CTD 第 2 部

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1　緒言

MSD 株式会社

目次

頁
図一覧 2
略号及び用語の定義 3
2.6.1　緒言 4

Confidential

図一覧

頁

図2.6.1: 1　　MK-3102の構造式.....4

C Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
AUC	Area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
DPP-4	Dipeptidyl peptidase 4	ジペプチジルペプチダーゼ4
GIP	Glucose-dependent insulinotropic polypeptide	グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド
GLP-1	Glucagon-like peptide 1	グルカゴン様ペプチド1
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
K_i	Inhibition constant	阻害定数

C Confidential

2.6.1　緒言

オマリグリプチン（別名 MK-3102又は [redacted]。以下 MK-3102）は、2型糖尿病の治療を目的として開発されたヒトジペプチジルペプチダーゼ4（DPP-4）に対する競合的かつ可逆的な阻害剤［50%阻害濃度（IC_{50}）= 1.6 nM、阻害定数（K_i）= 0.8 nM］である。MK-3102の構造式を［図 2.6.1: 1］に示す。

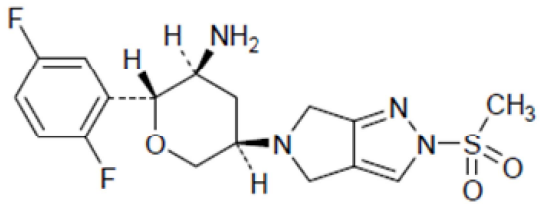


図 2.6.1: 1　　MK-3102 の構造式

MK-3102は強力かつ選択性の高い DPP-4阻害剤（他のジペプチジルプロテアーゼの60,000倍超の選択性）であり、標的外分子及びイオンチャネルに対する明らかな活性は認められない。マウスを用いた薬理試験では、血糖降下作用が DPP-4の阻害及び活性型グルカゴン様ペプチド1（GLP-1）の増加とともに認められた。MK-3102は、現在市販されている1日1回又は2回投与型の DPP-4阻害剤とは異なり、週1回投与を可能にする血漿中半減期を有する。臨床推奨用量は週1回 25 mg であり、この用量を健康被験者に投与したときの定常状態の $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ 及び C_{max} は、それぞれ23 μM·hr 及び0.57 μM である。

2型糖尿病患者での DPP-4阻害による血糖降下の作用機序は十分に解明されており、いくつかの連日投与の DPP-4阻害剤（例：シタグリプチン、ビルダグリプチン、サキサグリプチン、リナグリプチン、アログリプチン）が2型糖尿病治療薬として現在市販されている[資料4.3: 101]。DPP-4阻害剤の血糖降下作用は、インクレチンペプチドである GLP-1及びグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド（GIP）の DPP-4による分解を阻害し、体循環中の分解されていない活性型 GLP-1及び GIP の濃度を高めることで得られる。2型糖尿病には少なくとも3つの主要な異常、すなわち、インスリン抵抗性、不十分なインスリン分泌及び肝臓での過剰な糖新生が関与しているが、DPP-4阻害剤による治療では、内因性インクレチンペプチドの GLP-1及び GIP を安定化させることにより、これら異常のうちの2つ（不十分なインスリン分泌及び肝臓での過剰な糖新生）の改善を標的としている。GLP-1及び GIP の作用の一つは、β 細胞に発現する特定の G 蛋白質共役受容体を活性化させて、血糖依存的にインスリン分泌を促進することである。GIP にはない GLP-1のもう一つの作用は、ランゲルハンス島の α 細胞からのグルカゴン分泌を血糖依存的に抑制することである。GLP-1のグルカゴン分泌抑制作用は、肝臓での糖新生を抑制し、DPP-4阻害剤の血糖降下作用に寄与する。

MK-3102の開発を裏付けた非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の成績を本概要文及び

C Confidential

概要表に記載した。全体的に、MK-3102の非臨床試験プロファイルは、MK-3102による2型糖尿病の長期治療を裏付けるものであった。

Confidential

CTD 第 2 部

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

MSD 株式会社

目次

頁
表一覧 2
図一覧 3
略号及び用語の定義 4
2.6.2.1　まとめ 5
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 5
2.6.2.3　副次的薬理試験 11
2.6.2.4　安全性薬理試験 12
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 16
2.6.2.6　考察及び結論 16
2.6.2.7　図表 19
2.6.2.8　参考文献 19

C Confidential

表一覧

頁
表2.6.2: 1　種々試料由来 DPP-4に対する MK-3102の阻害活性.....7
表2.6.2: 2　標的外分子に対する MK-3102の in vitro 活性.....12
表2.6.2: 3　イヌでの MK-3102の薬物動態データ 16
表2.6.2: 4　ZDF ラットに MK-3102を4日間経口投与したときの薬理作用及び血漿中薬物濃度.....17
表2.6.2: 5　ZDF ラットに MK-3102を3ヵ月間経口投与したときの空腹時血糖値及び血漿中薬物濃度.....18

C Confidential

図一覧

頁

図2.6.2: 1　可溶性ヒト組換え DPP-4に対する MK-3102の阻害活性.....7
図2.6.2: 2　正常マウス（C57BL/6N、雄性）を用いた OGTT での MK-3102の効果.....9
図2.6.2: 3　*Dpp-4*$^{-/-}$マウス及び野生型マウスでの MK-3102の血糖降下作用.....10
図2.6.2: 4　正常マウスでの MK-3102の薬力学試験.....11

C Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
AMC	Aminomethylcoumarin	アミノメチルクマリン
ANOVA	Analysis of variance	分散分析
AUC	Area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
Cav	Voltage-dependent calcium channel	電位依存性カルシウムチャネル
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
DPP	Dipeptidyl peptidase	ジペプチジルペプチダーゼ
FAP	Fibroblast activation protein	線維芽細胞活性化蛋白質
FOB	Functional observational battery	機能観察総合評価
GIP	Glucose-dependent insulinotropic polypeptide	グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド
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
Gly	Glycine	グリシン
hERG	Human ether-a-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC_{20}	20% inhibitory concentration	20%阻害濃度
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
I_{CaL}	L-type calcium channel (current)	L 型カルシウムチャネル（電流）
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
I_{Kr}	Rapidly activating delayed rectifier potassium channel (current)	急速活性化遅延整流カリウムチャネル（電流）
I_{Ks}	Slowly activating delayed rectifier potassium channel (current)	緩徐活性化遅延整流カリウムチャネル（電流）
I_{Na}	Sodium channel (current)	ナトリウムチャネル（電流）
K_i	Inhibition constant	阻害定数
K_m	Michaelis constant	ミカエリス定数
k_{obs}	Observed rate constant	見かけの速度定数
k_{off}	Dissociation rate constant	解離速度定数
k_{on}	Association rate constant	結合速度定数
LOQ	Lower limit of quantification	測定下限値未満
OGTT	Oral glucose tolerance test	経口ブドウ糖負荷試験
PEP	Prolyl endopeptidase	プロリルエンドペプチダーゼ
Pro	Proline	プロリン
QPP	Quiescent cell proline dipeptidase	静止細胞プロリンジペプチダーゼ
QTc	Heart rate-corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔
QTcB	Heart rate-corrected QT interval (using Bazett's method)	心拍数で補正した QT 間隔（Bazett 式で補正）
QTcf	Heart rate-corrected QT interval (using Fridericia's method)	心拍数で補正した QT 間隔（Fridericia 式で補正）
QTci	Heart rate-corrected QT interval (using individual animal correction method)	心拍数で補正した QT 間隔（個体別補正法）
T_{max}	Time to the maximum concentration	最高濃度到達時間
v/v	Volume/volume	体積／体積
w/v	Weight/volume	重量／体積

C Confidential

2.6.2.1　まとめ

オマリグリプチン（別名 MK-3102又は [redacted]。以下 MK-3102）は、2型糖尿病治療薬として開発した長時間作用型ジペプチジルペプチダーゼ4（DPP-4）阻害剤である。DPP-4阻害剤は、インクレチンペプチドであるグルカゴン様ペプチド1（GLP-1）及びグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド（GIP）の安定化を介して、グルコース依存性のインスリン分泌促進並びにグルカゴン分泌阻害を間接的に誘導する血糖降下剤である[資料4.3: 101]。DPP-4阻害剤は、現在市販されている血糖降下剤（スルホニルウレア剤、速効型インスリン分泌促進剤、チアゾリジン系薬剤など）より低血糖リスクが低く、体重への影響が小さいと考えられているなど、有用な点がある[資料4.3: 101]。MK-3102は、週1回投与という利便性の高い用法で、現在市販されているDPP-4阻害剤と同様の血糖降下作用及び安全性を示す新規長時間作用型 DPP-4阻害剤である。

