2.6.6 毒性試験の概要文

目　次

目　次 2
表 一 覧 2
略号一覧 4
1 まとめ 5
2 単回投与毒性試験 6
3 反復投与毒性試験 7
3.1 ラットを用いた用量漸増投与毒性試験 7
3.2 ラットを用いた 2 週間反復投与用量設定試験 7
3.3 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 8
3.4 イヌを用いた用量漸増投与毒性試験 10
3.5 イヌを用いた 2 週間反復投与用量設定試験 10
3.6 イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 12
4 遺伝毒性試験 13
5 がん原性試験 13
6 生殖発生毒性試験 14
6.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 14
6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験におけるトキシコキネティクス 14
6.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験 15
6.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 16
7 局所刺激性試験 17
8 その他の毒性試験 17
8.1 不純物の毒性試験 17
8.1.1 366-98：ラットを用いた単回投与毒性試験 18
8.1.2 366-98：ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験 18
8.1.3 366-98：ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験 18
8.1.4 366-98：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 18
8.1.5 不純物の安全性評価 19
9 考察及び結論 22

表 一 覧

Table 1-1 毒性試験一覧 5
Table 3-1 ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ 8
Table 3-2 ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ 8

Table 3-3 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ 9
Table 3-4 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ 10
Table 3-5 イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ 11
Table 3-6 イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ 11
Table 3-7 イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ 13
Table 3-8 イヌを用いた 13 週間週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ 13
Table 6-1 妊娠ラットにおけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ 15
Table 6-2 妊娠ラットにおけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ 15
Table 6-3 妊娠ウサギにおけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ 17
Table 6-4 妊娠ウサギにおけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ 17
Table 8-1 本剤の不純物の規格値及び被験物質中の最大含有量 19
Table 8-2 反復投与毒性試験における不純物含有量 20
Table 8-3 復帰突然変異試験における不純物含有量 21
Table 8-4 染色体異常試験における不純物含有量 21
Table 9-1 全身曝露量の比較（ビルダグリプチン） 23
Table 9-2 全身曝露量の比較（メトホルミン） 24

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
AUC	area under the drug concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
Cmax	maximum drug concentration	最高薬物濃度
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
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議

1 まとめ

LMF237（販売名：エクメット配合錠，以下，本剤）はジペプチジルペプチダーゼ-4 阻害薬であるビルダグリプチンとビグアナイド薬であるメトホルミン塩酸塩（以下，メトホルミン）を有効成分とする配合剤であり，2 型糖尿病の治療薬として開発された。本剤の非臨床安全性については，ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与によるラット及びイヌを用いた 13 週間までの反復投与毒性試験，並びにラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，不純物単独の単回投与毒性試験，4 週間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験，不純物含有バッチにおける 4 週間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験により評価した（Table 1-1）。主要な毒性試験は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use，ICH）M3(R2) ガイドライン（医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス）及びその他の安全性に関する ICH ガイドラインに従い，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice，GLP）に準拠して実施した。これらの試験はノバルティス ファーマ社又は受託研究機関において実施した。

Table 1-1 毒性試験一覧

試験の種類		被験物質	投与経路	試験系	試験番号
併用投与毒性評価					
反復投与毒性	用量漸増 (単回)・4 日間	Vilda+Met	経口	ラット	0570003
				イヌ	0570002
	2 週間	Vilda+Met	経口	ラット	0570004
				イヌ	0570005
	13 週間	Vilda+Met	経口	ラット	0670033
				イヌ	0670034
生殖発生毒性	胚・胎児発生	Vilda+Met	経口	ラット	0670029
					0670172
	胚・胎児発生用量設定	Vilda+Met	経口	ウサギ	0570024
	胚・胎児発生			ウサギ	0670015
不純物安全性評価					
単回投与毒性		366-98	経口	ラット	0870553
反復投与毒性	4 週間	TOX1/LAF237	経口	ラット	0170152*
		366-98	経口	ラット	0870552
遺伝毒性	復帰突然変異	TOX1/LAF237	*In vitro*	ネズミチフス菌	0212001*
		366-98	*In vitro*		0870554
	染色体異常	TOX1/LAF237	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	0112214*
		366-98	*In vitro*		0870551

Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン，TOX1/LAF237 = 不純物 202-01，209-01，207-01 を含有するビルダグリプチン

* = エクア錠承認申請時に提出済みの試験

併用投与による反復投与毒性試験には，げっ歯類としてラットを，非げっ歯類としてイヌを使用した。これらの動物種は毒性試験の供試動物として一般的であり，また，ビルダグリプチンの薬物動態及び代謝プロファイルがヒトと類似していることから選択した。すべての *in vivo* 試験は，本剤の予定臨床投与経路である経口投与により実施した。併用投与毒性試験における用量比は，本剤の予定最高臨床 1 日用量における配合比を参考にして 1：10（ビルダグリプチン：メトホルミン）を選択した。

ビルダグリプチンとメトホルミンを 100+1000 mg/kg/日までの用量でラットに 13 週間反復投与した結果，毒性変化として体重減少若しくは体重増加量減少，摂餌量減少，網状赤血球数減少，心臓及び肝臓重量の増加，胸腺重量の減少，並びに肺胞内泡沫状マクロファージ集簇が認められた。器官重量の変化に関連する病理組織学的変化は認められなかった。肺胞内泡沫状マクロファージ集簇はビルダグリプチンに関連した変化であり，その他の変化はいずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。ビルダグリプチンとメトホルミンを 10+100→50 mg/kg/日までの用量（投与 9 日から用量減量）でイヌに 13 週間反復投与した結果，毒性変化として瀕死・死亡，糞便異常，体重減少，摂餌量減少，及び前立腺重量の減少が認められた。両剤に関連した糞便異常を除いて，いずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。ラット及びイヌを用いた併用投与による反復投与毒性試験では，併用投与による新たな毒性の発現，若しくは既知の毒性の増強はみられなかった。併用投与によるラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母動物毒性に関連した二次的変化と考えられる吸収胚数の増加がウサギでみられたが，いずれの動物種においても催奇形性を示唆する変化は認められなかった。

本剤の不純物の安全性の確認を目的として，単回及び反復投与毒性試験，並びに遺伝毒性試験を実施した。その結果，不純物に起因すると考えられる毒性変化は認められなかったことから，いずれの不純物についても規格値までの安全性が確認されているものと判断した。

2 単回投与毒性試験

ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による単回投与毒性試験は実施していない。ラット及びイヌを用いた併用投与による用量漸増投与毒性試験の結果から単回投与による概略の致死量を推定すると，ラットでは 75+750 mg/kg 超，イヌでは 40+400 mg/kg 超と考えられた。

3 反復投与毒性試験

3.1 ラットを用いた用量漸増投与毒性試験

本試験 [Table 2.6.7.6A-0570003] は，反復投与毒性試験の用量設定を目的として GLP 非適用で実施した。本試験は用量漸増投与相及び反復投与相からなり，用量漸増投与相では 1 群雌雄各 2 例の Wistar Hannover 系ラットに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 10+100→30+300→75+750 mg/kg の用量で単回経口投与した。反復投与相では，1 群雌雄各 2 例のラットに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体）及び 75+750 mg/kg/日の用量で 4 日間反復経口投与した。

用量漸増投与相では，最高用量（75+750 mg/kg）においても一般状態及び体重の変化はみられず，剖検で異常は認められなかった。反復投与相では，体重減少（雌 1 例）及び体重増加量減少（雄 2 例）が認められた。一般状態の変化，並びに剖検及び病理組織学的検査における異常はみられなかった。

以上のことから，2 週間反復投与用量設定試験の最高用量には 75+750 mg/kg/日以下の用量が妥当と考えられた。

3.2 ラットを用いた 2 週間反復投与用量設定試験

本試験 [Table 2.6.7.6A-0570004] は，13 週間反復投与毒性試験の用量設定を目的として GLP 非適用で実施した。1 群雌雄各 5 例の Wistar Hannover 系ラットに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），10+100，30+300，60+600，60+0 及び 0+600 mg/kg/日の用量で 2 週間反復経口投与した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態の変化として 30+300，60+600 及び 0+600 mg/kg/日群の雄，60+600 mg/kg/日群の雌で下腹部の汚れがみられた。体重増加量及び摂餌量の減少が，30+300 及び 60+600 mg/kg/日群の雄で認められた。血液学的検査では異常は認められなかった。血液生化学的検査では，0+600 mg/kg/日群の雄 1 例でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼ活性の軽微な上昇がみられた。器官重量測定では，0+600 mg/kg/日群の雌で肝臓重量の増加が，60+600 mg/kg/日群の雌で心臓重量の増加がみられた。これらの器官重量の変化はメトホルミンによるものと考えられ，いずれの器官においても関連した形態学的変化は認められなかった。病理組織学的検査では，60+600 mg/kg/日群の雄で肺の炎症性変化（微小炎症巣，血管周囲または細気管支周囲の炎症性細胞浸潤）が認められた。

トキシコキネティクスの結果，メトホルミンの併用投与によりビルダグリプチンの Cmax の低下がみられたが，AUC に影響は認められず，用量比例的な増加を示した（Table 3-1）。ビルダグリプチンとの併用投与によるメトホルミンの AUC は，雄では用量比を下回る増加を示したが，雌では用量比例的な増加が認められた（Table 3-2）。ビルダグリプチン及びメトホルミンの曝露量に性差は認められなかった。

以上のことから，本試験における無毒性量は，雄では 10+100 mg/kg/日，雌では 60+600 mg/kg/日と判断された。

Table 3-1　ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 2 週	10+100	656	997	2570	2440
	30+300	1880	2120	6900	7230
	60+600	3090	3730	10400	NC
	60+0	8150	9600	17000	16900

Source: Table 2.6.7.1-0570004
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン
NC = not calculated

Table 3-2　ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 2 週	10+100	5184	11063	39033	38327
	30+300	14702	16599	100806	117332
	60+600	22755	28279	111532	NC
	0+600	31024	24892	200237	154014

Source: Table 2.6.7.1-0570004
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン
NC = not calculated

3.3　ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

本試験 [Table 2.6.7.7A-0670033] は，ビルダグリプチンとメトホルミンを併用投与したときの毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 10 例の Wistar Hannover 系ラットに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），10+100，30+300，100+1000，100+0 及び 0+1000 mg/kg/日の用量で 13 週間反復経口投与した。さらに，0，100+1000，100+0 及び 0+1000 mg/kg/日群には回復性試験群（1 群雌雄各 6 例）を設定し，投与期間終了後 4 週間の休薬による回復性について検討した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態の変化として 100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群の雌雄で粗毛，被毛・下腹部の汚れ，脱毛，軟便及び流涎が，100+1000 mg/kg/日群の雌及び 0+1000 mg/kg/日群の雌雄で腹部膨満が，100+1000 mg/kg/日群の雌及び 0+1000 mg/kg/日群の雄で円背位が認められたが，脱毛，被毛・下腹部の汚れを除いて休薬期間終了時には消失した。なお，30+300 mg/kg/日群の一部の個体で流涎及び下腹部の汚れ，10+100，30+300，及び 100+0 mg/kg/日

