

リベルサス錠 3mg  
リベルサス錠 7mg  
リベルサス錠 14mg

## 2.6.1 緒言

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

## 目次

	ページ
目次 .....	2
図目次 .....	2
付録 .....	2
略語一覧.....	3
2.6.1 緒言.....	5
2.6.1.1 特性及び名称.....	5
2.6.1.2 製剤処方.....	6
2.6.1.3 非臨床試験戦略.....	6
2.6.1.4 経口セマグルチドの試験.....	7
2.6.1.5 効能又は効果、用法及び用量案.....	7
参考文献.....	9

## 図目次

	ページ
図 2.6.1-1 セマグルチドの分子構造.....	5
図 2.6.6-2 非臨床資料の構成.....	7

## 付録

2.6.1.6 付録 サルカプロザートナトリウム：緒言

## 略語一覧

以下に示す略語一覧は、非臨床試験の概要全体を通して使用される全略語の一覧である。したがって、すべての略語がこの非臨床試験の概要の項で使用されているとは限らない。

Ado	8-amino-3,6-dioxaoctanic acid (8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸)
ALP	alkaline phosphatase (アルカリフォスファターゼ)
ALT	alanine transaminase (アラニントランスアミナーゼ)
AUC	area under the plasma drug concentration-time curve (血漿中濃度-時間曲線下面積)
C <sub>ave</sub>	average plasma concentration (平均血漿中濃度)
CL	clearance (クリアランス)
C <sub>max</sub>	maximum drug concentration observed in plasma (最高血漿中濃度)
DRF	dose range finding (用量範囲設定)
ECG	Electrocardiography (心電図)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)
F	absolute bioavailability or female (絶対的バイオアベイラビリティ又は雌)
F <sub>rel</sub>	relative bioavailability (相対的バイオアベイラビリティ)
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)
GLP-1R	glucagon like peptide-1 receptor (グルカゴン様ペプチド-1 受容体)
HPLC	high pressure liquid chromatography (高速液体クロマトグラフィー)
HPMC	hydroxypropyl methyl cellulose (ヒドロキシプロピルメチルセルロース)
i.v.	Intravenous (静脈内)
ICR	incurred sample reproducibility (実試料の再現性)
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem-mass spectrometry (液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法)
LLOQ	lower limit of quantification (定量下限)
LOCI	luminescent oxygen channelling immunoassay (蛍光酸素チャネリング免疫測定法)
LSC	liquid scintillation counting (液体シンチレーション計数)
M	male (雄)
MRHD	maximum recommended human dose (最大臨床用量)
MTD	maximally tolerated dose (最大耐量)
NA	not applicable (該当なし)
NC	not calculated (算出せず)
NNC	Novo Nordisk compound (ノボ ノルディスク社の化合物)
NOAEL	no observed adverse effect level (無毒性量)
NR	not reported (報告なし)
OECD	organisation for Economic Co-operation and Development (経済協力開発機構)
p.o.	per oral (経口)
PK	Pharmacokinetic (薬物動態)
QC	quality control (品質管理)
Rac <sub>obs</sub>	observed ratio of accumulation (累積比の観察値)
RIA	radio-immunoassay (放射免疫測定法)

s.c.	Subcutaneous (皮下)
SD	standard deviation (標準偏差)
SNAC	salcaprozate sodium (サルカプロザートナトリウム)
$t_{1/2}$	terminal plasma half-life (終末相半減期)
$t_{\max}$	time at which the highest drug concentration occurs (最高血漿中濃度到達時間)
$V_z$	volume of distribution (分布容積)

## 2.6.1 緒言

有効成分であるセマグルチド（遺伝子組換え）（以下、セマグルチド）は持続性ヒトグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）受容体作動薬である。ノボ ノルディスク社はセマグルチド 3、7 又は 14 mg を含有する錠剤を 1 日 1 回経口投与するセマグルチド製剤を開発し、本承認申請に至った。「経口セマグルチド」と記した場合は、サルカプロザートナトリウム（SNAC）との製剤化により、経口投与経路により投与されたセマグルチド製剤の試験を示す。臨床試験と同様に、動物試験においても経口セマグルチドを 1 日 1 回投与した。

週 1 回皮下投与のセマグルチド製剤であるオゼンピック皮下注 2mg（以下、オゼンピック）は、EU、米国及び日本を含む主要地域で承認されており、セマグルチドの非臨床評価の大部分はオゼンピックの医薬品承認時に評価されている。

### 2.6.1.1 特性及び名称

セマグルチドは、クリアランスが小さくなるよう設計されており、それによりヒトにおける終末相半減期（ $t_{1/2}$ ）が約 1 週間に延長されている。半減期延長の基本メカニズムはアルブミンとの結合であり、脂肪酸二酸をペプチド骨格の第 26 位のリジンに親水性リンカーを介してペプチド骨格に附加することで可能となっている。さらに、DPP-4 酵素による分解を抑制するため、ペプチド骨格の第 8 位をアラニンから 2-アミノイソブチル酸に改変している<sup>1</sup>。セマグルチドの構造を [図 2.6.1-1](#) に示す。

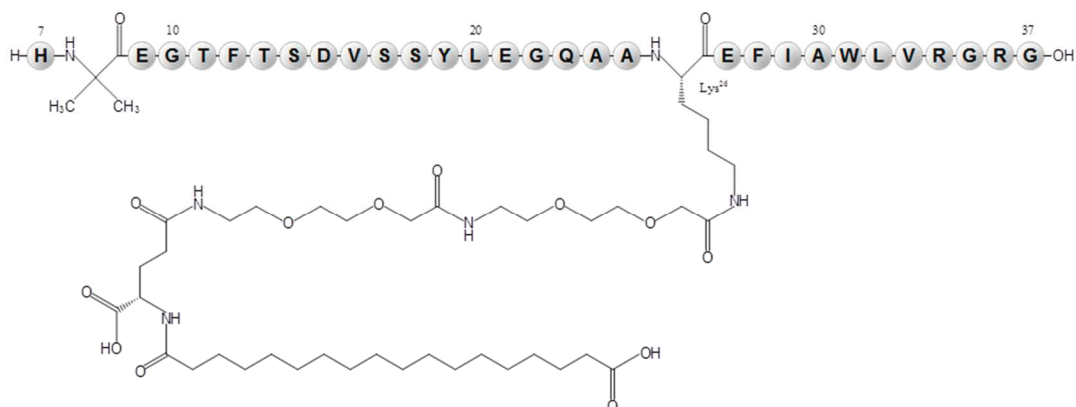


図 2.6.1-1 セマグルチドの分子構造

セマグルチドは化合物の国際一般名（INN）であり、一般名決定前は NNC0113-0217 及び NNC0113-0000-0217 といった化合物コードを用いていた。セマグルチドの CAS 登録番号は 910463-68-2、分子式は  $C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$ 、分子量は 4113.6 Da である。

セマグルチドの化学名は「Nε26 [(S)-(22,40-dicarboxy-10,19,24-trioxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18,23-triazatetracontan-1-oyl)] [Aib8, Arg34]GLP-1-(7-37) ペプチド」である。

セマグルチドのペプチド骨格を *Saccharomyces cerevisiae* 種による遺伝子組換え DNA 技術により製造し、その後、脂肪酸、ならびに、グルタミン酸及び 8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸 (Ado) 2 分子からなる親水性リンカーを附加した。

### 2.6.1.2 製剤処方

経口セマグルチドは、セマグルチド 3、7 又は 14 mg を含有する錠剤である。経口セマグルチドには、吸収促進剤である SNAC が、1 錠あたり 300 mg 含有されている。また、経口セマグルチドは、セルロース（結晶）、ポビドン及びステアリン酸マグネシウムを含有する。

### 2.6.1.3 非臨床試験戦略

経口セマグルチドを支持する非臨床試験の資料は、以下の 3 種類の概要資料に基づいている。

- 経口セマグルチド

経口セマグルチドの非臨床試験の概要に関する資料は、SNAC との製剤化により経口投与経路により投与されるセマグルチドの試験データを含む。

- セマグルチド

オゼンピックの医薬品承認申請資料の一部として提出されている、皮下投与経路によるセマグルチドの非臨床試験の資料 (M 1.13.1 参照)。

- SNAC

SNAC は医薬品新添加剤であると考えられ、実施した非臨床試験プログラムは、米国 FDA の「Guidance for Industry - Nonclinical Studies for the Safety Evaluation of Pharmaceutical Excipients」<sup>2</sup> に準拠しており、当該試験プログラムは、ヒトへの長期投与を支持するための日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) M3 ガイドライン<sup>3</sup>の推奨事項に全面的に準拠するものである。

SNAC の概要は、非臨床試験の概要文及び概要表で記述されるデータ書式<sup>4</sup>と同じ書式を用いて、非臨床試験に関する補足資料「SNAC 2.6.1」「SNAC 2.6.2」「SNAC 2.6.3」「SNAC 2.6.4」「SNAC 2.6.5」「SNAC 2.6.6」「SNAC 2.6.7」にまとめている。各資料は経口セマグルチドの 2.6.1.6 付録、2.6.2.7 付録、2.6.3.2 付録、2.6.4.10 付録、2.6.5.16 付録、2.6.6.11 付録、2.6.7.18 付録として組み入れている (図 2.6.6-2)。「SNAC 2.6.1」は 2.6.1.6 付録に組み入れている。

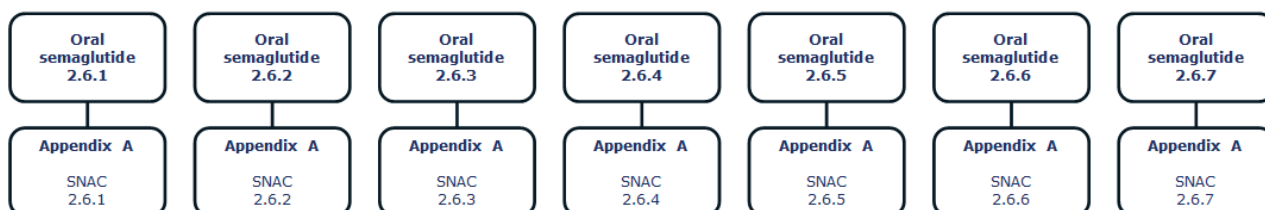


図 2.6.6-2 非臨床資料の構成

#### 2.6.1.4 経口セマグルチドの試験

ヒトへの経口投与時のセマグルチドを評価するため、試験実施当時の FDA のガイドライン「Nonclinical Safety Evaluation of Reformulated Drug Products and Products Intended for Administration by an Alternate Route)」<sup>5</sup>に準拠して、非臨床安全性試験プログラムを実施した。本プログラムにはラット及びサルにおける経口セマグルチドの反復投与毒性試験が含まれており、2種の動物種は皮下投与プログラムで使用されたものと同一種である。2015年に発出されたガイドラインの最終版<sup>6</sup>に基づくと、実施済みのラット（26週間）及びサル（17週間）における反復投与毒性試験プログラムは、経口セマグルチドの医薬品承認申請をする上で適切性が保たれていることが確認された。

これらの試験では、吸収促進剤として SNAC を用いて実施しているが、サルにおける 17 週間試験では、別の吸収促進剤（カプリン酸ナトリウム）により製剤化されたセマグルチドを用いて実施している。非臨床プログラムでは、セマグルチドの経口投与後の消化管に対する局所刺激性評価も組み入れられている。

さらに、ラット、イヌ及びカニクイザルにおける SNAC 含有製剤の単回又は反復経口投与時の、セマグルチドの薬物動態が検討された。また、ラット及びカニクイザルにおける SNAC 含有製剤の単回経口投与時の、セマグルチドの *in vivo* 代謝試験が完了している。

すべての重要な非臨床安全性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）の原則に準拠して、OECD 加盟国又は OECD のデータ相互受け入れ（Mutual Acceptance of Data）プロセスの参加国で実施した。

#### 2.6.1.5 効能又は効果、用法及び用量案

経口セマグルチドは、以下の効能又は効果、用法及び用量を予定している。

<効能は又は効果>

## 2型糖尿病

### <用法及び用量>

通常、成人には、セマグルチド（遺伝子組換え）として1日1回7 mgを維持用量とし経口投与する。ただし、1日1回3 mgから開始し、4週間以上投与した後、1日1回7 mgに増量する。なお、患者の状態に応じて適宜増減するが、1日1回7 mgを4週間以上投与しても効果不十分な場合には、1日1回14 mgまで増量することができる。



## 参考文献

- <sup>1</sup> Lau J, Bloch P, Schaffer L, Pettersson I, Spetzler J, Kofoed J, et al. Discovery of the Once-Weekly Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Analogue Semaglutide. *J Med Chem.* 2015;58(18):7370-80.
- <sup>2</sup> FDA. Guidance for Industry. Nonclinical Studies for the Safety Evaluation of Pharmaceutical Excipients. May 2005.
- <sup>3</sup> ICH M3(R2). Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. Current Step 4 version, dated 11 June 2009.
- <sup>4</sup> ICH M4S(R2). The Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Safety – M4S(R2). Nonclinical Overview and Nonclinical Summaries of Module 2 Organisation of Module 4. Current Step 4 Version, dated 20 December 2002.
- <sup>5</sup> FDA. Draft Guidance for Industry and Review Staff: Nonclinical Safety Evaluation of Reformulated Drug Products and Products Intended for Administration by an Alternate Route. March 2008.
- <sup>6</sup> FDA. Guidance for Industry and Review Staff: Nonclinical Safety Evaluation of Reformulated Drug Products and Products Intended for Administration by an Alternate Route. October 2015.

リベルサス錠 3mg  
リベルサス錠 7mg  
リベルサス錠 14mg

2.6.1.6 付録  
サルカプロザートナトリウム  
緒言

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

## 目次

	ページ
目次 .....	2
図目次 .....	2
表目次 .....	2
略語一覧.....	3
2.6.1.6 緒言.....	7
2.6.1.6.1 名称及び単位.....	7
2.6.1.6.2 非臨床試験戦略.....	8
参考文献.....	9

## 図目次

	ページ
図 2.6.1.6-1 SNAC の化学構造.....	7

## 表目次

	ページ
表 2.6.1.6-1 SNAC の名称.....	7

## 略語一覧

以下に示す略語一覧は、非臨床試験の概要全体を通して使用される全略語の一覧である。したがって、すべての略語がこの非臨床試験の概要の項で使用されているとは限らない。

3T3-L1	mouse pre-adipocyte cell-line (マウス前脂肪細胞株)
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion (吸収・分布・代謝・排泄)
AME	absorption, metabolism, and excretion (吸収・代謝・排泄)
ATP	adenosine triphosphate (アデノシン三リン酸)
AUC	area under the plasma drug concentration-time curve (血漿中濃度-時間曲線下面積)
BALT	bronchus-associated lymphoid tissue (気管支関連リンパ組織)
BCRP	breast cancer resistance protein (乳癌耐性タンパク質)
BHA	$\beta$ -hydroxy butyric acid ( $\beta$ -ヒドロキシ酪酸)
BSEP	bile salt export pump (胆汁酸トランスポーター)
C2C12	mouse myoblast cell-line (マウス筋芽細胞株)
CAS	Chemical Abstracts Service (ケミカル・アブストラクト・サービス)
cDNA	complementary DNA (deoxyribonucleic acid) [相補的デオキシリボ核酸 (DNA) ]
CF	Carboxyfluorescein (カルボキシフルオレセイン)
CHO	chinese hamster ovary (cells) [チャイニーズハムスター卵巣 (細胞) ]
$C_{max}$	maximum drug concentration observed in plasma (最高血漿中濃度)
CNS	central nervous system (中枢神経系)
CSF	cerebrospinal fluid (脳脊髄液)
CYP	cytochrome P450 (チトクローム P450)
DDI	drug-drug interaction (薬物間相互作用)
DLS	dynamic light scattering (動的光散乱)
DMPC	Dimyristoylphosphatidylcholine (ジミリストイルホスファチジルコリン)
DRF	dose range finding (用量範囲設定)
DSC	differential scanning calorimetry (示差走査熱量測定)
E1245	glucuronic acid conjugate of SNAC (SNAC のグルクロン酸抱合体)
E1246	glucuronic acid conjugate of E494 (E494 のグルクロン酸抱合体)
E1247	glucuronic acid conjugate of E506 (E506 のグルクロン酸抱合体)
E494	SNAC $\beta$ -oxidisation metabolite (2 carbon less) [SNAC の $\beta$ 酸化代謝物 (2 炭素喪失型) ]

