後 5 週間（Day 37, n=7-8）の HbA1c 値。（**p<0.01）

これらのデータを総合すると、糖尿病 ZDF ラットにおける SGLT2 阻害剤エンパグリフロジンの 5 週間反復投与後の血糖コントロールに対する作用が明らかとなった。

ベースライン、投与開始前（Day -7）、投与 15 日（Day 15）および投与 27 日（Day 27）に尿中グルコースを測定した。（[図 2.4.2: 3](#)）

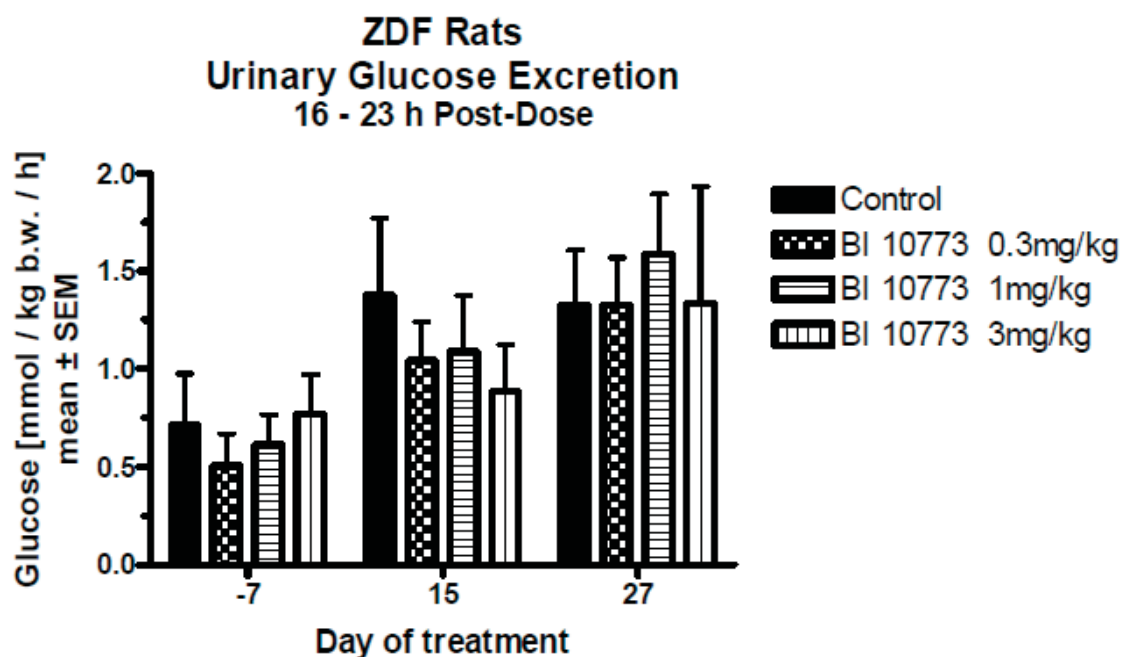


図 2.4.2: 3 エンパグリフロジンの反復経口投与後の ZDF ラットにおける標準化尿中グルコース排泄量。尿サンプルは Day -7（投与開始前），Day 15 および Day 27 の 7 時間（投与後 16～23 時間）に採取したもの。採尿中，飲料水は自由摂取としたが摂餌は不可とした。

動物の無作為化後，ベースラインにおいてすべての群で同程度のグルコースが排泄された。興味深いことに Day 15 および Day 27 のグルコース排泄量は溶媒群と投与群で違いはみられなかった。このように明確な作用が認められなかったことは，投与後 16 時間以降エンパグリフロジンの血中曝露量が腎臓の SGLT2 を阻害し，尿中グルコースが有意に増加するほどの量に達しなかったことを示している。この推論は空腹時血糖低下作用を顕著に示さなかったエンパグリフロジンの最低用量（0.3 mg/kg）に基づいている。一方，1 mg/kg および 3 mg/kg では空腹時血糖が有意に低下するため，糸球体ろ過率（GFR）を同程度と仮定すると，薬物の影響が完全に消失している場合尿中グルコース排泄量は低くなるはずである。血中グルコースが低下するのに対して尿中グルコース排泄量が同じ水準を維持したことは，投与後 16 時間にあたるこの 16～23 時間の採尿期間中，薬物の有効性がなお検出できることを示しており，単回投与後の db/db マウスまたは ZDF ラットから投与後 7～24 時間に採取した検体の尿中グルコース排泄量の測定結果と一致する。

3. 副次的薬理試験

中枢神経系，心血管系，呼吸系，胃腸管系ならびに腎臓および肝臓への影響を検討するために，副次的薬理試験（すべて非 GLP 試験）を実施した。3.1 項から 3.5 項は単回投与試験，3.6 項および 3.7 項は反復投与試験である。

3.1 マウスにおける中枢神経系に対する作用

Irwin 変法によりマウス（SPF マウス，雄）の一般行動および体温を測定した。マウスには溶媒もしくは 3，10 または 30 mg/kg のエンパグリフロジンを経口投与し，投与後 30，60，180 分および 24 時間に評価した [CTD 4.2.1.2-1_U-2650]。エンパグリフロジンのすべての用量で，一般行動，夜行性活動および直腸体温に対して被験物質に関連する作用は認められなかった。

3.2 ラットにおける心血管系および呼吸系に対する作用

本試験は動脈圧および体温測定用のテレメトリー送信器を埋め込んだ雄ラット（Wistar，8 匹/群）で実施した [CTD 4.2.1.2-2_U-2632]。呼吸系パラメータは全身プレチスモグラフィを用いて同時に測定した。ラットには溶媒または 3，10 および 30 mg/kg のエンパグリフロジンを経口投与し，測定結果を投与後 7 時間にわたって連続して記録した。血圧，心拍数，呼吸数，1 回換気量および体温には，対照群と比較してエンパグリフロジンの作用はみられなかった。

3.3 ラットにおける腎および肝機能ならびに臨床検査に対する作用

腎および肝機能はラット（Wistar，雄雌各 10 匹/群）に溶媒もしくは 3，10 または 30 mg/kg のエンパグリフロジンを経口投与して評価した [CTD 4.2.1.2-3_U-1192]。すべての動物にエンパグリフロジンまたは溶媒の投与直前，投与後 4 時間および 8 時間に水道水 2 mL/100 g 体重を経口投与した。動物は実験開始前から絶食としたが，実験中の水は自由に摂取させた。

各群で投与後 4，8 および 24 時間に，動物の半数（雄 5 匹および雌 5 匹）から尿を収集し，他の半数から血液を採取した。各時点の尿検体について尿量，浸透圧，pH，電解質（Na⁺，K⁺，Cl⁻，Ca⁺⁺，Mg⁺⁺およびリン酸）の濃度，さらに代謝産物グルコース，蛋白，クレアチニン，アルブミン，BUN ならびにアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT），γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT），乳酸脱水素酵素（LDH），ALP および N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ（β-NAG）の酵素活性を測定した。血清検体では，浸透圧，電解質（Na⁺，K⁺，Cl⁻，Mg⁺⁺，遊離および総 Ca⁺⁺およびリン酸）の濃度，グルコース，乳酸，蛋白，クレアチニン，BUN，コレステロール，遊離脂肪酸，トリグリセリド，総および結合型ビリルビン，ならびに AST，ALT，GGT，LDH，ALP，グルタミン酸デヒドロゲナーゼおよびクレアチンキナーゼの酵素活性を測定した。

その作用機序から予測されるとおり，エンパグリフロジンは Na⁺（10 および 30 mg/kg 群），Cl⁻（30 mg/kg 群）およびグルコース（3～30 mg/kg 群）の尿中排泄の用量依存的な増加をもたらし，

浸透圧 (10 および 30 mg/kg 群) を上昇させた。また、エンパグリフロジンは血清中遊離脂肪酸 (10 および 30 mg/kg 群) を増加させた。肝酵素の変動は有意ではなかった [CTD 4.2.1.2-3_U-1192]。

3.4 ラットにおける胃腸管系に対する作用

雄 Wistar ラットにおいてエンパグリフロジンの胃酸分泌への影響を検討した [CTD 4.2.1.2-5_U-1194]。外科的に幽門結紮後、溶媒、3, 10 および 30 mg/kg のエンパグリフロジンを十二指腸内投与した。投与後 4 時間に血漿中薬物濃度を測定するために血液を採取すると共に、胃液を採取して胃酸分泌パラメータである pH, 総酸度および胃液量を測定した。胃酸排出量は胃液量と総酸度の積として算出した。エンパグリフロジンは胃酸分泌パラメータに対して影響を及ぼさなかった。各群 (投与後 4 時間) から得た血漿中薬物濃度はそれぞれ 65.3 nM, 212 nM および 1020 nM であった。

胃排出能および腸管輸送能に対するエンパグリフロジンの作用をラットを用いて検討した [CTD 4.2.1.2-4_U-1108]。動物は実験前 17 時間絶食とし、水は自由摂取とした。0, 3, 10 および 30 mg/kg のエンパグリフロジンを経口投与した。投与 30 分後に硫酸バリウム (BaSO₄) 含有試験食を与えた後、胃内容物の測定から胃排出能を測定し、腸管内の相対 BaSO₄ 通過時間として腸管輸送能を測定した。3 および 10 mg/kg のエンパグリフロジンは胃排出能に影響を及ぼさなかった。30 mg/kg のエンパグリフロジンの投与は胃排出能を 33% 亢進させた。エンパグリフロジンは検討したいずれの用量でも腸管輸送能を変化させなかった [CTD 4.2.1.2-4_U-1108]。

3.5 覚醒イヌにおける血行動態および心電図に対する作用

本試験は覚醒イヌ 4 匹 (雌雄各 2 匹) に血行動態シグナル収集用テレメトリー装置を装着し、各イヌが自身の対照群の役を果たすようにクロスオーバー、無作為割付け法で実施した [CTD 4.2.1.2-6_U-2639]。各試験日にイヌに対してエンパグリフロジン (3, 10 および 30 mg/kg) または溶媒を経口投与した。投与後 24 時間にわたり、収縮期および拡張期動脈圧, 最大左室内圧 (LVP), 心臓の収縮性の指標 (LV_{dp/dtmax}) および心拍数を測定した。QRS 時間および QT 間隔は心電図 (ECG) から求めた。覚醒イヌにおいてエンパグリフロジンは 30 mg/kg までの投与でこれらのパラメータのいずれに対しても影響しなかった。

上記の 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 および 3.5 の安全性薬理試験 [CTD 4.2.1.2-1_U-2650, CTD 4.2.1.2-2_U-2632, CTD 4.2.1.2-3_U-1192, CTD 4.2.1.2-5_U-1194 および CTD 4.2.1.2-6_U-2639] のうち、一部はエンパグリフロジン開発早期に非 GLP スクリーニング試験として実施されたもので、血漿中曝露データは収集されなかった ([CTD 4.2.1.2-6_U-2639] において投与 7 時間後に収集された単回トキシコキネティクス用検体を除きます)。そのため、これらの試験から曝露倍数を直接算出することは不可能である。しかし、安全開始用量の推定についての米国 FDA ガイダンス文書に示されているように、体表面積アロメトリーに基づき動物における用量からヒト等価用量を見積もることにより、ヒトにおける用量 25 mg に対する用量倍数の算