MK-3102の臨床開発を裏付けるため、種々の in vitro 及び in vivo 非臨床薬理試験を実施し、2型糖尿病治療での安全性及び有用性を検討した。効力を裏付ける薬理試験では、in vitro で様々な動物種の DPP-4に対する MK-3102の親和性を検討し、さらに in vivo で MK-3102による耐糖能改善効果及び DPP-4阻害活性を検討した。副次的薬理試験では、MK-3102の標的外分子に対する作用を検討した。これらの試験より、MK-3102は、ヒト DPP-4に対する競合的かつ可逆的阻害剤で、DPP-4に対して高い選択性を有し、標的外分子及びイオンチャネルに明らかな影響を及ぼさないことが示された。また、マウスの経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）で血糖降下作用及び DPP-4阻害作用が示された。

安全性薬理試験では、MK-3102の心血管系、呼吸器系及び中枢神経系への影響を in vitro 及び in vivo で検討した。MK-3102はヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）電流に対して弱い阻害作用を示した［50%阻害濃度（IC_{50}）= 105 μM］。テレメトリーを装着した覚醒イヌの心血管系及び呼吸器系評価では、MK-3102 75 mg/kg の経口投与により、心拍数で補正した QT（QTc）間隔及び QT 間隔の延長（それぞれ+8%及び+13%）、並びに平均血圧の低下がみられた。呼吸数、呼吸深度及び体温への影響はみられなかった。この試験の無影響量は10 mg/kg（C_{max} = 37 μM）であり、臨床推奨用量25 mg をヒトに投与したときの C_{max}（0.57 μM）に対する安全域は65倍であった。ラットの中枢神経系評価では、MK-3102 2及び10 mg/kg を投与しても被験物質に関連した影響はみられなかったが、500 mg/kg では全般的に運動性及び活動性の低下を示す被験物質に関連した変化がみられた。この試験の無影響量は10 mg/kg（C_{max} = 43 μM）であり、ヒト25 mg 投与時の C_{max}（0.57 μM）に対する安全域は75倍であった。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

MK-3102は、ヒト DPP-4に対して競合的、可逆的かつ強力な阻害活性［IC_{50}= 1.6 nM、阻害定数（K_i）= 0.8 nM］を示した。また、MK-3102は、DPP-4に高い選択性（他のプロリン選択的ジペプチジルプロテアーゼの60,000倍超）を示し、標的外分子に対する明らかな影響は認められなかった。MK-3102はヒト、カニクイザル及びイヌの DPP-4に対して同程度の阻害活性を示したが、マウス及びラットの DPP-4に対してはそれよりも弱い阻害活性を示した（IC_{50}はそれぞれ約11倍及

C Confidential

び約50倍上昇）。MK-3102の DPP-4阻害活性に対する血清の影響は中程度であり、高濃度の血清存在下では、各動物種の DPP-4に対して、概して最大6分の1程度まで阻害活性が低下した。ヒト DPP-4に対する酵素阻害反応速度を算出したところ、結合速度定数（k_{on}）= 4.6×10^{5} M^{-1} sec^{-1}、解離速度定数（k_{off}）= 3.47×10^{-4} sec^{-1}であった。正常マウスの OGTT で、MK-3102は糖負荷後の血糖値上昇を用量依存的に有意に抑制し（0.3 mg/kg で血糖 AUC を最大51%抑制）、この結果は、糖負荷後の血漿中薬物濃度、DPP-4阻害率及び活性型 GLP-1濃度の用量依存的な増加と一致するものであった。DPP-4欠損（*Dpp-4*$^{-/-}$）マウスに MK-3102 3 mg/kg を投与しても糖負荷後の血糖値上昇は抑制されなかったことから、MK-3102の作用機序に基づく血糖降下作用が確認された。

2.6.2.2.1　In vitro 薬理試験

2.6.2.2.1.1　ヒト DPP-4に対する MK-3102の in vitro 活性及び酵素反応速度論的プロファイル

評価資料 [資料4.2.1.1: PD001]

グリシン-プロリン-アミノメチルクマリン（Gly-Pro-AMC）を基質とする連続蛍光分析法を用いて、MK-3102の in vitro での DPP-4阻害活性を検討した。この方法は、DPP-4が基質 Gly-Pro-AMC を切断すると蛍光性の AMC 脱離基が放出されることを利用したものである。MK-3102の酵素阻害反応速度論の定数はプログレス曲線解析により決定した。すなわち、見かけの速度定数（k_{obs}）を方程式 $P = v_s t + (v_i-v_s)(1-\exp(-k_{obs}t))/k_{obs}$ から算出し、直線式 $k_{obs} = k_{on}\ I/(1+S/K_m) + k_{off}$ の傾き（$k_{on}/(1+S/K_m)$）及び切片（k_{off}）から k_{on} 及び k_{off} を求めた（P：反応産物濃度、v_s：平衡時反応速度、v_i：初期反応速度、t：時間、I：阻害剤濃度、S：基質濃度、K_m：ミカエリス定数）。可溶性ヒト組換え DPP-4と MK-3102との結合に関する K_i は、方程式 $K_i = k_{off}/k_{on}$ から算出した。可溶性ヒト組換え DPP-4に対する MK-3102の代表的な阻害活性データを[図2.6.2: 1]に示す。MK-3102は競合的かつ可逆的な DPP-4阻害剤であった（$k_{on} = 4.6\times10^{5}$ M^{-1} sec^{-1}、$k_{off} = 3.47\times10^{-4}$ sec^{-1}、IC_{50} = 1.6 nM、K_i = 0.8 nM）。

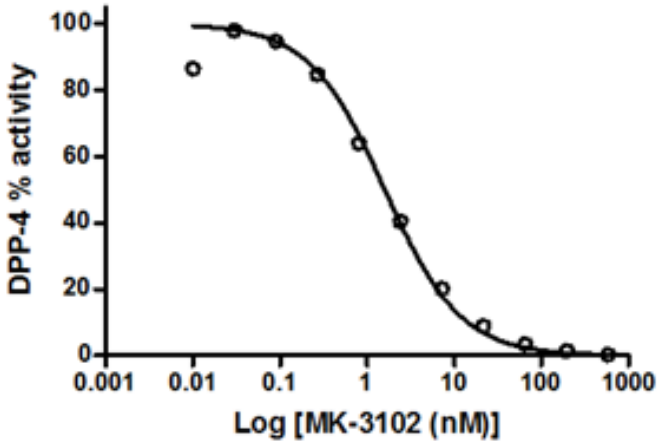
さらに、ヒト血清由来 DPP-4に対する MK-3102の阻害活性を検討した。この試験は、低濃度（2% v/v）及び高濃度（50% v/v）の血清存在下で実施し、阻害活性に対する血清蛋白結合の影響を検討した。得られたデータは単一酵素に対する MK-3102の結合を示しており、これらの試験で測定された活性の大部分は DPP-4阻害によるものであることが確認された。MK-3102はヒト血清由来 DPP-4及び組換えヒト DPP-4に対して類似した阻害活性を示した。また、高濃度の血清存在下で、MK-3102の DPP-4阻害活性は約3分の1に低下した[表2.6.2: 1]。

C Confidential

表 2.6.2: 1　　種々試料由来 DPP-4 に対する MK-3102 の阻害活性

DPP-4由来	IC_{50}、nM	標準偏差（例数）
ヒト組換え体	1.6	0.03 (3)
ヒト血清（2%血清存在下）	2.1	0.08 (3)
ヒト血清（50%血清存在下）	6.7	0.13 (3)
ラット血清（3%血清存在下）	80.7	2.24 (3)
ラット血清（50%血清存在下）	131.7	20.21 (3)
マウス血清（3%血清存在下）	17.5	0.3 (3)
マウス血清（50%血清存在下）	43.9	1.82 (3)
イヌ血清（3%血清存在下）	3.3	0.15 (3)
イヌ血清（50%血清存在下）	17.7	0.9 (3)
カニクイザル血清（3%血清存在下）	2.4	0.13 (2)
カニクイザル血清（50%血清存在下）	5.3	0.69 (2)