群で被毛の汚れが散見されたが，発現頻度が低いことから毒性学的意義はないと考えられた。体重減少が，100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群の雌雄でみられ，体重増加量減少が 30+300 mg/kg/日群の雄，並びに 100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群の雌雄で認められた。摂餌量の変化が 100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群の雌雄でみられた。摂餌量は投与 36 日まで減少し，その後増加した。30+300 mg/kg/日群の雄においても摂餌量の増加傾向がみられた。体重及び摂餌量の変化については，休薬による回復性が認められた。眼科学的検査では異常は認められなかった。血液学的検査では，100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群の雌雄で網状赤血球数の減少が認められたが，4 週間の休薬により回復性が確認された。血液生化学的検査及び尿検査では，投薬に関連した変化は認められなかった。剖検で異常は認められなかった。器官重量測定では，100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群で，肝臓及び心臓重量の増加（雌雄），胸腺重量の減少（雌雄），腎重量の増加（雌のみ）がみられた。休薬期間終了後に 0+1000 mg/kg/日群の雄で心臓重量の増加がみられたが，他の器官の変化は休薬により回復した。病理組織学的検査では，100+1000 及び 100+0 mg/kg/日群の雌雄で肺胞内泡沫状マクロファージ集簇がみられた。この変化は 4 週間の休薬期間終了後には認められず，回復性が示唆された。

トキシコキネティクスの結果，メトホルミンの併用投与によりビルダグリプチンの Cmax の低下がみられたが，AUC に影響は認められず，用量比例的な増加を示した（Table 3-3）。メトホルミンの AUC はビルダグリプチンの併用投与により増加する傾向がみられたが，ビルダグリプチンを併用した場合もメトホルミンの AUC は用量比例的に増加した。（Table 3-4）。ビルダグリプチン及びメトホルミンの曝露量に性差は認められなかった。

以上のとおり，本試験では良好な忍容性が認められた。100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群でみられた一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査値及び器官重量の変化は，メトホルミンに関連したものと考えられ，100+1000 及び 100+0 mg/kg/日群に認められた肺胞内泡沫状マクロファージ集簇は，ビルダグリプチンに関連した変化と考えられた。30+300 mg/kg/日群においても一般状態，体重及び摂餌量の変化がみられたが，軽度の変化であることから毒性学的意義は低いものと考え，本試験における無毒性量は 30+300 mg/kg/日と判断された。

Table 3-3　ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 11 週	10+100	1540	1170	2870	2480
	30+300	2050	2430	9460	9130
	100+1000	4610	7680	31100	41200
	100+0	13500	15700	35400	34200

Source: Table 2.6.7.7A-0670033
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

Table 3-4　ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 11 週	10+100	9250	7070	39500	33100
	30+300	11900	17100	104000	102000
	100+1000	30900	35000	377000	405000
	0+1000	28800	34400	261000	280000

Source: Table 2.6.7.7A-0670033
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

3.4　イヌを用いた用量漸増投与毒性試験

本試験 [Table 2.6.7.6A-0570002] は，反復投与毒性試験の用量設定を目的として GLP 非適用で実施した。用量漸増投与相として，雌雄各 1 例のビーグル犬に，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 10+100→20+200→40+400 mg/kg の用量でそれぞれ単回経口投与した。また反復投与相として，雌雄各 1 例のビーグル犬に 20+200 mg/kg/日の用量で 4 日間反復経口投与した。

用量漸増投与相では，最高用量である 40+400 mg/kg においても死亡は認められなかった。反復投与相では，投与 2 日の投与後に雌 1 例が死亡した。いずれの投与相においても，嘔吐，下痢，粘液便及び軟便並びに体重減少がみられた。死亡例の病理組織学的検査では，心臓で心筋の壊死及び出血がみられ，十二指腸，空腸及び直腸でうっ血が認められた。心臓の変化は，低血糖又は乳酸アシドーシスに関連した心筋の灌流低下に起因した死戦期における変化と考えられたが，発現機序の詳細は不明であった。消化管のうっ血は心機能低下に伴う二次的変化と考えられた。

以上のとおり， 用量漸増投与相では忍容性がみられたが，20+200 mg/kg/日の 4 日間反復投与では死亡が認められた。毒性変化として，死亡，糞便異常及び体重減少などがみられ，反復投与相の死亡例では心筋の壊死及び出血などが認められた。

3.5　イヌを用いた 2 週間反復投与用量設定試験

本試験 [Table 2.6.7.6A-0570005] は，13 週間反復投与毒性試験の用量設定を目的として GLP 非適用で実施した。ビーグル犬に，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），1.25+12.5，2.5+25，5+50，5+0 及び 0+50 mg/kg/日の用量で 2 週間反復経口投与した。供試動物数は，0，1.25+12.5 及び 2.5+25 mg/kg/日群では雌雄各 1 例，5+50，5+0 及び 0+50 mg/kg/日群では雌雄各 2 例とした。

本試験では死亡はみられなかった。一般状態の変化（糞便異常，皮膚及び被毛の所見，流涎及び嘔吐）が散見され，その発現頻度には用量依存性がみられなかったが，投薬群の動物のみで観察されたことから投薬との関連は否定できなかった。体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，血液凝固検査，剖検及び病理組織学的検査では異常は認められなかった。器官重量測定では，1.25+12.5，2.5+25，5+50 及び 0+50 mg/kg/日群の雄で肝臓重量の増加がみられ，2.5+25，5+50 及び 0+50 mg/kg/日群の雄で前立腺重量の減少が認められた。

トキシコキネティクスの結果，メトホルミンの併用投与によるビルダグリプチンの曝露量への影響はみられず，ビルダグリプチンの AUC は用量比例的な増加を示した（Table 3-5）。メトホルミンの AUC はビルダグリプチンの併用投与により増加する傾向がみられたが，ビルダグリプチンを併用した場合もメトホルミンの AUC は概ね用量比例的に増加した。（Table 3-6）。ビルダグリプチンの曝露量に性差はみられなかったが，メトホルミンの曝露量は雄で低値を示す傾向が認められた。

以上のとおり，ビルダグリプチンとメトホルミンをイヌに 2 週間併用投与した結果，忍容性が認められた。いずれの投薬群においても，一般状態及び器官重量の変化に伴う病理組織学的変化はみられなかったことから，本試験における無毒性量は 5+50 mg/kg/日と判断された。

Table 3-5　イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 2 週	1.25+12.5	252	287	456	456
	2.5+25	734	869	1370	1490
	5+50	1370	1580	2590	2770
	5+0	1540	1220	2830	2630

Source: Table 2.6.7.1-0570005
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

Table 3-6　イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 2 週	1.25+12.5	2221	5339	10943	17443
	2.5+25	7917	7207	27628	32472
	5+50	16821	16582	57132	80148
	0+50	12231	10454	39607	40675

Source: Table 2.6.7.1-0570005
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

3.6 イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

本試験 [Table 2.6.7.7B-0670034] は，ビルダグリプチンとメトホルミンを併用投与したときの毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 3 例のビーグル犬に，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），2.5+25，5+50，10+100，10+0 及び 0+100 mg/kg/日の用量で 13 週間反復経口投与した。さらに，0，10+100，10+0 及び 0+100 mg/kg/日には回復性試験群（1 群雌雄各 2 例）を設定し，投与期間終了後 4 週間の休薬による回復性について検討した。

試験期間中，10+100 mg/kg/日群の雌 2 例がそれぞれ投与 3 日及び 12 日に，0+100 mg/kg/日群の雌 2 例がそれぞれ投与 5 日及び 34 日に死亡した。そのため，これらの群の投与 5～8 日の投与を中止し，投与 9 日に 10+100 及び 0+100 mg/kg/日からそれぞれ 10+50 及び 0+50 mg/kg/日に減量して投与を再開した。また，0+100→50 mg/kg/日群では投与 34 日及び 35 日にも休薬した。死亡の原因は，眼瞼下垂や横臥などの一般状態の変化，補助飼料摂取後直ちに一般状態の回復がみられたこと，及び特定の死因を示唆する病理組織学的変化が認められなかったことから，メトホルミンによる低血糖の可能性が考えられた。一般状態観察では，10+100→50，10+0 及び 0+100→50 mg/kg/日群の雄，並びにすべての投薬群の雌で，糞便異常が認められた。10+100→50 及び 0+100→50 mg/kg/日群では，雌雄で嘔吐及び流涎が，雌のみで自発運動低下，接触時冷感，脱水及び削痩が認められた。体重減少が 10+100→50 及び 0+100→50 mg/kg/日群の雌雄並びに 5+50 mg/kg/日群の雌でみられた。摂餌量減少が 10+100→50 及び 0+100→50 mg/kg/日群の雌で認められたが，休薬期間中に回復した。眼科学的検査では，異常はみられなかった。心電図検査では，0+100→50 mg/kg/日群の雌で一過性の間欠性左脚ブロック，又は R 波増高及び陰性 T 波が各 1 例にみられたが，休薬後の検査では認められなかった。血液学的検査では，0+100→50 mg/kg/日群の雄で赤血球系パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値）の減少，0+100→50 及び 10+100→50 mg/kg/日群の雌で網状赤血球数の一過性の減少が認められ，一般状態の悪化に関連した変化と考えられた。血液生化学的検査では，血清クレアチニン濃度の増加が 10+100→50 mg/kg/日群の雌 2 例及び 0+100→50 mg/kg/日群の雌 1 例でみられたが，2 例を投与終了時に剖検し，1 例は投与 34 日に死亡したため，回復性を評価できなかった。また，尿検査では，0+100→50 mg/kg/日群の雄でケトン尿がみられたが，休薬により回復した。器官重量測定では，0+100→50 及び 10+100→50 mg/kg/日群の雄で前立腺重量の減少が認められたが，関連した病理組織学的変化は認められず，0+100→50 mg/kg/日群の 1 例を除いて休薬により回復した。病理組織学的検査では，死亡例では死戦期における非特異的変化がみられたが，生存例では投薬に起因した変化は認められなかった。

トキシコキネティクスの結果，メトホルミンの併用投与によるビルダグリプチンの曝露量への影響はみられず，ビルダグリプチンの AUC は用量比例的な増加を示した（Table 3-7）。メトホルミンの AUC はビルダグリプチンの併用投与により増加する傾向がみられたが，ビルダグリプチンを併用した場合もメトホルミンの AUC は概ね用量比例的に増加した（Table 3-8）ビルダグリプチン及びメトホルミンの曝露量に性差は認められなかった。