2.6.2 薬理試験の概要文

エンパグリフロジン

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

出が可能である（より控えめに見積もるアプローチと用量 10 mg に対する比較）。また一部の試験では、同様に動物に投与した他の試験の 1 つ（すなわち代替試験）において投与日に収集した血漿中曝露データを用いて、曝露倍数を推測することも可能である。イヌを用いて ECG およびトキシコキネティクスデータを収集した反復投与試験で算出された血漿中曝露倍数は、試験終了時のトキシコキネティクスデータに基づいている。

－ 安全性薬理試験の曝露および用量倍数

試験	試験番号	GLP	動物種	NOEL ^a (mg/kg)	重大な作用	HED ^b (mg/kg)	HED ^c 倍数	AUC (nM-hr) ^d (代替試験番号)	曝露倍数 ^e
中枢神経系への作用	CTD4.2.1.2-1_ U■■-2650	非 GLP	NMRI マウス	30 (HD)	なし	2.4	5.7	NA ^f	-
中枢神経系への作用	CTD4.2.1.3-2_ U■■-3263	GLP	Sprague Dawley ラット	2000 (HD)	なし	163	388	NA	-
ラットの心血管系および呼吸器系への作用	CTD4.2.1.2-2_ U■■-2632	非 GLP	Wistar ラット	30 (HD)	なし	4.8	11.4	7430 (CTD 4.2.3.2-6_ U■■-3712)	1.1
ラットの呼吸器系への作用	CTD4.2.1.3-3_ U■■-3309	GLP	Wistar Han ラット	2000 (HD)	なし	163	388	NA	-
イヌにおける血行動態および ECG への作用	CTD4.2.1.2-6_ U■■-2639	非 GLP	イヌ	30 (HD)	なし	16.7	39.8	228,000 (CTD 4.2.3.2-12_ U■■-3252)	35.3
単回投与テレメトリー	CTD4.2.1.3-4_ U■■-3536	GLP	イヌ	100 (HD)	なし ^h	55.6	132	929,500 (CTD 4.2.3.2-12_ U■■-3252)	144
2 週間反復投与毒性	CTD4.2.3.2-7_ U■■-3404	非 GLP	イヌ	200 ^g (HD)	なし	111	264	2,361,658	365
4 週間反復投与毒性	CTD4.2.3.2-9_ U■■-3210	GLP	イヌ	100 (HD)	なし ^h	55.6	132	744,187	115
13 週間反復投与毒性	CTD4.2.3.2-10_ U■■-3743	GLP	イヌ	100 (HD)	なし	55.6	132	1,200,000	186
26 週間反復投与毒性	CTD4.2.3.2-11_ U■■-3679	GLP	イヌ	100 (HD)	なし	55.6	132	713,000	110
52 週間反復投与毒性	CTD4.2.3.2-12_ U■■-3252	GLP	イヌ	100 (HD)	なし	55.6	132	1,140,000	176
ラットにおける腎および肝機能と臨床化学への作用	CTD4.2.1.2-3_ U■■-1192	非 GLP	Wistar Han ラット	3 (LOEL)	↑尿中グルコース	0.5	1.2	NA	-

消化管運動への作用	CTD4.2.1.2-4_U■■-1108	非 GLP	Wistar Han ラット	10	↑胃内容排出	1.6	3.8	NA	-
消化管分泌への作用	CTD4.2.1.2-5_U■■-1194	非 GLP	Wistar Han ラット	30	なし	4.8	11.4		1.1

^a 無影響量。NOEL が確定されなかった場合は低影響量 (LOEL) を報告しています。

^b ヒト等価用量。HED は米国 FDA 文書「業界向け。健康被験者を対象とした初期臨床試験の安全開始最高用量の推定 (2005)」に従って決定されました。HED は動物における用量 (mg/kg) を 12.3 (マウス), 6.2 (ラット) または 1.8 (イヌ) で割って算出しています。

^c HED 倍数 = HED ÷ (治療用量 25 mg ÷ ヒトの体重 60 Kg)。

^d 雄ラットのみまたは雌雄ラットを用いた試験では、雄ラットにおける曝露が雌ラットよりも一貫して低かったことから、雄ラットにおける曝露データを使用しました。イヌの場合は雌雄における曝露が一貫して同程度であったため、雄/雌の平均曝露を用いました。

^e ヒトにおける用量 25 mg での曝露 = 6460 nM-hr [CTD 5.3.4.2-2_U■■-2326]。

^f NA = マウスの 30 mg/kg 群またはラットの 10 mg/kg 以下の群または 2000 mg/kg 群では血漿中曝露データが入手できませんでした。

^g 投与 8 日目に、投与に関連する体重減少のため用量 500 mg/kg/日から 200 mg/kg/日へ減量となりました。イヌに 200 mg/kg を投与中は投与 11 日目に ECG および血圧のデータを収集しました。

^h CTD 4.2.1.3-4_U■■-3536 試験では、低用量である 10 mg/kg 群の雌と 30 および 100 mg/kg 群の雌雄において心拍数のわずかな低下が認められ、100 mg/kg 群ではこの低下が持続しました。この低下は一般に投与後約 2～10 時間に認められました。U■■-3210 試験では、心電図検査において投与 23 日後に 100 mg/kg/群の雌イヌで心拍数の統計的有意な低下と RR 間隔の延長が認められました。これらの情報を総合すると、いずれの試験の反応も毒性学的関連を有するとは考えられません。詳細な説明については質問 P-019 をご参照ください。

さらに、「3.4 ラットにおける胃腸管系に対する作用の試験報告」および「4.2.1 *In vitro* の電気生理学的パラメータに関する試験報告」におけるラットとヒトの血漿中濃度比較を述べます。

3.4 ラットにおける胃腸管系に対する作用の試験報告 CTD 4.2.1.2-5_U■■-1194 では、幽門結紮手術後、ラットの十二指腸内に 3, 10 および 30 mg/kg のエンパグリフロジンを投与して胃液分泌に対する効果を調べましたが、その影響はみられませんでした。投与 4 時間後の血漿中濃度は 1020 nM でした。この濃度は臨床最大用量である 25 mg をヒトに投与したときの C_{max} (869 nM) の約 1.2 倍でした。ラットおよびヒト血漿における [^{14}C]エンパグリフロジンの平均血漿蛋白結合率 (平均 $\pm$ SD%) は、それぞれ $90.5 \pm 0.6\%$ および $83.7 \pm 1.2\%$ です。したがって、30 mg/kg 投与 4 時間後のラット非結合型血漿中濃度は、臨床最大用量である 25 mg 投与後の C_{max} 時点のヒト非結合型血漿中濃度の約 0.7 倍でした。

また、4.2.1 *in vitro* の電気生理学的パラメータに関する試験報告 CTD 4.2.1.3-1_U■■-2641 では、HEK293 細胞における hERG を介するカリウム電流および、単離モルモット乳頭筋の活動電位波形に対するエンパグリフロジンの影響を調べました。最大濃度 10 μ M においても、エンパグリフロジンは hERG を介するカリウム電流には影響せず、心筋の活動電位もしくはモルモットの乳頭筋の収縮力にも影響しませんでした。*in vitro* 試験は蛋白質非存在下で行われ、この濃度は非結合型血漿中エンパグリフロジン濃度を表しています。臨床試験は総曝露濃度 (結合型および非結合型の合計した濃度) を測定しています。ヒト血漿における [^{14}C]エンパグリフロジンの平均血漿蛋白結合率は $83.7 \pm 1.2\%$ (平均 $\pm$ SD) であることから、総曝露濃度として 869 nM が得られた C_{max} 時

点のヒト非結合型エンパグリフロジン濃度は、hERG もしくはモルモット乳頭筋へ影響を及ぼさなかった最大濃度と比較すると約 1/71 でした。

3.6 ラットにおけるエンパグリフロジンの体重増加抑制作用

エンパグリフロジンの反復経口投与（28 日間）が食事性肥満動物モデル（高脂肪固形飼料、粉にしたチョコレートおよびピーナッツを与えて肥満にした雌の Wistar ラット）の体重および体組成に及ぼす影響を検討するために試験を実施した。5-ヒドロキシトリプタミン（5-HT）およびノルアドレナリン再取り込み阻害剤 sibutramine を陽性対照として使用した [CTD 4.2.1.2-7_n00231938]。

エンパグリフロジンの 28 日間反復経口投与（10 mg/kg）は、溶媒対照群のラットと比較して体重が 6.9%軽く、有意な体重増加抑制を示した。エンパグリフロジン 3 mg/kg の作用は溶媒対照群体重より 4.1%軽いだけで有意ではなかった。陽性対照の sibutramine（5 mg/kg）では 16.1%の有意な体重増加抑制がみられた（表 3.6: 1）。肥満ラットにおいて sibutramine によってもたらされた体重増加抑制は主に摂餌量の減少によるものとみられたが、これに対してエンパグリフロジンは 1 日摂餌量にはほとんど影響を及ぼさなかった。

表 3.6: 1 肥満雌 Wistar ラットにおける 28 日間反復投与したエンパグリフロジンおよび sibutramine による対照群と比較した体重増加抑制

	Day 29 の対照群と比較した体重変化		
	エンパグリフロジン 3 mg/kg/d	エンパグリフロジン 10 mg/kg/d	Sibutramine 5 mg/kg/d
DIO ラット	- 4.1% ; NS	- 6.9% ; p<0.05	- 16.1% ; p<0.001

体組成分析から、エンパグリフロジンおよび sibutramine による体重増加抑制は主に選択的脂肪減少（それぞれ 78.3%および 72.8%）によるものであり、総水分量および蛋白量の減少によるものではないことが示された。

3.7 1 型糖尿病動物モデルにおけるエンパグリフロジンの作用

理論的に、エンパグリフロジンは作用機序がインスリンおよび β 細胞機能に依存していないので、1 型糖尿病患者においてもインスリン療法との併用で有用であると考えられる。

本試験は、1 型糖尿病動物モデルとして STZ ラットを用いて、エンパグリフロジン単独またはインスリンとの併用で反復投与した場合のグルコース恒常性に対する作用を検討するために実施した。

経口投与開始 2 日前（Day -2）に、STZ 糖尿病 Sprague-Dawley ラットを血中グルコース値に応じてランダム化割付けし、インスリン放出インプラント埋込みなし群、あるいはインプラント 1 個または 2 個埋込み群とした。Day 1 から溶媒単独または 10 mg/kg のエンパグリフロジンを 1 日 2 回（午前 7 時および午後 7 時）、28 日間ラットに経口投与し、インスリンの持続的注入に並行してエンパグリフロジンの 24 時間曝露をもたらすようにした。インスリン放出インプラントは