E506	SNAC $\beta$ -oxidisation metabolite (4 carbon less) [SNAC の $\beta$ 酸化代謝物 (4 炭素喪失型) ]
*不純物D	[REDACTED]
*不純物E	[REDACTED]
ECG	Electrocardiogram (心電図)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)
EFD	embryo-foetal development (胚・胎児発生)
EM	electron microscopy (電子顕微鏡)
EPC	egg phosphatidylcholine (卵黄ホスファチジルコリン)
ETC	electron transport chain (電子伝達系)
F	female (雌)
FD4	fluorescein-labelled dextran (4 kDa) [フルオレセイン標識デキストラン (4 kDa) ]
FDA	US Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)
GD	gestation day (妊娠日)
GI	gastrointestinal (消化管)
GLDH	glutamate dehydrogenase (グルタミン酸脱水素酵素)
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)
HEC-1B	human endometrial cell-line (ヒト子宮内膜細胞株)
HEK293	human embryonic kidney 293 (cells) [ヒト胎児腎臓 293 (細胞) ]
hERG	human ether-a-go-go related gene (ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子)
HSA	human serum albumin (ヒト血清アルブミン)
i.v.	intravenous (静脈内)
IC <sub>50</sub>	inhibitory concentration (at which 50% inhibition is observed) [阻害濃度 (50%の阻害がみられる濃度) ]
ICH	International Conference on Harmonisation (日米 EU 医薬品規制調和国際会議)
IS	internal standard (内部標準)
ISR	incurred sample re-analysis (実試料の再分析)
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem-mass spectrometry (液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法)
LLOQ	lower limit of quantification (定量下限)

LN319	human astrocyte cell-line (ヒト星細胞株)
LSC	liquid scintillation counting (液体シンチレーション計数)
M	male (雄)
m/z	mass to charge ratio (質量電荷比)
MATE	multidrug and toxin extrusion (1 or 2K) [多剤・毒性化合物排出 (1 又は 2K) ]
MHLW	Ministry of Health, Labour and Welfare (Japan) (厚生労働省)
MPCE	micronucleated polychromatic erythrocytes (小核を有する多染性赤血球)
MRM	multiple reaction monitoring (多重反応モニタリング)
MRP2	multidrug resistance-associated protein 2 (多剤耐性関連タンパク質 2)
MTD	maximum tolerated dose (最大耐量)
MW	molecular weight (分子量)
N/A	not applicable (該当なし)
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form) [ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (還元型) ]
NCI-N87	human gastric cell line (ヒト胃細胞株)
NMR	nuclear magnetic resonance (核磁気共鳴)
NNC	Novo Nordisk compound (ノボ ノルディスク社の化合物)
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (無毒性量)
OAT	organic anion transporter (1 or 3) [有機アニオントランスポーター (1 又は 3) ]
OATP1B	organic anion transporting polypeptide 1B (1 or 3) [有機アニオン輸送ポリペプチド 1B (1 又は 3) ]
OCT	organic cation transporter (1 or 2) [有機カチオントランスポーター (1 又は 2) ]
OECD	organisation for Economic Co-operation and Development (経済協力開発機構)
p.o.	per oral (経口)
P <sub>app</sub>	apparent permeability (見かけの透過係数)
PBMC	rat peripheral blood mononuclear cells (ラット末梢血単核球)
P-gp	P-glycoprotein (multidrug resistance protein 1) [P-糖タンパク (多剤耐性タンパク質 1) ]
PK	Pharmacokinetic (薬物動態)
PPND	pre- and postnatal development (出生前及び出生後の発生)
QWBA	quantitative whole body autoradiography (定量的全身オートラジオグラフィ)
R	predicted ratio of a victim drug's AUC in the presence and absence of an inhibitor (阻害剤の存在下及び不在下における被相互作用薬の AUC の予測比)

$R_B$	blood-to-plasma concentration ratio (血液／血漿中濃度比)
SD	single dose (単回投与)
SEM	standard error of the mean (平均値の標準誤差)
SGF	simulated human gastric fluid (疑似ヒト胃液)
SNAC	salcaprozate sodium (サルカプロザートナトリウム)
SPE	solid-phase extraction (固相抽出)
$t_{1/2}$	terminal plasma half-life (終末相血漿中消失半減期)
TEER	trans-epithelial electrical resistance (経上皮電気抵抗)
TK	toxicokinetic (トキシコキネティクス)
$T_m$	transition temperature (転移温度)
$t_{max}$	time at which the highest drug concentration of drug in plasma occurs (最高血漿中濃度到達時間)
UGT	UDP glucuronosyltransferases (UDP グルクロン酸転移酵素)

### 2.6.1.6 緒言

サルカプロザートナトリウム (SNAC) は、ペプチド/タンパク質の経口バイオアベイラビリティを改善する吸収促進剤として開発された低分子の脂肪酸誘導体 (図 2.6.1.6-1) である。その分子式は  $C_{15}H_{20}NNaO_4$ 、分子量 (MW) は 301.3 g/mol である。SNAC の遊離酸の MW は 279.3 g/mol である。

SNAC は経口セマグルチドに吸収促進剤として含有されている。経口セマグルチドの全用量 (セマグルチド 3、7 又は 14 mg) に、固定用量である 300 mg の SNAC が含有されている。

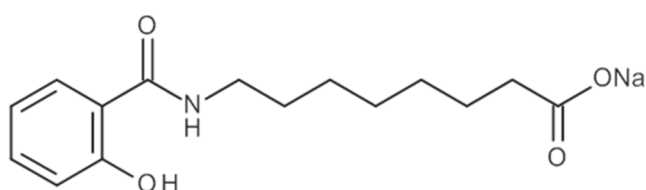


図 2.6.1.6-1 SNAC の化学構造

#### 2.6.1.6.1 名称及び単位

開発報告書及び公表文献において、SNAC に対して様々な名称が使用されている。これらの名称の一覧を以下に示す (表 2.6.1.6-1)。

表 2.6.1.6-1 SNAC の名称

Synonym	Comments
203787-91-1	CAS Registry number
Salcaprozate sodium	United States Adopted Name (USAN)
Sodium 8-((2-hydroxybenzoyl)amino)octanoate	IUPAC name
Sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl)amino]caprylate	Chemical name abbreviated to SNAC
NNC0113-0000-3363 (or NNC0113-3363)	Novo Nordisk ID number for free acid form <sup>a</sup>
NNC0000-0000-8054 (or NNC0000-8054)	Novo Nordisk ID number
E414	Compound ID used in some early nonclinical reports
RO5045192	Compound ID used in some early nonclinical reports

a: All nonclinical studies has been conducted with the sodium salt. However, the compound code for the free acid form has mistakenly been used in some nonclinical studies

SNAC 及び代謝物の血漿中濃度は、非臨床試験資料と臨床試験資料間の整合性をはかるため、全て「ng/mL」単位を用いる。SNAC 及び代謝物の遊離型 (タンパク質非結合型) 濃度は「 $\mu\text{mol/L}$ 」単位を用いる。これにより、総濃度及び遊離型濃度を表す数字を区別して示すと共に、*in vitro* での濃度比較



が可能となる。血漿中遊離 SNAC 濃度は、総血漿中濃度と *in vitro* 血漿中タンパク質結合試験のデータ (M 4.2.2.3、309773) に基づいて算出する。

「ng/mL」単位から遊離型濃度である「μmol/L」単位の換算式を以下に示す。

$$SNAC (\mu\text{mol/L}) = \frac{SNAC (\text{ng/mL})}{279.3 (\text{g/mol})}$$

### 2.6.1.6.2 非臨床試験戦略

SNAC の非臨床安全性評価は、経口セマグルチドのプログラムとは別のプログラムとして計画した。

SNAC は医薬品新添加剤であることから、実施した非臨床試験プログラムは、米国 FDA の「Guidance for Industry - Nonclinical Studies for the Safety Evaluation of Pharmaceutical Excipients」<sup>1</sup>に準拠しており、当該試験プログラムは、ヒトへの長期投与を支持するための日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) M3 ガイドライン<sup>2</sup>の推奨事項に全面的に準拠するものである。SNAC は、現在、米国で市販されている医療食 (ビタミン B12 1000 μg 及び SNAC 100 mg を含有) として使用されている<sup>3</sup>。

非臨床試験プログラムには、SNAC の吸収促進剤としての機能を評価する *in vitro* 及び *in vivo* 試験で構成される SNAC の作用機序プログラム、安全性薬理試験プログラム、薬物動態評価、分布・代謝・排泄試験が含まれる。また、単回投与及び最長 52 週間の反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、消化管の局所刺激性試験、免疫毒性試験を含む毒性試験プログラムが実施されている。

さらに、動物で認められた SNAC に関連する死亡メカニズムを解明する試験を実施した。

*In vivo* 非臨床安全性試験はマウス、ラット及びサルを用いて実施した。発生毒性試験ではラット及びウサギを用いた。

すべての重要な非臨床安全性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP) の原則に準拠して、OECD 加盟国又は OECD のデータ相互受け入れ (Mutual Acceptance of Data) プロセスの参加国で実施した。

SNAC の資料は、非臨床試験の概要文及び概要表で記述されるデータ書式<sup>4</sup>と同じ書式を用いて、非臨床試験に関する補足資料「SNAC 2.6.1」「SNAC 2.6.2」「SNAC 2.6.3」「SNAC 2.6.4」「SNAC 2.6.5」「SNAC 2.6.6」「SNAC 2.6.7」にまとめている。

## 参考文献

- <sup>1</sup> FDA. Guidance for Industry. Nonclinical Studies for the Safety Evaluation of Pharmaceutical Excipients. May 2005.
- <sup>2</sup> ICH M3(R2). Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. Current Step 4 version, dated 11 June 2009.
- <sup>3</sup> Eligen B12TM Highlights of Prescribing Information.
- <sup>4</sup> ICH M4S(R2). The Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Safety – M4S(R2). Nonclinical Overview and Nonclinical Summaries of Module 2 Organisation of Module 4. Current Step 4 Version, dated 20 December 2002.

リベルサス錠 3mg  
リベルサス錠 7mg  
リベルサス錠 14mg

## 2.6.2 薬理試験の概要文

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

## 目次

	ページ
目次 .....	2
表目次 .....	2
付録 .....	2
略語一覧.....	3
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.....	5
2.6.2.4 安全性薬理試験.....	5
2.6.2.4.1 心血管系への影響.....	5
2.6.2.4.1.1 カニクイザルを用いた 6 週間反復投与毒性試験 (M2.6.7.7.C、209153) .....	5
2.6.2.4.1.2 カニクイザルを用いた 17 週間反復投与毒性試験 (M2.6.7.7.D、209428) .....	6
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	7
2.6.2.6 考察及び結論.....	7

## 表目次

	ページ
表 2.6.2-1 カニクイザルを用いた 6 週間反復投与毒性試験.....	6
表 2.6.2-2 カニクイザルを用いた 17 週間毒性試験.....	7

## 付録

2.6.2.7 付録 サルカプロザートナトリウム：薬理試験の概要文

## 略語一覧

以下に示す略語一覧は、非臨床試験の概要全体を通して使用される全略語の一覧である。したがって、すべての略語がこの非臨床試験の概要の項で使用されているとは限らない。

Ado	8-amino-3,6-dioxaoctanic acid (8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸)
ALP	alkaline phosphatase (アルカリホスファターゼ)
ALT	alanine transaminase (アラニントランスアミナーゼ)
AUC	area under the plasma drug concentration-time curve (血漿中濃度-時間曲線下面積)
C <sub>ave</sub>	average plasma concentration (平均血漿中濃度)
CL	clearance (クリアランス)
C <sub>max</sub>	maximum drug concentration observed in plasma (最高血漿中濃度)
DRF	dose range finding (用量範囲設定)
ECG	Electrocardiography (心電図)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)
F	absolute bioavailability or female (絶対的バイオアベイラビリティ又は雌)
F <sub>rel</sub>	relative bioavailability (相対的バイオアベイラビリティ)
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)
GLP-1R	glucagon like peptide-1 receptor (グルカゴン様ペプチド-1 受容体)
HPLC	high pressure liquid chromatography (高速液体クロマトグラフィー)
HPMC	Hydroxypropyl methyl cellulose (ヒドロキシプロピルメチルセルロース)
i.v.	Intravenous (静脈内)
ICR	incurred sample reproducibility (実試料の再現性)
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem-mass spectrometry (液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法)
LLOQ	lower limit of quantification (定量下限)
LOCI	luminescent oxygen channelling immunoassay (蛍光酸素チャネリング免疫測定法)
LSC	liquid scintillation counting (液体シンチレーション計数)
M	male (雄)
MRHD	maximum recommended human dose (最大臨床用量)
MTD	maximally tolerated dose (最大耐量)
NA	not applicable (該当なし)
NC	not calculated (算出せず)
NNC	Novo Nordisk compound (ノボ ノルディスク社の化合物)
NOAEL	no observed adverse effect level (無毒性量)
NR	not reported (報告なし)
OECD	organisation for Economic Co-operation and Development (経済協力開発機構)
p.o.	per oral (経口)
PK	Pharmacokinetic (薬物動態)
QC	quality control (品質管理)
Rac <sub>obs</sub>	observed ratio of accumulation (累積比の観察値)
RIA	radio-immunoassay (放射免疫測定法)
s.c.	Subcutaneous (皮下)

SD	standard deviation (標準偏差)
SNAC	salcaprozate sodium (サルカプロザートナトリウム)
$t_{1/2}$	terminal plasma half-life (終末相半減期)
$t_{\max}$	time at which the highest drug concentration occurs (最高血漿中濃度到達時間)
$V_z$	volume of distribution (分布容積)

### 2.6.2.1 まとめ

オゼンピック皮下注2mg（以下、オゼンピック）の承認申請に際して、セマグルチドの非臨床薬理に関する包括的評価を実施した（M1.13.1 参照）。セマグルチドが吸収された後の全身性の薬理反応は投与経路に依存しないと考えられるため、経口投与によるセマグルチドの薬効薬理試験は実施していない。

心血管系の評価項目は、経口セマグルチドの毒性評価の一環として反復経口投与毒性試験に含めた。これらのデータの要約は、下記の安全性薬理試験の項に示す（[2.6.2.4](#)）。

新添加剤のSNACに関する薬理的評価の要約は、2.6.2.7 付録「サルカプロザートナトリウム：薬理試験の概要文」に示す。

心電図（ECG）、心拍数及び血圧の測定を、カニクイザルを用いた6週間及び17週間の反復投与毒性試験において実施した。これらの試験では、セマグルチドを1日1回経口投与したが、毒性学的懸念は認められなかった。

### 2.6.2.2 効力を裏付ける試験

セマグルチドの薬効薬理試験はオゼンピックの承認申請時に評価済である（M1.13.1）。

### 2.6.2.3 副次的薬理試験

セマグルチドの副次的薬理試験はオゼンピックの承認申請時に評価済である（M1.13.1）。

### 2.6.2.4 安全性薬理試験

#### 2.6.2.4.1 心血管系への影響

セマグルチドの安全性薬理はオゼンピックの承認申請時に評価済である（M1.13.1）。なお、経口セマグルチドの毒性試験プログラムの一環として、カニクイザルを用いた6週間及び17週間の反復投与毒性試験でECG、心拍数及び血圧を測定した。

##### 2.6.2.4.1.1 カニクイザルを用いた6週間反復投与毒性試験（M2.6.7.7.C、209153）

本試験では、4群のカニクイザルにカプセル剤を1日1回経口投与した（[表 2.6.2-1](#)）。

表 2.6.2-1 カニクイザルを用いた 6 週間反復投与毒性試験

Treatment	Semaglutide (mg/kg/day)	SNAC (mg/kg/day)	Administration	Number of animals (main/recovery animals)	
				Males	Females
Control (placebo)	0	0	Oral capsule	4/0	4/0
Control (SNAC)	0	156.7	Oral capsule	4/2	4/2
Semaglutide/SNAC	5	78.35	Oral capsule	4/2	4/2
Semaglutide/SNAC	10	156.7	Oral capsule	4/2	4/2

投与開始前に 1 回、投与第 6 週に 2 回（同日の投与後 2 及び 24 時間）及び回復第 2 週に 1 回、全動物の ECG、心拍数及び血圧を測定した。腕を保定した状態で標準四肢誘導 ECG を記録し、尾基部にカフを装着し血圧を測定した。複合波の異常並びに波形間隔の変化（P、PR、QRS、ST、QT、QTc）について、ECG を評価した。

10 mg/kg/日投与群の雄で、投与第 6 週の投与後 2 及び 24 時間の心拍数に SNAC 対照群と比べて軽微な増加（+10%）が認められた。投与開始前に認められた傾向をある程度反映していたことから、毒性学的懸念はないと考えられた。更に、10 mg/kg/日投与群の雄では、投与第 6 週の投与後 2 及び 24 時間の ST、QT 及び QTc 間隔に SNAC 対照群と比べて軽度の短縮が認められた。しかしながら、プラセボ対照群との差は認められず、同様の傾向が投与前に認められていたことから、毒性学的懸念はないと考えられた。投与第 6 週の投与後 24 時間に SNAC 対照群の雄（No. 811）で単発の心室期外収縮が記録されたが、この単独の発現例は自然発生の事象と考えられた。