以上のことから，本試験における無毒性量は，雄では 5+50 mg/kg/日，雌では 2.5+25 mg/kg/日と判断された。

Table 3-7　イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 11 週	2.5+25	758	872	1460	1780
	5+50	1510	1520	3200	3080
	10+50	2430	3500	8230	7940
	10+0	2480	2870	6990	5950

Source: Table 2.6.7.7B-0670034
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

Table 3-8　イヌを用いた 13 週間週間反復投与毒性試験におけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
投与 11 週	2.5+25	5110	7860	22900	32000
	5+50	10800	24300	47300	113000
	10+50	13570	16900	45200	106000
	0+50	4850	14000	26300	51400

Source: Table 2.6.7.7B-0670034
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

4　遺伝毒性試験

該当資料なし

5　がん原性試験

該当資料なし

6 生殖発生毒性試験

6.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

本試験 [Table 2.6.7.13A-0670029] は，ビルダグリプチンとメトホルミンを併用投与したときの妊娠ラット及び胚・胎児発生に対する毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群 25 例の Wistar Hannover 系妊娠ラットに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），10+100，30+300，100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日の用量で経口投与した。投与は妊娠 6 日から 17 日まで行い，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を実施した。母動物を妊娠 21 日に剖検し，妊娠子宮重量測定，子宮内検査，及び黄体数の計数を行い，生殖パラメータを算出した。胎児は外表異常を観察した後，性別及び体重を記録し，内臓検査及び骨格検査を実施した。なお，本試験のトキシコキネティクスでは，試料送付における過誤によりデータが得られなかったため，別試験（6.2 項）を実施した。

100+1000 mg/kg/日群の母動物 2 例が瀕死状態を呈したため，妊娠 12 日及び 17 日に安楽死処分した。生存例の一般状態の変化として，100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群で被毛の汚れ及び流涎が認められた。体重減少が 100+1000 mg/kg/日群で妊娠 12～18 日に，0+1000 mg/kg/日群で妊娠 15～18 日にみられた。体重増加量減少が 100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群で妊娠 6～18 日にみられた。摂餌量減少が，100+1000 mg/kg/日群で妊娠 6~18 日，0+1000 mg/kg/日群で妊娠 6~12 日，30+300 mg/kg/日群で妊娠 6～9 日にみられた。母動物の剖検で異常はみられず，生殖パラメータ，胎児の体重及び性別に投薬の影響は認められなかった。100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日群で，母動物の体重減少に伴い，剖検時の妊娠子宮重量を除いた母動物重量の低下が認められた。胎児の外表及び内臓検査では，いずれの投薬群においても異常はみられなかった。骨格検査では，100+1000 mg/kg/日群でごく軽度の骨化遅延がみられたが，母動物の摂餌量減少による二次的変化と考えられ，他に異常が認められないことから毒性学的意義は低いものと判断した。

以上のことから，本試験における母動物の無毒性量は 30+300 mg/kg/日，胚・胎児発生に対する無毒性量は 100+1000 mg/kg/日と判断された。ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与により，催奇形性は認められなかった。

6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験におけるトキシコキネティクス

本試験 [Table 2.6.7.13B-0670172] は，ビルダグリプチンとメトホルミンを併用投与したときの妊娠ラットにおけるトキシコキネティクスプロファイルを検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群 5 例（対照群は 3 例）の Wistar Hannover 系妊娠ラットに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），10+100，30+300，100+1000 及び 0+1000 mg/kg/日の用量で経口投与した。投与は妊娠 6 日から 17 日まで行い，投与期間の体重を記録し，妊娠 17 及び 18 日に血漿を，妊娠 18 日に生存胎児を採取した。一般状態観察では，変化はみられな

かった。体重減少が 100+1000 mg/kg/日群で妊娠 12 及び 15 日に，体重増加量減少が 100+1000 mg/kg/日群で妊娠 6～12 日，0+1000 mg/kg/日群で妊娠 6～9 日に認められた。

トキシコキネティクスの結果，ビルダグリプチン及びメトホルミンの曝露量の用量比例的な増加が認められた（Table 6-1及びTable 6-2）。また，メトホルミンの曝露量に対するビルダグリプチンの併用投与の影響は認められなかった。胎児中薬物濃度測定では，100+1000 mg/kg/日群のみでビルダグリプチンが検出され，その濃度は母動物の投与 24 時間後の血漿中濃度の約 23%であった。胎児中メトホルミン濃度はメトホルミン 300～1000 mg/kg/日の用量範囲で検出され，その濃度はいずれの群においても母動物の投与 24 時間後の血漿中濃度の約 7%であった。

Table 6-1　妊娠ラットにおけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng·h/mL)
妊娠 17 日	10+100	746	4050
	30+300	2790	12100
	100+1000	3770	39900

Source: Table 2.6.7.13B-0670172
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

Table 6-2　妊娠ラットにおけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng·h/mL)
妊娠 17 日	10+100	10900	67300
	30+300	14100	135000
	100+1000	31400	448000
	0+1000	29400	394000

Source: Table 2.6.7.13B-0670172
Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

6.3　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

本試験 [Table 2.6.7.11-0570024] は，胚・胎児発生に関する試験の用量設定を目的として，GLP 非適用で実施した。1 群 3 または 6 例の妊娠ニュージーランドホワイトウサギに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），5+50，7.5+75，10+100，15+150，30+300 及び 50+500 mg/kg/日の用量で経口投与した。投与は妊娠 7 日から 20 日まで行い，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を実施した。母動物を妊娠 29 日に剖検し，妊娠子宮重量測定，子宮内検査，及び黄体数の計数を行い，生殖パラメータを算出した。また，生存胎児の体重測定及び外表異常の観察を実施した。

15+150 mg/kg/日群の 1 例が妊娠 10 日に死亡し，1 例を妊娠 14 日に安楽死処分した。30+300 mg/kg/日群では妊娠 10 日に 1 例が死亡し，1 例が瀕死状態を呈したため，同群の生存例を同日に安楽死処分した。50+500 mg/kg/日群の 3 例中 2 例が妊娠 8 日に死亡したため，同群の残

りの生存例を妊娠 8 日に安楽死処分した。一般状態の変化として，7.5+75 mg/kg/日以上の群で糞量減少及び軟便がみられ，さらに 15+150 mg/kg/日以上の群では横臥位などが観察された。体重若しくは体重増加量，及び摂餌量の減少が，7.5+75 mg/kg/日以上の群でみられた。母動物の剖検では，30+300 mg/kg/日群の 3 例中 2 例で腎褪色が認められた。15+150 mg/kg/日以下の群では，生殖パラメータ，胎児の体重及び外表検査で異常は認められなかった。30+300 mg/kg/日以上の群では，これらの検査は実施しなかった。

以上のとおり，本試験においてビルダグリプチンとメトホルミンの 15+150 mg/kg/日以上の用量では妊娠ウサギにおける忍容性がみられなかった。7.5+75 mg/kg/日以上の用量で母動物毒性が認められたため，本試験における無毒性量は 5+50 mg/kg/日と判断された。

6.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

本試験 [Table 2.6.7.13C-0670015] は，ビルダグリプチンとメトホルミンを併用投与したときの妊娠ウサギ及び胚・胎児発生に対する毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群 20 例の妊娠ニュージーランドホワイトウサギに，精製水に溶解したビルダグリプチン及びメトホルミンを 0（媒体），1+10，3+30，10+100 及び 0+100 mg/kg/日の用量で経口投与した。投与は妊娠 7 日から 20 日まで行い，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を実施した。母動物を妊娠 29 日に剖検し，妊娠子宮重量測定，子宮内検査，及び黄体数の計数を行い，生殖パラメータを算出した。胎児は外表異常を観察した後，性別及び体重を記録し，内臓検査及び骨格検査を実施した。また，トキシコキネティクス用のサテライト妊娠動物（1 群 5 例，媒体群は 3 例）に対して同様の投与を行い，妊娠 20 及び 21 日に血漿を，妊娠 21 日に生存胎児を採取した。

死亡及び瀕死が，10+100 及び 0+100 mg/kg/日群で妊娠 18～21 日に認められた。10+100 mg/kg/日群では 1 例が死亡し，1 例を安楽死処分した。0+100 mg/kg/日群では 3 例が死亡し，1 例を安楽死処分した。死亡・瀕死は，メトホルミンの投与に起因すると考えられた。一般状態の変化として，3+30，10+100 及び 0+100 mg/kg/日群で糞量減少及び軟便が認められた。瀕死例では，糞便異常（糞量減少，軟便，無便及び下痢），接触時冷感，蒼白，汚れ，運動失調，自発運動低下及び横臥位などの一般状態の変化が認められた。体重増加量減少が 10+100 及び 0+100 mg/kg/日群にみられ，3+30 mg/kg/日群においても一過性の減少が認められた。摂餌量減少が 10+100 及び 0+100 mg/kg/日群で認められた。胚・胎児発生に対する影響として，10+100 mg/kg/日群で吸収胚数（早期吸収胚数及び総吸収胚数）の増加が認められた。母動物の剖検，並びに胎児の外表，内臓及び骨格検査では異常はみられなかった。

トキシコキネティクスの結果，ビルダグリプチン及びメトホルミンの曝露量の用量比例的な増加が認められた（Table 6-3及びTable 6-4）。メトホルミン曝露量に対するビルダグリプチン併用投与の影響は認められなかった。また，胎児中薬物濃度測定では，いずれの群においてもビルダグリプチンは検出されなかった。胎児中メトホルミン濃度はすべてのメトホルミン投与群で検出され，その濃度はいずれも母動物の投与 24 時間後の血漿中濃度とほぼ同等であった。

以上のことから，本試験における母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 3+30 mg/kg/日と考えられた。ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与により，催奇形性は認められなかった。

Table 6-3 妊娠ウサギにおけるビルダグリプチンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng·h/mL)
妊娠 20 日	1+10	104	221
	3+30	367	994
	10+100	1220	3760

Source: Table 2.6.7.13C-0670015
Vilda＝ビルダグリプチン，Met＝メトホルミン

Table 6-4 妊娠ウサギにおけるメトホルミンのトキシコキネティクスパラメータ

測定時期	用量 (Vilda+Met, mg/kg/日)	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng·h/mL)
妊娠 20 日	1+10	773	5080
	3+30	2130	14300
	10+100	5140	39700
	0+100	5510	46300