[資料4.2.1.1: PD001]



[資料4.2.1.1: PD001]

図 2.6.2: 1　　可溶性ヒト組換え DPP-4 に対する MK-3102 の阻害活性

2.6.2.2.1.2　種々動物の DPP-4に対する MK-3102の in vitro 活性

評価資料 [資料4.2.1.1: PD001]

様々な動物種（ラット、マウス、イヌ及びカニクイザル）の血清由来 DPP-4に対する MK-3102の阻害活性を前項と同様な方法で評価した。得られたデータは単一酵素に対する MK-3102の結合を示しており、これらの試験で測定された活性の大部分は DPP-4阻害によるものであることが確認された。MK-3102は、イヌ及びカニクイザルの DPP-4に対してヒト DPP-4と同様な阻害活性を示したが、げっ歯類の DPP-4に対しては11分の1から50分の1の弱い活性を示し、さらに高濃度の血清存在下では、各動物種の DPP-4に対して、概して最大6分の1程度まで阻害活性が低下した[表 2.6.2: 1]。阻害反応は完全に競合的かつ可逆的であった。

C Confidential

2.6.2.2.2　In vivo 薬理試験

2.6.2.2.2.1　正常マウスに MK-3102を単回投与したときの効果

評価資料 [資料4.2.1.1: PD003]

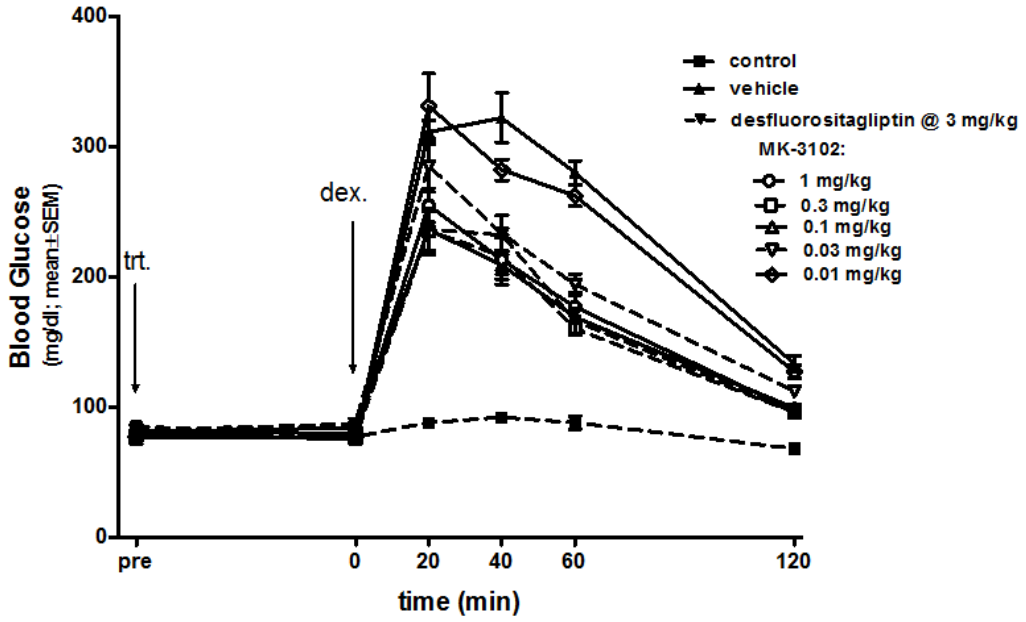
げっ歯類の2型糖尿病モデルを用いた OGTT で、DPP-4阻害剤投与による GLP-1活性の調節により、糖負荷後血糖値の上昇が抑制され耐糖能が改善されることが示されている。そこで、正常マウスの OGTT モデルを用いて、糖負荷後血糖値の上昇に対する MK-3102の影響を in vivo で検討した。

一晩絶食させた雄性 C57BL/6N マウス（各群7匹）に、媒体（0.25%メチルセルロース水溶液）、MK-3102（0.01、0.03、0.1、0.3及び1 mg/kg；5 mL/kg）又は陽性対照（デスフルオロシタグリプチン3 mg/kg；5 mL/kg）を経口投与し、その60分後にブドウ糖（5 g/kg；10 mL/kg）を経口負荷した。血糖値は、被験薬投与時（-60分）、糖負荷時（0分）、糖負荷20、40、60及び120分後に測定し、0～120分までの血糖 AUC を算出した。非糖負荷対照として、媒体を投与し水を経口負荷した群を設けた。その結果、MK-3102は、用量依存的に糖負荷後の血糖値の上昇を抑制した[図2.6.2: 2]。MK-3102 0.1 mg/kg の血糖値の抑制率（49%）は、デスフルオロシタグリプチンの最大有効用量3 mg/kg の血糖値抑制率（48%）と同程度であった。MK-3102は投与1時間後（t=0：糖負荷前）の空腹時血糖値には影響しなかった。

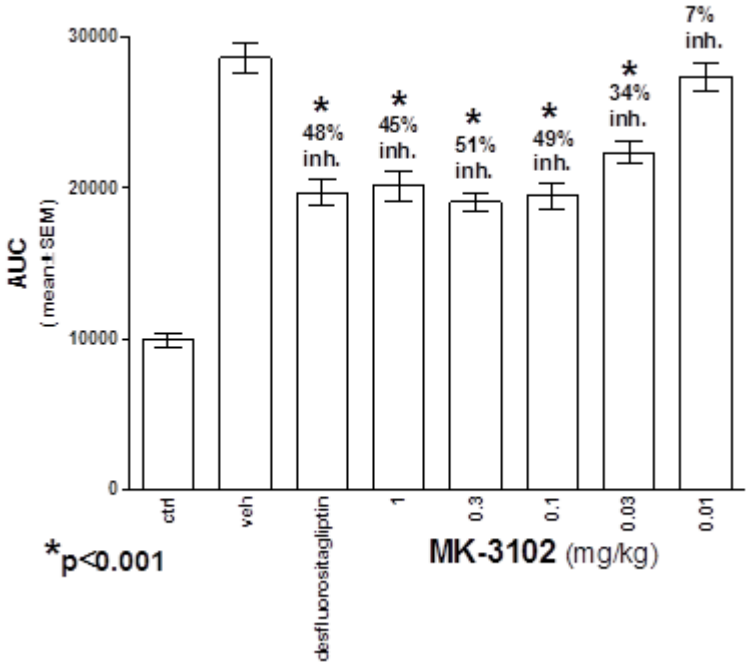
この効果が DPP-4阻害という作用機序に基づくものであることを確認するため、DPP-4欠損（*Dpp-4*$^{-/-}$）マウス及び野生型対照マウスを用いて、OGTT の血糖値上昇に対する MK-3102最大有効用量の抑制効果を比較した。一晩絶食させた雄性 *Dpp-4*$^{-/-}$マウス又は野生型マウス（各群7匹）に、媒体又は MK-3102 3 mg/kg を経口投与し、その60分後にブドウ糖を経口負荷した。血糖値は、被験薬投与時（-60分）、糖負荷時（0分）、糖負荷20、40、60及び120分後に測定した。非糖負荷対照として、媒体を投与し水を経口負荷した群を設けた。その結果、野生型対照マウスの血糖値上昇は有意に抑制（46%低下）されたが、*Dpp-4*$^{-/-}$マウスの血糖値上昇は抑制されなかった[図2.6.2: 3]。したがって、DPP-4は MK-3102の標的分子であることが確認された。

C Confidential

（a）正常マウスの耐糖能に対する MK-3102の効果



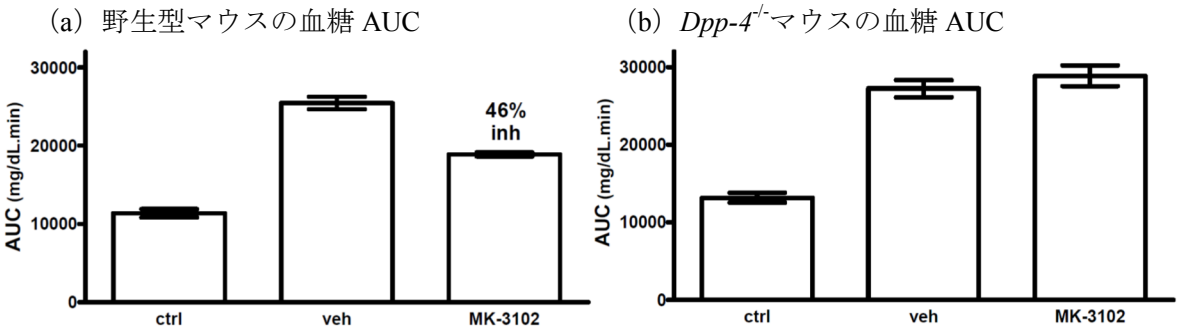
（b）正常マウスの血糖 AUC に対する MK-3102の効果



% inh.：水負荷対照（ctrl）で正規化したときの媒体対照（veh）に対する各群血糖 AUC の%阻害率。
*p<0.001（one way ANOVA、媒体対照との比較）
データは平均±標準誤差（n=7）。
[資料4.2.1.1: PD003]