結論として、本試験では心拍数及び ECG に対する毒性学的に懸念となる影響は認められなかった。

#### 2.6.2.4.1.2 カニクイザルを用いた 17 週間反復投与毒性試験（M2.6.7.7.D、209428）

本試験では、4 群のカニクイザルにカプセル剤を 1 日 1 回経口投与した（[表 2.6.2-2](#)）。



表 2.6.2-2 カニクイザルを用いた 17 週間毒性試験

Treatment	Semaglutide (mg/kg/day)	*物質C (mg/kg/day)	Administration	Number of animals (main/recovery animals)	
				Males	Females
Control (placebo)	0	0	Oral capsule	4/0	4/0
Control ( *物質C )	0	300	Oral capsule	4/2	4/2
Semaglutide/ *物質C	5	75	Oral capsule	4/2	4/2
Semaglutide/ *物質C	20	300	Oral capsule	4/2	4/2

投与開始前に 1 回、投与第 17 週に 2 回（同日の投与後 2 及び 24 時間）及び回復第 2 週に 1 回、全動物の ECG、心拍数及び血圧を測定した。腕を保定した状態で標準四肢誘導 ECG を測定し、カフを尾基部に装着し血圧を測定した。複合波の異常並びに波形間隔の変化（P、PR、QRS、ST、QT、QTc）について、ECG を評価した。

結論として、ECG、心拍数及び血圧に対する投与関連の影響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

セマグルチドの非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。GLP-1 受容体作動薬に関する薬力学的相互作用は一般的に認められていない。

### 2.6.2.6 考察及び結論

ECG、心拍数及び血圧の測定を、カニクイザルを用いた 6 週間及び 17 週間の反復投与毒性試験において実施した。これらの試験では、セマグルチドの 1 日 1 回経口投与後に毒性学的に懸念となる影響は認められなかった。

リベルサス錠 3mg  
リベルサス錠 7mg  
リベルサス錠 14mg

2.6.2.7 付録  
サルカプロザートナトリウム  
薬理試験の概要文

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

## 目次

	ページ
目次 .....	2
図目次 .....	4
表目次 .....	4
略語一覧.....	5
2.6.2.7.1 まとめ.....	9
2.6.2.7.1.1 吸収促進剤としての SNAC の作用.....	9
2.6.2.7.1.2 副次的及び安全性薬理試験の概要.....	9
2.6.2.7.2 効力を裏付ける試験（吸収促進剤としての SNAC の作用）.....	10
2.6.2.7.2.1 吸収部位.....	11
2.6.2.7.2.1.1 経口投与されたセマグルチドは胃で吸収される（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、 ██████150401、309781、██████150402）.....	11
2.6.2.7.2.1.2 経口セマグルチドの吸収は時空間的要因の影響を受ける（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、 309791、309780、309771）.....	12
2.6.2.7.2.2 作用機序.....	14
2.6.2.7.2.2.1 SNAC は細胞膜に作用し、セマグルチドの吸収を一時的に促進する（M2.6.3.2 付録、 2.6.3.2.2、309790、██████140104、309791 及び██████100709）.....	14
2.6.2.7.2.2.2 SNAC はセマグルチドのモノマー形成を促進する（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、309772）.....	16
2.6.2.7.2.2.3 SNAC は、消化管内環境で緩衝作用を発揮して酵素活性を減弱させる（M2.6.3.2 付録、 2.6.3.2.2、██████150301、309788 及び██████130102）.....	17
2.6.2.7.2.2.4セマグルチドは、主に胃上皮に表在する粘膜小窩に限局する（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、 309771）.....	18
2.6.2.7.3 副次的薬理試験.....	21
2.6.2.7.4 安全性薬理試験.....	23
2.6.2.7.4.1 中枢神経系に対する影響.....	23
2.6.2.7.4.1.1 ラット Irwin 試験（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、SPI04-025）.....	23
2.6.2.7.4.1.2 ラット Irwin 試験（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、SPI05-001）.....	24
2.6.2.7.4.2 呼吸器系に対する影響.....	24
2.6.2.7.4.2.1 ラットを用いたプレチスモグラフィ試験（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、SPR04-028）.....	24
2.6.2.7.4.3 心血管系に対する影響.....	25
2.6.2.7.4.3.1 HEK293 細胞を用いた hERG テール電流のパッチクランプ試験（M2.6.3.2 付録、 2.6.3.2.4、SPH04-042）.....	25

2.6.2.7.4.3.2 哺乳類細胞を用いた 12 種類の心筋イオンチャネルのパッチクランプ試験 (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、130130.DCC) .....	26
2.6.2.7.4.3.3 アカゲザルを用いた心血管系テレメトリー試験 (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、BNA00001) .....	27
2.6.2.7.4.3.4 アカゲザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験における ECG 測定 (M 2.6.7.18 付録、2.6.7.18.7.I、3060-98) .....	27
2.6.2.7.4.3.5 アカゲザルを用いた 9 箇月間反復投与毒性試験における ECG 測定 (M 2.6.7.18 付録、2.6.7.18.7.K、BNA00003) .....	28
2.6.2.7.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	29
2.6.2.7.6 考察及び結論.....	29
2.6.2.7.6.1 吸収促進剤としての SNAC の作用.....	29
2.6.2.7.6.2 副次的及び安全性薬理試験.....	30
参考文献.....	31

## 図目次

	ページ
図 2.6.2.7-1	経口セマグルチドの解剖学的吸収部位 ..... 12
図 2.6.2.7-2	経口セマグルチドの錠剤に近接する胃粘膜における局所的吸収..... 13
図 2.6.2.7-3	SNAC による経細胞経路を介した吸収促進作用 ..... 14
図 2.6.2.7-4	時間及び分子サイズに依存した SNAC の吸収促進作用 ..... 15
図 2.6.2.7-5	脂質膜に対する SNAC の作用 ..... 16
図 2.6.2.7-6	SNAC 存在下におけるセマグルチドの自己会合に関する生物物理学的検討 ..... 17
図 2.6.2.7-7	SNAC の pH 緩衝作用及びペプシン活性への影響 ..... 18
図 2.6.2.7-8	イヌ胃粘膜におけるセマグルチドの吸収及び局在 ..... 19
図 2.6.2.7-9	ラット胃粘膜におけるセマグルチドの局在に関する超微細構造の検討..... 20

## 表目次

	ページ
表 2.6.2.7-1	SNAC 及び代謝物に関する <i>in vitro</i> スクリーニング試験及びフォローアップ試験..... 21
表 2.6.2.7-2	ラットを用いた単回投与 Irwin 試験 (SPI04-025) ..... 23
表 2.6.2.7-3	ラットを用いた単回投与 Irwin 試験 (SPI05-001) ..... 24
表 2.6.2.7-4	ラットを用いた単回投与呼吸器系プレチスモグラフィ試験 (SPR04-028) ..... 25
表 2.6.2.7-5	HEK293 細胞を用いたパッチクランプ試験 (SPH04-042) ..... 26
表 2.6.2.7-6	アカゲザルを用いた心血管系テレメトリー試験 (BNA00001) ..... 27
表 2.6.2.7-7	アカゲザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験 (3060-98) ..... 28
表 2.6.2.7-8	アカゲザルを用いた 9 箇月間反復投与毒性試験 (BNA00003) ..... 29

## 略語一覧

以下に示す略語一覧は、非臨床試験の概要全体を通して使用される全略語の一覧である。したがって、すべての略語がこの非臨床試験の概要の項で使用されているとは限らない。

3T3-L1	mouse pre-adipocyte cell-line (マウス前脂肪細胞株)
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion (吸収・分布・代謝・排泄)
AME	absorption, metabolism, and excretion (吸収・代謝・排泄)
ATP	adenosine triphosphate (アデノシン三リン酸)
AUC	area under the plasma drug concentration-time curve (血漿中濃度-時間曲線下面積)
BALT	bronchus-associated lymphoid tissue (気管支関連リンパ組織)
BCRP	breast cancer resistance protein (乳癌耐性タンパク質)
BHA	$\beta$ -hydroxy butyric acid ( $\beta$ -ヒドロキシ酪酸)
BSEP	bile salt export pump (胆汁酸トランスポーター)
C2C12	mouse myoblast cell-line (マウス筋芽細胞株)
CAS	Chemical Abstracts Service (ケミカル・アブストラクツ・サービス)
cDNA	complementary DNA (deoxyribonucleic acid) [相補的デオキシリボ核酸 (DNA) ]
CF	Carboxyfluorescein (カルボキシフルオレセイン)
CHO	chinese hamster ovary (cells) [チャイニーズハムスター卵巣 (細胞) ]
C <sub>max</sub>	maximum drug concentration observed in plasma (最高血漿中濃度)
CNS	central nervous system (中枢神経系)
CSF	cerebrospinal fluid (脳脊髄液)
CYP	cytochrome P450 (チトクローム P450)
DDI	drug-drug interaction (薬物間相互作用)
DLS	dynamic light scattering (動的光散乱)
DMPC	Dimyristoylphosphatidylcholine (ジミリストイルホスファチジルコリン)
DRF	dose range finding (用量範囲設定)
DSC	differential scanning calorimetry (示差走査熱量測定)
E1245	glucuronic acid conjugate of SNAC (SNAC のグルクロン酸抱合体)
E1246	glucuronic acid conjugate of E494 (E494 のグルクロン酸抱合体)
E1247	glucuronic acid conjugate of E506 (E506 のグルクロン酸抱合体)
E494	SNAC $\beta$ -oxidisation metabolite (2 carbon less) [SNAC の $\beta$ 酸化代謝物 (2 炭素喪失型) ]

E506	SNAC $\beta$ -oxidisation metabolite (4 carbon less) [SNAC の $\beta$ 酸化代謝物 (4 炭素喪失型) ]
*不純物D	[REDACTED]
*不純物E	[REDACTED]
ECG	Electrocardiogram (心電図)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)
EFD	embryo-foetal development (胚・胎児発生)
EM	electron microscopy (電子顕微鏡)
EPC	egg phosphatidylcholine (卵黄ホスファチジルコリン)
ETC	electron transport chain (電子伝達系)
F	female (雌)
FD4	fluorescein-labelled dextran (4 kDa) [フルオレセイン標識デキストラン (4 kDa) ]
FDA	US Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)
GD	gestation day (妊娠日)
GI	gastrointestinal (消化管)
GLDH	glutamate dehydrogenase (グルタミン酸脱水素酵素)
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)
HEC-1B	human endometrial cell-line (ヒト子宮内膜細胞株)
HEK293	human embryonic kidney 293 (cells) [ヒト胎児腎臓 293 (細胞) ]
hERG	human ether-a-go-go related gene (ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子)
HSA	human serum albumin (ヒト血清アルブミン)
i.v.	intravenous (静脈内)
IC <sub>50</sub>	inhibitory concentration (at which 50% inhibition is observed) [阻害濃度 (50%の阻害がみられる濃度) ]
ICH	International Conference on Harmonisation (日米 EU 医薬品規制調和国際会議)
IS	internal standard (内部標準)
ISR	incurred sample re-analysis (実試料の再分析)
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem-mass spectrometry (液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法)
LLOQ	lower limit of quantification (定量下限)

LN319	human astrocyte cell-line (ヒト星細胞株)
LSC	liquid scintillation counting (液体シンチレーション計数)
M	male (雄)
m/z	mass to charge ratio (質量電荷比)
MATE	multidrug and toxin extrusion (1 or 2K) [多剤・毒性化合物排出 (1 又は 2K) ]
MHLW	Ministry of Health, Labour and Welfare (Japan) (厚生労働省)
MPCE	micronucleated polychromatic erythrocytes (小核を有する多染性赤血球)
MRM	multiple reaction monitoring (多重反応モニタリング)
MRP2	multidrug resistance-associated protein 2 (多剤耐性関連タンパク質 2)
MTD	maximum tolerated dose (最大耐量)
MW	molecular weight (分子量)
N/A	not applicable (該当なし)
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form) [ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (還元型) ]
NCI-N87	human gastric cell line (ヒト胃細胞株)
NMR	nuclear magnetic resonance (核磁気共鳴)
NNC	Novo Nordisk compound (ノボ ノルディスク社の化合物)
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (無毒性量)
OAT	organic anion transporter (1 or 3) [有機アニオントランスポーター (1 又は 3) ]
OATP1B	organic anion transporting polypeptide 1B (1 or 3) [有機アニオン輸送ポリペプチド 1B (1 又は 3) ]
OCT	organic cation transporter (1 or 2) [有機カチオントランスポーター (1 又は 2) ]
OECD	organisation for Economic Co-operation and Development (経済協力開発機構)
p.o.	per oral (経口)
P <sub>app</sub>	apparent permeability (見かけの透過係数)
PBMC	rat peripheral blood mononuclear cells (ラット末梢血単核球)
P-gp	P-glycoprotein (multidrug resistance protein 1) [P-糖タンパク (多剤耐性タンパク質 1) ]
PK	Pharmacokinetic (薬物動態)
PPND	pre- and postnatal development (出生前及び出生後の発生)
QWBA	quantitative whole body autoradiography (定量的全身オートラジオグラフィ)
R	predicted ratio of a victim drug's AUC in the presence and absence of an inhibitor (阻害剤の存在下及び不在下における被相互作用薬の AUC の予測比)



R <sub>B</sub>	blood-to-plasma concentration ratio (血液／血漿中濃度比)
SD	single dose (単回投与)
SEM	standard error of the mean (平均値の標準誤差)
SGF	simulated human gastric fluid (疑似ヒト胃液)
SNAC	salcaprozate sodium (サルカプロザートナトリウム)
SPE	solid-phase extraction (固相抽出)
t <sub>1/2</sub>	terminal plasma half-life (血漿中消失半減期)
TEER	trans-epithelial electrical resistance (経上皮電気抵抗)
TK	toxicokinetic (トキシコキネティクス)
T <sub>m</sub>	transition temperature (転移温度)
t <sub>max</sub>	time at which the highest drug concentration of drug in plasma occurs (最高血漿中濃度到達時間)
UGT	UDP glucuronosyltransferases (UDP グルクロン酸転移酵素)

## 2.6.2.7.1 まとめ

### 2.6.2.7.1.1 吸収促進剤としての SNAC の作用

サルカプロザートナトリウム (SNAC) は、セマグルチドの消化管上皮における吸収促進作用を有する脂肪酸誘導体である。メカニズム試験の検討から、セマグルチドは胃で吸収される可能性が高いことが示されている (■150401 及び 309781)。

幽門結紮ビーグル犬を用いた *in vivo* 試験では、結紮イヌにおけるセマグルチドの吸収率は非結紮イヌと同程度であった (309781) が、別の試験では、脾静脈 (胃腔からの静脈) からの血漿中濃度が門脈 (消化器系からの静脈) からの血漿中濃度よりも高かった (■150401)。胃液中のセマグルチド及び SNAC の濃度が錠剤内及び錠剤近傍で最高となる濃度勾配が形成されたことから、セマグルチド及び SNAC は、いずれも胃において局所的に高濃度で放出されると考えられる (309780)。別の試験では、ラットとイヌのいずれにおいても、セマグルチドの免疫染色反応が錠剤下の粘膜領域に限定されていたことから、セマグルチドの吸収は胃の局所的な環境下で起こることが裏付けられた (309771)。

SNAC は緩衝作用を持つため、錠剤下の局所的な胃内環境における pH を高めることで、低 pH で活性化する胃酵素による分解からセマグルチドを保護している可能性が高いと考えられた (■150301 及び 309788)。反対に、ラット腸液を用いたインキュベーションの結果から示されるように、セマグルチドは腸内環境で速やかに分解される (■130102)。さらに、食事により SNAC 及びセマグルチドは希釈されるため、吸収促進及び酵素による分解からの保護に十分な濃度勾配の形成は難しくなる。実際に、セマグルチドを経口投与したビーグル犬に餌を与えると、セマグルチドの曝露量は急速かつ時間依存的に減少した (■150402)。

SNAC は胃上皮の細胞膜に作用し、経細胞経路を介したセマグルチドの吸収を促進した。このことと一致して、SNAC は脂質膜モデルに取り込まれ、脂質膜を流動化できることが観察された (■100709)。胃粘膜の細胞膜への影響を除き、SNAC は頂端面のタイトジャンクション複合体に明らかな影響をもたらさなかった (309771 及び 309790)。また、SNAC の吸収促進作用は一時的かつ可逆的であり、分子サイズに依存し、製剤化による投与が必要である (■140104 及び 309791)。

### 2.6.2.7.1.2 副次的及び安全性薬理試験の概要

SNAC 及び主要代謝物 (E494、E506、E1245、E1246 及び E1247) を、*in vitro* 及び *in vivo* の広範な結合試験及び機能試験により検討した。総括として、SNAC 及び代謝物に関して臨床的に意義のある結合又は活性は特定されなかった。