Source: Table 2.6.7.13C-0670015
Vilda＝ビルダグリプチン，Met＝メトホルミン

7 局所刺激性試験

該当資料なし

8 その他の毒性試験

8.1 不純物の毒性試験

本剤の予定最高臨床 1 日用量はビルダグリプチン 100 mg／メトホルミン 1000 mg であることから，製剤の不純物に関する ICH ガイドライン「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン（ICH Q3B）」により安全性の確認が必要な不純物の閾値は，ビルダグリプチン由来不純物及びメトホルミン由来不純物ともに 0.2%と規定される。本剤における不純物のうち，ビルダグリプチン由来不純物である 366-98（LAF237 C4 または[redacted]，202-01，209-01 及び 207-01 の規格値がこの閾値を超えることからその安全性を評価した。各試験の概要を以下に示す。なお，不純物 202-01，209-01 及び 207-01 の安全性については，エクア錠承認申請時に資料提出済みの毒性試験（1.13.1-1-エクア-2.6.6-8.5 項）において評価されていることから，今回の承認申請に際して当該試験結果の本 CTD への再記載及び評価資料の再提出は行わなかった。

8.1.1 366-98：ラットを用いた単回投与毒性試験

本試験 [Table 2.6.7.17A-0870553] は，不純物 366-98（LAF237 C4）の急性毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 3 例の SD 系ラットに，イオン交換水に溶解した 366-98 を 200 及び 2000 mg/kg/日の用量で単回経口投与した。

本試験において死亡は認められなかった。一般状態の観察，体重測定及び剖検において，異常は認められなかった。

以上のことから，本試験における概略の致死量は 2000 mg/kg/日超と考えられた。

8.1.2 366-98：ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験

本試験 [Table 2.6.7.17A-0870552] は，不純物 366-98 [redacted] の毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 5 例の Wistar 系ラットに，プロピレングリコールに懸濁した 366-98 を 0（対照），50，150 及び 1000 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与した。

本試験において死亡は認められなかった。一般状態の観察，機能観察総合評価，体重・摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査において，被験物質投与の影響は認められなかった。

以上のことから，本試験における無毒性量は 1000 mg/kg/日と考えられた。

8.1.3 366-98：ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験

本試験 [Table 2.6.7.17B-0870554] は，ネズミチフス菌株（TA97a，TA98，TA100，TA102 及び TA1535）を用いた復帰突然変異試験により不純物 366-98 の遺伝子突然変異誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

用量設定試験の結果に基づき本試験の用量は，実験 1 及び 2 ともに 62～5000 µg/plate と設定した。いずれの実験も，代謝活性化系存在下及び非存在下でプレート法により検討した。

試験の結果，いずれの菌株においても，被験物質処理による復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のことから，本試験条件下において 366-98 に遺伝子突然変異誘発性はないと判断した。

8.1.4 366-98：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

本試験 [Table 2.6.7.17B-0870551] は，ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験により不純物 366-98 の染色体異常誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

予備試験の結果から本試験の濃度は，実験 1 では代謝活性化系非存在下及び存在下：100～1670 µg/mL（3 時間処理+24 時間固定），実験 2 では代謝活性化系非存在下：100～1670 µg/mL（24 時間処理+24 時間固定）及び 333～1670 µg/mL（48 時間処理+48 時間固定），代謝活性化系存在下：333～1670 µg/mL（3 時間処理+48 時間固定）と設定した。

いずれの実験においても，366-98 処理による染色体異常を有する細胞数の増加は認められなかった。実験 2 では，代謝活性化系非存在下 48 時間処理の高濃度処理（1670 μg/mL）により，倍数性を有する細胞数の増加が認められた。

以上のことから，本試験条件下において 366-98 に染色体構造異常誘発性は認められなかったが，倍数体の増加がみられたことから有糸分裂過程及び細胞周期の進行に影響を及ぼす可能性が示唆された。

8.1.5 不純物の安全性評価

安全性の確認が必要とされる製剤中の不純物の規格値，並びに毒性試験で使用した被験物質中の不純物の最大含有量をTable 8-1に示す。

Table 8-1 本剤の不純物の規格値及び被験物質中の最大含有量

不純物	規格値	被験物質中不純物最大含有量	
		反復投与毒性試験	遺伝毒性試験
366-98	[redacted]% 以下	[redacted]%	[redacted]%
202-01	[redacted]% 以下	[redacted]%	[redacted]%
209-01	[redacted]% 以下	[redacted]%	[redacted]%
207-01	[redacted]% 以下	[redacted]%	[redacted]%

Source：Table 2.6.7.4，1.13.1-エクア-2.6.7.4

安全性の確認が必要とされる不純物について，366-98 単独あるいは 202-01，209-01 及び 207-01 を多く含むビルダグリプチン（TOX1/LAF237）を被験物質として，ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験，復帰突然変異試験及び染色体異常試験を実施し，安全性についての評価を行った。反復投与毒性試験（8.1.2 項，1.13.1-エクア-2.6.6-8.5.1 項）の結果，366-98 投与に関連した毒性の発現及び不純物に関連したビルダグリプチンの毒性プロファイルの変化がみられなかったことから，不純物特異的な毒性はないものと考えられた。また，毒性試験における不純物の用量は，本剤の予定最高臨床 1 日用量及び各不純物の規格値から算出したヒトにおける不純物の最大用量を上回ることが確認された（Table 8-2）。

復帰突然変異試験（8.1.3 項，1.13.1-エクア-2.6.6-8.5.2 項）では，いずれの試験においても変異原性を示唆する反応は認められなかった。TOX1/LAF237 の染色体異常試験（1.13.1-エクア-2.6.6-8.5.5 項）では染色体異常誘発性は認められなかった。366-98 の染色体異常試験（8.1.4 項）では，いずれの条件下においても構造異常誘発性はみられなかったが，代謝活性化系非存在下の最高濃度処理群で倍数体の増加が認められた。遺伝毒性のうち数的異常誘発能の発現には閾値があり，適切な曝露量を維持する限り，ヒトでの遺伝毒性リスクの増加につながるものではないと考えられている。ビルダグリプチン 50／メトホルミン 500 mg を単回投与したヒトにおける曝露量（Cmax）は 247.01 ng/mL であり（A1101 試験），規格値上限 [redacted]%）の 366-98 が含まれていると仮定すると 366-98 の血中濃度は[redacted]ng/mL と推定される。366-98 の染色体異常試験における

倍数体非発現最高濃度は 1000 µg/mL（純度補正値：[redacted]µg/mL）であり，ヒト血中濃度に比較して[redacted]倍以上の高値であることから，ヒトでの数的異常発現リスクは低いものと考えられた。その他の不純物には遺伝毒性が認められていないことから，TOX1/LAF237 の復帰突然変異試験及び染色体異常試験の最高処理濃度における不純物濃度を被験物質中の不純物含有量から算出した結果，いずれの不純物処理濃度もヒト血液中不純物濃度を上回ることが確認された（Table 8-3 及びTable 8-4）。

以上のことから，製剤中の不純物の安全性は確認されているものと判断した。

Table 8-2　　反復投与毒性試験における不純物含有量

試験の種類 (試験番号)	被験物質/ Batch no.	不純物含有量/ 不純物用量	不純物			
			366-98	202-01	209-01	207-01
4 週間, ラット (0870551)	366-98/ CHAD0206K	含有量 (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
		用量 (mg/kg) [b]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
4 週間, ラット (0170152) [a]	TOX1/LAF237/ 01/1	含有量 (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
		用量 (mg/kg) [c]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
ラット不純物最大用量 (mg/kg)			[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
ヒト不純物用量 (µg/kg) [d]			[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
用量比 (ラット/ヒト)			[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

Source：Table 2.6.7.4，1.13.1-1-エクア-2.6.7.4

a＝エクア錠承認申請時に評価済み試験

b＝最高用量 Vilda＝1000 mg/kg を用いて算出

c＝最高用量 Vilda＝983.6 mg/kg を用いて算出

d＝予定最高臨床 1 日用量 (ビルダグリプチン 100 mg)，体重 50 kg として各不純物の規格値から算出

Table 8-3　　復帰突然変異試験における不純物含有量

試験番号	被験物質/ Batch no.	処理濃度 (µg/plate)	不純物含有量/ 不純物濃度	不純物 366-98	202-01	209-01	207-01
0870554	366-98 CHAD0103K	5000	含有量 (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
			濃度 (ng/mL)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
0212001 [a]	TOX1/LAF237 01/1	5000	含有量 (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
			濃度 (ng/mL)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
ヒト血液中不純物濃度 (ng/mL) [b]				[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

Source：Table 2.6.7.4，1.13.1-1-エクア-2.6.7.4

a＝エクア錠承認申請時に評価済み試験

b＝LMF237 50/500 mg 単回投与後のヒトにおける LAF237 Cmax=247.01 ng/mL (A1101 試験) に規格値までの不純物が含まれていると仮定して算出

Table 8-4　　染色体異常試験における不純物含有量

試験番号	被験物質/ Batch no.	処理濃度 (µg/mL)	不純物含有量/ 不純物濃度	不純物 366-98	202-01	209-01	207-01
0870551	366-98 CHAD0206K	1670 (±S9)	含有量 (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
			濃度 (µg/mL)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
		1000 (-S9) [b]	含有量 (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
			濃度 (µg/mL)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
0112214 [a]	TOX1/LAF237 01/1	3060.6 (±S9)	含有量 (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
			濃度 (µg/mL)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
ヒト血液中不純物濃度 (ng/mL) [c]				[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

Source：Table 2.6.7.4，1.13.1-1-エクア-2.6.7.4

a＝エクア錠承認申請時に評価済み試験

b＝倍数体非発現最高濃度

c＝LMF237 50/500 mg 単回投与後のヒトにおける LAF237 Cmax=247.01 ng/mL (A1101 試験) に規格値までの不純物が含まれていると仮定して算出

9 考察及び結論

ビルダグリプチン及びメトホルミンを 100+1000 mg/kg/日までの用量でラットに 13 週間反復併用投与した結果，毒性変化として，体重減少若しくは体重増加量減少，摂餌量減少，網状赤血球数の減少，心臓及び肝臓重量の増加，胸腺重量の減少，並びに肺胞内泡沫状マクロファージ集簇が認められた。肺胞内泡沫状マクロファージ集簇はビルダグリプチンに関連した変化であり，その他の変化はいずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。なお，ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験でみられた肺の血管周囲／細気管支周囲炎症については，13 週間反復投与毒性試験において同様の変化が認められなかったことから，偶発的な変化と考えられた。ビルダグリプチンとメトホルミンを 10+100→50 mg/kg/日までの用量でイヌに 13 週間反復投与した結果，毒性変化として，瀕死・死亡，糞便異常，体重減少，摂餌量減少，及び前立腺重量の減少が認められた。病理組織学的検査では，死亡例で死戦期における非特異的変化がみられたが，生存例ではビルダグリプチン若しくはメトホルミンに関連した変化は認められなかった。両剤に関連した糞便異常を除いて，いずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。

ラット及びイヌを用いた併用投与による反復投与毒性試験では，併用投与による新たな毒性はみられず，既知の毒性の増強も認められなかった。

ラット及びウサギを用いた併用投与による胚・胎児発生に関する試験の結果，ウサギで吸収胚数の増加が認められ，メトホルミンの母動物毒性に関連した変化と考えられた。いずれの動物種においても催奇形性を示唆する変化は認められなかった。