図 2.6.2: 2　　正常マウス（C57BL/6N、雄性）を用いた OGTT での MK-3102 の効果

Confidential



% inh.：水負荷対照（ctrl）で正規化したときの媒体対照（veh）に対する各群血糖 AUC の%阻害率。
データは平均±標準誤差（n=7）。
[資料4.2.1.1: PD003]

図 2.6.2: 3　*Dpp-4*$^{-/-}$マウス及び野生型マウスでの MK-3102 の血糖降下作用

2.6.2.2.2.2　OGTT の薬力学的評価

評価資料 [資料4.2.1.1: PD003]

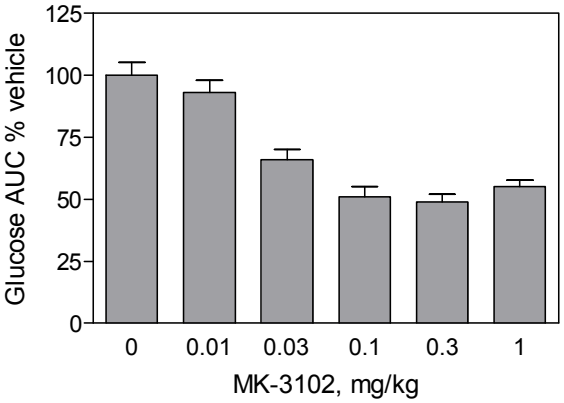
OGTT での血糖値上昇に対する MK-3102の用量依存的な抑制効果が、血漿中 DPP-4活性及び活性型 GLP-1濃度の変化と関連するか、正常マウス（系統：C57BL/6N）を用いた薬力学試験で検討した。

一晩絶食させた雄性 C57BL/6N マウス（各群9～10匹）に、媒体（0.25%メチルセルロース水溶液）又は MK-3102（0.01、0.03、0.1、0.3及び1 mg/kg；5 mL/kg）を経口投与し、その60分後にブドウ糖（5 g/kg；10 mL/kg）を経口負荷した。糖負荷10分後に採血し、血漿中の DPP-4活性、活性型 GLP-1濃度及び薬物濃度を測定した。その結果、MK-3102は用量依存的に血漿中 DPP-4活性を阻害し、活性型 GLP-1濃度を上昇させた[図2.6.2: 4]。MK-3102の血漿中濃度は投与量に比例して増加した。正常マウスの OGTT で得られた MK-3102投与後の血糖 AUC データ（媒体対照群及び水負荷対照群で正規化）も[図2.6.2: 4]（a）に示す。OGTT の結果から、MK-3102単回投与時に最大血糖降下作用を示した0.3 mg/kg では、血漿中 DPP-4活性が約85%阻害されることが示された[図2.6.2: 4]。血漿中活性型 GLP-1濃度は、0.3 mg/kg 及び1 mg/kg で同程度であったことから、これらの用量で活性型 GLP-1は最も安定するようであった。

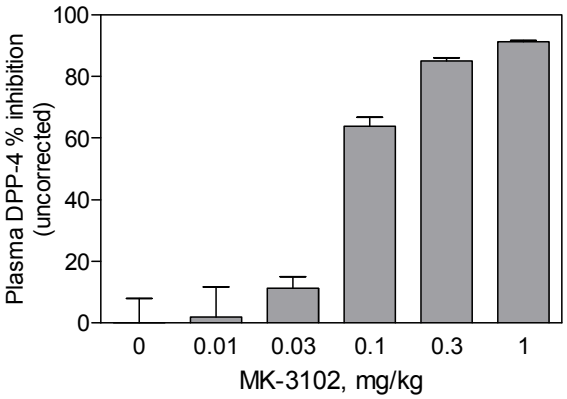
シタグリプチンを含む DPP-4阻害剤を用いた同様な試験では、一般的に血漿中 DPP-4阻害率が80%以上のときに最大効果が得られている。なお、in vitro で測定した血漿中 DPP-4阻害率は、in vivo での真の阻害率より過小評価されていることに注意する必要がある。これは、MK-3102は競合的かつ急速な可逆性を示す阻害剤であり、血漿中 DPP-4活性の測定では、（1）血漿の希釈により阻害剤濃度が減少し、（2）基質（Gly-Pro-AMC）が阻害剤と DPP-4との結合に競合するためである。

C Confidential

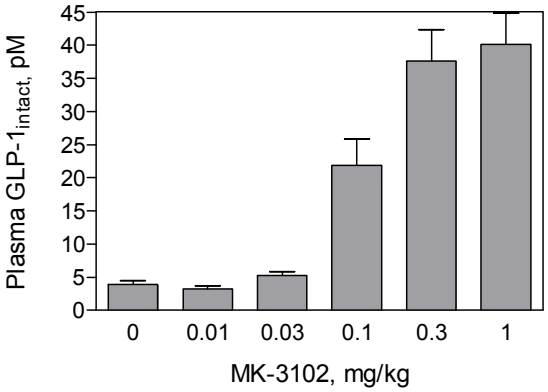
（a）OGTT での血糖 AUC に対する MK-3102経口投与の影響



（b）血漿中 DPP-4活性に対する MK-3102経口投与の阻害効果



（c）血漿中活性型 GLP-1濃度に対する MK-3102経口投与の影響



（d）MK-3102の血漿中濃度

Dose, mg/kg	MK3102, nM
0.01	LOQ
0.03	LOQ
0.1	89
0.3	521
1	1939

（a）の血糖 AUC は、前項の OGTT の糖負荷0～120分後までの血糖値より算出した[2.6.2.2.2.1 項]。その他（DPP-4阻害、活性型 GLP-1濃度、MK-3102血漿中濃度）は、糖負荷10分後に採取したサンプルで測定した。
いずれのデータも平均値±標準誤差を示す（n = 9～10匹／群）
LOQ：測定下限値未満
[資料4.2.1.1: PD003]

図 2.6.2: 4　　正常マウスでの MK-3102 の薬力学試験

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　DPP-4に対する MK-3102の選択性

評価資料 [資料4.2.1.1: PD001]
評価資料 [資料4.2.1.2: PD002]

標的外分子に対する MK-3102の阻害活性を検討したところ、全般的に DPP-4に対する高い選択性が示された[表2.6.2: 2]。まず、ジペプチジルペプチダーゼ8（DPP-8）、ジペプチジルペプチダーゼ9（DPP-9）、quiescent cell proline dipeptidase（QPP）、prolyl endopeptidase（PEP）及び fibroblast activation protein（FAP）に対する MK-3102の阻害活性を、各酵素に特異的な基質を用いた連続蛍

C Confidential

光分析法で測定した。その結果、試験したすべてのプロテアーゼに対して MK-3102は阻害活性を示さず（IC_{50} >100 μM）、その阻害が非臨床毒性に関連することが報告されている DPP-8及び DPP-9[資料4.3: 102]に対しても、MK-3102は阻害活性を示さなかった。また、急速活性化遅延整流カリウムチャネル（I_{Kr}）、電位依存性カルシウムチャネル（Cav）及びナトリウムチャネル（I_{Na}）に対する MK-3102の親和性を、各イオンチャネル特異的な放射性リガンドを用いて測定した。その結果、MK-3102はイオンチャネルに対して明らかな結合活性を示さず、I_{Kr} のリガンド MK-499 を用いた結合アッセイでは、IC_{50}は39 μM であった[資料4.2.1.1: PD001]。[redacted] で実施した160種を超える酵素活性アッセイ及び受容体結合アッセイ（MerckScreen）では、MK-3102による明らかな影響は認められなかった（全アッセイで IC_{50} >10 μM）[資料4.2.1.2: PD002]。