重要な臓器機能（中枢神経系、呼吸器系及び心血管系）に対する SNAC の影響を検討するため、*in vitro* 及び *in vivo* 安全性薬理試験を実施した。hERG 試験において SNAC の影響は認められず、また、12 種類の心筋イオンチャネルパネルを用いた SNAC 及び代謝物 E506 の検討においても影響は認められなかった。*In vivo* 試験では、Sprague Dawley 系ラットに経口投与、アカゲザル（テレメトリー試験）に経鼻胃管投与を実施した。ラットに 750 mg/kg までの用量で単回経口投与したが、顕著な一般状態変化や呼吸器系に及ぼす影響は認められず、SNAC の忍容性は良好であった。SNAC を 1000 及び 1500 mg/kg（ヒトにおける SNAC 300 mg 錠投与後の  $C_{max}$  の 321 倍に相当する曝露量）の用量で単回経口投与したラットにおいて、顕著な一般状態変化、呼吸数低下及び死亡が認められたが、これらは、ミトコンドリア内膜内側の電子伝達系における複合体 I の阻害を主に介した、細胞呼吸阻害によるものと考えられる。詳細な検討結果は M 4.2.3.7.7-B-1（細胞呼吸に及ぼす影響）に記した。これらの影響は、高用量群で投与初期の血漿中 SNAC 濃度が極めて高い動物で認められた。ヒトに対する SNAC 300 mg 錠投与では、このような高濃度は認められておらず、ヒトでは到達しないと考えられる。覚醒アカゲザルを用いたテレメトリー試験において、600 mg/kg までの用量で単回経口投与したが、脳血管系に対する影響は認められず、SNAC の忍容性は良好であった。さらに、アカゲザルを用いた 13 週間及び 9 箇月間毒性試験において、それぞれ 1800 mg/kg/日及び 600 mg/kg/日までの用量で SNAC を 1 日 1 回経口投与したが、心拍数や心電図への影響は認められなかった。

#### 2.6.2.7.2 効力を裏付ける試験（吸収促進剤としての SNAC の作用）

GLP-1 アナログのようなペプチド治療薬の経口投与には、消化管（GI）閉門による不十分な吸収及びタンパク分解酵素による広範な分解という大きな障壁がある。したがって、これらの障壁を効果的に克服して経口投与で許容可能なバイオアベイラビリティを達成するためには、吸収促進剤（例：SNAC）の使用が必要である。SNAC と透過性の低い化合物との併用に関し複数の文献<sup>1,2,3,4</sup>が報告されており、SNAC は米国で市販されているビタミン B12 製剤（FDA により医療食に分類）にも含有されている<sup>5</sup>。また、セマグルチドを経口投与するために SNAC を使用した試験結果についても近年公表されている<sup>6</sup>。

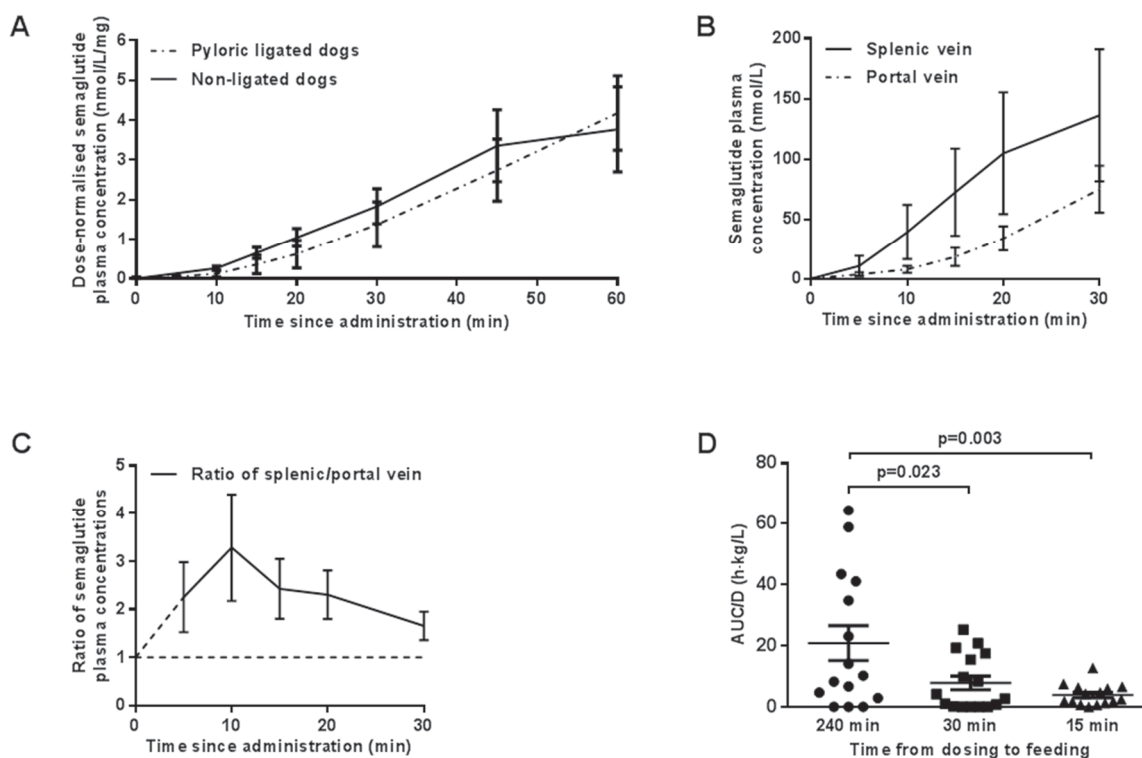
臨床では SNAC と製剤化することにより、治療的に意義のあるセマグルチドの曝露が得られている [第 3 相試験、モデリングレポート (M 5.3.3.5)]。ヒト被験者のシンチグラフィ試験では、SNAC と製剤化したセマグルチド錠剤の表面が胃内で浸食されている様子が示され（3957 試験）、これにより胃における SNAC を介した吸収が実証された。胃内の食物/液体による SNAC のセマグルチド吸収促進作用の低下がみられた（3794 試験及び 4154 試験）。さらに、SNAC の吸収促進作用は主薬との空間的距離に影響する。SNAC と製剤化したセマグルチド錠剤又は SNAC のみを含む錠剤と（別の錠剤として）同時投与したときの 10 種の併用薬の AUC 及び  $C_{max}$  は、いずれも SNAC により増加せず、吸収促進のためには製剤化が必要であることが示されている（M 2.7.2 臨床薬理試験 付録 5.2.3.1.8）。

### 2.6.2.7.2.1 吸収部位

#### 2.6.2.7.2.1.1 経口投与されたセマグルチドは胃で吸収される (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、 150401、309781、150402)

胃での吸収を裏付けるために、イヌを用いたメカニズム試験を実施した。幽門結紮により腸での吸収を阻害したイヌに、セマグルチドを胃内投与時の血漿中セマグルチド濃度は、セマグルチドを経口投与時の非結紮イヌと同程度であった (図 2.6.2.7-1A) ことから、経口投与されたセマグルチドは胃で吸収されることが示された (150401)。経口投与されたセマグルチドの吸収における胃の働きを示すために、非結紮イヌにセマグルチドを胃内投与し、脾静脈 (*v. lienalis*、胃腔からの静脈) 及び門脈 (*v. porta*、消化器系からの静脈) からの血漿中セマグルチド濃度を測定した。投与後 30 分までの脾静脈と門脈からの血漿中濃度-時間曲線下面積 ( $AUC_{0-30min}$ ) の比は 1.94 [95%信頼区間 (CI) [1.15;2.74]、 $p<0.05$ ] (図 2.6.2.7-1B 及び C) であったことから、脾静脈からの濃度がより高いことが示され、胃が主たる吸収部位であることが確認された (309781)。

胃からの吸収は、食物などの外部因子により阻害される可能性がある。胃による吸収であることをさらに実証し、胃内の食物による影響の可能性を解明するために、ビーグル犬を用いた食事の影響試験を実施し、セマグルチドを経口投与後、異なる時間間隔で給餌を行った。投与後 30 分及び 15 分の給餌条件下における総曝露量は、投与後 240 分間絶食条件と比較して、それぞれ約 60% ( $p<0.05$ ) 及び約 80% ( $p<0.01$ ) 減少した (図 2.6.2.7-1D) ことから、セマグルチドの主たる吸収部位として胃が重要であることが裏付けられた (150402)。



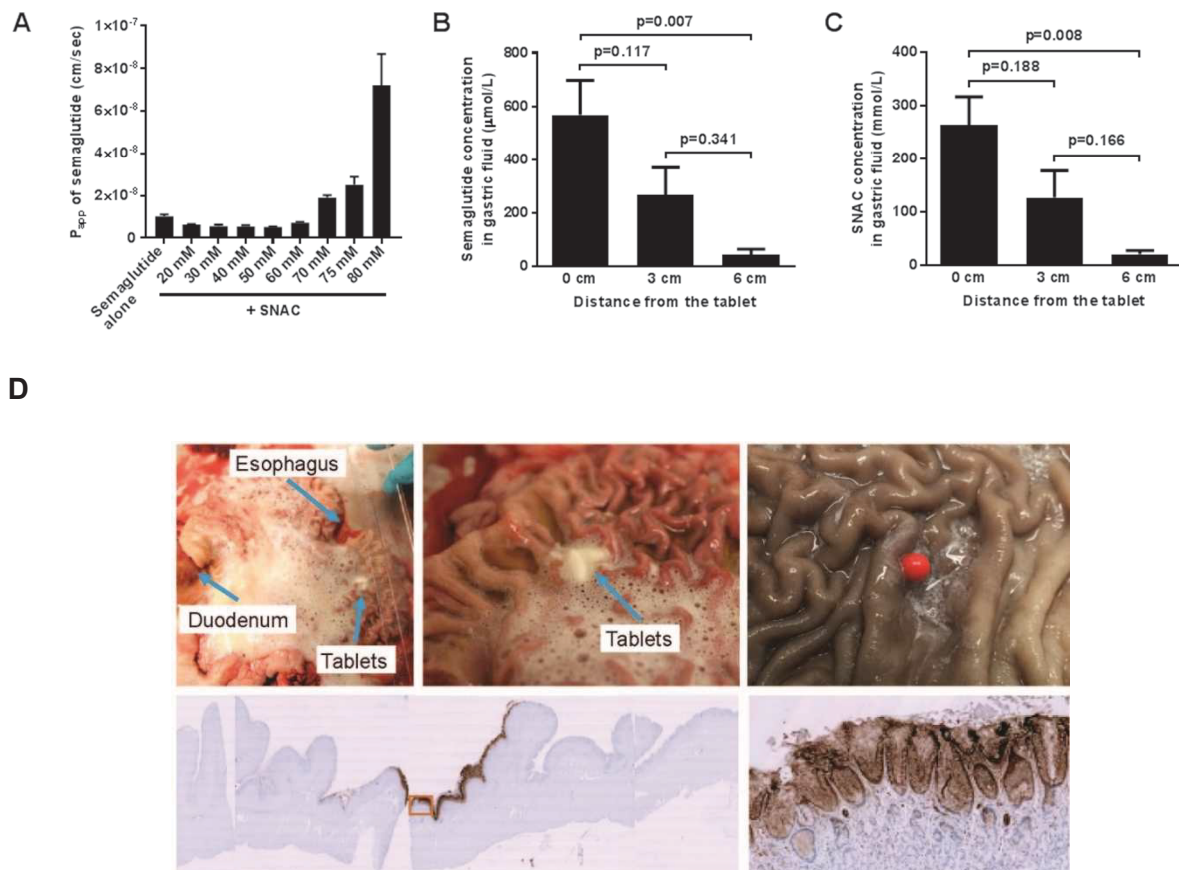
(A) Mean dose-normalised semaglutide plasma concentration-time profiles after a single dose of 9.4-12.7 mg oral semaglutide in pyloric ligated (N=6) and non-ligated (N=16) Beagle dogs, and an illustration of pyloric ligation, which prevents intestinal absorption. (B and C) Mean semaglutide plasma concentration-time profiles in the splenic and portal veins after a single dose of 10 mg oral semaglutide in Beagle dogs (N=15). (D) Overall exposure of semaglutide in individual dogs (N=15). Error bars show  $\pm$ standard error of the mean calculated on the original scale. Dose normalised exposure of semaglutide following dosing in SNAC tablets to normal dogs or dogs with pyloric ligation

#### 図 2.6.2.7-1 経口セマグルチドの解剖学的吸収部位

##### 2.6.2.7.2.1.2 経口セマグルチドの吸収は時空間的要因の影響を受ける (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、309791、309780、309771)

経口投与したセマグルチドの効率的な吸収は吸収促進剤としての SNAC の存在に依存している。すなわち、両化合物の間には相互関係が存在し、胃の生理学的特徴とも相互依存している。ヒト被験者に 150 mg 及び 300 mg の用量で SNAC を投与したときに観察されたセマグルチドの血漿中曝露量が大きく異なっていた (3691 試験) ことを反映するように、*in vitro* で胃上皮細胞におけるセマグルチドの透過性を十分に充進するために必要な SNAC 濃度は 70 mmol/L 以上であった。セマグルチドのみかけの透過係数 ( $P_{app}$ ) は、80 mmol/L SNAC 存在下では対照 (SNAC 非存在下) の約 7 倍であり、有意な増加が認められた ( $p < 0.05$ 、[図 2.6.2.7-2A](#))。

吸収部位における SNAC とセマグルチドの実濃度は、その大部分が錠剤表面の崩壊動態により決定されている。セマグルチド経口投与後 15 分及び 30 分に、錠剤直下 (0 cm) 及び錠剤から 3 cm 及び 6 cm 離れた領域から胃液を吸引採取し検討したところ、セマグルチド及び SNAC の濃度が高かったのは錠剤に近接した領域に限定されていた (図 2.6.2.7-2B 及び C)。投与後 30 分に錠剤直下で測定されたセマグルチド及び SNAC の濃度は、錠剤から 6 cm 離れた領域で測定された濃度の 10 倍を超えており、有意に増加していた ( $p < 0.01$ )。胃液中での測定結果と一致するように、蛍光免疫染色したセマグルチドの免疫染色反応は安楽死後に確認した錠剤存在部位の直下及びその周囲の上皮表面のみにほぼ限定されていた (図 2.6.2.7-2D)。



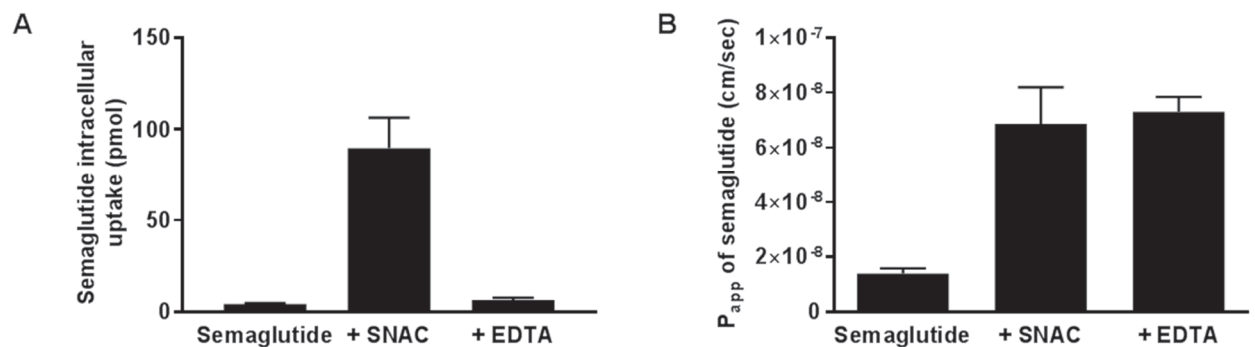
(A)  $P_{app}$  of semaglutide across monolayers of NCI-N87 cell cultures in the absence and presence of SNAC. N=14 (semaglutide alone), N=4 (20-75 mM SNAC) or N=17 (80 mM SNAC). (B and C) Mean concentrations of semaglutide and SNAC in gastric fluid aspirated from underneath an oral semaglutide tablet (at 0 cm) and at 3 and 6 cm from the tablet at 30 min after dosing in Beagle dogs (N=7). (D) Immunoreactivity of semaglutide (brown) in dog tissue coinciding with localisation of tablet remnants following dosing of oral semaglutide (the red pin in the upper right picture marks the localisation of the tablets to ensure that the appropriate section of tissue was processed for histology). Error bars show standard error of the mean.