40 日以上にわたって、基礎インスリン分泌補充量（2 IU/24 h/インプラント）のインスリンを放出する。

本試験の処置群は次のとおりであった（1 群 6～7 匹）。すなわち、インプラント埋込みなし+エンパグリフロジン投与なしの対照群ラット、インプラント埋込みなし+エンパグリフロジン投与のラット、インプラント 1 個または 2 個埋込み+エンパグリフロジン投与なしのラット、およびインプラント 1 個埋込み+エンパグリフロジン投与の併用群ラット。投与開始時の各群の平均血中グルコース濃度は 20 mM であった。投与開始後 28 日の午前 7 時におけるインプラント 1 個埋込み+エンパグリフロジン併用群の血中グルコース濃度は、インプラント 1 個埋込み群と 2 個埋込み群の血中グルコース濃度の間であった（図 3.7: 1）。併用群におけるその日の朝のエンパグリフロジンの投与は、血中グルコース濃度をインスリンインプラント 2 個埋込み群の値とほぼ同程度まで低下させた [CTD 4.2.1.2-8_U-1767]。

12 時間の血中グルコース濃度推移（午前 7 時開始）を、インスリンインプラント埋込みおよび/またはエンパグリフロジン投与後 28 日に STZ ラットで測定した。エンパグリフロジン単独投与（午前 7 時に投与）では血中グルコース濃度が午後 1 時に最低の 10 mM まで低下したが、その後午後 7 時まで緩徐に増加した（図 3.7: 1）。エンパグリフロジン単独投与群の 12 時間の血中グルコース濃度（計算値）推移（AUC_{0-12h}）は、対照群（100%）より 36.9%低く、インプラント 1 個埋込みのみの血中グルコース AUC は 39.7%低かった（図 3.7: 2）。12 時間にわたる血中グルコースの低下は、インプラント 1 個埋込みとエンパグリフロジン併用群（対照群との比較で-68.5%）およびインプラント 2 個埋込み群（対照群との比較で-76.5%）において明らかであった。

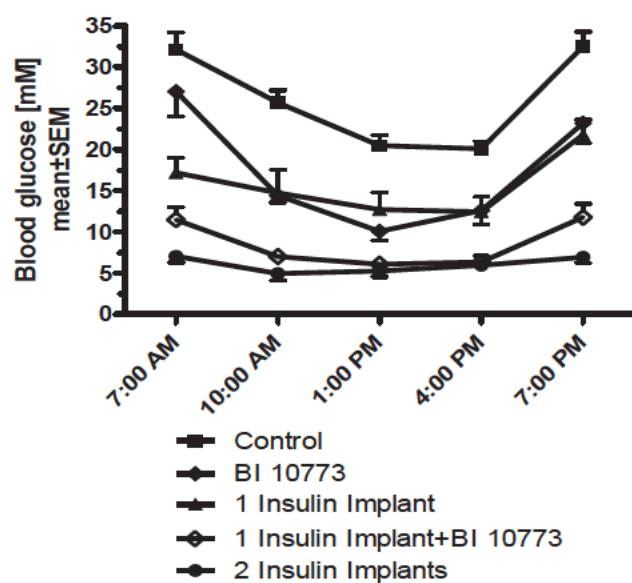


図 3.7: 1

非絶食 STZ ラットにおいてエンパグリフロジンの反復経口投与またはインスリン放出インプラント、あるいはその併用が 12 時間にわたる基礎血中グルコース濃度に及ぼす影響。(併用投与時には、単回投与時と同一用量のエンパグリフロジンを使用した。血中グルコース濃度推移は投与開始後 28 日に評価した。)

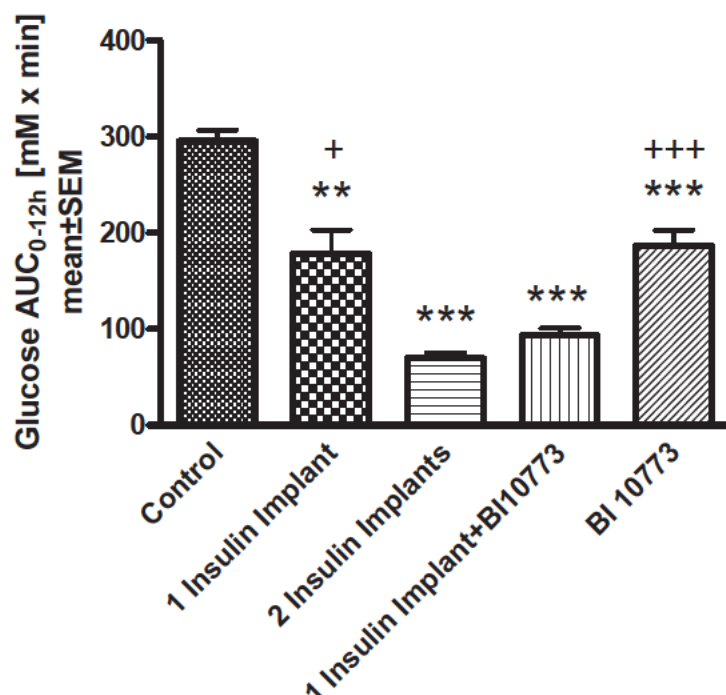


図 3.7: 2 非絶食 STZ ラットに対してエンパグリフロジンの反復経口投与またはインスリン放出インプラント埋込み、またはその併用を行ったときの血中グルコース濃度-時間曲線下面積。(対照群との比較で** p<0.01, *** p<0.001; 併用群との比較で+ p<0.05, +++ p<0.001)

3.8 効果を裏付ける試験、副次的薬理試験および臨床試験の曝露量の関係

効果を裏付ける試験および副次的薬理試験におけるエンパグリフロジンの薬効用量を投与したときの曝露量と日本人 2 型糖尿病患者にエンパグリフロジンの臨床推奨用量を投与したときの曝露量の関係を考察した。

エンパグリフロジンの長期投与が Zucker 糖尿病肥満 (ZDF) ラットのグルコース恒常性に及ぼす影響を検討するために実施した試験で (CTD 4.2.1.1-5_U-1071), 血漿中曝露量は測定しなかった。同様に他の主要薬力学試験 2 件においても血漿中曝露量は測定しなかった (CTD 4.2.1.2-7_n00231938, CTD 4.2.1.2-8_U-1767)。ZDF ラットに単回経口投与したときのエンパグリフロジンの薬物動態特性が線形性であることおよび得られた薬物動態学的データを前提として, ZDF ラットを用いた薬力学試験 (CTD 4.2.2.2-5_U-1279) で, 相当する有効曝露量を算出し, 日本人の 2 型糖尿病患者にエンパグリフロジンを臨床推奨用量で投与したときの薬剤曝露量と比較することは可能である。

エンパグリフロジン 3 mg/kg を単回経口投与したときの AUC (0-inf) は 858 nmol·h/L であった。薬物動態が線形性を示すと想定すると, 10 mg/kg 投与後の AUC (0-inf) は 2860 nmol·h/L であると予測される。CTD 5.3.4.2-2_U-2326 試験で日本人の 2 型糖尿病患者に 25 mg を投与したところ,

血漿中曝露量は $AUC_{ss} = 6460 \text{ nmol} \cdot \text{h/L}$ であった。したがって、 AUC_{ss} が $AUC(0\text{-inf})$ と同等であることを考慮すると、日本人の2型糖尿病患者にエンパグリフロジン 25 mg を投与した場合の有効曝露量は、エンパグリフロジン 10 mg/kg を投与した ZDF ラットにおいて推定した曝露量の 2.25 倍であると結論付けることは妥当と考えられる。

日本人2型糖尿病患者における 25 mg 用量と、エンパグリフロジンの有効性を示すことを目的とした1型糖尿病ラット（ストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病，CTD 4.2.1.2-8_U-1767-01）の薬力学試験で採用した 10 mg/kg 用量、との間で有効用量を算出して比較することに対しても、同様の理由づけをすることは可能である。同用量を投与した STZ ラットの推定曝露量は AUC で 36.9% の大幅な減少を示した。STZ ラットの 12 時間血糖値は、エンパグリフロジン 25 mg を投与した日本人患者の約 1/2.25 であった。STZ（ストレプトゾトシン）は Sprague-Dawley ラットに投与しましたが、非糖尿病 Han Wistar ラットで得られた薬物動態的データ（CTD 4.2.2.2-2_U-3622）を参考に、STZ ラットの曝露量を推定するとエンパグリフロジン 25 mg を投与した日本人糖尿病患者の曝露量の 1/1.8 であったと考えられる。

粉末のチョコレートおよびピーナッツを追加した高脂肪食下の肥満 Wistar ラットで体重減少が示された薬力学試験において、エンパグリフロジンの2用量（3 mg/kg および 10 mg/kg）は、それぞれ 4.1% および 6.9% の体重減少を認めた。非糖尿病 Wistar ラットの PK パラメータに基づいて同じような算出方法を用いると、当該の前臨床試験における動物の曝露量は、25 mg を投与した日本人の2型糖尿病患者の曝露量の約 1/6 および 1/1.8（投与量それぞれ、3 mg/kg および 10 mg/kg）であると推定される（CTD 4.2.2.2-2_U-3622）。

全体として、10 mg/kg は前臨床試験モデルに最も高頻度に用いたエンパグリフロジン投与量であるが、この用量での曝露量は、25 mg を投与した日本人の2型糖尿病患者の曝露量よりやや少ない値であった（1/1.8～1/2.25 倍）。ヒトと前臨床試験のモデルとで絶対的有効性を比較するためには細心の注意を必要とするが、薬理学的臨床有効用量での曝露量は、主要薬力学試験で主に用いられた有効用量と同範囲にあると考えられる。

4. 安全性薬理試験

コアバッテリー試験 (ICH S7A および ICH S7B) は, *in vitro* 試験の一部を除いて, すべて GLP 適用下で実施した。特に記載していない限り, 試験は単回投与で実施した。

4.1 ラットにおける中枢神経系に対する作用

ラットにおいて, エンパグリフロジンの一般行動への影響を評価した。ラット (10 匹/群) に溶媒または 500, 1000 および 2000 mg/kg のエンパグリフロジンを経口投与した [CTD 4.2.1.3-2_U-3263]。投与後 15, 30 および 45 分ならびに 1, 2, 3, 4 および 24 時間に動物の神経薬理学的および毒性学的徴候を評価した。体温は投与後 60 分に測定した。被験物質に関連した変化として, エンパグリフロジンのすべての投与用量において, 投与後 24 時間に軟便が観察された。

4.2 心血管系に対する作用

4.2.1 *In vitro* の電気生理学的パラメータ

本試験は, QTc 延長のリスクの *in vitro* 代替指標として, エンパグリフロジンが HEK293 細胞における hERG テール電流を阻害する可能性を検討し, さらに摘出モルモット乳頭筋の活動電位に対する影響を測定した [CTD 4.2.1.3-1_U-2641]。安定的に hERG の cDNA を導入した HEK293 細胞に 1, 10 および 30 μ M のエンパグリフロジンを 5 分間適用して, ホールセルパッチクランプ法により検討した。hERG テール電流はエンパグリフロジン 30 μ M でも阻害されなかった。また, モルモット乳頭筋に累積濃度で 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 および 10.0 μ M のエンパグリフロジンを適用した。10 μ M までの濃度でエンパグリフロジンの活動電位波形または収縮力に対する影響はみられなかった。