表 2.6.2: 2　　標的外分子に対する MK-3102 の in vitro 活性

標的外分子	IC_{50}、μM（例数）
DPP-8	> 100 (2)
DPP-9	> 100 (1)
QPP	> 100 (2)
PEP	> 100 (2)
FAP	> 100 (2)
I_{Kr}	39 (1)
Cav	>30 (1)
I_{Na}	>50 (1)

[資料4.2.1.1: PD001]

2.6.2.4　安全性薬理試験

日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S7A 及び S7B ガイドラインに準拠して MK-3102の安全性薬理試験を実施し、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響を in vitro 及び in vivo で検討した。

2.6.2.4.1　PatchExpress 心筋イオンチャネルパネルを用いた探索的試験

参考資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]3215]

PatchExpress 心筋イオンチャネルパネルで、MK-3102は hERG 電流をほとんど阻害せず、試験最高濃度の30 μM で阻害率は32%であった。緩徐活性化遅延整流カリウム電流（I_{Ks}）、ナトリウム電流（I_{Na}）、及び L 型カルシウム電流（I_{CaL}）に対して、MK-3102は30 μM で顕著な阻害活性を示さなかった[2.6.3.4 項]。

2.6.2.4.2　hERG 電流に対する影響

評価資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]4711]

hERG チャネルを異種発現させた CHO-K1細胞を用いて、hERG チャネルに対する MK-3102（設

C Confidential

定濃度：10、30、100、300 μM）の影響をホールセルボルテージクランプ法で検討した。本試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準(GLP)を遵守して実施した。MK-3102のhERG電流阻害活性は弱く、IC_{50}は105 μM、20%阻害濃度（IC_{20}）は30 μM であった[2.6.3.4 項]。このIC_{50}は、ヒトに週1回 MK-3102 25 mg を投与したときのC_{max}（0.57 μM）をフリー体濃度換算した値の約275倍に相当した。なお、陽性対照薬のシサプリドは、0.03 μM の濃度で hERG 電流を65.6%阻害した。

2.6.2.4.3　迷走神経を切断した麻酔下のイヌに MK-3102を静脈内投与したときの心血管系機能への影響

参考資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]5082]
参考資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]5086]

MK-3102の静脈内投与による心血管系機能への影響を評価するため、迷走神経切断、麻酔及び人工呼吸下のイヌモデルを用いて、異なる用量の用量漸増法による探索的試験を2試験実施した。両試験とも、心拍数、平均血圧及び心電図（PR 間隔、QRS 間隔、QTcB 間隔；Bazett 式で補正した QT 間隔）をモニタリングするとともに、採血して血漿中薬物濃度を測定した。MK-3102各群と比較する時間一致対照として、別の迷走神経切断イヌ4匹（雄2匹、雌2匹）に媒体［100%脱イオン水（10 mL/30分)］を投与し心血管系への影響を評価した。

第1の試験では、雑種犬3匹（雄2匹、雌1匹）に MK-3102 3、7及び20 mg/kg をそれぞれ30分かけて順次漸増静脈内投与した。MK-3102 20 mg/kg 投与では、媒体対照と比較して、平均血圧のわずかな低下（-13%）が認められた。いずれの用量でも、媒体対照と比較して心拍数、PR 間隔、QRS 間隔に変化は認められなかった。MK-3102 20 mg/kg 静脈内投与中に、媒体対照と比較して、QTc 間隔のわずかな延長（+4.5%）が認められた。MK-3102 3、7及び20 mg/kg を30分間静脈内投与したときの平均C_{max}は、それぞれ4.5 ± 1.6 μM、18.5 ± 6.5 μM 及び48.5 ± 8.4 μM（平均値±標準偏差）であった[資料4.2.1.3: TT[redacted]5082] [2.6.3.4 項]。

第2の試験では、雑種犬3匹（雄2匹、雌1匹）に、より高用量の MK-3102 10、20及び40 mg/kg を静脈内投与した。MK-3102 40 mg/kg 投与では、媒体対照と比較して、被験薬に関連した平均血圧の低下（-15%）が認められた。心拍数に対する影響はいずれの用量でも認められなかった。MK-3102 20及び40 mg/kg 投与では、媒体対照と比較して QRS 間隔の延長（+10%以下）が見かけ上認められたが、本試験の後半で媒体対照の QRS 間隔が短縮（-5%～-7%）していた。そこで、対応する試験前のベースライン値と比較すると、QRS 間隔の延長は+5%未満であった。また、MK-3102 20及び40 mg/kg では、媒体対照と比較して、QTc 間隔のわずかな延長（20 mg/kg で+2.5%、40 mg/kg で+5%）が認められた。MK-3102 10、20及び40 mg/kg の平均C_{max}は、それぞれ16 ± 2.9 μM、43 ± 5.6 μM 及び104 ± 15 μM であった[資料4.2.1.3: TT[redacted]5086] [2.6.3.4 項]。

以上、麻酔下のイヌに MK-3102（用量3～40 mg/kg）を静脈内投与したところ、20 mg/kg（血漿中濃度約43 μM）以上で、平均血圧がわずかに低下（-15%以下）し、QTc 間隔がわずかに延長［+5%以下（Bazett 補正)］した。また、MK-3102 20 mg/kg 以上の静脈内投与で QRS 間隔のわずかな延長が認められた。全般的に迷走神経切断麻酔イヌモデルで認められた心血管パラメータに対する

C Confidential

MK-3102の影響は小さく、有害な事象とは考えられなかった。

2.6.2.4.4　イヌの心血管系及び呼吸器系機能に対する経口投与テレメトリー試験

評価資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]5602]
評価資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]5627]

イヌに MK-3102を単回経口投与したときの心血管系（血行動態及び心電図）及び呼吸器系への影響を検討するテレメトリー試験を2試験実施した（GLP 試験）。両試験とも、MK-3102と比較する時間一致対照として、媒体（0.5%メチルセルロース水溶液）を単回経口投与した。心拍数、動脈圧パラメータ（収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧）、心電図パラメータ（QRS 間隔、PR 間隔、QT 間隔）、呼吸器パラメータ（呼吸数及び呼吸深度）及び体温を、ラジオテレメトリーによりモニタリングした。QT 間隔は心拍数の変動で補正（QTc 間隔）して評価した。

第1のテレメトリー試験[資料4.2.1.3: TT[redacted]5602] [2.6.3.4 項]では、ビーグル犬4匹（雌雄各2匹）に、媒体（対照）及び MK-3102 10 mg/kg を、2×2ラテン方格クロスオーバー法（媒体と MK-3102 の投与間隔5日間）で投与した。テレメトリーデータは投与後24時間モニタリングした。QT 間隔は Fridericia 式により心拍数変動の補正を行った（QTcf 間隔）。本試験では、MK-3102 10 mg/kg を投与しても、心血管系パラメータ、呼吸器系パラメータ及び体温に対して被験薬に関連した影響は認められなかった。

第2のテレメトリー試験[資料4.2.1.3: TT[redacted]5627] [2.6.3.4 項]では、ビーグル犬（雌1匹、雄3匹）に MK-3102 2、10及び75 mg/kg を用量漸増経口投与し、投与後72時間テレメトリーデータを記録した。QT 間隔は個体別補正法により心拍数変動の補正を行い（QTci 間隔）、QT : RR 間隔をプロットして QT 間隔への影響を評価した。MK-3102 2及び10 mg/kg 群では、心血管系機能、呼吸器系機能及び体温のいずれにも影響は認められなかった。高用量群の75 mg/kg では、投与6～72時間後に中等度の持続的な血圧低下［収縮期血圧（最大-20 mmHg、-17%）、拡張期血圧（最大-15 mmHg、-21%）、平均血圧（最大-16 mmHg、-18%）］が認められ、投与12～16時間後で血圧への影響は最大となった。75 mg/kg 群では、媒体対照と比較して、投与0.5～10時間後及び投与24～72時間後で QT 間隔の延長（+33 ms、+13%）がみられた。QTci 間隔は、媒体対照と比較して投与0～72時間後で延長（+13 ms、+8%）がみられた。MK-3102 75 mg/kg 群では、QT 又は QTci 間隔の延長がイヌ4匹中2匹で認められ、媒体対照と比較して平均 QT : RR 間隔プロットにわずかなシフトが認められた。高用量群の75 mg/kg では、心拍数、PR 間隔、QRS 間隔、呼吸数、呼吸深度及び体温に対して被験薬に関連した影響は認められなかった。