図 2.6.2.7-2 経口セマグルチドの錠剤に近接する胃粘膜における局所的吸収

## 2.6.2.7.2.2 作用機序

2.6.2.7.2.2.1 SNAC は細胞膜に作用し、セマグルチドの吸収を一時的に促進する (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、309790、XXXXXXXXXX140104、309791 及び XXXXXXXXXX100709)

作用機序の点からいえば、吸収促進剤は、タイトジャンクション（傍細胞経路を介した輸送）や細胞膜 perturbation（経細胞経路を介した輸送）の変化を介して、消化管上皮における薬剤分子の輸送を促進する。SNAC 又はエチレンジアミン四酢酸（EDTA、タイトジャンクションの機能を変化させる物質）にあらかじめ曝露させた NCI-N87 細胞にセマグルチドを添加し、細胞モノレイヤーを通過するときのセマグルチドの細胞内蓄積について検討した。経細胞経路を介した輸送であることを反映するように、セマグルチドの細胞内蓄積量は SNAC への曝露により被験物質非曝露細胞よりも大幅に増加した ( $p < 0.001$ ) (図 2.6.2.7-3A)。一方、EDTA への曝露によりセマグルチドの細胞内蓄積量には被験物質非曝露細胞と比べて有意な影響が認められなかったにもかかわらず、セマグルチドの  $P_{app}$  は SNAC と同程度に増加した (図 2.6.2.7-3B)。

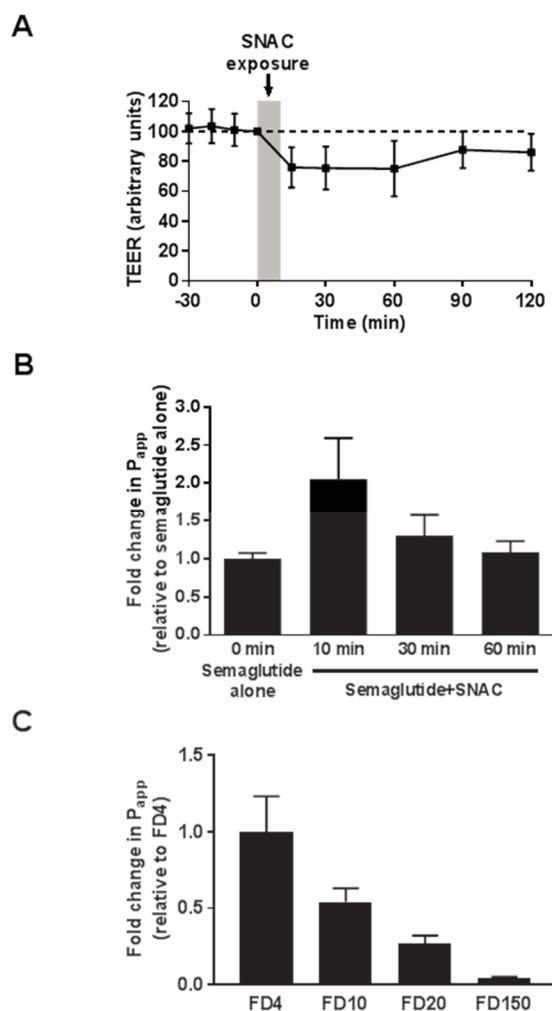


(A) Intracellular uptake of semaglutide in monolayers of NCI-N87 cell cultures following exposure to semaglutide alone, semaglutide+SNAC (80 mM) or semaglutide+EDTA (75 mM) (N=8 per treatment group). (B)  $P_{app}$  of semaglutide across monolayers of NCI-N87 cell cultures following exposure to semaglutide alone (N=24), semaglutide+SNAC (80 mM) (N=21) or semaglutide+EDTA (75 mM) (N=4). Error bars show standard error of the mean.

図 2.6.2.7-3 SNAC による経細胞経路を介した吸収促進作用

SNAC の機能は、経細胞経路を介した輸送促進の作用時間によりその性能が大きく特徴づけられる。*Ex vivo* のメカニズム解析において、SNAC の作用時間は比較的短く、細胞膜の完全性が回復することが示されている (XXXXXXXXXX140104)。実際に、Ussing チャンバーに装着したラット胃粘膜標本を SNAC に曝露させて、そのバリア機能について検討した。SNAC に一定時間曝露すると、経上皮電気抵抗 (TEER) は 25%低下 ( $p=0.05$ ) したが、60 分以内には回復が認められた (図 2.6.2.7-4A)。SNAC に 10 分間曝露すると、セマグルチドの  $P_{app}$  はベースライン値よりも増加した ( $p < 0.05$ ) が、SNAC を除去すると曝露開始 30 分後 ( $p=0.14$ ) 及び 60 分後 ( $p=0.57$ ) には徐々に減少してベースライン値へと近づ

いた (図 2.6.2.7-4B) ことから、作用時間が比較的短いことが再確認される。加えて、SNAC の作用は分子サイズに依存し、4 kDa を超える分子に対しては輸送促進作用が減弱した (図 2.6.2.7-4C)。



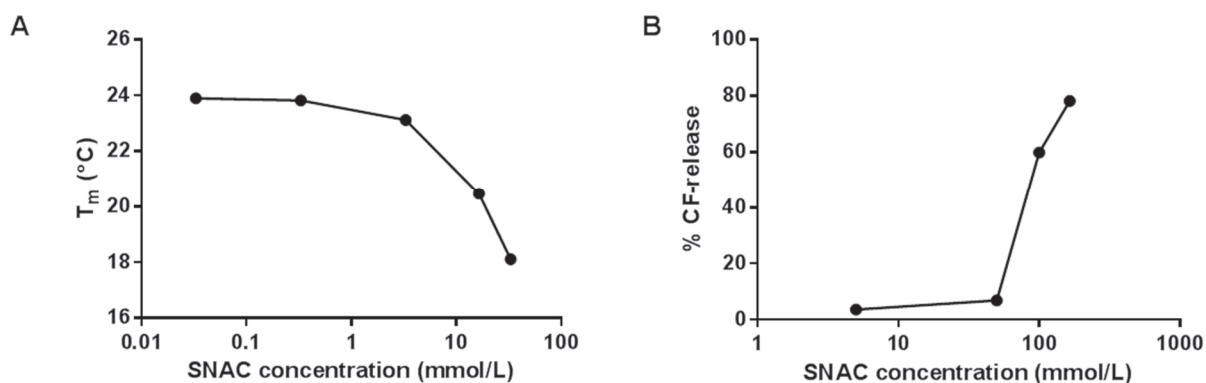
(A) Trans-epithelial electrical resistance (TEER) in rat gastric mucosa following exposure to SNAC (30 mM) for 10 min (N=6). (B) Fold change in  $P_{app}$  of semaglutide following exposure of rat gastric mucosa to SNAC from 0 to 10 min with subsequent addition of semaglutide at 10 min (N=8), 30 min (N=5) or 60 min (N=7) relative to semaglutide alone (N=18). (C) Fold change in  $P_{app}$  relative to FD4 following exposure of NCI-N87 cell monolayers to SNAC (N=7-8 per group). All error bars show standard error of the mean.

図 2.6.2.7-4 時間及び分子サイズに依存した SNAC の吸収促進作用

経細胞性の作用機序が発揮されるためには、SNAC と脂質膜との相互作用が必要である。高感度示差走査熱量測定 (DSC) 法を用いて SNAC と脂質膜との物理的相互作用について検討した。SNAC の濃度が増加するとジミリストイルホスファチジルコリン (DMPC) 膜の主転移温度 ( $T_m$ ) が徐々に低下し、このことから SNAC は脂質膜に取り込まれて流動化を引き起こすことが示された (図 2.6.2.7-5A)。



さらに、SNACの濃度をミリモル単位で増加すると、卵黄ホスファチジルコリン（EPC）／コレステロールリポソーム内に封入されたマーカのカルボキシフルオレセイン（CF）が放出されたことから、これらの相互作用により膜透過性が変化したことが確認された（[図 2.6.2.7-5B](#)）。

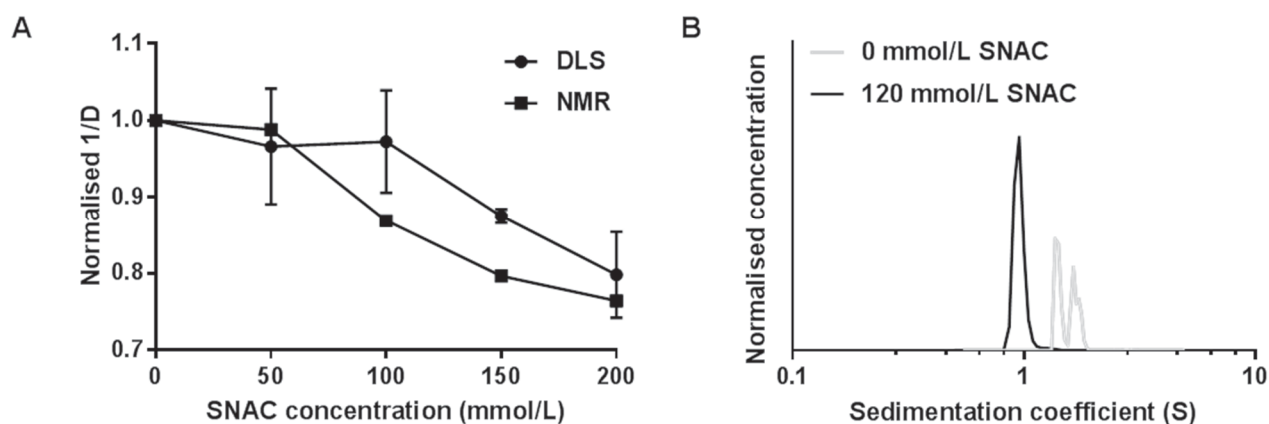


(A) Change in  $T_m$  of DMPC membranes upon exposure to increasing concentrations of SNAC. The plotted  $T_m$  values were determined from individual thermograms generated for each concentration. (B) Release of CF from EPC/cholesterol liposomes following incubation with increasing concentrations of SNAC (N=3).

#### 図 2.6.2.7-5 脂質膜に対する SNAC の作用

##### 2.6.2.7.2.2.2 SNAC はセマグルチドのモノマー形成を促進する (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、309772)

セマグルチドなどの脂肪酸アシル化 GLP-1 アナログにはオリゴマーを形成する傾向が認められており<sup>2</sup>、効率的な経上皮輸送が阻害される可能性がある。そこで、核磁気共鳴（NMR）分光法、動的光散乱（DLS）法及び超遠心分析法を用いてセマグルチドの自己会合に関する生物物理学的特性を解析した結果、セマグルチドの濃度を一定にした条件下で SNAC 濃度を増加させると、オリゴマー状態のセマグルチドのモノマー型への変化に一致する見かけの分子量の減少が示された（[図 2.6.2.7-6A](#) 及び B）。

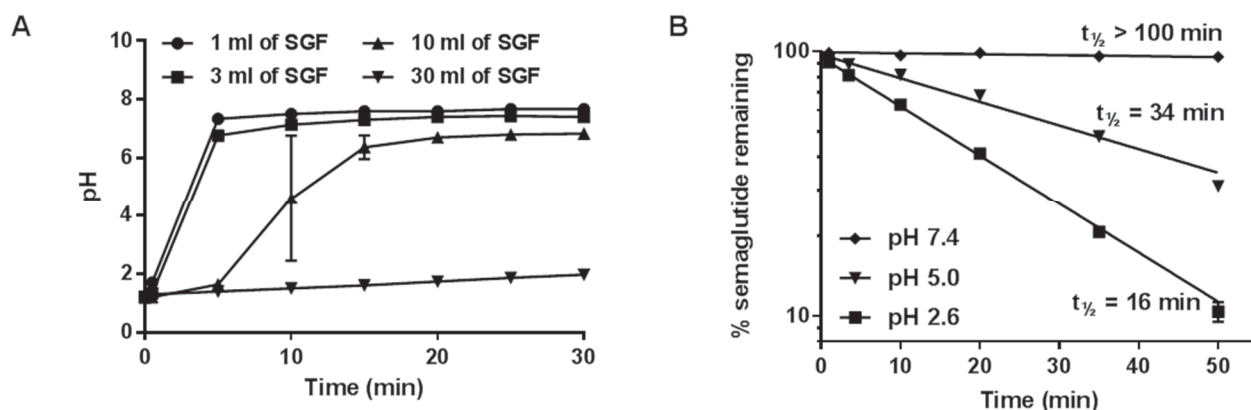


(A) Normalised 1/D as measured by NMR and DLS upon exposure of semaglutide to increasing concentrations of SNAC (N=1 for NMR, N=3 for DLS 0-150 mmol/L SNAC and N=2 for DLS 200 mmol/L SNAC). (B) Sedimentation coefficient distributions measured by analytical ultracentrifugation in the absence and presence of SNAC (N=1).

#### 図 2.6.2.7-6 SNAC 存在下におけるセマグルチドの自己会合に関する生物物理学的検討

##### 2.6.2.7.2.2.3 SNAC は、消化管内環境で緩衝作用を発揮して酵素活性を減弱させる (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、XXXXXXXXXX150301、309788 及び XXXXXXXXXX130102)

胃における低 pH の環境下では SNAC の溶解度が損なわれると考えられるが、実験的証拠からは、SNAC は、錠剤表面の崩壊が進行すると錠剤周囲の微小環境を中和することが可能になり、胃内の低 pH の影響を受けないことが示されている (XXXXXXXXXX150301)。SNAC 配合セマグルチド経口錠を少量 (1 ~ 30 mL) の疑似ヒト胃液 (SGF) 中でインキュベーションした結果から、SNAC により SGF の pH は 5 ~ 15 分以内に酸性から中性に変化することが明らかになった (図 2.6.2.7-7A)。SNAC の緩衝作用は、SGF の用量に反比例 (1 mL > 3 mL > 10 mL > 30 mL) した。



(A) pH during 30 min incubation of semaglutide+SNAC tablets in different volumes of SGF (N=3 per group). (B) Percentage remaining of intact semaglutide and calculated  $t_{1/2}$  upon incubation with pepsin (3.5 U/mL) (N=4 per group). Error bars show  $\pm$ standard error of the mean

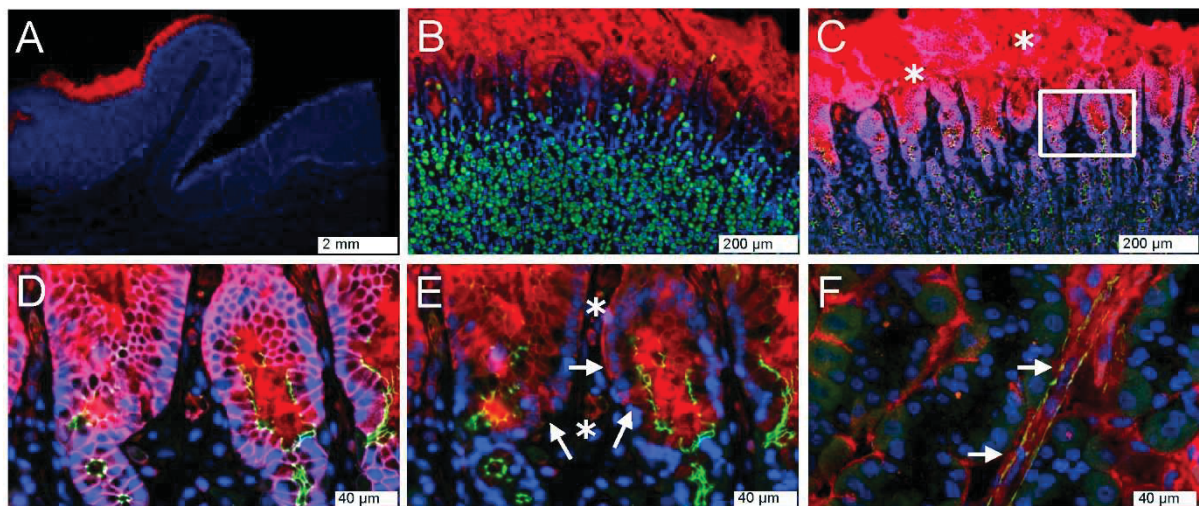
#### 図 2.6.2.7-7 SNAC の pH 緩衝作用及びペプシン活性への影響

胃における主要な消化酵素はペプシンである。ペプシン活性は、胃液中で認められるような低い pH で最適となる。そのため、SNAC の緩衝作用により胃内で崩壊する錠剤周囲の pH が変化し、セマグルチドがペプシンによる分解から保護される。実際に、3 種類の pH 条件下 (2.6、5.0 及び 7.4) でセマグルチド及びペプシン (3.5 U/mL) をインキュベーションすると、セマグルチドの安定性に対するペプシンの作用は低 pH において最も顕著であった (pH 2.6 におけるセマグルチドの  $t_{1/2}$  は 16 分) (図 2.6.2.7-7B)。反対に、pH を 5.0 にすると、セマグルチドの  $t_{1/2}$  は 34 分に延長し、pH 中性ではセマグルチドはほぼ完全に安定していた ( $t_{1/2}$  は 100 分超) (図 2.6.2.7-7B)。SNAC の緩衝作用による錠剤崩壊部位 (胃) におけるセマグルチドの安定性は向上するが、SNAC とセマグルチドが大幅に希釈されることから、小腸における吸収の可能性は低いと考えられる。このことを示すように、ラット腸液中でのセマグルチドの安定性を評価した試験では、10 倍及び 200 倍希釈したラット腸液中では、セマグルチドは急速かつ広範囲に分解され、半減期を決定できず、2000 倍希釈ラット腸液中では、セマグルチドの  $t_{1/2}$  は 1 分であった。