4.2.2 テレメータ装着イヌにおける *in vivo* での心血管系に対する作用

本試験は 6 匹の覚醒イヌ (雌雄各 3 匹) に血行動態シグナル収集用テレメトリー装置を装着し, 各イヌが自身の対照群となるようにラテン方格法を用いて実験を計画し, 実施した [CTD 4.2.1.3-4_U-3536]。イヌにエンパグリフロジン (10, 30 および 100 mg/kg) または溶媒を単回経口投与し, 各用量間に 7 日間のウォッシュアウト期間を設けた。投与後 24 時間にわたり, 収縮期および拡張期動脈圧および心拍数を測定した。QRS 時間および QT 間隔を心電図から求めた。覚醒イヌにおいてエンパグリフロジンは 100 mg/kg までの投与で, ごく軽度の心拍数低下がみられたもののパラメータのいずれに対しても顕著な影響を及ぼさなかった。

4.2.3 イヌ反復投与毒性試験における *in vivo* での心血管系に対する作用

イヌにおいて 2 週間から 52 週間の反復投与試験を実施した。4 週間以上の試験では 10, 30 および 100 mg/kg/day を, 2 週間用量検討試験ではさらに高用量を投与した [CTD 4.2.3.2-7_U-3404, CTD 4.2.3.2-9_U-3210, CTD 4.2.3.2-10_U-3743, CTD 4.2.3.2-11_U-3679, CTD

4.2.3.2-12_U■■-3252]。イヌで実施したいずれの反復投与毒性試験においても、毒性学的に問題となる心血管パラメータの変化は認められなかった。これらの試験で認められた心血管系への影響は、4週間反復投与毒性試験の100 mg/kg/day 群の雌イヌにおける統計学的に有意な心拍数低下およびRR 間隔の延長のみであった。この変化は4週間反復投与毒性試験[CTD 4.2.3.2-9_U■■-3210]において何ら副作用を引き起こすことはなかったことから、毒性学的に問題はないと判断された。さらに、この変化はより長期間実施された同一用量のイヌにおけるその他の毒性試験においても認められなかった。

4.3 呼吸系に対する作用

ラット (Wistar, 雄, 4 匹/群) の呼吸に及ぼすエンパグリフロジンの影響を評価した。プレチスモグラフチャンバーを用いて5分間にわたり1回換気量, 分時換気量および呼吸数のベースライン値を得た後, 溶媒または500, 1000 および2000 mg/kg のエンパグリフロジンを経口投与した [CTD 4.2.1.3-3_U■■-3309]。動物をプレチスモグラフチャンバーに戻し, 投与後0.25, 1, 2, 3, 4 および6時間に呼吸データを収集した。エンパグリフロジン2000 mg/kg までの投与で, 1回換気量, 分時換気量または呼吸数に被験物質に関連した変化は認められなかった。

5. 薬力学的薬物相互作用

5.1 エンパグリフロジンとその他の糖尿病治療薬の併用作用

エンパグリフロジンの作用機序は現在利用可能な 2 型糖尿病治療薬の作用機序と異なっており、これらの機序を補完するものであるため、これらの薬剤との併用可能性を検討した。

この検討を行うために、エンパグリフロジンをメトホルミン、スルホニル尿素（glipizide）、DPP-4 阻害剤（リナグリプチン）、GLP-1 アナログ（エキセナチド）、 α -グルコシダーゼ阻害剤（ボグリボース）およびインスリンと併用投与して試験した。これらの併用作用を、各薬剤単独またはそれぞれとの併用で糖尿病動物（ZDF ラット）に単回投与し、経口糖負荷試験（OGTT）にて検討した。併用投与試験のデータを表 5.1: 1 に要約した。

表 5.1: 1 各薬剤単独投与後または単独投与と同一用量で併用投与後のグルコース AUC
(ベースライン補正なしの糖負荷後 0~120 分⁺の値) の低下

併用試験	エンパグリフロジン 単独投与	エンパグリフロジン 以外の薬剤単独投与	併用投与: エンパグリフロジン+薬剤	参照 資料番号 社内報告書番号
エンパグリフロジン+ メトホルミン (300 mg/kg)	-37%*	-39%*	-63%* [#]	CTD 4.2.1.4-1 U■■-1604
エンパグリフロジン +Glipizide (1 mg/kg)	-26%*	-22%*	-40%* [#]	CTD 4.2.1.4-7 U■■-2006
エンパグリフロジン+ リナグリプチン (1 mg/kg)	-30%*	-33%*	-49%* [#]	CTD 4.2.1.4-6 U■■-1784
エンパグリフロジン+ エキセナチド (0.01 mg/kg)	-35%*	-25%*	-51%* [#]	CTD 4.2.1.4-2 U■■-1734
エンパグリフロジン+ ボグリボース (0.3 mg/kg)	-12%*	-19%*	-31%* [#]	CTD 4.2.1.4-8 U■■-2007
エンパグリフロジン+ インスリン (0.5 U/kg)	-31%*	-35%*	-54%* [#]	CTD 4.2.1.4-3 U■■-1739

エンパグリフロジンは 3 mg/kg で投与

⁺メトホルミンとの併用試験では 0~180 分, *溶媒との比較で有意差あり, #: 単独投与との比較で有意差あり

すべての実験から、ZDF ラットにおいてエンパグリフロジンと各種薬剤個々との併用投与は各薬剤単独投与と比較して耐糖能の大幅な改善をもたらすことが明らかになった。すべての併用投与試験時に、動物は正常な覚醒度および活動度を示し、併用投与またはエンパグリフロジン単独投与のすべての動物で副作用の徴候は認められなかった。

メトホルミン、インスリンおよびピオグリタゾンとの併用投与試験については、エンパグリフロジンと 2 型糖尿病の治療薬として現在利用可能な他の作用機序を有する薬剤との併用可能性を示すために、以下に詳述した。

5.1.1 メトホルミンとの併用

ZDF 雄ラットにおいて、エンパグリフロジンをメトホルミンとの併用で単回経口投与し、OGTT を実施した [CTD 4.2.1.4-1_U■■-1604-01]。エンパグリフロジン 3 mg/kg およびメトホルミン

300 mg/kg により共に明らかな食後高血糖の低下をみた (図 5.1.1: 1)。AUC により評価したグルコース変動は各薬剤単独投与および併用投与により対照群との比較で有意に低下した (図 5.1.1: 2)。エンパグリフロジンとメトホルミンの併用は、グルコース AUC を 63% 低下させ、この低下は各薬剤単独投与 (エンパグリフロジンで 37%, メトホルミンで 39%) が示した作用より有意に大きいものであった。

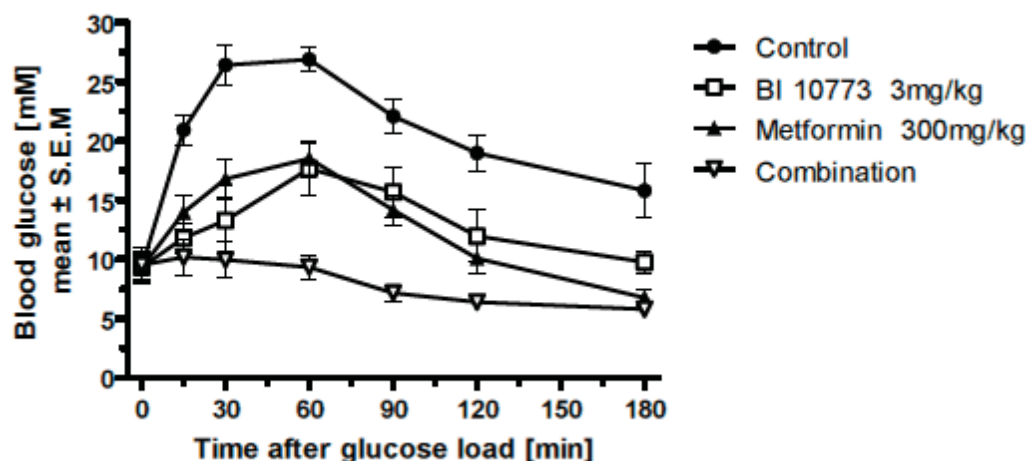
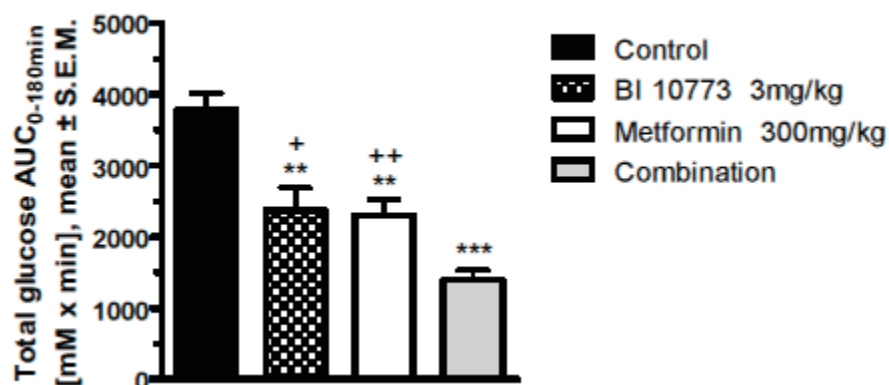


図 5.1.1: 1 エンパグリフロジン、メトホルミンまたはその併用の単回経口投与時の一晩絶食 ZDF ラットにおける経口耐糖能に対する作用。(比較のために、併用投与では単独投与と同一用量を使用)



*対照群と比較した p 値, + 併用投与時と比較した p 値
+は $p < 0.05$, **および++は $p < 0.01$, ***は $p < 0.001$ を表す

図 5.1.1: 2 エンパグリフロジン、メトホルミンまたはその併用の単回経口投与時の ZDF ラットにおける OGTT での総血中グルコース濃度-時間曲線下面積

以上より、エンパグリフロジンおよびメトホルミンの併用投与はそれぞれの単独投与と比較して、優れた血糖コントロール作用を示すと結論づけられる。

5.1.2 インスリンとの併用

ZDF 雄性ラットにおいて OGTT を実施し、エンパグリフロジン単回経口投与またはインスリン単回皮下投与と両方を併用した場合を比較した [CTD 4.2.1.4-3_U-1739]。エンパグリフロジン 3 mg/kg およびインスリン 0.5 U/kg は共に食後高血糖の低下をきたした (図 5.1.2: 1)。同一用量でのエンパグリフロジンおよびインスリンの併用投与は、AUC による評価でさらに大きいグルコース低下作用をもたらした (図 5.1.2: 2)。併用投与によりグルコース AUC は 54%低下し、各薬剤の単独投与 (エンパグリフロジンで 31%, インスリンで 35%) より有意に大きい作用が得られた。