本剤の不純物について，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験によりその安全性を評価した結果，いずれの不純物についても規格値までの安全性は確認されているものと判断した。

ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による毒性試験の無毒性量における曝露量を，本剤を投与したヒトの曝露量と比較した（Table 9-1及びTable 9-2）。毒性試験の無毒性量における曝露量は，概ね本剤を投与したヒトの曝露量を上回る値を示したが，イヌを用いた反復投与毒性試験の無毒性量におけるビルダグリプチンの曝露量はヒトの曝露量に比較して低値（0.7 倍）であった。この原因としては，正常血糖値のイヌがメトホルミンの血糖降下作用に対して高い感受性を示したことが推察され，本剤の糖尿病治療を目的としたヒトでの使用上のリスクを示すものではないと考えられる。また，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の無毒性量におけるビルダグリプチン及びメトホルミンの曝露量も，ヒトの曝露量に比較して低値（0.4 倍及び 0.8 倍）を示した。当該試験の無毒性量を規定する毒性は死亡を含む母動物毒性に関連したものであることから，メトホルミンの毒性に対するウサギの感受性が高いことが原因と考えられた。

Table 9-1 全身曝露量の比較（ビルダグリプチン）

試験の種類 (試験番号)	無毒性量 (mg/kg/日)	毒性量における主な所見	AUC [a] (ng.h/mL)	Cmax [a] (ng/mL)	曝露量比	
					AUC 比 [b]	Cmax 比 [b]
ラット, 2 週間 (0570004)	10（雄）	体重増加量減少, 摂餌量減少	2505	827	1.1	3.3
ラット, 13 週間 (0670033)	30	体重減少, 摂餌量減少, 網状赤血球数減少, 肝臓・心臓重量増加, 胸腺重量減少, 肺胞内泡沫状マクロファージ集簇	9295	2240	4.0	9.1
イヌ, 2 週間 (0570005)	5	著変なし	2680	1475	1.2	6.0
イヌ, 13 週間 (0670034)	2.5（雌）	死亡 (低血糖), 体重減少	1620	815	0.7	3.3
ラット, 胚・胎児発生 (0670029) (0670172)	100 (胎児)	著変なし	39900	3770	17.3	15.3
	30 (母動物)	瀕死, 体重・摂餌量減少	12100	2790	5.2	11.3
ウサギ, 胚・胎児発生 (0670015)	3	母動物: 死亡・瀕死, 体重増加量減少, 摂餌量減少 胚・胎児: 吸収胚数増加	994	367	0.4	1.5

Source: Table 2.6.7.6A-0570004, Table 2.6.7.7A-0670033, Table 2.6.7.6A-0570005, Table 2.6.7.7B-0670034, Table 2.6.7.13A-0670029, Table 2.6.7.13B-0670172, Table 2.6.7.13C-0670015

a = 雌雄の平均値

b = LMF237 50/500 mg 単回投与後のヒトにおける値 (2×AUClast=2306.26 ng.h/mL, Cmax=247.01 ng/mL; A1101 試験) を基に動物／ヒトの曝露量比を算出

Table 9-2 全身曝露量の比較（メトホルミン）

試験の種類 (試験番号)	無毒性量 (mg/kg/日)	毒性量における主な所見	AUC [a] (ng.h/mL)	Cmax [a] (ng/mL)	曝露量比	
					AUC 比 [b]	Cmax 比 [b]
ラット, 2 週間 (0570004)	100（雄）	体重増加量減少, 摂餌量減少	38680	8124	2.1	5.8
ラット, 13 週間 (0670033)	300	体重減少, 摂餌量減少, 網状赤血球数減少, 肝臓・心臓重量増加, 胸腺重量減少, 肺胞内泡沫状マクロファージ集簇	103000	14500	5.6	10.4
イヌ, 2 週間 (0570005)	50	著変なし	68640	16072	3.8	11.5
イヌ, 13 週間 (0670034)	25（雌）	死亡 (低血糖), 体重減少	27450	6485	1.5	4.6
ラット, 胚・胎児発生 (0670029) (0670172)	1000 (胎児)	著変なし	448000	31400	24.5	22.5
	300 (母動物)	瀕死, 体重減少, 摂餌量減少	135000	14100	7.4	10.1
ウサギ, 胚・胎児発生 (0670015)	30	母動物: 死亡・瀕死, 体重増加量減少, 摂餌量減少 胚・胎児: 吸収胚数増加	14300	2130	0.8	1.5

Source: Table 2.6.7.6A-0570004, Table 2.6.7.7A-0670033, Table 2.6.7.6A-0570005, Table 2.6.7.7B-0670034, Table 2.6.7.13A-0670029, Table 2.6.7.13B-0670172, Table 2.6.7.13C-0670015

a = 雌雄の平均値

b = LMF237 50/500 mg 単回投与後のヒトにおける値 (2×AUClast=18250.72 ng.h/mL, Cmax=1397.53 ng/mL; A1101 試験) を基に動物／ヒトの曝露量比を算出

以上のとおり，ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験でみられた毒性変化は，各単剤の投与により発現する既知の変化であり，併用投与による新たな毒性の発現及び既知の毒性の増強は認められなかった。両剤の薬理学的作用機序には重複がなく，臨床試験において臨床上問題となる薬物動態学的相互作用が認められていないことから，本剤の推奨される用法・用量に従って使用する場合，2 型糖尿病の治療薬として安全に使用できるものと考えられる。

2.6.7 毒性試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.7.1 毒性試験一覧 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス: トキシコキネティクス試験一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表 7
2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 12
2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要でない試験） 13
2.6.7.6 A 反復投与毒性試験 13
2.6.7.7 反復投与毒性試験 15
2.6.7.7 A 反復投与毒性試験 15
2.6.7.7 B 反復投与毒性試験 18
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 21
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 22
2.6.7.10 がん原性試験 23
2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要でない試験） 24
2.6.7.12 生殖発生毒性試験 25
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 26
2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験 26
2.6.7.13 B 生殖発生毒性試験 28
2.6.7.13 C 生殖発生毒性試験 30
2.6.7.14 生殖発生毒性試験 33
2.6.7.15 新生児及び幼若動物の発達に関する毒性試験 34
2.6.7.16 局所刺激性試験 35
2.6.7.17 その他の毒性試験 36
2.6.7.17A その他の毒性試験－不純物の毒性試験（366-98 の一般毒性試験） 36
2.6.7.17B その他の毒性試験－不純物の毒性試験（366-98 の遺伝毒性試験） 37

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	apartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the drug concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
BQL	below quantitation limit	定量限界未満
Cmax	maximum drug concentration	最高薬物濃度
F	female	雌
GLP	Good Laboratory Practices	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
M	male	雄
Met	metformin hydrochloride	メトホルミン塩酸塩
NOAEL	no-observed-adverse-effect-level	無毒性量
USP	United States Pharmacopeia	米国薬局方
Vilda	vildagliptin	ビルダグリプチン

2.6.7.1 毒性試験一覧

Study type	Species and strain	Method of administration (Vehicle)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day)	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Single-dose toxicity:	None conducted							
Repeated-dose toxicity:	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage (Purified Water, USP)	Days 1, 3 and 5 (rising dose); Days 1-4 (consecutive dose)	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 75+750 (rising dose); 75+750 (consecutive dose)	No	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0570003]	4.2.3.2-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage (Purified Water, USP)	2 weeks	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 60+600, 60+0, 0+600	No	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0570004]	4.2.3.2-2
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage (Purified Water, USP)	13 weeks + 4 weeks recovery	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 100+1000, 100+0, 0+1000	Yes	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0670033]	4.2.3.2-3
	Dog, beagle	Oral gavage (Purified Water, USP)	Days 1, 3 and 6 (rising dose); Days 1-4 (consecutive dose)	Vilda+Met: 10+100, 20+200, 40+400 (rising dose); 20+200 (consecutive dose)	No	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0570002]	4.2.3.2-4
	Dog, beagle	Oral gavage (Purified Water, USP)	2 weeks	Vilda+Met: 2.5+25, 5+50, 1.25+12.5, 5+0, 0+50	No	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0570005]	4.2.3.2-5
	Dog, beagle	Oral gavage (Purified Water, USP)	13 weeks + 4 weeks recovery	Vilda+Met: 2.5+25, 5+50, 10+100→50, 10+0, 0+100→50	Yes	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0670034]	4.2.3.2-6
Genotoxicity:	None conducted							
Carcinogenicity:	None conducted							

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Study type	Species and strain	Method of administration (Vehicle)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day)	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Reproductive and development toxicity:	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage (Purified Water, USP)	Gestation days 6-17	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 100+1000, 0+1000	Yes	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0670029]	4.2.3.5.2-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage (Purified Water, USP)	Gestation days 6-17	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 100+1000, 0+1000	Yes	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0670172]	4.2.3.5.2-2
	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage (Purified Water, USP)	Gestation days 7-20	Vilda+Met: 5+50, 15+150, 30+300, 50+500, 7.5+75, 10+100	No	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0570024]	4.2.3.5.2-3
	Rabbit, New Zealand white	Oral gavage (Purified Water, USP)	Gestation days 7-20	Vilda+Met: 1+10, 3+30, 10+100, 0+100	Yes	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0670015]	4.2.3.5.2-4
Local tolerance:	None conducted							
Other toxicity studies: impurities	Rat, Crl:CD(SD)	Oral gavage (Deionized water)	Single	366-98: 200, 2000	Yes	[redacted] GmbH	[0870553]	4.2.3.7.6-1
	Rat, Crl:WI(BR)	Oral gavage (Propylene glycol)	4 weeks	366-98: 50, 150, 1000	Yes	[redacted] Netherlands	[0870552]	4.2.3.7.6-2
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	-	366-98: 62-5000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted] GmbH	[0870554]	4.2.3.7.6-3
	Human Lymphocyte	*In vitro*	-	366-98: 100-1670 µg/mL (3+24h, ±S9) 100-1250 µg/mL (24+24h, -S9) 333-1670 µg/mL (48+48h, -S9) 333-1670 µg/mL (3+48h, +S9)	Yes	[redacted] Netherlands	[0870551]	4.2.3.7.6-4