ヒトに MK-3102 25 mg を週1回投与したときの C_{max} は0.57 μM である。イヌに MK-3102を単回経口投与したときの心血管系への影響に関する無影響量及び無毒性量は10 mg/kg（C_{max} = 37 μM）であり、安全域は65倍であった。また、呼吸器系及び体温への影響に関する無影響量及び無毒性量は75 mg/kg（C_{max} = 195 μM）以上であり、安全域は342倍であった。

C Confidential

2.6.2.4.5　覚醒マウスの Irwin 変法による探索的中枢神経系試験

参考資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]5368]

雌性 CD1マウス（各群5匹）に媒体［0.5%（w/v）メチルセルロース水溶液］又は MK-3102 100 mg/kg を単回経口投与して、Irwin 変法［機能観察総合評価（FOB）］により神経系機能に対する影響を評価した。Irwin 変法による観察を投与0.5、1、2、5及び24時間後に行い、体温を投与2時間後に測定した。MK-3102 100 mg/kg 投与2時間後に、一過性の活動性低下がマウス1匹のみに認められた以外、いずれの観察時点においても一般症状、神経反射、運動機能に影響は認められなかった。活動性低下は投与5及び24時間後では認められなかった。投与2時間後に、媒体対照と比較して MK-3102群で体温低下（-1.8℃）が認められた。MK-3102の平均血漿中濃度は、投与1時間後で223 μM、投与5時間後で128 μM であった[2.6.3.4 項]。

2.6.2.4.6　ラットの経口投与機能観察総合評価試験

評価資料 [資料4.2.3.2: TT[redacted]1081]

ラットの14日間経口投与毒性試験（GLP 試験）の試験1日に、媒体［0.5%（w/v）メチルセルロース水溶液］又は MK-3102 2、10及び500 mg/kg を雄性 Sprague-Dawley ラット（各群6匹）に経口投与し、FOB により神経系機能に対する影響を検討した[2.6.3.4 項]。FOB では、ホームケージ内観察、ハンドリング観察、オープンフィールド観察、刺激に対する反応、握力測定、後肢開脚度、ホットプレート反応潜時及び体温測定を行った。媒体又は MK-3102の経口投与約2時間後（予想された T_{max}）に FOB 観察を行った。

MK-3102 2及び10 mg/kg では、神経行動学的機能に対して被験薬に関連した影響は認められなかった。MK-3102 500 mg/kg（C_{max} = 464 μM）では、媒体群と比較して、区画移動回数の減少（-74%）及び立ち上がり回数の減少（-64%）が認められた。この他に、平面正向反射の減弱（3/6匹）、間欠的努力呼吸（3/6匹）、筋弛緩（3/6匹）、眼瞼閉鎖（5/6匹）、後肢開脚度の減少（媒体対照と比較して-25%）、歩行失調（1/6匹）、腹臥位（1/6匹）、空中正向反射の減弱（1/6匹）、接近反射の減弱（1/6匹）、体温低下（-0.8℃）が認められた。これらの所見に基づくと、MK-3102の単回経口投与によるラット神経系機能に関する無影響量及び無毒性量は10 mg/kg であった。

2.6.2.4.7　イヌの探索的経口投与薬理試験

参考資料 [資料4.2.1.3: TT[redacted]1015]

イヌを用いた探索的経口投与薬理試験を実施し、MK-3102を単回経口投与したときの薬理学的活性を評価するとともに、薬物動態を検討した[2.6.3.4 項]。ビーグル犬2匹（雌雄各1匹）に MK-3102 3 mg/kg を投与し、その翌日に30 mg/kg を投与した。また、別のビーグル犬2匹（雌雄各1匹）に MK-3102 10 mg/kg を投与し、その翌日に90 mg/kg を投与した。両投与間に休薬期間は設けなかった。

本試験の薬物動態パラメータを[表2.6.2: 3]に示す。

C Confidential

表 2.6.2: 3　　イヌでの MK-3102 の薬物動態データ

薬物動態パラメータ	動物番号：#[redacted]-0429、雌		動物番号：#[redacted]-0300、雄	
	3 mg/kg MK-3102	30 mg/kg MK-3102	3 mg/kg MK-3102	30 mg/kg MK-3102
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μM·hr)	58.1	829	85	1550
C_{max} (μM)	5.02	75.81	5.50	111.11
T_{max} (hr)	1.0	1.0	2.0	4.0
薬物動態パラメータ	動物番号：#[redacted]-0441、雌		動物番号：#[redacted]-0306、雄	
	10 mg/kg MK-3102	90 mg/kg MK-3102	10 mg/kg MK-3102	90 mg/kg MK-3102
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μM·hr)	368	3170	647	4350
C_{max} (μM)	48.10	203.96	46.45	286.12
T_{max} (hr)	1.0	2.0	2.0	2.0

注：MK-3102は、0.5%メチルセルロース水溶液で調製した。
[資料4.2.1.3: TT[redacted]1015]

被験薬に関連した一般状態変化は、MK-3102 90 mg/kg 投与の1匹で認められた活動性低下及び糞量減少であった。本試験では、いずれの用量でも被験薬に関連した血清生化学パラメータの変化は認められなかった。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

MK-3102の非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。DPP-4阻害による血糖降下作用機序はすでに解明されており、過去の複数の臨床試験で、このクラスの薬剤を他の血糖降下剤と併用したときの有効性及び安全性が明らかにされている[資料4.3: 103]。スルホニルウレア剤、速効型インスリン分泌促進剤、ビグアナイド系薬剤、チアゾリジン系薬剤又はα-グルコシダーゼ阻害剤による治療に MK-3102を追加投与したときの有効性及び安全性は、第Ⅲ相試験（P015）で検討された[2.7.3.2.3 項] [2.7.4 項]。

2.6.2.6　考察及び結論

MK-3102は、DPP-4に対して高い選択性（他のプロリン選択的ジペプチジルプロテアーゼの60,000倍超）を有する強力な DPP-4阻害剤であり、広範な標的外分子及びイオンチャネルパネルを用いた in vitro 試験では、MK-3102は明らかな活性を示さなかった。正常マウスを用いた OGTT で、MK-3102は血糖値上昇に対する抑制効果を示した。また、実験動物に対する MK-3102の忍容性は、ヒト用量より高い用量でも概して良好であった。MK-3102の非臨床薬力学試験では、MK-3102の臨床開発を妨げる結果は得られなかった。

MK-3102の非臨床薬理試験では、糖尿病モデル動物を用いた試験を実施しなかった。しかしながら、MK-3102の膵臓への影響を検討するために Zucker Diabetic Fatty（ZDF）ラットを用いた反復投与毒性試験を2試験実施した。その際に、検査項目の一部として空腹時血糖値、血漿中活性型 GLP-1濃度、血漿中 DPP-4活性又は血漿中薬物濃度を測定していたことから、それら試験での MK-3102の血糖降下作用について以下に述べる。

C Confidential

ZDF ラットの探索的4日間経口投与忍容性試験 [資料4.2.3.7.3: TT[redacted]2576]

ZDF ラットに MK-3102を0、2、10、又は50 mg/kg/日の用量で1日1回4日間経口投与し、空腹時血糖値、血漿中活性型 GLP-1濃度、血漿中 DPP-4活性及び血漿中薬物濃度を測定した。結果を[表2.6.2: 4]に示す。

試験5日目の空腹時血糖値は、媒体対照群、MK-3102 2、10及び50 mg/kg/日群で、それぞれ286、252、292及び307 mg/dL であり、MK-3102による空腹時血糖値への影響は認められなかった。一方、試験4日目の投与2時間及び24時間後の血漿中 DPP-4活性は、媒体対照群に比べ MK-3102群で顕著に阻害され、また、血漿中活性型 GLP-1濃度も媒体対照群に比べ MK-3102群で約6～10倍増加した。いずれの MK-3102群でも、試験4日目の C_{max} 及び C_{24hr} は、ラット由来 DPP-4に対する MK-3102の in vitro IC_{50}（50%血清存在下で0.13 μM）の10倍を超える値を示した。

以上、ZDF ラットへの MK-3102の4日間経口投与により、DPP-4阻害及び活性型 GLP-1濃度増加の薬理作用は示されたものの、媒体対照群と比較して空腹時血糖値を低下させるまでの効力は示されなかった。