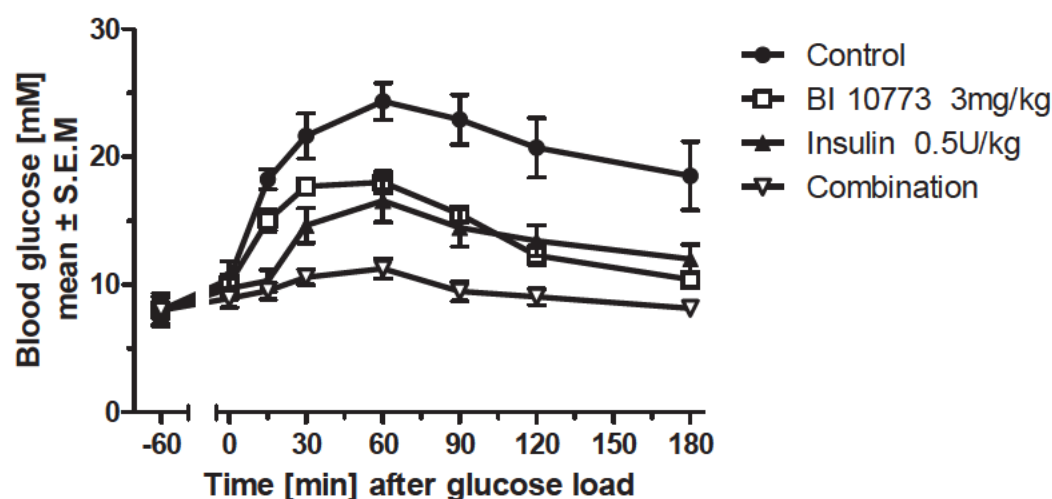
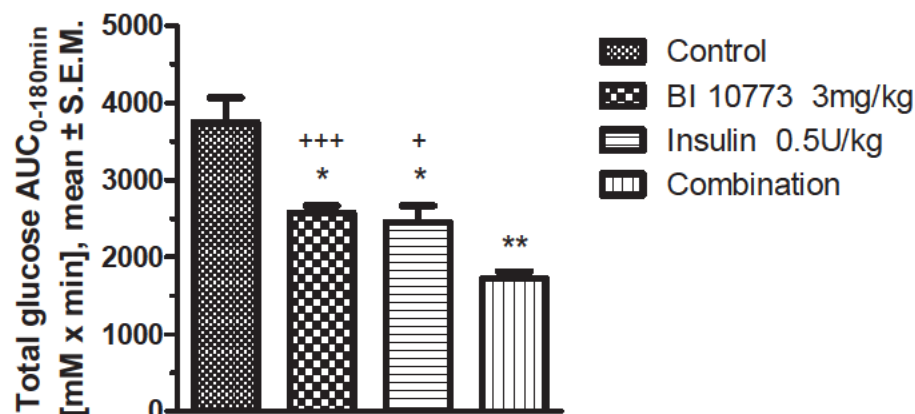


図 5.1.2: 1 エンパグリフロジン、インスリンまたはその併用の単回投与時の一晩絶食 ZDF ラットにおける経口耐糖能に対する作用。(比較のために、併用投与では単独投与と同一用量を使用)



* 対照群と比較した p 値, + 併用投与時と比較した p 値

*および+は p<0.05, **は p<0.01, ***は p<0.001 を表す

図 5.1.2: 2 エンパグリフロジン, インスリンまたはその併用の単回投与時の ZDF ラットにおける OGTT での総血中グルコース濃度-時間曲線下面積

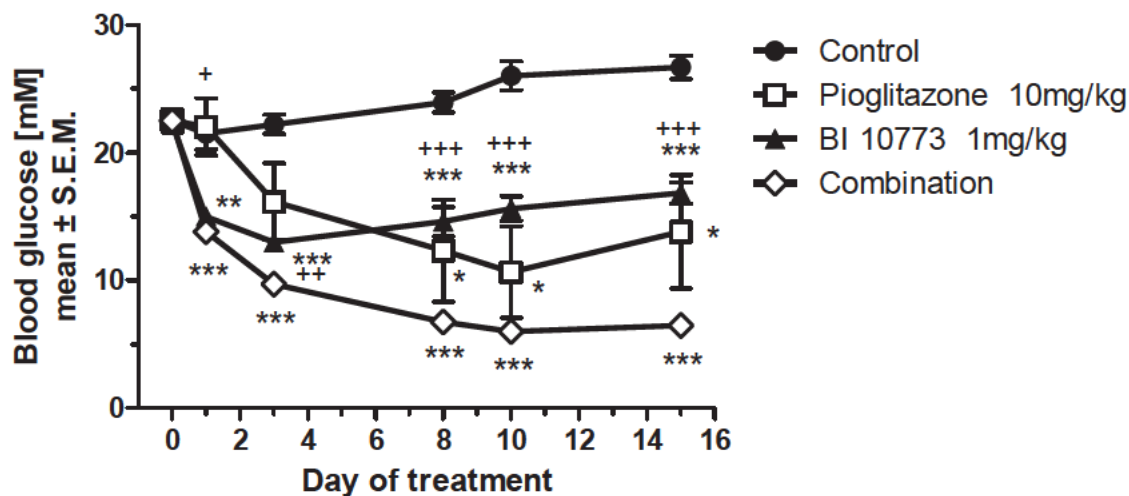
以上より, エンパグリフロジンおよびインスリンの併用投与はそれぞれの単独投与と比較して, より優れた血糖コントロール作用を示すと結論づけられる。

5.1.3 PPAR γ アゴニスト (ピオグリタゾン) との併用

PPAR γ アゴニストは, 投与開始後グルコース濃度に対する低下作用が発現するまで時間を要することが認められているため, エンパグリフロジンとピオグリタゾンの併用による作用は反復投与試験で検討した [CTD 4.2.1.4-5_U-1775]。

ZDF 雄ラットに SGLT2 阻害剤エンパグリフロジン (1 mg/kg), インスリン抵抗性改善剤ピオグリタゾン (10 mg/kg), またはエンパグリフロジンおよびピオグリタゾンの単独投与時と同一用量での両薬を, 1 日 1 回 15 日間投与した。

試験期間中の血中グルコース濃度の推移を図 5.1.3: 1 に示した。対照群では試験期間中に血中グルコース濃度が 18.6%増加したが, エンパグリフロジンおよびピオグリタゾンではそれぞれ 24.3% および 38.7%と有意に減少した。併用ではさらに血中グルコースの低下が増強された (71.2%)。すべての投与群において血糖低下は対照群と比べて有意なものであった。試験終了時 (投与開始後 15 日), 対照群, エンパグリフロジン群およびピオグリタゾン群の血中グルコース濃度はそれぞれ 26.7 mM, 16.9 mM および 13.8 mM であり, 併用群では 6.48 mM と低い値であった。併用投与はそれぞれの単独投与と比較して, 血中グルコース濃度の低下が大きかった。

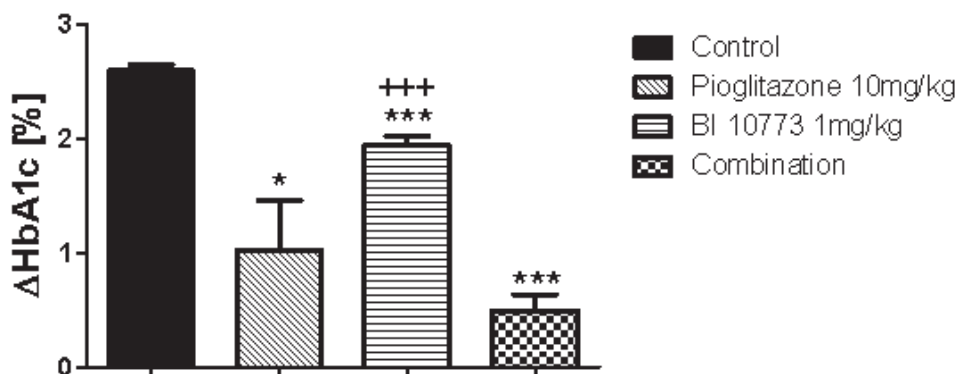


* 対照群と比較した p 値, + 併用投与時と比較した p 値

*および+は $p < 0.05$, **および++は $p < 0.01$, ***および+++は $p < 0.001$ を表す

図 5.1.3: 1 エンパグリフロジン (1 mg/kg), ピオグリタゾン (10 mg/kg) またはその両方 (単独投与時と同一用量を使用) を 1 日 1 回経口投与した ZDF ラットにおける投与開始後 1~15 日の非空腹時血中グルコース濃度の時間推移

HbA1c 絶対値は対照群では Day 0 から Day 15 の間に 3.19%から 5.79%へと 82%増加した。エンパグリフロジン単独投与群では HbA1c の増加 (62%) が対照群と比べて有意に低かった。ピオグリタゾン単独投与群ではなお低かった (28%)。併用群は HbA1c の増加が最も低かった (16%)。投与開始前から投与開始 15 日への試験期間中の HbA1c 変化率を図 5.1.3: 2 に示した。ベースライン値で補正した変化率は対照群, エンパグリフロジン群, ピオグリタゾン群および併用群でそれぞれ 2.60%, 1.94%, 1.03%および 0.50%であった。このように併用投与では単独投与と比べて, HbA1c の増加が抑制された。併用投与群はエンパグリフロジン単独投与群に比べて低下が統計学的に有意であったが, ピオグリタゾン単独投与群との比較は本群の値のばらつきが大きかったため統計学的に有意ではなかった。



* 対照群と比較した p 値, + 併用投与時と比較した p 値

*は p<0.05, ***および+++は p<0.001 を表す

図 5.1.3: 2 エンパグリフロジン（1 mg/kg）、ピオグリタゾン（10 mg/kg）またはその両方（単独投与時と同一用量を使用）を 1 日 1 回 15 日間経口投与した ZDF ラットにおけるベースライン値で補正した HbA1c 値

5.1.4 グリピジドとの併用

ZDF ラットにエンパグリフロジンを単回経口投与して経口糖負荷試験（CGTT）を行い、グリピジドと比較した [CTD 4.2.1.4-7_U-2006]。エンパグリフロジン 3 mg/kg およびグリピジド 1 mg/kg はいずれもグルコースの変動を強く抑制した（図 5.1.4: 1）。AUC を指標とするグルコース濃度の上昇は、各薬剤の単剤投与および両剤の併用投与により対照群と比較して有意に低下した（図 5.1.4: 2）。エンパグリフロジンおよびグリピジドの併用投与はグルコース AUC を 40% 低下させ、この低下度は各薬剤の単剤投与よりも有意に大きかった（エンパグリフロジンで 26%, グリピジドで 22%）。