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

2.6.7.2 トキシコキネティクス: トキシコキネティクス試験一覧表

Study type	Test system	Method of administration	Dose (mg/kg/day)	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Repeated-dose toxicity						
2-week toxicity study	Rat	Oral gavage	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 60+600, 60+0, 0+600	No	[0570004]	4.2.3.2-2
13-week toxicity study + 4-week recovery	Rat	Oral gavage	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 100+1000, 100+0, 0+1000	Yes	[0670033]	4.2.3.2-3
2-week toxicity study	Dog	Oral gavage	Vilda+Met: 1.25+12.5, 2.5+25, 5+50, 5+0, 0+50	No	[0570005]	4.2.3.2-5
13-week toxicity study + 4-week recovery	Dog	Oral gavage	Vilda+Met: 2.5+25, 5+50, 10+100→50, 10+0, 0+100→50	Yes	[0670034]	4.2.3.2-6
Reproductive development						
Embryo-fetal development study	Rat	Oral gavage	Vilda+Met: 10+100, 30+300, 100+1000, 0+1000	Yes	[0670172]	4.2.3.5.2-2
Embryo-fetal development study	Rabbit	Oral gavage	Vilda+Met: 1+10, 3+30, 10+100, 0+100	Yes	[0670015]	4.2.3.5.2-4

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表

Steady state AUC0-24h (ng.h/mL)											
Study type	Dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)	Vildagliptin					Metformin				
		Rat		Dog		Rabbit	Rat		Dog		Rabbit
		Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female	Male	Female	Female
2-week	1.25+12.5			456 a	456 a				10943 a	17443 a	
	2.5+25			1370 a	1490 a				27628 a	32472 a	
	5+50			2590 a	2770 a				57132 a	80148 a	
	5+0			2830 a	2630 a						
	0+50								39607 a	40675 a	
	10+100	2570 c	2440 c				39033 c	38327 c			
	30+300	6900 c	7230 c				100806 c	117332 c			
	60+600	10400 c	NA				111532 c	NA			
	60+0	17000 c	16900 c								
	0+600						200237 c	154014 c			
13-week	2.5+25			1460 d	1780 d				22900 d	32000 d	
	5+50			3200 d	3080 d				47300 d	113000 d	
	10+50			8230 d	7940 d				45200 d	106000 d	
	10+0			6990 d	5950 d						
	0+50								26300 d	51400 d	
	10+100	2870 e	2480 e				39500 e	33100 e			
	30+300	9460 e	9130 e				104000 e	102000 e			
	100+1000	31100 e	41200 e				377000 e	405000 e			
	100+0	35400 e	34200 e								
	0+1000						261000 e	280000 e			

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表（続き）

Steady state AUC0-24h (ng.h/mL)											
Study type	Dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)	Vildagliptin					Metformin				
		Rat		Dog		Rabbit	Rat		Dog		Rabbit
		Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female	Male	Female	Female
Embryo-fetal development	1+10					221 b					5080 b
	3+30					994 b					14300 b
	10+100					3760 b					39700 b
	0+100										46300 b
	10+100		4050 f					67300 f			
	30+300		12100 f					135000 f			
	100+1000		39900 f					448000 f			
	0+1000							394000 f			

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

a = [0570005] 2-week range-finding toxicity dog

b = [0670015] Embryo-fetal development rabbit

c = [0570004] 2-week range-finding toxicity rat

d = [0670034] 13-week toxicity + 4-week recovery dog

e = [0670033] 13-week toxicity + 4-week recovery rat

f = [0670172] Embryo-fetal development rat

NA = Not applicable

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物

Vildagliptin specification:	Purity (%)	Specified impurities (%)				Study number	Study type	Location in CTD
Batch no.		366-98	202-01	207-01	209-01			
		≤ [redacted]	≤ [redacted]	≤ [redacted]	≤ [redacted]			
0223008	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	0570003	Rising dose, rat	4.2.3.2-1
						0570002	Rising dose, dog	4.2.3.2-4
						0570004	2-week, rat	4.2.3.2-2
						0570005	2-week, dog	4.2.3.2-5
						0670033	13-week, rat	4.2.3.2-3
						0670034	13-week, dog	4.2.3.2-6
						0670029	Embryo-fetal development, rat	4.2.3.5.2-1
						0670172	Embryo-fetal development, toxicokinetics, rat	4.2.3.5.2-2
						0570024	Embryo-fetal development, dose range finding, rabbit	4.2.3.5.2-3
						0670015	Embryo-fetal development, rabbit	4.2.3.5.2-4
01/1 (TOX1/LAF237)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	0170152	4-week, rat	NA
						0212001	Ames test	NA
						0112214	Chromosome aberration test	NA
01/1 (TOX2/LAF237)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	0170152	4-week, rat	NA

NS= not specified; NA = not applicable

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物（続き）

366-98 specification:	Purity (%)	Specified impurities (%)				Study number	Study type	Location in CTD
Batch no.		366-98	202-01	209-01	207-01			
		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]			
CHAD0103K	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	0870553	Single, rat	4.2.3.7.6-1
						0870554	Ames test	4.2.3.7.6-3
CHAD0206K	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	0870552	4-week, rat	4.2.3.7.6-2
						0870551	Chromosome aberration test	4.2.3.7.6-4

NS = not specified

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物（続き）

Metformin specification: Batch no.	Purity (%)	Specified impurities (%)	Study number	Study type	Location in CTD
17003233	[redacted]	Impurities and degradation products of the metformin component are within specified limits of the current USP monograph.	0570003	Rising dose, rat	4.2.3.2-1
			0570002	Rising dose, dog	4.2.3.2-4
			0570004	2-week, rat	4.2.3.2-2
			0570005	2-week, dog	4.2.3.2-5
			0670033	13-week, rat	4.2.3.2-3
			0670034	13-week, dog	4.2.3.2-6
			0670029	Embryo-fetal development, rat	4.2.3.5.2-1
			0670172	Embryo-fetal development, toxicokinetics, rat	4.2.3.5.2-2
			0570024	Embryo-fetal development, dose range finding, rabbit	4.2.3.5.2-3
			0670015	Embryo-fetal development, rabbit	4.2.3.5.2-4

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要でない試験）

2.6.7.6 A 反復投与毒性試験

Non-pivotal studies

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)	Gender and no. per group	NOAEL[a] (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Rat, Wistar Hannover	Oral gavage (Purified Water, USP	Days 1, 3 and 5 (rising dose); Days 1-4 (consecutive dose)	10+100, 30+300, 75+750 (rising dose); 75+750 (consecutive dose)	F:2, M:2 (rising dose); F:2, M:2 (consecutive dose)	Not applicable	Rising dose phase: no noteworthy findings Consecutive dose phase: ↓body weight gain (males), body weight loss (females)	[0570003]	4.2.3.2-1
Rat, Wistar Hannover	Oral gavage (Purified Water, USP)	2 weeks	10+100, 30+300, 60+600, 60+0, 0+600	M:5, F:5	10+100 mg/ kg/day (males) 60+600 mg/ kg/day (females)	≥ 30+300 mg/kg/day: perineal stains (males), ↓body weight gain (males), ↓food consumption (males) 60+600 mg/kg/day: perineal stains (females), lung: incidences and severity of inflammatory foci and/or perivascular/peribronchiolar inflammatory cell infiltration (males), ↑heart weight (females) 0+600 mg/kg/day : perineal stains (males), ↑AST·ALT(male), ↑liver weight (females)	[0570004]	4.2.3.2-2

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

a = no observed adverse-effect level

↓ = decrease; ↑ = increase

2.6.7.6 A 反復投与毒性試験（続き）

Non-pivotal studies

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)	Gender and no. per group	NOAEL[a] (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Dog, beagle	Oral gavage (Purified Water, USP)	Days 1, 3 and 6 (rising dose); Days 1-4 (consecutive dose)	10+100, 20+200, 40+400 (rising dose); 20+200 (consecutive dose)	M:1, F:1 (rising dose); M:1, F:1 (consecutive dose)	Not applicable	Rising dose phase: clinical signs of emesis, diarrhea, mucoid and/or soft feces, slight body weight loss Consecutive dose phase: Mortality (female, day 2, after two doses), clinical signs of emesis, diarrhea, mucoid and/or soft feces, slight body weight loss Dead animal showed histopathological changes (myocardial necrosis and hemorrhage in the heart, congestion in gastrointestinal tract)	[0570002]	4.2.3.2-4
Dog, beagle	Oral gavage (Purified Water, USP)	2 weeks	1.25+12.5, 2.5+25, 5+50, 5+0, 0+50	M:1, F:1 (1.25+12.5, 2.5+25 mg/ kg/day), M:2, F:2 (5+50, 5+0, 0+50 mg/kg /day)	5+50	Clinical signs, potentially test-article-related, were seen sporadically in most treated animals. 1.25+12.5, 2.5+25, 5+50, 0+50 mg/kg/day: ↑liver weight (males) 2.5+25, 5+50, 0+50 mg/kg/day : ↓prostate weight (males)	[0570005]	4.2.3.2-5

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

a = no observed adverse-effect level

↓ = decrease; ↑ = increase

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

Report title: 13-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period
Study no. [0670033]
Species/strain: Rat, IGS Wistar Hannover
Duration of dosing: At least 13 weeks
Location in CTD: 4.2.3.2-3
Initial age: Approximately 10 weeks
Duration of postdose: At least 4 weeks
GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted]
Method of administration: Oral gavage
Vehicle/formulation: Purified water, USP
Special features: None
No Observed Adverse-Effect Level: 30+300 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)		10+100 (Group 2)		30+300 (Group 3)		100+1000 (Group 4)		100+0 (Group 5)		0+1000 (Group 6)	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M:10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Toxicokinetics													
Vilda													
AUC0-24h (ng·h/mL)	Day 1	BQL	BQL	2370	2570	6490	5740	15800	20100	23100	34000	BQL	BQL
	Week 11	BQL	BQL	2870	2480	9460	9130	31100	41200	35400	34200	BQL	BQL
Cmax (ng/mL)	Day 1	BQL[a]	BQL[a]	486	1050	1150	1470	1810	2540	9520	15900	BQL[a]	BQL[a]
	Week 11	BQL[a]	BQL[a]	1540	1170	2050	2430	4610	7680	13500	15700	BQL[a]	BQL[a]
Met													
AUC0-24h (ng·h/mL)	Day 1	BQL	BQL	36600	34500	77400	77500	219000	219000	BQL	BQL	184000	160000
	Week 11	BQL	BQL	39500	33100	104000	102000	377000	405000	BQL	BQL	261000	280000
Cmax (ng/mL)	Day 1	BQL[a]	BQL[a]	5480	6410	10900	12000	19300	19900	BQL[a]	BQL[a]	17500	18200
	Week 11	BQL[a]	BQL[a]	9250	7070	11900	17100	30900	35000	BQL[a]	BQL[a]	28800	34400