表 2.6.2: 4　　ZDF ラットに MK-3102 を 4 日間経口投与したときの薬理作用及び血漿中薬物濃度

測定項目	試験日		MK-3102（mg/kg/日）			
			0（媒体対照）	2	10	50
空腹時血糖値（mg/dL）	5日目		286±26	252±31	292±41	307±32
DPP-4阻害率（%）	4日目	2時間	0.00±11.76	98.14±0.72	98.79±0.81	98.76±1.38
		24時間	0.00±8.94	98.52±1.09	97.48±1.37	97.18±1.19
活性型 GLP-1濃度（pg/mL）	4日目	2時間	8.1±1.1	51.9±4.3	76.5±11.4	75.7±18.6
		24時間	8.1±0.8	70.3±10.0	82.0±12.4	70.4±17.9
血漿中濃度（μM）	4日目	C_{max}	-	8.21±0.593	39.7±2.59	158±9.07
		C_{24hr}	-	1.73±0.257	6.12±1.69	28.3±6.95

値は平均値±標準誤差(n=5)を示す。
[資料4.2.3.7.3: TT[redacted]2576]

ZDF ラットの3ヵ月間経口投与毒性試験 [資料4.2.3.7.3: TT[redacted]0001]

ZDF ラットに、媒体（対照群1及び対照群2の2群設定）又は MK-3102 10 mg/kg/日を1日1回約3ヵ月間経口投与し、空腹時血糖値及び血漿中薬物濃度を測定した。結果を[表2.6.2: 5]に示す。

MK-3102 10mg/kg/日群の空腹時血糖値は、対照群1と比較すると、試験4週目及び12週目共に統計学的に有意に低下した（p≦0.05、Dunnett's 多重比較検定）が、対照群2と比較すると若干の低値が示されたのみであった。よって、ZDF ラットの空腹時血糖値に対する MK-3102の効力は弱いものと考えられた。試験13週目の MK-3102の C_{max} 及び C_{24hr} は、ラット由来 DPP-4に対する MK-3102の in vitro IC_{50}の10倍を超える値を示した。

以上より、ZDF ラットへの MK-3102 10mg/kg/日の3ヵ月間経口投与により、弱い空腹時血糖降下作用が認められた。

Confidential

表 2.6.2: 5　　ZDF ラットに MK-3102 を 3 ヵ月間経口投与したときの空腹時血糖値及び血漿中薬物濃度

測定項目	試験週		群		
			対照群1	対照群2	MK-3102 10 mg/kg/日
空腹時血糖値（mg/dL）	-1週目（プレ値）		142±11	142±9	160±10
	4週目		194±13	166±10	151±10*
	12週目		306±18	261±16	257±14*
血漿中薬物濃度（μM）	13週目	C_{max}	-	-	27.3±1.23
		C_{24hr}	-	-	1.87±0.121

値は平均値±標準誤差を示す。
空腹時血糖値は n=26（ただし、MK-3102群の試験12週目のみ n=25）。血漿中薬物濃度は n=3。
*：対照群1との比較で p≦0.05（Dunnett's 多重比較検定）
[資料4.2.3.7.3: TT[redacted]0001]

MK-3102の安全性薬理試験では、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系に対する影響を検討した。ラットの FOB 試験では、高用量群の500 mg/kg で、活動性低下及び体温低下を伴う複数の一般状態変化が認められた。マウスの FOB 試験では、100 mg/kg 群で一過性の活動性低下及び体温低下が認められた。同様にイヌの探索的経口投与薬理試験では、90 mg/kg 群で被験薬に関連した一般状態の変化（活動性低下）が認められた。全体的に、神経行動学的機能に対する影響はラット、マウス及びイヌで概して一貫しており、活動性低下に関連したものであった。重要な点は、これらの変化が、ヒト25 mg 投与時の C_{max} を十分上回る（180倍以上）極めて高い曝露を与える用量で認められたということである。なお、ラットの毒性試験では、乱用及び身体依存の症状は認められなかった[2.6.6.8.4 項]。

麻酔下のイヌを用いた静脈内投与心血管系試験では、QTc 間隔及び QRS 間隔のわずかな延長、平均血圧のわずかな低下が、20 mg/kg（C_{max} = 43～49 μM）及び40 mg/kg（C_{max} = 104 μM）で認められた。覚醒イヌを用いたテレメトリー法による経口投与心血管系試験では、75 mg/kg で QTc 及び QT 間隔の延長（それぞれ+8%及び+13%）が認められた。また、75 mg/kg では平均血圧の低下も認められた。本試験では、呼吸数、呼吸深度及び体温に変化は認められなかった。MK-3102を単回経口投与したときの心血管系への影響に関する無影響量は10 mg/kg（C_{max} = 37 μM）であり、65倍の安全域が得られた。呼吸器系及び体温への影響に関する無影響量は、75 mg/kg（C_{max} = 195 μM）超であり、342倍の安全域が得られた。なお、臨床用量25 mg を週1回投与したときの C_{max} は0.57 μM である。

以上、効力を裏付ける試験の結果から、MK-3102は2型糖尿病治療薬として有効性が期待され、副次的薬理及び安全性薬理に基づく安全性についても許容可能なプロファイルを有することが示された。

C Confidential

2.6.2.7　図表

本文中に記載した。

2.6.2.8　参考文献

[資料4.3: 101] Deacon CF, Holst JJ. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes: comparison, efficacy and safety. Expert Opin Pharmacother. 2013;14:2047-58.

[資料4.3: 102] Lankas GR, Leiting B, Roy RS, Eiermann GJ, Beconi MG, Biftu T, et al. Dipeptidyl peptidase IV inhibition for the treatment of type 2 diabetes: potential importance of selectivity over dipeptidyl peptidases 8 and 9. Diabetes. 2005; 54:2988-94.

[資料4.3: 103] Plosker GL. Sitagliptin: a review of its use in patients with type 2 diabetes mellitus. Drugs. 2014;74:223-42.

C Confidential

CTD 第 2 部

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

MSD 株式会社

目次

頁
略号及び用語の定義 2
2.6.3.1　薬理試験：一覧表 3
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 6
2.6.3.4　安全性薬理試験 7
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 13

Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
AUC	Area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
DPP	Dipeptidyl peptidase	ジペプチジルペプチダーゼ
F	Female	雌
FOB	Functional observational battery	機能観察総合評価
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
hERG	Human ether-a-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
I_{CaL}	L-type calcium channel (current) = L-type hCAv1.2	L 型カルシウムチャネル（電流）
I_{Kr}	Rapidly activating delayed rectifier potassium channel (current) = hERG	急速活性化遅延整流カリウムチャネル（電流）
I_{Ks}	Slowly activating delayed rectifier potassium channel (current) = hKCNQ1/hKCNE1	緩徐活性化遅延整流カリウムチャネル（電流）
I_{Na}	Sodium channel (current) = hNav1.5	ナトリウムチャネル（電流）
M	Male	雄
MAP	Mean arterial pressure	平均動脈圧
MRL	Merck Research Laboratories	
NA	Not applicable	適用せず
NOAEL	No-observed-adverse-effect level	無毒性量
NOEL	No-observed-effect level	無影響量
QTc	Heart rate-corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔
QTci	Heart rate-corrected QT interval (using individual animal correction method)	心拍数で補正した QT 間隔（個体別補正法）
T_{max}	Time to the maximum concentration	最高濃度到達時間

C Confidential

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

Test Article: Omarigliptin（以下、MK-3102）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location Vol. Section
Primary Pharmacodynamics					
In Vitro Pharmacological Studies	Recombinant human DPP-4 and DPP-4 from human, mouse, rat, dog, monkey serum	In vitro	MRL	PD001	[資料4.2.1.1: PD001] 評価資料
In Vivo Pharmacological Studies	Mouse/ C57BL/6N	Oral gavage	MRL	PD003	[資料4.2.1.1: PD003] 評価資料
Secondary Pharmacodynamics					
MerckScreen Data Report	Enzymes and receptors of human, mouse, rat, rabbit, bovine, chicken, guinea pig, hamster	In vitro	[redacted]	PD002	[資料4.2.1.2: PD002] 評価資料