以上より、エンパグリフロジンおよびグリピジドの併用投与はそれぞれの単剤投与と比較して、より優れた血糖コントロール作用を示すと結論づけられる。

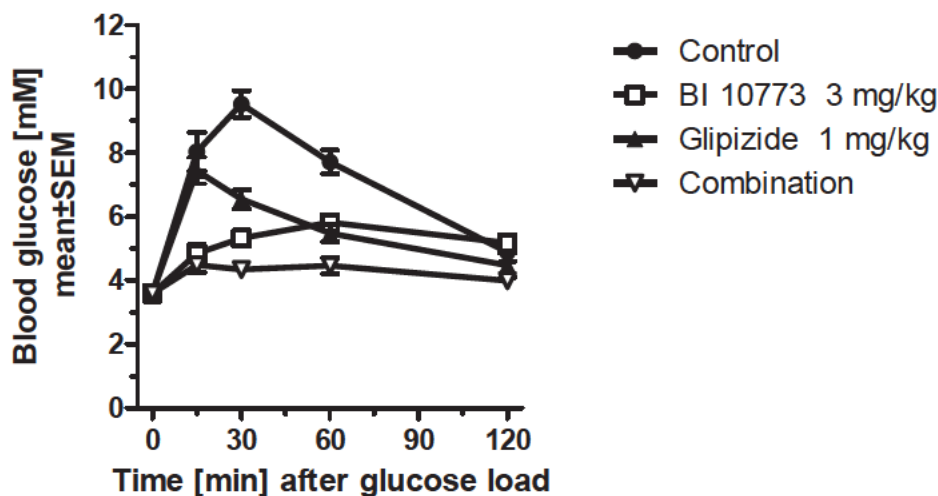
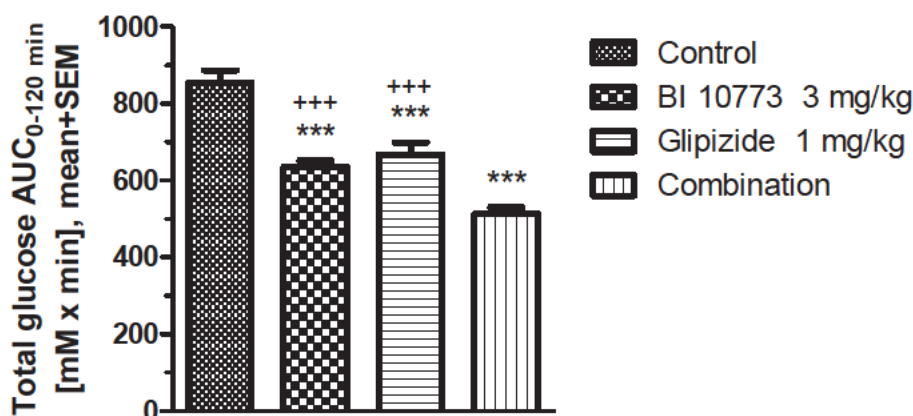


図 5.1.4: 1 エンパグリフロジン、グリピジドまたはその併用の単回経口投与時の一晩絶食 ZDF ラットにおける経口耐糖能に対する作用。比較のために、併用投与では単独投与と同一用量を使用



* 対照群と比較した p 値, + 併用投与時と比較した p 値

***および++は p<0.001 を表す

図 5.1.4: 2 エンパグリフロジン、グリピジドまたはその併用の単回経口投与時の ZDF ラットにおける経口糖負荷試験 (OGTT) での総血中グルコース濃度-時間曲線下面積

5.1.5 リナグリプチンとの併用

ZDF ラットにエンパグリフロジンを単回経口投与して経口糖負荷試験 (CGTT) を行い、リナグリプチンと比較した [CTD 4.2.1.4-6 U-1784]。エンパグリフロジン 3 mg/kg およびリナグリプチン 1 mg/kg はいずれもグルコースの変動を強く抑制した (図 5.1.5: 1)。AUC を指標とするグルコース濃度の上昇は、各薬剤の単剤投与および両剤の併用投与により対照群と比較して有意に低下した (図 5.1.5: 2)。エンパグリフロジンおよびリナグリプチンの併用投与はグルコース AUC

を 42%低下させ、この低下度は各薬剤の単剤投与よりも有意に大きかった（エンパグリフロジンで 25%、グリピジドで 28%）。

以上より、エンパグリフロジンおよびグリピジドの併用投与はそれぞれの単剤投与と比較して、より優れた血糖コントロール作用を示し、両剤の作用機序が異なることから併用により相加的な効果が得られると結論づけられる。

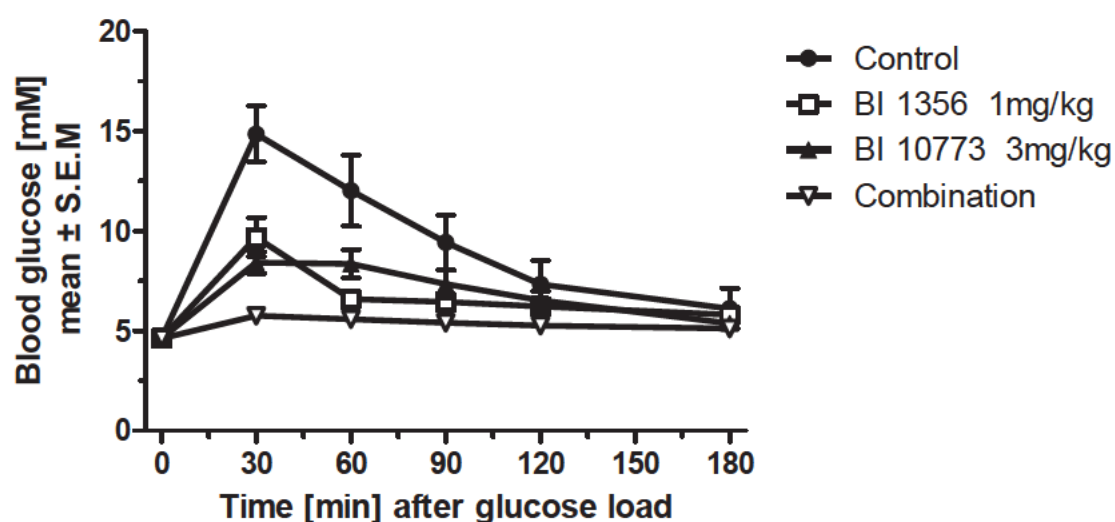
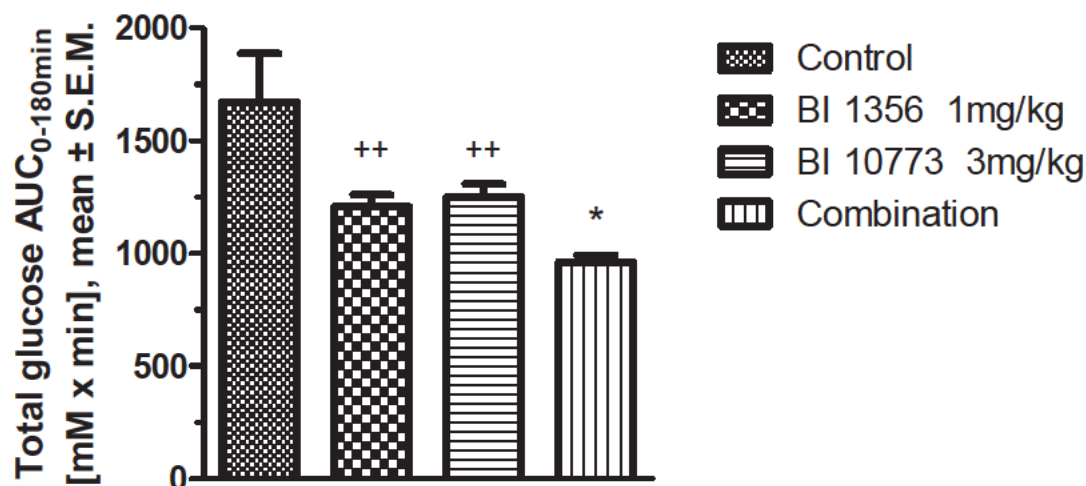


図 5.1.5.1 一昼夜絶食させた ZDF ラットにおける経口糖負荷試験に対するエンパグリフロジン、リナグリプチンまたはその両方（単独投与時と同一用量を使用）の単回経口投与の影響



* 対照群と比較した p 値 (* $p < 0.05$) , + 併用投与時と比較した p 値 (++) $p < 0.01$)

図 5.1.5.2 ZDF ラットにおけるエンパグリフロジン、リナグリプチンまたはその両方の単回経口投与後の経口糖負荷試験時の血糖-時間曲線下面積

5.1.6 エクセンジン-4 との併用

ZDF ラットにおける OGTT 試験に対するエンパグリフロジン単回経口投与と 0.01 mg/kg エクセンジン-4 皮下投与の効果を比較した (CTD 4.2.1.4-2_U-1734)。3 mg/kg のエンパグリフロジンと 0.01 mg/kg のエクセンジン-4 はともに血糖の上昇を抑制した (図 5.1.6: 1)。AUC により評価した血糖上昇は各単独投与および併用投与でコントロールに比べ有意に減少した (図 5.1.6: 2)。エンパグリフロジンとエクセンジン-4 の併用はグルコース AUC を 51%まで減少させ、その減少は各薬物の単独投与よりも有意に大きかった (エンパグリフロジン単独: 35%, エクセンジン-4: 25%)。

エンパグリフロジンとエクセンジン-4 の併用は、各薬剤の単独投与と比べて、血糖管理に対して素晴らしい効果を示し、2つの異なる作用機序が相乗効果を生みだした。

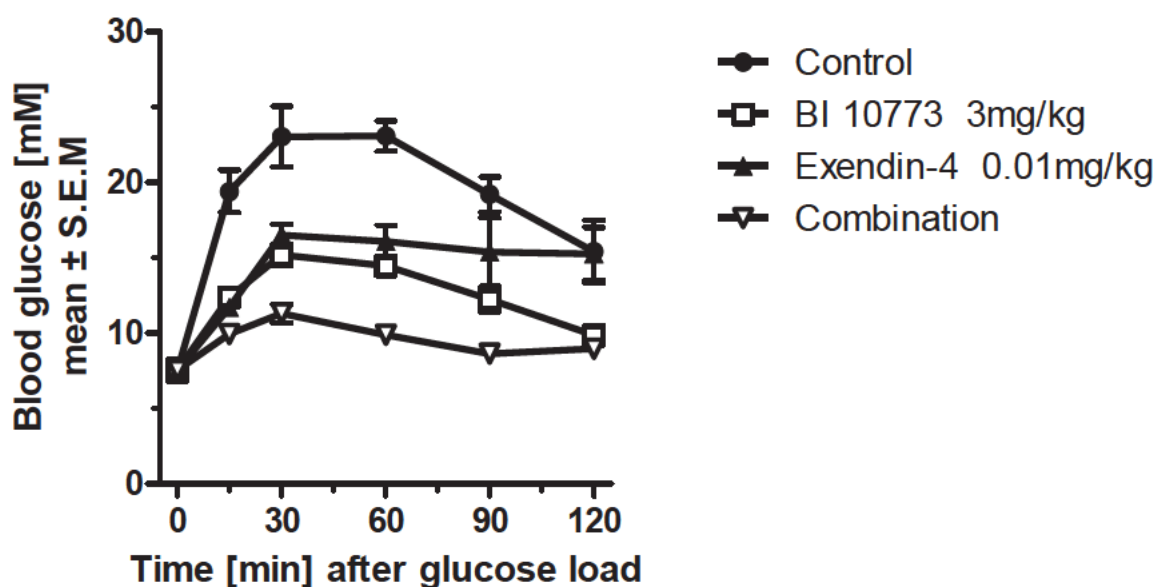
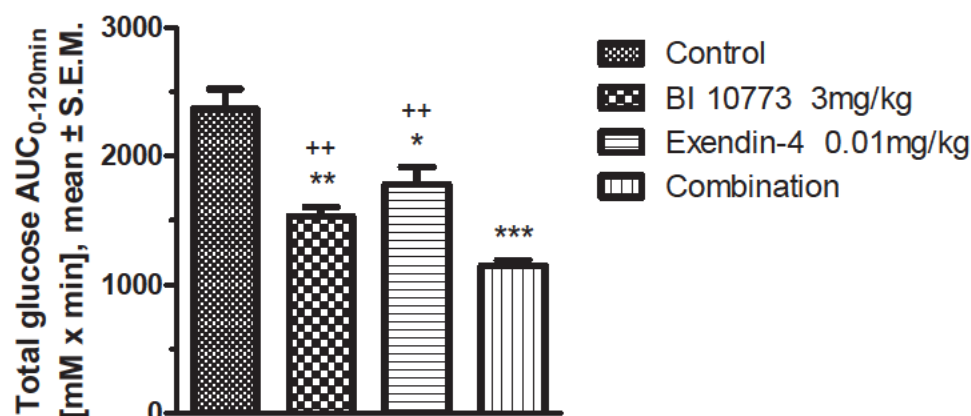