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period											Study no. 0670033	
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)		10+100 (Group 2)		30+300 (Group 3)		100+1000 (Group 4)		100+0 (Group 5)		0+1000 (Group 6)	
Number of animals:	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M:10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Noteworthy findings													
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (%[b])		423.2 g	248.8 g	+0.5	+0.4	-5.0	-4.0	-20.9**	-7.9**	-2.4	-0.7	-18.1**	-7.7**
Body weight change (%[b])		133.8 g	51.6 g	-0.2	+3.5	-17.6*	-18.0	-65.6**	-39.1**	-7.5	-1.4	-56.8**	-30.8**
Food consumption (%[b]), day 36		23.6 g	19.4 g	+5.5	-3.1	+4.2	-3.1	-14.0**	-9.3**	-1.7	-7.2*	+1.3	+0.5
Food consumption (%[b]), day 92		22.1 g	17.6 g	+6.3	-2.3	+7.7	+33.5	+4.5	+9.7	-1.4	-6.3	+21.7**	+18.8[##]
Clinical observations													
Unkempt coat, hairloss, soft feces		-	-	-	-	-	-	P	P	-	-	P	P
Abdominal distention		-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	P	P
Hunched posture		-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	P	-
Perineal staining		-	-	-	-	-	P	P	P	-	-	P	P
Salivation		-	-	-	-	P	P	P	P	-	-	P	P
Fur staining		-	-	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Ophthalmoscopy		-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-	-
Hematology													
Absolute reticulocyte count		-	-	-	-	-	-	↓, 5/16	↓, 3/16	-	-	↓, 1/16	↓, 1/16
Clinical biochemistry		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period												Study no. 0670033	
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)		10+100 (Group 2)		30+300 (Group 3)		100+1000 (Group 4)		100+0 (Group 5)		0+1000 (Group 6)	
Number of animals:	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M:10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Organ weights (%[c])													
Heart		1.16 g	0.84 g	+0.02	-0.36	+3.48	+4.19	+28.39††	+38.31††	+0.76	-1.62	+13.83££	+55.59££
Kidney		-	1.55 g	-	-1.88	-	-0.35	-	+18.35††	-	+3.06	-	+10.95$
Liver		9.43 g	5.85 g	+4.03	+5.65	+5.83	+5.00	+8.13	+41.77††	-3.17	+1.43	+7.95	+33.53££
Thymus		0.362 g	0.276 g	-26.09†	-22.28†	-7.78	-0.92	-36.88††	-26.16††	-12.7	-9.37	-35.76££	-31.43££
Histopathology													
Lung –foamy macrophages		1	0	0	0	0	0	9	5	4	1	1	0
Recovery evaluation													
Organ weights (%[c])													
Heart		1.15 g	-	NA	NA	NA	NA	+8.46	-	+5.00	-	+17.90$$	-

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

- = no noteworthy findings; ↓ = decrease; P = present; NA = not applicable

Dunnett's test, * = p<0.05, ** = p<0.01; Modified T test, ## = p<0.01; Dunn's test, † = p<0.05, †† = p<0.01; Student's test, $ = p<0.05, $$= p<0.01; Wilcoxon's test, ££ = p<0.01

a = Concentrations above LLOQ were measured in some samples. Since most values were well below the Cmax of the low dose group, these results had limited impact on the toxicokinetic evaluation.

b = At the end of dosing period, if not otherwise specified. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

c = Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

2.6.7.7 B　反復投与毒性試験

Report title: 13-week oral (gavage) toxicity study in dogs with a 4-week recovery period
Study no. [0670034]
Species/strain: Dog, beagle
Duration of dosing: At least 13 weeks
Location in CTD: 4.2.3.2-6
Initial age: Approximately 9-12 months
Duration of postdose: At least 4 weeks
GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted]
Method of administration: Oral gavage
Vehicle/formulation: Purified Water, USP

Special features: Vilda+Met of 10+100 mg/kg/day (group 4) and 0+100 mg/kg/day (group 6) were administered on days 1-4. Due to mortality in one female in 10+100 and one female in 0+100 mg/kg/day group, the metformin dose was reduced to 50 mg/kg/day in these two groups. Dosing was resumed on day 9, therefore days 9-10 were considered as days 1-2 for calculation of the toxicokinetic parameters. Animals in 0+100→50 mg/kg/day group were not dosed on days 34 and 35 due to the death of one female dog.

Animals in those groups were provided supplementation throughout the study to prevent suspected hypoglycemia in response to metformin.

No Observed Adverse-Effect Level: 5+50 mg/kg/day (males) and 2.5+25 mg/kg/day (females)

Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Control)		2.5+25 (Group 2)		5+50 (Group 3)		10+100→50 (Group 4)		10+0 (Group 5)		0+100→50 (Group 6)	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Toxicokinetics													
Vilda													
AUC0-24h (ng·h/mL)	Day 1	BQL	BQL	1600	1350	3990	3390	7150	7370	8100	6930	BQL	BQL
	Week 11	BQL	BQL	1460	1780	3200	3080	8230	7940	6990	5950	BQL	BQL
Cmax (ng/mL)	Day 1	BQL	BQL	776	740	1970	1820	2870	3320	2970	3500	BQL	BQL
	Week 11	BQL	BQL	758	872	1510	1520	2430	3500	2480	2870	BQL	BQL
Met													
AUC0-24h (ng·h/mL)	Day 1	BQL	BQL	26600	27700	51000	74800	41400	99500	BQL	BQL	40300	52000
	Week 11	BQL	BQL	22900	32000	47300	113000	45200	106000	BQL	BQL	26300	51400
Cmax (ng/mL)	Day 1	BQL	BQL	5640	6350	15500	20200	12700	21600	BQL	BQL[a]	15400	15100
	Week 11	BQL	BQL	5110	7860	10800	24300	13570	16900	BQL	BQL	4850	14000

2.6.7.7 B　反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13-week oral (gavage) toxicity study in dogs with a 4-week recovery period												Study no. 0670034	
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Control)		2.5+25 (Group 2)		5+50 (Group 3)		10+100→50 (Group 4)		10+0 (Group 5)		0+100→50 (Group 6)	
Number of animals:	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Noteworthy findings													
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
Body weight (%[b])		12.0 kg	10.2 kg	-3.3	-2.9	-5.8	-11.8	+4.2	-13.7	+5.0	-5.9	-5.0	-13.7
Clinical observations													
Decreased food consumption		-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	P
Fecal changes		-	-	-	P	-	P	P	P	P	P	P	P
Emesis, salivation		-	-	-	-	-	-	P	P	-	-	P	P
Decreased locomotor activity, dehydration, thin, cold to touch		-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	P
Ophthalmoscopy		-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2/5[c]
Hematology													
Red blood cells		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓, 1/5[d]	-
Hemoglobin concentration		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓, 1/5[d]	-
Hematocrit		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓, 1/5[d]	-
Absolute reticulocyte count		-	-	-	-	-	-	-	↓, 1/5	-	-	-	↓, 1/5

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13-week oral (gavage) toxicity study in dogs with a 4-week recovery period												Study no. 0670034	
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Control)		2.5+25 (Group 2)		5+50 (Group 3)		10+100→50 (Group 4)		10+0 (Group 5)		0+100→50 (Group 6)	
Number of animals:	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Clinical biochemistry													
Creatinine		-	-	-	-	-	-	-	↑, 2/5	-	-	-	↑, 1/5
Urea		-	-	-	-	-	-	-	↑, 1/5[e]	-	-	-	-
Triglycerides		-	-	-	-	-	-	-	↑, 1/5[e]	-	-	-	-
Calcium		-	-	-	-	-	-	-	↓, 1/5[e]	-	-	-	-
Urinalysis													
Ketones		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑, 5/5	-
Organ weights (%[f])													
Prostate		7.48 g	NA	+2.9	NA	+10.8	NA	-6.2	NA	+49.5	NA	-48.8	NA
Gross pathology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery evaluation													
Organ weights													
Prostate		-	NA	NA	NA	NA	NA	-	NA	-	NA	↓, 1/5	NA

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

- = no noteworthy findings; ↓ = decrease, ↑ = increase; P = present; NA = not applicable

a = Concentrations above LLOQ were measured in 2 samples. Since these values were well below the Cmax of the low dose group, there was no impact on the toxicokinetic evaluation.

b = At the end of dosing period, if not otherwise specified. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

c = Each of the two females showed intermittent left bundle branch block or combination of tall R waves and deep T waves, respectively.

d = These changes were seen in the same animal (No.6003) on day 32.

e = These changes were seen in the same animal (No.4504) on day 66 (unscheduled examination).

f = Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.10 がん原性試験

該当資料なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要でない試験）

Non-pivotal studies

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)	No. per group	NOAEL[a] (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study Number	Location in CTD
Rabbit, New Zealand White	Oral gavage (Purified Water, USP)	Gestation days 7-20	0, 5+50, 15+150, 30+300, 50+500, 7.5+75, 10+100	0, 5+50, 10+100: 6, 15+150, 30+300, 50+500, 7.5+75: 3	5+50	≥ 15+150 mg/kg/day: mortality or moribund sacrifice of most of the animals (One animal (1/3) survived at 15+150 mg/kg/day). 30+300 mg/kg/day: Pale kidneys (2/3). 7.5+75 and 10+100 mg/kg/day: Decreased and/or soft stool, ↓food consumption, ↓body weight parameters. No effects on reproductive parameters or fetal external development at doses that could be assessed (≤ 15+150 mg/kg/day).	Novartis, East Hanover, NJ, USA	[0570024]	4.2.3.5.2-3

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

a = no observed adverse-effect level

↓ = decrease

2.6.7.12 生殖発生毒性試験

該当資料なし

2.6.7.13　生殖発生毒性試験

2.6.7.13 A　生殖発生毒性試験

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rats　Study no. [0670029]

Effect on embryo-fetal development

Species/strain: Rat, Wistar Hannover　Duration of dosing: Gestation days 6-17　Location in CTD: 4.2.3.5.2-1

Initial age: At least 10 weeks　Day of C-section: Gestation day 21 (main study animals); gestation day 18 (toxicokinetic satellite animals)　GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]　Method of administration: Oral gavage　Vehicle/formulation: Purified Water, USP

Special features: None

No observed adverse effect level: F_0 females: 30+300 mg/kg/day　F_1 litters: 100+1000 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)	10+100 (Group 2)	30+300 (Group 3)	100+1000 (Group 4)	0+1000 (Group 5)
Dams	No. pregnant	23	22	23	20	23
	No. sacrificed moribund	0	0	0	2[b]	0
	No. with total resorption of litter	0	0	1	0	0
	Clinical observations					
	Stains, salivation	-	-	-	P	P
	Necropsy observations	-	-	-	-	-
	Body weight (%[a]), day 18	297 g	-1.7	-2.4	-7.4**	-6.7**
	Body weight change (%[a]), days 6-18	65 g	-3.1	-7.7	-35.4**	-29.2**
	Food consumption (%[a]), days 6-9	68 g	-7.4	-8.8*	-30.9**	-17.6**
	Mean no. corpora lutea	11.1	11.6	11.6	12.3	11.3
	Mean no. implantations	9.3	10.1	10.0	10.2	9.3
	Mean% preimplantation loss	16.8	13.3	13.9	17.5	18.1

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rats						Study no. 0670029
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)	10+100 (Group 2)	30+300 (Group 3)	100+1000 (Group 4)	0+1000 (Group 5)
Litters	No. litters evaluated	23	22	22	19	23
	No. live fetuses	197	211	204	184	204
	Mean No. live fetuses	8.6	9.6	8.9	9.7	8.9
	Mean no. resorptions	0.7	0.5	1.1	0.5	0.4
	No. of litters with dead fetuses	0	1	0	0	0
	No. dead fetuses	0	1	0	0	0
	Mean% postimplantation loss	7.5	5.0	10.9	4.7	4.2
	Mean fetal body weight (g)	5.2	5.2	5.2	5.0	5.1
	Fetal sex ratios (% males)	50.8	53.1	50.5	47.8	49.0
	Fetal malformations					
	Gross external malformations	-	-	-	-	-
	Visceral malformations	-	-	-	-	-
	Skeletal malformations	-	-	-	-	-
	Fetal variations					
	Gross external variations	-	-	-	-	-
	Visceral variations	-	-	-	-	-
	Skeletal variations	-	-	-	-	-

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

- = No noteworthy findings;

Dunnet's test, * = $p<0.05$, ** = $p<0.01$

a = At the end of the dosing period, if not otherwise specified. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

b = One of two animals was not pregnant.