C Confidential

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: MK-3102

Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location Vol. Section**
Safety Pharmacology					
Cardiac Ion Channel Panel	I_{Kr}, I_{Ks}, I_{Na}, I_{CaL} channels stably expressed in mammalian cells	In vitro	MRL	TT #[redacted]-3215	[資料4.2.1.3: TT[redacted]3215] 参考資料
hERG Assay [a]	hERG channels stably expressed in CHO cells	In vitro	MRL	TT #[redacted]-4711	[資料4.2.1.3: TT[redacted]4711] 評価資料
Cardiovascular Function	Dog/ Mongrel (anesthetized, vagotomized, ventilated)	Intravenous	MRL	TT #[redacted]-5082	[資料4.2.1.3: TT[redacted]5082] 参考資料
Cardiovascular Function	Dog/ Mongrel (anesthetized, vagotomized, ventilated)	Intravenous	MRL	TT #[redacted]-5086	[資料4.2.1.3: TT[redacted]5086] 参考資料
Cardiovascular & Respiratory Function [a]	Dog/Beagle	Oral gavage	MRL	TT #[redacted]-5602	[資料4.2.1.3: TT[redacted]5602] 評価資料

C Confidential

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: MK-3102

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location Vol. Section
Cardiovascular & Respiratory Function [a]	Dog/Beagle	Oral gavage	MRL	TT #[redacted]-5627	[資料4.2.1.3: TT[redacted]5627] 評価資料
Neurobehavioral Function	Mouse/CD1	Oral gavage	MRL	TT #[redacted]-5368	[資料4.2.1.3: TT[redacted]5368] 参考資料
Neurobehavioral Function [a]	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	MRL	TT #[redacted]-1081	[資料4.2.3.2: TT[redacted]1081] 評価資料
Pharmacology	Dog/Beagle	Oral gavage	MRL	TT #[redacted]-1015	[資料4.2.1.3: TT[redacted]1015] 参考資料

[a] Report contains a GLP compliance statement.

I_{Kr} = hERG; I_{Ks} = hKCNQ1/hKCNE1; I_{Na} = hNav1.5; I_{CaL} = L-type hCAv1.2; MRL = Merck Research Laboratories, Rahway, New Jersey, USA, West Point, Pennsylvania, USA, or Riom, France; [redacted]

C Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

[2.6.2.2 項]参照。

2.6.3.3　副次的薬理試験

[2.6.2.3 項]参照。

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験

Test Article: MK-3102

Organ Systems Evaluated	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Dose/Concen-tration Level** [a]	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**GLP Compli-ance**	**Study Number**
Cardiac Ion Channel Currents	I_{Kr}, I_{Ks}, I_{Na}, I_{CaL} channels stably expressed in mammalian cells	In vitro	0.37, 1.1, 3.3, 10, 30 µM	NA	In the PatchExpress Cardiac Ion Channel Panel, MK-3102 exhibited minimal functional inhibition of hERG current, inhibiting the current by 32% at the highest tested concentration of 30 µM. In previous non-functional MK-499 displacement binding studies of hERG, the compound had an IC_{50} of 39 µM. There were no remarkable effects on I_{Ks}, I_{Na}, and I_{CaL} up to 30 µM.	No	TT #[redacted]-3215
hERG Assay	CHO-hERG cell line (Chinese Hamster Ovary cells over-expressing human ERG channel)	In vitro	Actual concentration: 9.8, 30, 100, 301 µM	NA	Potency on hERG: IC_{50} = 105 µM	Yes	TT #[redacted]-4711

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験（続き）　　**Test Article:** MK-3102

Organ Systems Evaluated	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Dose/Concen-tration Level** [a]	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**GLP Compli-ance**	**Study Number**
Cardiovascular Function	Dog/ Mongrel (anesthetized, vagotomized, ventilated)	Intravenous	0, 3, 7, 20 mg/kg	4 (Control), 1F and 2M (MK-3102)	At 20 mg/kg: Decrease in MAP (-13%) and increase in QTc (4.5%) Peak Average Plasma Concentrations: 3 mg/kg = 4.5 µM 7 mg/kg = 19 µM 20 mg/kg = 49 µM	No	TT #[redacted]-5082
Cardiovascular Function	Dog/ Mongrel (anesthetized, vagotomized, ventilated)	Intravenous	0, 10, 20, 40 mg/kg	4 (Control), 1F and 2M (MK-3102)	At 20 and 40 mg/kg: Increase in QRS (9 and 10%) Increase in QTc (2.5 and 5%) At 40 mg/kg: Decrease in MAP (-15%) Peak Average Plasma Concentrations: 10 mg/kg = 16 µM 20 mg/kg = 43 µM 40 mg/kg = 104 µM	No	TT #[redacted]-5086

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験（続き）　　**Test Article:** MK-3102

Organ Systems Evaluated	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Dose/Concen-tration Level** [a]	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**GLP Compli-ance**	**Study Number**
Cardiovascular & Respiratory Function	Dog/ Beagle	Oral	0, 10 mg/kg	2F and 2M	No effects.	Yes	TT #[redacted]-5602
Cardiovascular & Respiratory Function	Dog/ Beagle	Oral	0, 2, 10, 75 mg/kg	1F and 3M	75 mg/kg: decreased systolic (-17%), diastolic (-21%), mean blood pressure (-18%); increased QT interval (+13%), QTci Interval (+8%) For cardiovascular effects, NOEL and NOAEL were 10 mg/kg. For respiratory effects and body temperature, NOEL and NOAEL were ≥ 75 mg/kg.	Yes	TT #[redacted]-5627

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験（続き）　　**Test Article:** MK-3102

Organ Systems Evaluated	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Dose/Concentration Level** [a]	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**GLP Compliance**	**Study Number**
Behavioral & CNS Function	Mouse/ CD-1	Oral gavage	0, 100 mg/kg	5F/group	Present 2 hours postdose: Decreased mean body temperature (-1.8°C); slight decrease in activity (1/5 mice).	No	TT #[redacted]-5368
Behavioral & CNS Function	Rat/ Crl:CD (SD)	Oral gavage	0, 2, 10, 500 mg/kg/day (14-days)	10F and 10M/ group	500 mg/kg/day: CNS effects in FOB: Hypotonia, palpebral closure, decrease (↓) in number of rears and line crosses, unsteady gait, flattened posture, ↓ in surface righting, aerial righting, approach response, body temperature and footsplay, and intermittent labored breathing. 10 mg/kg/day: No test article-related FOB effects. 2 mg/kg/day: No test article-related FOB effects. NOEL and NOAEL were 10 mg/kg	Yes	TT #[redacted]-1081

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験（続き）　　**Test Article:** MK-3102

Organ Systems Evaluated	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Dose/Concen-tration Level** [a]	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**GLP Compli-ance**	**Study Number**
Pharmacology	Dog/ Beagle	Oral gavage	3, 10, 30, 90 mg/kg	1F and 1M/group	Test article-related physical signs: Decreased activity and scant feces in 1 animal at 90 mg/kg. No test article-related serum biochemical changes. <u>Plasma Pharmacokinetic Parameters:</u> At 3 mg/kg (F/M), respectively: • $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μM·hr): 58.1/85 • C_{max} (μM): 5.02/5.50 • T_{max} (hr): 1.0/2.0	No	TT #[redacted]-1015

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験（続き）　　**Test Article:** MK-3102

Organ Systems Evaluated	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Dose/Concen-tration Level** [a]	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**GLP Compli-ance**	**Study Number**
Pharmacology	Dog/ Beagle	Oral gavage	3, 10, 30, 90 mg/kg	1F and 1M/group	At 10 mg/kg (F/M), respectively: • $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μM·hr): 368/647 • C_{max} (μM): 48.10/46.45 • T_{max} (hr): 1.0/2.0 At 30 mg/kg (F/M), respectively: • $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μM·hr): 829/1550 • C_{max} (μM): 75.81/111.11 • T_{max} (hr): 1.0/4.0 At 90 mg/kg (F/M), respectively: • $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μM·hr): 3170/4350 • C_{max} (μM): 203.96/286.12 • T_{max} (hr): 2.0/2.0	No	TT #[redacted]-1015

[a] Single dose unless specified otherwise.

CHO = Chinese Hamster Ovary; CNS = Central Nervous System; F = Female; FOB = Functional Observational Battery; IC_{50} = 50% Inhibitory Concentration; M = Male; MAP = Mean Arterial Pressure; NA = Not Applicable; NOAEL = No-Observed-Adverse-Effect Level; NOEL = No-Observed-Effect Level; QTc = Heart rate-corrected QT interval; QTci = Heart rate-corrected QT interval (using individual animal correction method).

C Confidential

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

C Confidential