#### 2.6.2.7.2.2.4 セマグルチドは、主に胃上皮に表在する粘膜小窩に局限する (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.2、309771)

セマグルチド錠を投与したイヌ胃組織の固定切片の免疫染色結果では、セマグルチドに対する強い免疫染色反応は、安楽死後に確認した錠剤存在部位とその周囲に局限していたが、錠剤表面から離れた場所ではセマグルチド染色が認められず、胃内の高度に局限された環境における吸収がさらに実証された (図 2.6.2.7-8A)。セマグルチドの局在について詳細に検討した結果、免疫染色反応は胃粘膜小窩及び頸部の表在上皮細胞層にほぼ限定されていることが明らかになった (図 2.6.2.7-8B)。反対に、

H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase 陽性の壁細胞の大部分はより深い層で認められたが、少数の壁細胞が頸部に散在して認められた。免疫染色セマグルチドに対する免疫染色反応性を有する胃粘膜表在上皮細胞が脱落（上皮細胞層の外側が一部剥離）した領域が不連続に認められたが、セマグルチドに対する免疫組織化学的反応が最も顕著だったのは、より深部にある無傷の細胞層であり、それらの細胞層の頂端面では ZO-1（タイトジャンクションタンパク質）の発現が強固に認められた（[図 2.6.2.7-8C](#) 及び [D](#)）。胃粘液上皮細胞の細胞質に免疫染色反応が認められたことから、セマグルチドの細胞内への取込みが明示された（[図 2.6.2.7-8E](#)）。投与 5 分後にはすでに粘膜固有層の血管内にセマグルチドが確認され（[図 2.6.2.7-8F](#)）、細胞内への取り込みが迅速であることが示された。

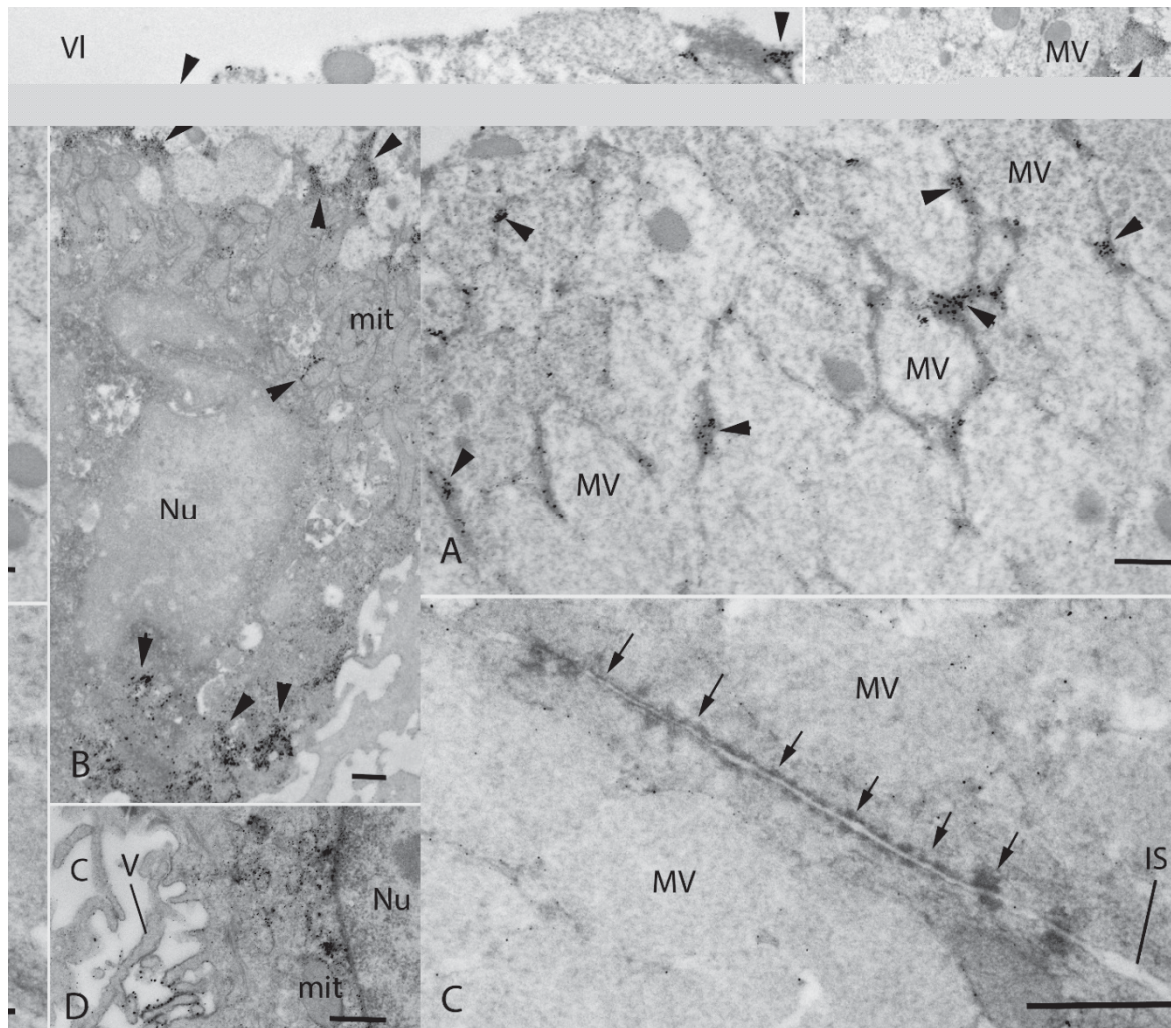


(A) Local 3F15 (semaglutide) reactivity (red) under the tablet. Nuclei counterstained with DAPI (blue). (B) 3F15 reactivity (red) restricted to the neck region. The bulk of H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase (green) positive parietal cells reside in deeper layers, but a few scattered parietal cells can be found in the neck region exposed to luminal semaglutide. (C) 3F15 (red), betacatenin (purple), ZO1 (green) and DAPI (blue). Sloughing of the uppermost region of the epithelium is evident (as marked by white asterisks), but semaglutide is also detected in deeper, intact layers (white box). (D) Higher magnification of the boxed area in panel C. Intact tight junctions labelled with apical ZO1 (green) in direct contact with luminal semaglutide. (E) Same region as panel D without betacatenin. Clear intracellular 3F15 reactivity (red) observed in mucosal cells (as marked by white arrows). 3F15 also detects semaglutide in capillaries under the epithelium (as marked by white asterisks). (F) Maximum projection image from a 63x confocal 11 μm z-stack, showing semaglutide (red) associated with a blood vessel labelled with smooth muscle actin (green) (as marked by white arrows).

#### 図 2.6.2.7-8 イヌ胃粘膜におけるセマグルチドの吸収及び局在

セマグルチドを経口投与したラット摘出胃粘膜の超微細構造について電子顕微鏡 (EM) を用いて調べたところ、粘液小胞周囲の細胞質にセマグルチドに対する強固な免疫染色反応が認められた一方、粘液小胞自体には反応が認められなかった（[図 2.6.2.7-9A](#)）。免疫染色反応は粘液細胞の基底細胞質でも認められた（[図 2.6.2.7-9B](#)）ことから、セマグルチドが経細胞経路を介して輸送されることが示される。粘液分泌細胞間の頂端部に存在するジャンクション複合体には変化が認められなかったことから、

傍細胞経路を介して吸収されないことが示唆される (図 2.6.2.7-9C)。着目すべき点として、粘液細胞間のジャンクション複合体より下側にある細胞外間隙には免疫染色反応が認められず、このことから傍細胞経路を介した吸収が実証された。胃腺頸部では、壁細胞の細胞質内と分泌細管の微絨毛上に免疫染色反応が認められた (図 2.6.2.7-9D)。



**(A and B)** Semaglutide immunoreactivity (silver grains, pointed by arrow heads) is present in the cytoplasm of mucous cells among the mucous vesicles and also in the basal part (panel B) of the mucous cells. Silver grains are not present in the mucous vesicles. **(C)** Junctional connection/complexes are observed between the apical parts of the mucous cells (indicated by the arrows). Silver grains are absent from the intercellular space under the junctional complexes. **(D)** Semaglutide immunoreactivity is also observed in the parietal cells. Silver grains are observed in the cytoplasm of the parietal cells and on the microvilli of the intracellular canaliculi of these cells. Scale bars: 500 nm. C, intracellular canaliculi; IS, intercellular space; mit, mitochondria; MV, mucous vesicles; Nu, nucleus; V, microvilli; VI, ventricular lumen

図 2.6.2.7-9 ラット胃粘膜におけるセマグルチドの局在に関する超微細構造の検討

### 2.6.2.7.3 副次的薬理試験

スクリーニング試験を段階的に実施した。初めに、標準的かつ広範な薬理学特性に関する *in vitro* 及び *in vivo* スクリーニング試験（2 試験）をヒトへの初回投与前に実施した。その後、SNAC 及び代謝物に関する複数の *in vitro* スクリーニング試験及びフォローアップ試験（9 試験）を実施した。試験の概要を表 2.6.2.7-1 に示す。

表 2.6.2.7-1 SNAC 及び代謝物に関する *in vitro* スクリーニング試験及びフォローアップ試験

Study ID	Study type	Findings	Ratio to clinical exposure <sup>a</sup>
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, EMIS/R96001	General pharmacology screen of SNAC (75 functional assays)	<u>Tracheal contractile response:</u>	
		21% inhibition at 33 µM	8.5
		70% inhibition at 100 µM	26
		<u>Arachidonic acid-induced platelet aggregation:</u>	
		0% inhibition at 10 µM	2.6
		100% inhibition at 33 µM	8.5
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, 325-T-501	Functional testing of SNAC	<u>Tracheal contractile response</u>	
		48% inhibition at 30 µM	7.7
		<u>Arachidonic acid-induced platelet aggregation</u>	
		0% inhibition at 10 µM	2.6
		100% inhibition 30 µM	7.7
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB08168	Broad receptor radioligand binding screen of SNAC (164 assays)	No significant binding (<50%) at 30 µM	7.7
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB09675	Functional testing of SNAC	No significant agonistic/antagonistic effect in Prostanoid EP4, Purinergic P2X, 5-HT2B, Tachykinin NK3 or TRH assays at 27.8 µM.	7.2
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB13003	Broad receptor radioligand binding screen of SNAC (163 assays)	77% binding at Prostanoid DP receptor at 92.7 µM	24
		58% binding at Prostanoid EP <sub>4</sub> receptor at 92.7 µM	24
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB18335	Broad receptor radioligand binding screen of five SNAC metabolites (166 assays)	No significant binding (<50%) of metabolites ,E494, E506, E1245 and E1247 when tested at 100 µM	200 (E494) 21 (E506) 15 (E1245)

Study ID	Study type	Findings	Ratio to clinical exposure <sup>a</sup>
			6.1 (E1247)
		Significant binding (>50%) of metabolite E1246 at the Endothelin ET <sub>A</sub> (86%), Melatonin MT <sub>1</sub> (73%), Somatostatin sst2 (66%), Somatostatin sst3 (57%) and Somatostatin sst4 (61%) receptors when tested at 100 μM	24 (E1246)
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB18472	SNAC tested in COX-1 and COX-2 enzyme assays	No inhibition of COX-1 and COX-2 enzymes at 92.7 μM	24
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB22333	Functional testing of SNAC, E494 and E1246 at 5-HT <sub>2B</sub>	SNAC: No agonistic effect. Antagonistic effect with IC <sub>50</sub> =116 μM	30 (SNAC)
		Metabolites E494 and E1246: No significant (<50%) agonistic or antagonistic effect when tested up to 100 μM	200 (E494) 24 (E1246)
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB20009	SNAC tested in IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	Inhibition of IKK-1 with IC <sub>50</sub> of 3.17 mM	817
		Inhibition of IKK-2 with IC <sub>50</sub> of 3.96 mM	1020
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB19024	SNAC metabolites tested in IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	Metabolites E494, E506, E1245, E1246 and E1247: No significant (<50%) inhibition of IKK-1 or IKK-2 when tested up to 100 μM	200 (E494) 21 (E506) 15 (E1245) 24 (E1246) 6.1 (E1247)
M 2.6.3.2, Appendix, Table 2.6.3.2.3, AB19159	SNAC metabolites tested in IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	IC <sub>50</sub> 's > 1 mM for all metabolites	2000 (E494) 208 (E506) 149 (E1245) 238 (E1246) 61 (E1247)

a: Clinical C<sub>max</sub> are geometric means obtained from Trial 4140 (SNAC) and Trial 4082 (metabolites) after oral administration of 300 mg SNAC: SNAC (1083 ng/mL = 3.9 μM), E494 (125 ng/mL = 0.50 μM), E506 (1075 ng/mL = 4.8 μM), E1245 (3030 ng/mL = 6.7 μM), E1246 (1811 ng/mL = 4.2 μM) and E1247 (6523 ng/mL = 16.3 μM).

*In vitro*における濃度と臨床的血漿中曝露量の比に基づくと、SNAC（及び代謝物）の *in vitro* における結合及び活性はいずれも臨床的意義が認められないものであると判断された。また、SNAC 及び代謝物はタンパク結合性が高いことから、比はさらに高いものと考えられる。

#### 2.6.2.7.4 安全性薬理試験

ICH S7A<sup>8</sup>及び S7B<sup>9</sup>ガイドラインに示されている原則に従って、重要な臓器機能（中枢神経系、呼吸器系及び心血管系）に対する SNAC の影響を検討するための安全性薬理試験を設計、実施した。予備的な試験である *in vitro* 心筋イオンチャネル試験（130130.DCC）を除き、すべての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）に従って実施された。

*In vitro* 試験を実施し、hERG チャンネル及びその他の心筋イオンチャネルに対する影響の可能性について評価した。*In vivo* 試験では、雄性 Sprague Dawley 系ラットを用いて中枢神経系（CNS）及び呼吸器系に対する影響、ならびに、非拘束、覚醒状態の雌雄アカゲザルを用いてテレメトリー法により心血管系に対する影響について評価した。加えて、アカゲザルを用いた 13 週間及び 9 箇月間反復投与毒性試験において ECG を記録した。

##### 2.6.2.7.4.1 中枢神経系に対する影響

###### 2.6.2.7.4.1.1 ラット Irwin 試験（M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、SPI04-025）

本試験の目的は、Irwin の多次元観察法により雄性 Sprague Dawley 系ラットの行動及び生理状態に対する SNAC の急性作用を評価することであった。試験群、用量、各群の投与経路及び動物数については表 2.6.2.7-2 に示す。溶媒として脱イオン水を用いた。

表 2.6.2.7-2 ラットを用いた単回投与 Irwin 試験（SPI04-025）

Treatment	Dose (mg/kg)	Administration	Number of animals
Control (vehicle)	0	p.o. (gavage)	6 males
SNAC	500	p.o. (gavage)	6 males
SNAC	1000	p.o. (gavage)	6 males
SNAC	1500	p.o. (gavage)	6 males

Irwin 試験の標準的評価項目について、投与前、投与後 0.5、4 及び 24 時間に各ラットを系統的に評価した。

500 mg/kg 単回投与後のラットにおける SNAC の忍容性は良好であり、顕著な行動及び生理学的変化は認められなかった。着目すべき所見は、投与後 0.5 時間にみられた触反応の軽微な減少のみであった。1000 及び 1500 mg/kg 投与後に、呼吸数の低下ならびに立毛と CNS 抑制を示唆する全身徴候が観察された。1000 mg/kg 投与後約 35 分に 1 例が死亡した。1500 mg/kg 投与後約 22、28 及び 50 分に、さらに 3 例が死亡した。全投与群で認められた一般徴候は、用量依存的で投与後約 0.5 時間に作用のピークに達



すると考えられた。全 SNAC 投与群における生存動物はいずれも、投与後 24 時間には回復し、正常な行動を示した。

結論として、SNAC 500 mg/kg を単回経口投与した雄性 Sprague Dawley 系ラットにおける忍容性は良好であり、顕著な行動及び生理学的変化は認められなかった。1000 及び 1500 mg/kg 投与時には、立毛、呼吸数低下、CNS 抑制及び死亡が認められた。

#### 2.6.2.7.4.1.2 ラット Irwin 試験 (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、SPI05-001)

本試験の目的は、以前に実施した Irwin 試験 (SPI04-025) において認められた所見をフォローアップするため、低用量における SNAC の影響を評価することであった。試験群、用量、各群の投与経路及び動物数については表 2.6.2.7-3 に示す。溶媒として滅菌水を用いた。

表 2.6.2.7-3 ラットを用いた単回投与 Irwin 試験 (SPI05-001)

Treatment	Dose (mg/kg)	Administration	Number of animals
Control (vehicle)	0	p.o. (gavage)	6 males
SNAC	250	p.o. (gavage)	6 males
SNAC	500	p.o. (gavage)	6 males
SNAC	750	p.o. (gavage)	6 males

Irwin 試験の標準的評価項目について、投与前、投与後 0.5、4 及び 24 時間に各ラットを系統的に評価した。

いずれの用量においても SNAC による行動及び生理学的変化は認められなかった。

結論として、750 mg/kg までの用量で SNAC を単回経口投与した雄性 Sprague Dawley 系ラットにおいて、行動及び生理学的変化は認められなかった。