2.6.7.13 B　生殖発生毒性試験

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development toxicokinetic study in rats　　Study no. [0670172]

Effect on embryo-fetal development

Species/strain: Rat/Wistar Hannover　　Duration of dosing: Gestation days 6-17　　Location in CTD: 4.2.3.5.2-2

Initial age: At least 10 weeks　　Day of C-section: Gestation day 18　　GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]　　Method of administration: Oral gavage　　Vehicle/formulation: Purified Water, USP

Special features: None

No observed adverse effect level:　　F_0 females: not applicable　　F_1 litters: not applicable

Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)			0 (Group 1)	10+100 (Group 2)	30+300 (Group 3)	100+1000 (Group 4)	0+1000 (Group 5)
Dams	Toxicokinetics, gestation day 17/18						
	Vilda						
	Plasma	AUC0-24h (ng.h/mL)	BLQ	4050	12100	39900	BLQ
		Cmax (ng/mL)	BLQ	746	2790	3770	BLQ[a]
	Fetus (ng/g)		BLQ	BLQ	BLQ	189	BLQ
	Met						
	Plasma	AUC0-24h (ng.h/mL)	BLQ	67300	135000	448000	394000
		Cmax (ng/mL)	BLQ[a]	10900	14100	31400	29400
	Fetus (ng/g)		BLQ	64.2[b]	79.9	906	634
	No. pregnant		3	5	5	5[d]	5
	Clinical observations		-	-	-	-	-
	Necropsy observations		Ovarian cysts	-	-	-	-
	Body weight (%°), day 15		265 g	-4.9	-7.5	-12.8	-4.9
	Food consumption		Not Collected/Not Reported				
	Mean no. corpora lutea		Not Collected/Not Reported				
	Mean no. implantations		Not Collected/Not Reported				
	Mean% preimplantation loss		Not Collected/Not Reported				

2.6.7.13 B 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development toxicokinetic study in rats						Study no.0670172
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)	10+100 (Group 2)	30+300 (Group 3)	100+1000 (Group 4)	0+1000 (Group 5)
Litters	No. litters evaluated	Not Collected/Not Reported				
	No. live fetuses	Not Collected/Not Reported				
	Mean no. resorptions	Not Collected/Not Reported				
	No. of litters with dead fetuses	Not Collected/Not Reported				
	No. dead fetuses	Not Collected/Not Reported				
	Mean% postimplantation loss	Not Collected/Not Reported				
	Mean fetal body weight (g)	Not Collected/Not Reported				
	Fetal sex ratios (% males)	Not Collected/Not Reported				
	Fetal malformations:	Not Collected/Not Reported				
	Fetal variations:	Not Collected/Not Reported				

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

a = Concentrations above LLOQ were measured in some samples. Since these values were well below the Cmax of the low dose group, there was no impact on the toxicokinetic evaluation.

b = Concentration in fetuses above LLOQ was measured in only one sample.

c = At the end of the dosing period, if not otherwise specified. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

d = Animal No. 347 was found dead prior to the 24 hour blood collection (considered not to be treatment related) and excluded for overall calculations of toxicokinetic parameters.

2.6.7.13 C　生殖発生毒性試験

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rabbits　　Study no. [0670015]

Effect on embryo-fetal development

Species/strain: Rabbit, New Zealand White　　Duration of dosing: Gestation days 7-20　　Location in CTD: 4.2.3.5.2-4

Initial age: At least 23 weeks　　Day of C-section: Gestation day 29 (main study animals); gestation day 21 (toxicokinetic satellite animals)　　GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]　　Method of administration: Oral gavage　　Vehicle/formulation: Purified Water, USP

Special features: None

No observed adverse effect level:　　F_0 females: 3+30 mg/kg/day　　Embryo-fetus: 3+30 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)			0 (Group 1)	1+10 (Group 2)	3+30 (Group 3)	10+100 (Group 4)	0+100 (Group 5)
Dams/does	Toxicokinetics, gestation day 20/21						
	Vilda						
	Plasma	AUC0-24h (ng.h/mL)	BLQ	221	994	3760	BLQ
		Cmax (ng/mL)	BLQ	104	367	1220	BLQ
	Fetus (ng/g)		BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Met						
	Plasma	AUC0-24h (ng.h/mL)	BLQ	5080	14300	39700	46300
		Cmax (ng/mL)	BLQ	773	2130	5140	5510
	Fetus (ng/g)		BLQ	72.4	246	648	821
	No. pregnant		18	20	20	20	20
	No. died or sacrificed moribund		0	0	0	2	4
	No. aborted or delivered early		1	0	0	0	0
	No. with total resorption of litter		0	0	0	0	0

2.6.7.13 C 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rabbits						Study no. 0670015
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)	1+10 (Group 2)	3+30 (Group 3)	10+100 (Group 4)	0+100 (Group 5)
Dams (cont.)	Clinical observations					
	Soft stool	3/20	3/20	5/20	11/20	5/20
	Decreased stool	6/20	6/20	4/20	12/20	7/20
	Diarrhea	-	-	-	2/20[b]	-
	No stool	-	1/20	-	1/20[b]	-
	Decreased motor activity	-	-	-	1/20[b]	1/20[b]
	Ataxia	-	-	-	1/20[b]	1/20[b]
	Recumbency	-	-	-	1/20[b]	1/20[b]
	Cool to touch/pale	-	-	-	1/20[b]	-
	Necropsy observations	-	-	-	-	-
	Body weight (%[a]), day 21	3905 g	+0.4	-1.2	-5.0	-3.2
	Body weight change (%[a]), days17-21	87 g	-18.4	-8.0	-105**	-72.4*
	Food consumption (%[a]), day 19-20	211 g	-4.7	-10.0	-29.9**	-12.8
	Mean no. corpora lutea	9.7	9.8	10.6	10.3	9.3
	Mean no. implantations	9.1	8.9	9.9	9.7	8.0
	Mean% preimplantation loss	6.7	8.7	7.1	6.5	13.5
	Mean total resorptions	0.2	0.6	0.2	0.8	0.1
	Mean early resorptions	0.1	0.3	0.2	0.6[#]	0.0
	Mean late resorptions	0.1	0.3	0.1	0.2	0.1
	Mean% postimplantation loss	2.6	6.2	2.0	8.6	0.8

2.6.7.13 C 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rabbits						Study no. 0670015
Daily dose (mg/kg/day) (Vilda+Met)		0 (Group 1)	1+10 (Group 2)	3+30 (Group 3)	10+100 (Group 4)	0+100 (Group 5)
Litters	No. litters evaluated	17	20	20	18	16
	No. live fetuses	150	167	193	159[#]	127
	Mean No. live fetuses	8.8	8.4	9.6	8.8	7.9
	No. of litters with dead fetuses	0	0	0	0	0
	No. dead fetuses	0	0	0	0	0
	Mean fetal body weight (g)	42.6	42.4	42.5	41.4	42.7
	Fetal sex ratios (% males)	53.3	46.1	50.3	48.4	53.5
	Fetal malformations					
	Gross external malformations	-	-	-	-	-
	Visceral malformations	-	-	-	-	-
	Skeletal malformations	-	-	-	-	-
	Fetal variations					
	Gross external variations	-	-	-	-	-
	Visceral variations	-	-	-	-	-
	Skeletal variations	-	-	-	-	-

Met; Metformin was weighed as metformin hydrochloride

- = No noteworthy findings,

Dunnett's test, * = $p<0.05$, ** = $p<0.01$; Fisher's exact test, # = $p<0.05$

a = At the end of the dosing period, if not otherwise specified. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

b = Observed in animals sacrificed moribund (nos. 153 and 201)

2.6.7.14 生殖発生毒性試験

該当資料なし

2.6.7.15 新生児及び幼若動物の発達に関する毒性試験

該当資料なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当資料なし

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17A　その他の毒性試験－不純物の毒性試験（366-98 の一般毒性試験）

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and no. per group	NOAEL [a] (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Rat, Crl:CD(SD)	Oral gavage (deionised water / solution)	Single	366-98: 200, 2000	M: 3, F: 3	Approx. lethal dose: >2000	No noteworthy findings	[0870553]	4.2.3.7.6-1
Rat, Crl:(WI)BR	Oral gavage (propylene glycol / suspension)	4 weeks	366-98: 50, 150, 1000	M: 5, F: 5	1000	No noteworthy findings	[0870552]	4.2.3.7.6-2

a = no observed adverse-effect level,

2.6.7.17B　その他の毒性試験－不純物の毒性試験（366-98 の遺伝毒性試験）

Study type	Test systems	Test article/ Batch no.	Study design/Concentrations	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Bacterial reverse mutation assay (Ames test)	*S.typhimurium* TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	366-98 / CHAD0103K	62-5000 µg/plate (±S9)	Negative at the maximum concentration tested of 5000 µg/plate	[0870554]	4.2.3.7.6-3
Chromosome aberration assay	Cultured human peripheral blood lymphocytes	366-98 / CHAD0206K	Exp. 1: 100-1670 µg/mL (3h exposure + 24h fixation, ±S9) Exp. 2: 100-1670 µg/mL (24h exposure + 24h fixation, -S9) 333-1670 µg/mL (48h exposure + 48h fixation, -S9) 333-1670 µg/mL (3h exposure + 48h fixation, +S9)	Negative for induction of structural chromosomal aberrations; positive increase in polyploidy observed at the maximum concentration tested of 10 mM (1670 µg/mL)	[0870551]	4.2.3.7.6-4