図 5.1.6: 1 一昼夜絶食させた ZDF ラットにおける経口糖負荷試験に対するエンパグリフロジン、エクセンジン-4 またはその両方 (単独投与時と同一用量を使用) の単回投与の影響



* 対照群と比較した p 値 (* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001), + 併用投与時と比較した p 値 (++ p<0.01)

図 5.1.6: 2 ZDF ラットにおけるエンパグリフロジン、エクセンジン-4 またはその両方の単回投与後の経口糖負荷試験時の血糖-時間曲線下面積

5.1.7 ボグリボースとの併用

ZDF ラットにおける OGTT 試験に対するエンパグリフロジン単回経口投与とボグリボースの効果を比較した (CTD 4.2.1.4-8_U-2007)。3 mg/kg のエンパグリフロジンと 0.3 mg/kg のボグリボースはともに血糖の上昇を抑制した (図 5.1.7: 1)。AUC により評価した血糖上昇は各単独投与および併用投与でコントロールに比べ有意に減少した (図 5.1.7: 2)。エンパグリフロジンとボグリボースの併用はグルコース AUC を 31%まで減少させ、その減少は各薬物の単独投与よりも有意に大きかった (エンパグリフロジン単独: 12%, ボグリボース: 19%)。

エンパグリフロジンとボグリボースの併用は、各薬剤の単独投与と比べて、血糖管理に対して素晴らしい効果を示し、2つの異なる作用機序が相乗効果を生み出した。

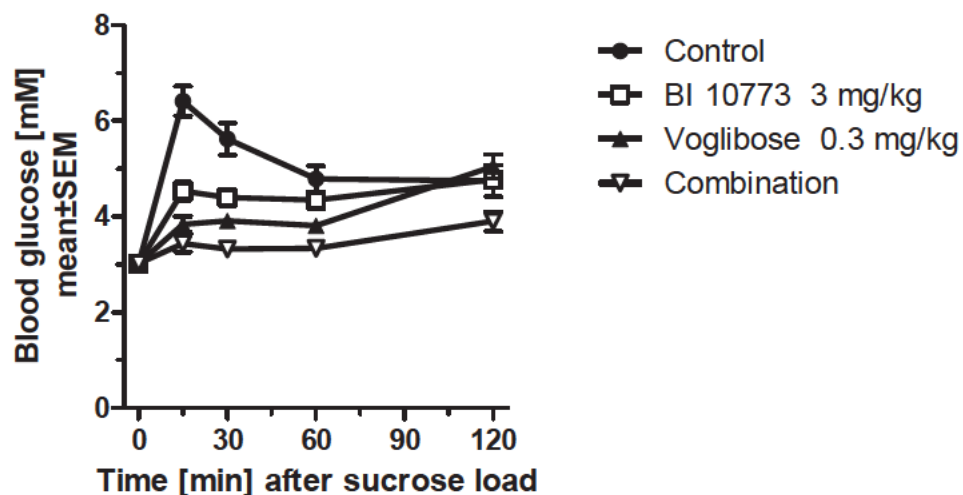
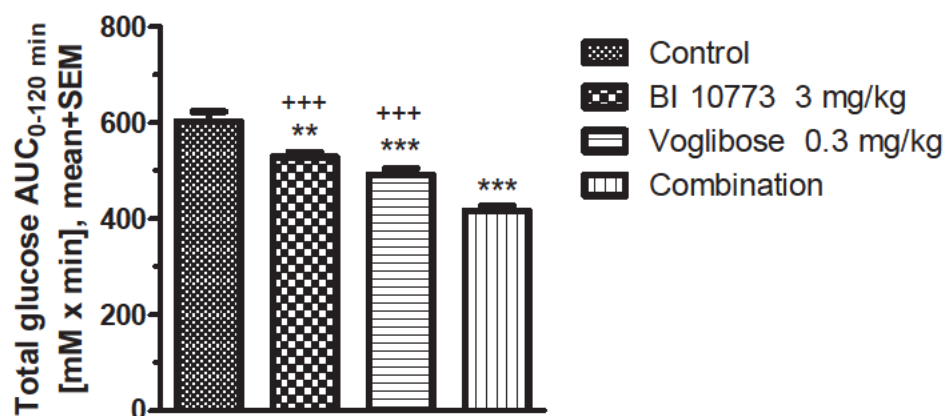


図 5.1.7: 1 一昼夜絶食させた ZDF ラットにおける経口糖負荷試験に対するエンパグリフロジン、ボグリボースまたはその両方（単独投与時と同一用量を使用）の単回経口投与の影響



* 対照群と比較した p 値 (** p<0.01, *** p<0.001), + 併用投与時と比較した p 値 (+++ p<0.001)

図 5.1.7: 2 ZDF ラットにおけるエンパグリフロジン、ボグリボースまたはその両方の単回経口投与後の経口糖負荷試験時の血糖-時間曲線下面積

6. 考察および結論

エンパグリフロジン (BI 10773) はヒト SGLT2 に対する強力かつ選択的な阻害剤であり、 IC_{50} は 1.3 nM で、ヒト SGLT1 (IC_{50} : 6278 nM) の約 5000 倍の選択性を示した。また、エンパグリフロジンは腎臓に発現している他のヒト SGLT (SGLT4, SGLT5 および SGLT6) に比べ良好な SGLT2 への選択性を示し、10 μ M の濃度でもヒト GLUT1 に対して全く活性を示さなかった。さらに、エンパグリフロジンはその他の 98 の酵素および受容体よりも SGLT2 への強い選択性を示すことも明らかとなった。

予測されたとおり、エンパグリフロジンは糖尿病げっ歯類および正常血糖ビーグル犬において腎臓でのグルコースの直接排泄を誘導し、尿中グルコース排泄を増加させた。単回経口投与後および反復経口投与後の糖尿病げっ歯類において、この速やかなグルコース排泄は血中グルコース濃度の低下をもたらした。糖尿病ラットにおける 1 日 1 回反復経口投与は、摂食時および空腹時血中グルコース濃度の低下から明らかのように、血糖コントロールの著明改善をもたらし、耐糖能を増強し、HbA1c 値を低下させた。

エンパグリフロジンの作用機序は、インスリン経路および β 細胞機能に依存しておらず、現在臨床で使用する 2 型糖尿病治療薬の機序と異なっており、これらの機序を補完できるものである。エンパグリフロジンの有効性は、単回投与して OGTT で評価したスルホニル尿素薬 (glipizide)、ビッグアナイド薬 (メトホルミン)、 α -グルコシダーゼ阻害剤 (ボグリボース)、DPP-4 阻害剤 (リナグリプチン)、GLP-1 アナログ (エキセナチド)、または ZDF ラットにおいて摂食時血中グルコース濃度および HbA1c 値から評価したチアゾリジン薬 (ピオグリタゾン) などのほかの作用機序を有するすべての薬剤に対して付加的であることが明らかとなった。これらの所見は、検討した範囲ではエンパグリフロジンがその他のすべての薬理学的機序を示す現在利用可能な 2 型糖尿病治療薬と普遍的に併用できる根拠となる。

また、高脂肪食を投与したげっ歯類の試験において、エンパグリフロジンは尿中にグルコースを排泄することにより摂取カロリーの低減をもたらした。体重増加を抑えた。

最後に、1 型糖尿病の非臨床モデルにおいて、エンパグリフロジンが尿中グルコース排泄を増加させたり、血中グルコース濃度を単回または反復投与時に低下させたりする作用を示したことから、インスリンおよび β 細胞機能に依存しない独自の作用機序が明らかになった。

一連の副次的薬理および安全性薬理試験において、エンパグリフロジンは中枢神経系、肝臓、胃腸管系、呼吸系および心血管系に対して影響を及ぼさなかった。In vitro において hERG カリウムイオンチャネル、あるいはモルモット乳頭筋の活動電位波形または収縮力に対して影響しないことも示された。腎機能に対するエンパグリフロジンの作用はその薬理活性と直接関連していた。

以上より、その作用機序からエンパグリフロジンは、2 型糖尿病患者の治療に有効な選択肢の候補のひとつであり、また低血糖のリスクが低く、体重ならびに大血管および細小血管合併症を招く関連危険因子を減少させる可能性があると結論づけられる。さらにまた、検討した範囲ではエンパグリフロジンは、現在利用可能なすべての経口剤および注射剤との併用で、2 型糖尿病の

一層効果的な管理を促進するために有用かつ補完的であり，経口投与可能な血糖降下薬となり得ることが示唆された。

7. 参考文献

なし

エンパグリフロジン

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社

Proprietary confidential information

© 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

目 次

目 次	2
1. 薬理試験：一覧表	3
2. 効力を裏付ける試験	5
3. 副次的薬理試験	7
4. 安全性薬理試験	9
5. 薬力学的薬物相互作用試験	10

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 薬理試験：一覧表

被験物質：エンパグリフロジン

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	社内報告書番号	資料番号
効力を裏付ける試験					
プロファイルスクリーニング（受容体，チャネル）	<i>In vitro</i>		■	U■-1039	CTD 4.2.1.1-1
プロファイルスクリーニング（受容体，酵素）	<i>In vitro</i>		■	U■-1040	CTD 4.2.1.1-2
SGLT-2 に対する作用および選択性	<i>In vitro</i>		BI	U■-1742	CTD 4.2.1.1-3
尿中グルコース排泄および OGTT に対する作用	<i>In vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U■-2214	CTD 4.2.1.1-4
血糖コントロールに対する影響	<i>In vivo</i>	経口（反復投与）	BI	U■-1071	CTD 4.2.1.1-5
BI 10773 代謝物の SGLT2 に対する作用	<i>In vitro</i>		BI	U■-2000	CTD 4.2.1.1-6
エンパグリフロジンの作用と他の SGLT2 阻害剤との比較	<i>In vitro/In vivo</i>		BI	P11-13842	CTD 4.2.1.1-10
副次的薬理試験					
中枢神経系に対する作用	マウス, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U■-2650	CTD 4.2.1.2-1
心血管系および呼吸系に対する作用	ラット, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U■-2632	CTD 4.2.1.2-2
腎および肝機能ならびに臨床検査に対する作用	ラット, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U■-1192	CTD 4.2.1.2-3
胃腸管系に対する作用（胃排出能ならびに腸管輸送能）	ラット, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U■-1108	CTD 4.2.1.2-4
胃腸管系に対する作用（胃酸分泌）	ラット, <i>in vivo</i>	十二指腸内（単回投与）	BI	U■-1194	CTD 4.2.1.2-5
心血管系に対する作用	イヌ, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U■-2639	CTD 4.2.1.2-6
体重に対する影響	<i>In vivo</i>	経口（反復投与）	■	n00231938	CTD 4.2.1.1-8
1 型糖尿病の血糖コントロールに対する作用	<i>In vivo</i>	経口（反復投与）	BI	U■-1767	CTD 4.2.1.4-4
安全性薬理試験					
中枢神経系に対する作用 ¹⁾	ラット, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）	■	U■-3263	CTD 4.2.1.3-2
心血管系に対する作用（hERG, 活動電位波形）	HEK293 細胞, モルモット乳頭筋, <i>in vitro</i>		BI	U■-2641	CTD 4.2.1.3-1
心血管系に対する作用 ¹⁾	イヌ, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）	■	U■-3536	CTD 4.2.1.3-4
心血管系に対する作用	イヌ, <i>in vivo</i>	経口（反復投与）	BI	U■-3404	CTD 4.2.3.2-7
心血管系に対する作用 ¹⁾	イヌ, <i>in vivo</i>	経口（反復投与）	■	U■-3210	CTD 4.2.3.2-9