#### 2.6.2.7.4.2 呼吸器系に対する影響

##### 2.6.2.7.4.2.1 ラットを用いたプレチスモグラフィー試験 (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、SPR04-028)

本試験の目的は、雄性 Sprague Dawley 系ラットにおける呼吸数及び 1 回換気量に対する SNAC の急性影響を評価することであった。試験群、用量、投与経路及び動物数については表 2.6.2.7-4 に示す。溶媒として滅菌水を用いた。

表 2.6.2.7-4 ラットを用いた単回投与呼吸器系プレチスモグラフィー試験 (SPR04-028)

Treatment	Dose (mg/kg)	Administration	Number of animals
Control (vehicle)	0	p.o. (gavage)	8 males
SNAC	250	p.o. (gavage)	8 males
SNAC	500	p.o. (gavage)	8 males
SNAC	750	p.o. (gavage)	8 males
SNAC	1000	p.o. (gavage)	8 males

ヘッドアウト式プレチスモグラフィーチャンバーを用いて、投与前、投与後 30 及び 240 分の呼吸数及び 1 回換気量を評価した。

SNAC 250、500、750 及び 1000 mg/kg 投与後に、呼吸数に対する影響は認められなかった。また、SNAC 250、500 及び 1000 mg/kg 投与後に、1 回換気量に対する影響は認められなかった。750 mg/kg 投与群の平均 1 回換気量に、投与後 30 分に軽微であるが統計学的に有意な減少が認められたが、投与後 240 分には認められなくなった。この減少は、試験群内で一貫性が認められず、また 1000 mg/kg 群では認められなかったことから、薬理的意義はないものと考えられた。1000 mg/kg 投与群の 1 例が投与後約 44 分に死亡したため、余剰動物と置き換えた。この死亡例については SNAC との関連性が考えられたが、明らかな呼吸器系の兆候は認められなかった。

結論として、SNAC を 1000 mg/kg までの用量で単回経口投与した雄性 Sprague Dawley 系ラットにおいて、呼吸器系に対する顕著な影響は認められなかった。死亡は 1000 mg/kg を投与した 1 例に認められ、SNAC との関連性が考えられたが、明らかな呼吸器系の兆候は認められなかった。

#### 2.6.2.7.4.3 心血管系に対する影響

##### 2.6.2.7.4.3.1 HEK293 細胞を用いた hERG テール電流のパッチクランプ試験 (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、SPH04-042)

本試験の目的は、hERG cDNA を安定導入したヒト胎児腎臓 293 (HEK293) 細胞を用いて、ホールセルパッチクランプ法により記録した hERG チャネルテール電流に対する SNAC の影響を評価することであった。試験群、処理濃度、処理方法及び細胞数については [表 2.6.2.7-5](#) に示す。溶媒としてバス溶液を用いた。

表 2.6.2.7-5 HEK293 細胞を用いたパッチクランプ試験 (SPH04-042)

Treatment	Concentration ( $\mu\text{M}$ )	Administration	Number of cells
Control (vehicle)	0	Perfusion	4
SNAC	1000	Perfusion	4

細胞を記録用チャンバーに移し、バス溶液を用いて室温で連続灌流した。最初に、細胞の膜電位を  $-80\text{ mV}$  に保持した。膜電位を  $+20\text{ mV}$  に脱分極後、 $-50\text{ mV}$  に再分極して hERG 電流を励起した。

濃度  $1000\text{ }\mu\text{mol/L}$  の SNAC を約 15 分間灌流したが、hERG テール電流の抑制は認められなかった。

結論として、hERG cDNA を安定導入した HEK293 細胞において、SNAC を  $1000\text{ }\mu\text{mol/L}$  (ヒトにおける平均  $C_{\text{max}}$  の 258 倍) の濃度で処理したが hERG テール電流の抑制は認められなかった。

#### 2.6.2.7.4.3.2 哺乳類細胞を用いた 12 種類の心筋イオンチャネルのパッチクランプ試験 (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、130130.DCC)

本試験の目的は、12 種類の心筋イオンチャネル (hCav1.2、hCav3.2、hHCN2、hHCN4、hERG、hKir2.1、hKir3.1/hKir3.4、Kir6.2/SUR2A、hKvLQT1/minK、hKv1.5、hKv4.3 及び hNav1.5) の cDNA を安定導入した HEK293 及び CHO 細胞を用いて、それぞれのチャネルに対する 2、20 及び  $200\text{ }\mu\text{mol/L}$  の SNAC と E506 (SNAC の代謝物) の影響を *in vitro* において検討することであった。

Qpatch HT<sup>®</sup> プラットホームにおいては、各細胞を自身の対照として用いる。毎回、未処理の細胞を用い、被験物質による灌流の前後に HEPES 緩衝生理食塩水 (0.3% DMSO 添加) で 5~10 分間灌流した。被験物質は各濃度 3 細胞以上で検討し、灌流時間は 3 分間以上とした。被験物質の濃度は漸増した。

12 種類の心筋イオンチャネルを、2、20 及び  $200\text{ }\mu\text{mol/L}$  の濃度の SNAC で処理したが抑制作用は認められなかった。12 種類中 11 種類の心筋イオンチャネルを、2、20 及び  $200\text{ }\mu\text{mol/L}$  の濃度で E506 を処置したが抑制作用は認められなかった。hCav1.2 チャネルでは、2 及び  $20\text{ }\mu\text{mol/L}$  の E506 による抑制作用は認められなかったが、 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$  では 62.9% の抑制作用が認められた。フォローアップ試験では 70、200 (再試験) 及び  $500\text{ }\mu\text{mol/L}$  の濃度において特記すべき抑制作用は認められず、この影響は再確認できなかった。

結論として、自動パッチクランプ装置を用いて、それぞれ  $200\text{ }\mu\text{mol/L}$  及び  $500\text{ }\mu\text{mol/L}$  までの濃度 (それぞれヒトにおける平均  $C_{\text{max}}$  の 50 及び 129 倍) の SNAC 及び E506 を HEK293 及び CHO 細胞に添加したが、12 種類の心筋イオンチャネルに対する抑制作用は認められなかった。

## 2.6.2.7.4.3.3 アカゲザルを用いた心血管系テレメトリー試験 (M2.6.3.2 付録、2.6.3.2.4、BNA00001)

本試験の目的は、未投与アカゲザル6匹における非拘束、覚醒状態の血行動態項目及びECGに対するSNACの影響を、用量漸増法により検討することであった。試験群、用量、投与経路及び動物数については表2.6.2.7-6に示す。溶媒として脱イオン水を用いた。

表 2.6.2.7-6 アカゲザルを用いた心血管系テレメトリー試験 (BNA00001)

Treatment	Dose (mg/kg)	Administration	Number of animals		Treatment day
			Males	Females	
Control (vehicle)	0	Nasogastric	3	3	1
SNAC	100	Nasogastric	3	3	3
SNAC	300	Nasogastric	3	3	5
SNAC	600	Nasogastric	3	3	8

各用量の投与前60分から投与後36時間までのECG、心拍数、動脈血圧及び体温について、テレメトリー法を用いて測定した。ECG評価には、異常に関する各トレースの定性評価とQT、QTc及びRR間隔の定量的測定が含まれた。

アカゲザルに対してSNACを100、300及び600 mg/kgの用量で単回経鼻胃管投与したところ、一般徴候、摂餌量、体温、心拍数、平均動脈血圧、ECG波形ならびにQT、QTc及びRR間隔に対する影響は認められなかった。

## 2.6.2.7.4.3.4 アカゲザルを用いた13週間反復投与毒性試験におけるECG測定 (M 2.6.7.18 付録、2.6.7.18.7.1、3060-98)

アカゲザルを用いた13週間反復投与毒性試験においてECG測定が行われた。表2.6.2.7-7に示すように、5群(雌雄各4匹/群)のアカゲザルに対して溶媒(脱イオン水)、SNAC、又はSNAC+XXXXXXXXXXのいずれかを1日1回13週間投与した。

表 2.6.2.7-7 アカゲザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験 (3060-98)

Treatment <sup>a</sup>	SNAC dose (mg/kg/day)	██████ dose (U/kg/day)	Administration	Number of animals	
				Males	Females
Control (vehicle)	0	0	Oral gavage	4	4
SNAC	1800	0	Oral gavage	4	4
SNAC/██████	800	██████	Oral gavage	4	4
SNAC/██████	1200	██████	Oral gavage	4	4
SNAC/██████	1800	██████	Oral gavage	4	4

a: the study was performed as part of a nonclinical programme to support oral ██████ administration

すべての動物に対して、投与前に 1 回、投与第 4、8 及び 13 週にそれぞれ 1 回、ECG 測定を行った。ECG の記録中、保定具を用いて動物を保定した。心拍数、リズム又は伝導の異常について波形トレースを評価した。

心拍数、P-QRS-T 波の形状、PR 及び QT 間隔、ST 部分及び平均電気軸に対する被験物質の影響は認められなかった。

#### 2.6.2.7.4.3.5 アカゲザルを用いた 9 箇月間反復投与毒性試験における ECG 測定 (M 2.6.7.18 付録、2.6.7.18.7.K、BNA00003)

アカゲザルを用いた 9 箇月間反復投与毒性試験において ECG を測定した。表 2.6.2.7-8 に示すように、6 群 (雌雄各 3 匹/群) のアカゲザルに対して溶媒 (脱イオン水)、SNAC、又は SNAC+ ██████ のいずれかを 1 日 1 回 9 箇月間投与した。

表 2.6.2.7-8 アカゲザルを用いた 9 箇月間反復投与毒性試験 (BNA00003)

Treatment <sup>a</sup>	SNAC dose (mg/kg/day)	[REDACTED] dose (U/kg/day)	Administration	Number of animals	
				Males	Females
Control (vehicle)	0	0	Oral gavage	3	3
SNAC	200	0	Oral gavage	3	3
SNAC	300	0	Oral gavage	3	3
SNAC	600	0	Oral gavage	3	3
SNAC/[REDACTED]	150	[REDACTED]	Oral gavage	3	3
SNAC/[REDACTED]	500	[REDACTED]	Oral gavage	3	3

a: the study was performed as part of a nonclinical programme to support oral [REDACTED] administration (by [REDACTED])

すべての動物に対して、投与前に 1 回、投与第 26 及び 39 週にそれぞれ 1 回（投与 1～2 時間後）、ECG 測定を行った。ECG の記録中、動物をケージ外で一時的に保定した。各 ECG トレースについて定性及び定量（RR、PR、QT 及び QTc 間隔ならびに QRS 時間）評価を実施した。

アカゲザルにおいて、すべての ECG が定性的及び定量的に正常と判断された。

### 2.6.2.7.5 薬力学的薬物相互作用試験

SNAC の非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。臨床濃度における薬理作用が認められなかったことから、非臨床薬力学的薬物相互作用試験には意義が認められないと判断された。

### 2.6.2.7.6 考察及び結論

#### 2.6.2.7.6.1 吸収促進剤としての SNAC の作用

SNAC と製剤化することにより、セマグルチドは主に胃で吸収される。ヒト被験者のシンチグラフィ試験では、セマグルチド経口錠の表面が胃内で崩壊している様子が示され、セマグルチドが速やかに吸収されることが確認された。このことを裏付けるように、幽門結紮イヌにおける曝露量は非結紮イヌと同程度であったが、脾静脈からの血漿中濃度が門脈からの血漿中濃度よりも高かったことが、メカニズム試験において示された（[REDACTED]150401 及び 309781）。

消化管における薬物吸収の主たる部位は小腸であると従来考えられてきたが、吸収促進剤である SNAC と製剤化したセマグルチドの吸収に適した消化管内の部位は胃であることが、試験データにより

示された。胃粘膜バリアを介した受動的拡散の可能性があるにもかかわらず、胃における吸収は無視されることが多い。しかしながら、アセチルサリチル酸及びエタノール等の、一部の薬物及び物質には胃腔から吸収される特性が知られている。

SNACは胃粘膜を穏やかに変化させることにより吸収促進作用を発揮し、主に経細胞経路を介したセマグルチドの吸収を促進する（XXXXXXXXXX100709 及び 309790）。メカニズム解析の結果から、膜の流動化及び上皮表面の脱落を含むこれらの作用は一時的かつ完全に可逆的である（XXXXXXXXXX140104 及び 309791）。胃粘膜の細胞膜への影響を除き、光学顕微鏡及び超微細構造レベルにおける頂端面のタイトジャンクション複合体への明らかな影響は認められなかった（309771）。

以上より、経口投与したセマグルチドは主に胃で吸収され、SNACと製剤化することが必要である。SNACは、局所的な緩衝作用によって酵素分解を防ぎ、一時的に吸収を促進する（XXXXXXXXXX150301、309788、XXXXXXXXXX140104 及び 309791）。吸収の機序は経細胞経路であることが示されており、タイトジャンクションへの影響を示す根拠は認められていない（309771 及び 309790）。

#### 2.6.2.7.6.2 副次的及び安全性薬理試験

安全性薬理試験において、SNACを1000及び1500 mg/kg（ヒトにおけるSNAC 300 mg錠投与後の $C_{max}$ の321倍に相当する曝露量）の用量で単回経口投与したラットに顕著な一般状態変化、呼吸数低下及び死亡が認められた。これらの影響は、電子伝達系における複合体Iの阻害を主に介した、細胞呼吸阻害によるものと考えられた。これについては細胞呼吸に及ぼす影響（M 4.2.3.7.7-B-1）に詳しく述べる。これらの影響は、高用量及び投与初期の血漿中SNAC濃度が極めて高い動物で認められた。ヒトに対するSNAC 300 mg錠の投与では、このような高い血漿中濃度は認められておらず、ヒトでは到達しないものと考えられる。

経口セマグルチドに含まれるSNACの主要な作用は吸収促進であり、この作用機序は乱用及び依存と関連しない。副次的薬理試験における評価で、乱用及び依存の可能性に関連する神経伝達系の受容体／トランスポーターとSNACとの間に意義のある結合は示されていない。このことならびに非臨床試験において臨床的に意義のある血漿中濃度における行動及び自発運動への影響が認められなかったことから、SNACに乱用及び依存の可能性はないと考えられる。

結論として、SNACを用いた*in vitro*ならびに*in vivo*の結合試験及び機能試験及び安全性薬理試験では、臨床的に意義のある曝露量において、CNS、呼吸器系又は心血管系に影響を及ぼす可能性は示されなかった。

## 参考文献

- <sup>1</sup> Beglinger C, Poller B, Arbit E, Ganzoni C, Gass S, Gomez-Orellana I, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of oral GLP-1 and PYY3-36: a proof-of-concept study in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;84(4):468-74.
- <sup>2</sup> Alani AW, Robinson JR. Mechanistic understanding of oral drug absorption enhancement of cromolyn sodium by an amino acid derivative. *Pharm Res.* 2008;25(1):48-54.
- <sup>3</sup> Ding X, Rath P, Angelo R, Stringfellow T, Flanders E, Dinh S, et al. Oral absorption enhancement of cromolyn sodium through noncovalent complexation. *Pharm Res.* 2004;21(12):2196-206.
- <sup>4</sup> Malkov D, Wang HZ, Dinh S, Gomez-Orellana I. Pathway of oral absorption of [redacted] with sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl)amino] caprylate. *Pharm Res.* 2002;19(8):1180-4.
- <sup>5</sup> Smith L, Mosley J, Ford M, Courtney J. Cyanocobalamin/Salcaprozate Sodium: A Novel Way to Treat Vitamin B12 Deficiency and Anemia. *J Hematol Oncol Pharm.* 2016;6(2):42-5. 2016.
- <sup>6</sup> Buckley ST, Baekdal TA, Vegge A, Maarbjerg SJ, Pyke C, Ahnfelt-Ronne J, et al. Transcellular stomach absorption of a derivatized glucagon-like peptide-1 receptor agonist. *Sci Transl Med.* 2018;10(467).
- <sup>7</sup> Frederiksen TM, Sønderby P, Ryberg LA, Harris P, Bukrinski JT, Scharff-Poulsen AM, et al. Oligomerization of a Glucagon-like Peptide 1 Analog: Bridging Experiment and Simulations. *Biophys J.* 2015;109(6):1202-13.
- <sup>8</sup> ICH S7A. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals. Current Step 4 version, dated 8 November 2000.
- <sup>9</sup> ICH S7B. The Non-clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals. Current Step 4 version, dated 12 May 2005.



リベルサス錠 3mg  
リベルサス錠 7mg  
リベルサス錠 14mg

### 2.6.3 薬理試験の概要表

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

## 目次

	ページ
目次 .....	2
付録 .....	2
2.6.3.1 薬理試験の概要表.....	3

## 付録

2.6.3.2 付録 サルカプロザートナトリウム：薬理試験の概要表

### 2.6.3.1 薬理試験の概要表

A comprehensive nonclinical pharmacology evaluation of subcutaneous administered semaglutide was made for the Ozempic registration file (Please refer to M 1.13.1). Since the pharmacological response of semaglutide is considered independent of route of administration, no pharmacology studies with oral administration of semaglutide have been made.