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 薬理試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	社内報告書番号	資料番号
心血管系に対する作用 ¹⁾	イヌ, <i>in vivo</i>	経口（反復投与）	BI	U-3743	CTD 4.2.3.2-10
心血管系に対する作用 ¹⁾	イヌ, <i>in vivo</i>	経口（反復投与）		U-3679	CTD 4.2.3.2-11
心血管系に対する作用 ¹⁾	イヌ, <i>in vivo</i>	経口（反復投与）		U-3252	CTD 4.2.3.2-12
呼吸系に対する作用 ¹⁾	ラット, <i>in vivo</i>	経口（単回投与）		U-3309	CTD 4.2.1.3-3
薬力学的薬物相互作用試験					
メトホルミンとの併用試験（OGTT）	ラット, <i>In vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U-1604	CTD 4.2.1.4-1
エキセナチドとの併用試験（OGTT）	ラット, <i>In vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U-1734	CTD 4.2.1.4-2
インスリンとの併用試験（OGTT）	ラット, <i>In vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U-1739	CTD 4.2.1.4-3
Glipizide との併用試験（OGTT）	ラット, <i>In vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U-2006	CTD 4.2.1.4-7
ピオグリタゾンとの併用試験（血糖）	ラット, <i>In vivo</i>	経口（反復投与）	BI	U-1775	CTD 4.2.1.4-5
リナグリプチンとの併用試験（OGTT）	ラット, <i>In vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U-1784	CTD 4.2.1.4-6
ボグリボースとの併用試験（OGTT）	ラット, <i>In vivo</i>	経口（単回投与）	BI	U-2007	CTD 4.2.1.4-8

1) GLP 適用試験

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2. 効力を裏付ける試験

被験物質： エンパグリフロジン

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	社内報告書番号	資料番号
効力と選択性								
In vitro Profiling screen	Human/Rat/ Rabbit	Pipette	10 µM	-	受容体または酵素との著明な相互作用は認められなかった。	No	U■■-1039	CTD 4.2.1.1-1
In vitro Profiling screen	Human/Rat/ Rabbit/Pig//Bovine	Pipette	10 µM	-	受容体または酵素との著明な相互作用は認められなかった。	No	U■■-1040	CTD 4.2.1.1-2
In vitro Potency and selectivity	Human/Rat	Pipette	0-10µM	-	h SGLT1 に対する IC50=6278nM SGLT2 に対する IC50=1nM GLUT1 に対する IC50>10µM	No	U■■-1742	CTD 4.2.1.1-3
In vitro potency of metabolites of BI10773	Human	Pipette	0-10µM	-	BI10773 代謝体の SGLT2 に対する作用は弱く IC50>1µM。	No	U■■-2000	CTD 4.2.1.1-6

- not applicable

a - Single dose unless specified otherwise

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2. 効力を裏付ける試験（続き）

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	社内報告書番号	資料番号
薬効薬理								
Urinary glucose excretion/Blood glucose	Rat/Mice/Dog	Oral gavage	0-30mg/kg	Males 3-6/group	尿中に顕著なグルコース排泄。 経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。 血中グルコース低下作用。	No	U■■-2214	CTD 4.2.1.1-4
Glucose homeostasis in Type 2 diabetes	ZDF Rats	Oral gavage	0.3/1/3mg/kg Repeat dose	Males 8/group	血中グルコース低下作用。経口 糖負荷試験 (OGTT) の改善。 HbA1c の低下。	No	U■■-1071	CTD 4.2.1.1-5

- not applicable

a - Single dose unless specified otherwise

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. 副次的薬理試験

被験物質： エンパグリフロジン

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	社内報告書番号	資料番号
Central Nervous	mice/SPF	Oral	0, 3, 10, 30	6 males/group	Irwin の変法またはマウスの夜間運動性を指標とする一般行動に影響なし。	No	U-2650	CTD 4.2.1.2-1
Respiratory	rats/Wistar	Oral	0, 3, 10, 30	5 males/group	覚醒ラットの動脈圧、心拍数、呼吸数、1 回換気量および体温に対する影響なし。	No	U-2632	CTD 4.2.1.2-2
Renal/Urinary	rats/Wistar	Oral	0, 3, 10, 30	10/sex/group	エンパグリフロジンは ≥ 30 mg/kg においてグルコースおよびナトリウムの排泄を促進し、 ≥ 10 mg/kg において血清遊離脂肪酸を増加させた。これらの作用はエンパグリフロジンの意図する治療効果の作用機序であるナトリウム-グルコース共役輸送担体 2 (SGLT2) の遮断による作用である。	No	U-1192	CTD 4.2.1.2-3

a - Single dose

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. 副次的薬理試験（続き）

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	社内報告書番号	資料番号
Gastrointestinal	rats/Wistar	Oral	0, 3, 10, 30	5/sex/group	エンパグリフロジンは3および10 mg/kg で胃内容物排出に影響しなかった。30 mg/kg では胃内容物排出を33%増加させた。3、10 および 30 mg/kg において腸管輸送に影響を与えなかった。	No	U■■-1108	CTD 4.2.1.2-4
Gastrointestinal	rats/Wistar	Intraduodenal	0, 3, 10, 30	8 males/group	覚醒ラットに3、10 および 30 mg/kg の BI 10773 XX を十二指腸内投与しても胃液分泌に影響を与えなかった。	No	U■■-1194	CTD 4.2.1.2-5
Cardiovascular	dogs/Beagle	Oral	0, 3, 10, 30	2/sex (N=4)	覚醒イヌに治療量を超える量を投与しても心血管機能および心電図パラメーターに影響を与えなかった。	No	U■■-2639	CTD 4.2.1.2-6
Glucose homeostasis Body Weight Glucose	Rats	Oral gavage	10mg/kg Repeat dose	Females 10/group	体重および脂肪量の低下。血漿中インスリンの低下（OGTT）。摂餌量に対する影響なし／水分摂取量の増加。	No	n00231938	CTD 4.2.1.2-7
Glucose homeostasis Type 1 diabetes Combination with insulin.	Rats, streptozotocin in (STZ) treated	Oral gavage	10mg/kg Repeat dose	Male 6-7/group	血中グルコース低下作用。HbA1c の低下。インスリンに対する追加作用。インスリン節約作用。	No	U■■-1767	CTD 4.2.1.2-8

a - Single dose

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4. 安全性薬理試験

被験物質：エンパグリフロジン

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	社内報告書番号	資料番号
中枢神経系	ラット／Wistar	強制経口投与	0, 500, 1000, 2000	雄 10/群	投与後 24 時間にすべての被験物質投与群で軟便が認められた。すべての用量で、投与後 4 時間まで神経薬理学的および毒性学的徴候は認められなかった。	適用	U■■-3263	CTD4.2.1.3-2
心血管系	HEK293 細胞； モルモット	<i>in vitro</i>	1-30 µM； 0.1-10 µM	1 濃度当たり 細胞標本 3 個；1 濃度当 り筋標本 5 個	BI 10773 は hERG を介するカリウム電流に対して影響を及ぼさず、モルモット乳頭筋の活動電位および収縮力に対して影響を及ぼさなかった。これらの <i>in vitro</i> データから、心室再分極遅延に基づく BI 10773 の催不整脈作用の証拠所見は得られなかった。	非適用	U■■-2641	CTD4.2.1.3-1
心血管系	イヌ／Beagle	強制経口投与	0, 10, 30, 100	雄 3，雌 3	10 mg/kg 投与群の雌ならびに 30 および 100 mg/kg 投与群の雌雄で、投与後約 2～10 時間にごく軽度の心拍数低下が認められた。動脈圧に対する影響はいずれの用量でも認められなかった。心電図に被験物質と関連した変化を示す所見は認められなかった。	適用	U■■-3536	CTD4.2.1.3-4
呼吸系	ラット／Wistar	強制経口投与	0, 500, 1000, 2000	雄 4/群	呼吸数，1 回換気量および分時換気量に対する重大な影響は認められなかった。	適用	U■■-3309	CTD4.2.1.3-3

HEK：ヒト胎児由来腎臓細胞

a) 特に規定のない限り単回投与

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5. 薬力学的薬物相互作用試験

被験物質： エンパグリフロジン

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	社内報告書番号	資料番号
Combination study with metformin (OGTT)	ZDF Rats	Oral gavage	3mg/kg- Single dose	Male 5/group	経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。併用により効果が増大。	No	U■■-1604	CTD 4.2.1.4-1
Combination study with Exendin-4 (OGTT)	ZDF Rats	Oral gavage	3mg/kg- Single dose	Male 5/group	経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。併用により効果が増大。	No	U■■-1734	CTD 4.2.1.4-2
Combination study with insulin (OGTT)	ZDF Rats	Oral gavage	3mg/kg- Single dose	Male 5/group	経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。併用により効果が増大。	No	U■■-1739	CTD 4.2.1.4-3
Combination study with Glipizide (OGTT)	ZDF Rats	Oral gavage	3mg/kg- Single dose	Male 5/group	経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。併用により効果が増大。	No	U■■-2006	CTD 4.2.1.4-7

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5. 薬力学的薬物相互作用試験（続き）

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	社内報告書番号	資料番号
Combination study with Pioglitazone (glycemia)	ZDF Rats	Oral gavage	1mg/kg- Repeated doses	Male 5/group	経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。併用により効果が増大。	No	U■■-1775	CTD 4.2.1.4-5
Combination study with Linagliptin (OGTT)	ZDF Rats	Oral gavage	3mg/kg- Single dose	Male 5/group	経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。併用により効果が増大。	No	U■■-1784	CTD 4.2.1.4-6
Combination study with voglibose (OGTT)	ZDF Rats	Oral gavage	3mg/kg- Single dose	Male 8/group	経口糖負荷試験 (OGTT) の改善。併用により効果が増大。	No	U■■-2007	CTD 4.2.1.4-8