The pharmacology evaluation of the new excipient salcaprozate sodium (SNAC) is tabulated in ‘Salcaprozate sodium: Pharmacology Tabulated Summary’, included in M 2.6.3.2 Appendix.

リベルサス錠 3mg  
リベルサス錠 7mg  
リベルサス錠 14mg

2.6.3.2 付録  
サルカプロザートナトリウム  
薬理試験の概要表

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

## 目次

	ページ
目次 .....	2
2.6.3.2.1 薬理試験一覧表.....	3
2.6.3.2.2 効力を裏付ける試験（吸収促進剤としての SNAC の作用） .....	5
2.6.3.2.3 副次的薬理試験.....	7
2.6.3.2.4 安全性薬理試験.....	10
2.6.3.2.5 薬力学的薬物動態相互作用試験.....	13

## 2.6.3.2.1 薬理試験一覧表

Test Article: Salcaprozate sodium  
(SNAC)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	Location in CTD
<b>Primary Pharmacodynamics</b> (Effect of SNAC as an absorption enhancer)	Gastric fluid	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	██████150301	4.2.1.1-B-1
	Intestinal fluid	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	██████130102	4.2.1.1-B-2
	Liposomes	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	██████100709	4.2.1.1-B-3
	Rat tissue, Ussing	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	██████140104	4.2.1.1-B-4
	NCI-N87 cells	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	309790	4.2.1.1-B-5
	NCI-N87 cells	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	309791	4.2.1.1-B-6
	Pepsin enzyme	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	309788	4.2.1.1-B-7
	Buffer solutions	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk, DK	309772	4.2.1.1-B-8
	Rats, Dogs	Oral	Novo Nordisk, DK	309771	4.2.1.1-B-9
	Dogs	Oral	Novo Nordisk, DK	309780	4.2.1.1-B-10
	Dogs	Oral	Novo Nordisk, DK	309781	4.2.1.1-B-11
	Dogs	Oral	Novo Nordisk, DK	██████150401	4.2.1.1-B-12
	Dogs	Oral	Novo Nordisk, DK	██████150402	4.2.1.1-B-13
<b>Secondary Pharmacodynamics</b>	Broad pharmacology screen (75 functional assays <i>in vitro</i> or <i>in vivo</i> in rat and mouse)	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (oral)	██████████ USA	EMIS/R96001	4.2.1.2-B-1
	Guinea pig tracheal contraction and rabbit platelet aggregation assays	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	325-T-501	4.2.1.2-B-2
	Broad receptor radioligand binding screen (164 assays)	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	AB08168	4.2.1.2-B-3

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	Location in CTD
Safety Pharmacology	Prostanoid EP <sub>4</sub> , Purinergic P <sub>2X</sub> , 5-HT <sub>2B</sub> , Tachykinin NK3 and TRH functional assays	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB09675</a>	4.2.1.2-B-4
	Broad receptor radioligand binding screen (163 assays)	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB13003</a>	4.2.1.2-B-5
	Broad receptor radioligand binding screen (166 assays)	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB18335</a>	4.2.1.2-B-6
	COX-1 and COX-2 enzyme assays	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB18472</a>	4.2.1.2-B-7
	5-HT <sub>2B</sub> functional assay	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB22333</a>	4.2.1.2-B-8
	IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB20009</a>	4.2.1.2-B-9
	IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB19024</a>	4.2.1.2-B-10
	IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	<i>In vitro</i>	██████████ Taiwan	<a href="#">AB19159</a>	4.2.1.2-B-11
	Irwin test in the rat*	Oral (gavage)	██████████ USA	<a href="#">SPI04-025</a>	4.2.1.3-B-1
	Irwin test in the rat*	Oral (gavage)	██████████ USA	<a href="#">SPI05-001</a>	4.2.1.3-B-2
	Plethysmography in the rat*	Oral (gavage)	██████████ USA	<a href="#">SPR04-028</a>	4.2.1.3-B-3
hERG channel in HEK293 cells*	<i>In vitro</i>	██████████ USA	<a href="#">SPH04-042</a>	4.2.1.3-B-4	
Cardiac ion channels in HEK293 and CHO cells	<i>In vitro</i>	██████████ USA	<a href="#">130130.DCC</a>	4.2.1.3-B-5	
Telemetry in Rhesus monkeys*	Nasogastric (gavage)	██████████ USA	<a href="#">BNA00001</a>	4.2.1.3-B-6	
Pharmacodynamic Drug Interactions	No studies performed <sup>a</sup>				

\* Study conducted in accordance with Good Laboratory Practice

a: In the absence of pharmacological activity at clinical concentration, interaction studies have not been considered relevant.

## 2.6.3.2.2 効力を裏付ける試験（吸収促進剤としての SNAC の作用）

Test Article: SNAC

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses <sup>a</sup> (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study ID
<i>In vitro</i> effect on pH	Gastric fluid	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	SNAC rapidly neutralises the pH of simulated gastric fluid from acidic to neutral as the semaglutide SNAC tablet undergoes the process of erosion	No	██████150301
<i>In vitro</i> stability	Intestinal fluid	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	Semaglutide is rapidly degraded in intestinal fluid	No	██████130102
<i>In vitro</i> cell membrane interaction	Liposomes	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	SNAC interacts with lipid membranes and hereby increases the fluidity and permeability of the membrane	No	██████100709
<i>In vitro</i> time-dependency of absorption enhancement	Rat gastric and intestine	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	SNAC exhibits a time-dependent effect on TEER, a measure of membrane permeability	No	██████140104
<i>In vitro</i> transcellular action of SNAC	NCI-N87 cells	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	Reflecting transcellular-based effects, exposure to SNAC substantially increased the intracellular accumulation of semaglutide compared to control cells	No	309790
<i>In vitro</i> concentration, size and time-dependency of absorption enhancement	NCI-N87 cells	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	Absorption-enhancing effects of SNAC are concentration, size and time-dependent	No	309791
<i>In vitro</i> proteolytic stability of semaglutide in the presence of pepsin	Pepsin enzyme	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	<i>In vitro</i> stability of semaglutide in pepsin was most profoundly affected at low pH and increased stability was observed with increasing pH	No	309788



Organ systems evaluated	Species/strain	Method of administration	Doses <sup>a</sup> (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study ID
<i>In vitro</i> characterisation of the interaction between semaglutide and SNAC	Buffer solutions	<i>In vitro</i>	N/A	N/A	High SNAC concentrations promote the dissociation of semaglutide in buffer solutions	No	309772
Histology of rat and dog stomach tissue	Rats/Sprague Dawley Dogs/Beagle	Oral or intragastric	SNAC: 24.7 Semaglutide: 0.37 SNAC: 300 Semaglutide: 10	Male, 2-5 Male, 2-4	Semaglutide staining in the stomach mucosa only directly under and in close vicinity of the tablet and immunolocalisation consistent with a transcellular route of absorption	No	309771
Concentrations in stomach in the vicinity of the oral semaglutide tablets	Dogs/Beagle	Intragastric	SNAC: 300 Semaglutide: 9.4	Male, 8	High concentrations of semaglutide and SNAC are only observed directly under the tablet	No	309780
Splenic versus portal exposure	Dogs/Beagle	Intragastric	SNAC: 300 Semaglutide: 9.4	Male, 15	Highest concentration of semaglutide was observed in the splenic vein indicating gastric absorption	No	309781
Effect on absorption with pyloric ligation	Dogs/Beagle	Oral or intragastric	SNAC: 300 Semaglutide: 9.4-12.7	Male, 6-16	Comparable exposure of semaglutide was obtained when dosed orally in normal dogs and intragastrically in anaesthetized dogs with pyloric ligation	No	████████150401
Effect on absorption with feeding	Dogs/Beagle	Oral	SNAC: 300 Semaglutide: 10	Male, 13-16	Providing food to dogs after p.o. dosing of semaglutide resulted in a marked, rapid and time-dependent lowering of exposure	No	████████150402

a: Single dose unless specified otherwise.

## 2.6.3.2.3 副次的薬理試験

Test Article: SNAC or metabolites

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study ID
Broad pharmacology screen (75 functional assays)	<i>In vitro</i> : N/A <i>In vivo</i> : Rat and mouse	<i>In vitro</i> : N/A <i>In vivo</i> : Single oral (gavage) dose	<i>In vitro</i> : 10 µM 33 µM 100 µM <i>In vivo</i> : 300 mg/kg	<i>In vitro</i> : N/A <i>In vivo</i> : N/A	<u>SNAC</u> : Tracheal contractile response: 21% inhibition at 33 µM 70% inhibition at 100 µM Arachidonic acid-induced platelet aggregation: 0% inhibition at 10 µM 100% inhibition at 33 µM Remaining 73 tests were negative.	No	EMIS/R96001
Tracheal contraction and platelet aggregation assays	Guinea pig and rabbit tissue	N/A	10 µM 30 µM	N/A	<u>SNAC</u> : Tracheal contractile response: 48% inhibition at 30 µM Arachidonic acid-induced platelet aggregation: 0% inhibition at 10 µM 100% inhibition at 30 µM	No	325-T-501
Broad receptor radioligand binding screen (164 assays)	N/A	N/A	30 µM	N/A	<u>SNAC</u> : No significant binding (<50%).	No	AB08168
Prostanoid EP <sub>4</sub> , Purinergic P <sub>2X</sub> , 5-HT <sub>2B</sub> , Tachykinin NK3 and Thyrotropin Releasing Hormone (TRH)	N/A	N/A	27.8 µM	N/A	<u>SNAC</u> : No significant agonistic/antagonistic effect in Prostanoid EP <sub>4</sub> , Purinergic P <sub>2X</sub> , 5-HT <sub>2B</sub> , Tachykinin NK3 or TRH assays.	No	AB09675

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study ID
Broad receptor radioligand binding screen (163 assays)	N/A	N/A	92.7 $\mu$ M	N/A	<u>SNAC:</u> 77% binding at Prostanoid DP receptor 58% binding at Prostanoid EP <sub>4</sub> receptor	No	AB13003
Broad receptor radioligand binding screen (166 assays)	N/A	N/A	100 $\mu$ M	N/A	<u>Metabolites E1245, E494, E506 and E1247:</u> No significant binding (<50%). <u>Metabolite E1246:</u> Significant binding (>50%) at the Endothelin ET <sub>A</sub> (86%), Melatonin MT <sub>1</sub> (73%), Somatostatin sst2 (66%), Somatostatin sst3 (57%) and Somatostatin sst4 (61%) receptors.	No	AB18335
COX-1 and COX-2 enzyme assays	N/A	N/A	92.7 $\mu$ M	N/A	<u>SNAC:</u> No inhibition of COX-1 and COX-2 enzymes	No	AB18472
5-HT <sub>2B</sub> functional assay	N/A	N/A	0.01 $\mu$ M 0.1 $\mu$ M 1 $\mu$ M 10 $\mu$ M 100 $\mu$ M	N/A	<u>SNAC:</u> No agonistic effect. Antagonistic effect with IC <sub>50</sub> =116 $\mu$ M. <u>Metabolites E494 and E1246:</u> No significant (<50%) agonistic or antagonistic effect.	No	AB22333
IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	N/A	N/A	9.27 $\mu$ M 92.7 $\mu$ M 927 $\mu$ M 9.27 mM	N/A	<u>SNAC:</u> Inhibition of IKK-1 with IC <sub>50</sub> of 3.17 mM. Inhibition of IKK-2 with IC <sub>50</sub> of 3.96 mM.	No	AB20009

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study ID
IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	N/A	N/A	100 µM	N/A	<u>Metabolites E494, E506, E1245, E1246 and E1247:</u> No significant inhibition (<50%) of IKK-1 or IKK-2.	No	AB19024
IKK-1 and IKK-2 enzyme assays	N/A	N/A	100 µM 300 µM 1 mM 3 mM 10 mM	N/A	<u>Metabolite E494:</u> IKK-1 IC <sub>50</sub> =7.11 mM IKK-2 IC <sub>50</sub> =2.80 mM <u>Metabolite E506:</u> IKK-1 IC <sub>50</sub> = 4.08 mM IKK-2 IC <sub>50</sub> = 4.68 mM <u>Metabolite E1245:</u> IKK-1 IC <sub>50</sub> = 2.84 mM IKK-2 IC <sub>50</sub> = 1.42 mM <u>Metabolite E1246:</u> IKK-1 IC <sub>50</sub> = 4.25 mM IKK-2 IC <sub>50</sub> = 3.86 mM <u>Metabolite E1247:</u> IKK-1 IC <sub>50</sub> = 4.48 mM IKK-2 IC <sub>50</sub> = 2.85 mM	No	AB19159

## 2.6.3.2.4 安全性薬理試験

## Test Article: SNAC

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses <sup>a</sup> (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study ID
Central Nervous System	Sprague Dawley rat	Oral (gavage)	0 500 1000 1500	6 M	<p>Across all dose groups: Clinical signs appeared to be dose dependent with peak effect at approximately 0.5 h post dose. All surviving animals in all SNAC dose groups had recovered at 24 h post dose.</p> <p><u>SNAC at 500 mg/kg:</u> Decreased touch response (6/6 at 0.5 h and 0/6 at 4 h post dose)</p> <p><u>SNAC at 1000 mg/kg:</u> Decreased touch response (5/5 at 0.5 h and 3/5 at 4 h post dose) Decreased respiration rate (5/5 at 0.5 h post dose) Abnormal gait (1/5 at 0.5 h post dose) Piloerection (5/5 at 4 h post dose) One animal died approximately 35 min post dose.</p> <p><u>SNAC at 1500 mg/kg:</u> Decreased touch response (2/3 at 0.5 and 4 h post dose) Decreased respiration rate (1/3 at 0.5 h post dose) Decreased alertness (2/4 at 0.5 h post dose) Abnormal gait</p>	Yes	SPI04-025

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses <sup>a</sup> (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study ID
Central Nervous System	Sprague Dawley rat	Oral (gavage)	0 250 500 750	6 M	(2/3 at 0.5 h and 1/3 at 4 h post dose) Piloerection (3/3 at 4 h post dose) Three animals died post dose at approximately 22, 28 and 50 min post dose. <u>SNAC at 250 mg/kg:</u> No behavioural or physiological changes. <u>SNAC at 500 mg/kg:</u> No behavioural or physiological changes. <u>SNAC at 750 mg/kg:</u> No behavioural or physiological changes.	Yes	SPI05-001
Respiratory system	Sprague Dawley rat	Oral (gavage)	0 250 500 750 1000	8 M	<u>SNAC at 250 mg/kg:</u> No statistically significant effect on mean respiration rate or tidal volume. <u>SNAC at 500 mg/kg:</u> No statistically significant effect on mean respiration rate or tidal volume. <u>SNAC at 750 mg/kg:</u> No statistically significant effect on mean respiration rate. Slight statistically significant decrease in mean tidal volume at 30 min post dose. <u>SNAC at 1000 mg/kg:</u> No statistically significant effect on mean respiratory rate or tidal volume. One animal died approximately 44 minutes post dose with no clear	Yes	SPR04-028

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses <sup>a</sup> (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study ID
Cardiovascular system ( <i>in vitro</i> )	HEK293 cells expressing hERG	Perfusion	0 mM 1 mM	4 cells per group	indication of a respiratory component. <u>SNAC at 1 mM:</u> No inhibition of hERG tail current.	Yes	SPH04-042
Cardiovascular system ( <i>in vitro</i> )	HEK293 and CHO cells expressing one of 12 cardiac ion channels (hCav1.2, hCav3.2, hHCN2, hHCN4, hERG, hKir2.1, hKir3.1/hKir3.4, Kir6.2/SUR2A, hKvLQT1/hminK, hKv1.5, hKv4.3, hNav1.5)	Microfluidic flow	2 µM 20 µM 200 µM (E506 also 70 µM 500 µM)	≥ 3 cells per group	<u>SNAC at 2-200µM:</u> No inhibition of any of the twelve tested cardiac ion channels. <u>E506 at 2-20 µM:</u> No inhibition of any of the twelve tested cardiac ion channels. <u>E506 at 200µM:</u> No effect on eleven out of the twelve tested cardiac ion channels. E506 induced 62.9% inhibition of the hCav1.2 (L-Type calcium) channel. This effect could not be confirmed in extra assay rounds as no inhibition was identified at 70, 200 (re-test) and 500 µM.	No	130130.DCC
Cardiovascular system ( <i>in vivo</i> )	Rhesus monkey	Nasogastric	0 100 300 600	3 F, 3 M	<u>SNAC at 100-600 mg/kg:</u> No effects observed on clinical signs, food consumption, body temperature, heart rate, mean arterial blood pressure, body temperature, ECG waveform morphology or ECG intervals (QT- and RR-intervals and derived QTc values).	Yes	BNA00001

a: Single dose unless specified otherwise.

#### 2.6.3.2.5 薬力学的薬物動態相互作用試験

No pharmacodynamic drug interaction studies have been performed with SNAC. In the absence of pharmacological activity at clinical concentration, interaction studies have not been considered relevant.