

リベルサス錠 3mg
リベルサス錠 7mg
リベルサス錠 14mg

2.6.4 薬物動態試験の概要文

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	3
表目次	3
付録	3
略語一覧	4
2.6.4.1 まとめ	6
2.6.4.2 測定法	6
2.6.4.2.1 生体試料中セマグルチド濃度測定法	6
2.6.4.2.1.1 LOCI	7
2.6.4.2.1.2 LC-MS/MS	8
2.6.4.2.1.3 測定パラメータ	8
2.6.4.2.2 抗セマグルチド抗体分析	10
2.6.4.2.2.1 スクリーニング分析	10
2.6.4.3 吸収	12
2.6.4.3.1 単回投与後の吸収	12
2.6.4.3.2 反復投与試験	13
2.6.4.4 分布	15
2.6.4.5 代謝	15
2.6.4.5.1 ラット及びサルにおける <i>in vivo</i> 血漿中代謝物プロファイル	16
2.6.4.6 排泄	16
2.6.4.7 薬物動態学的相互作用	17
2.6.4.8 その他の薬物動態試験	17
2.6.4.9 考察及び結論	18
参考文献	19

図目次

	ページ
図 2.6.4-1 サルにおける静脈及び経口投与後のセマグルチドの血漿中濃度.....	13
図 2.6.4-2 [³ H]Oct-セマグルチドの構造	15

表目次

	ページ
表 2.6.4-1 非臨床試験における生体試料中セマグルチド濃度測定法.....	7
表 2.6.4-2 LC-MS/MS 法で用いたセマグルチド及び内部標準物質.....	8
表 2.6.4-3 非臨床及び臨床試験におけるセマグルチド測定バリデーション.....	9
表 2.6.4-4 非臨床試料及び臨床検体中のセマグルチドの長期安定性.....	10
表 2.6.4-5 抗体スクリーニング分析、バリデーションパラメータ及び結果.....	11
表 2.6.4-6 用量正規化 (1 mg/kg/日) セマグルチドの平均 PK パラメータの動物種間比較	12
表 2.6.4-7 セマグルチドの反復経口投与時の PK パラメータ.....	14
表 2.6.4-8 経口及び皮下投与後のセマグルチドの血漿中代謝物プロファイル.....	16
表 2.6.4-9 [³ H]Oct-セマグルチド関連物質の排泄 (%用量)	17

付録

2.6.4.10 付録 サルカプロザートナトリウム：薬物動態試験の概要文

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 (血漿中濃度一時間曲線下面積)
C _{ave}	average plasma concentration (平均血漿中濃度)
CL	clearance (クリアランス)
C _{max}	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 _{rel}	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 _{obs}	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)

2.6.4.1 まとめ

非臨床安全性試験プログラムで用いた動物種である Sprague Dawley 系ラット及びカニクイザルを用いて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）の薬物動態（PK）を評価した。さらに、同じ動物種でセマグルチドの代謝及び排泄を *in vivo* 評価した。

経口セマグルチドの予定された臨床投与経路であることから、すべての試験は経口投与に基づいている。本試験では、セマグルチドの経口バイオアベイラビリティを亢進させるため、吸収促進剤であるサルカプロザートナトリウム（SNAC）が用いられた。

すべての動物種において、セマグルチドの血漿中濃度は、動物間及び同一動物内で大きな個体差が認められた。すべての動物種において、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} で評価した曝露量は用量の増加に伴って増大した。PK パラメータの明らかな性差は認められなかった。ラットにおける投与 2～26 週間後での累積係数は約 1 であったのに対し、サルにおける投与 6 週間後における累積係数は 0.15～12 と大きな個体差がみられた。これは吸収率の個体差による可能性が最も高いと考えられた。終末相半減期 ($t_{1/2}$) は、ラットで 4.3～26 時間、サルで 40～65 時間と推定された。サルにおいて検討されたセマグルチド錠剤の絶対的バイオアベイラビリティは 0.07～0.30% であった。

ラット及びカニクイザルにおける *in vivo* 代謝試験の結果から、経口投与後の血漿中の代謝物プロファイルは皮下投与後の血漿中の代謝物プロファイルと同様であることが示唆された。

カニクイザルにおける排泄試験の結果から、投与経路に関わらず尿及び糞がセマグルチドの排泄経路であることが示された。

2.6.4.2 測定法

2.6.4.2.1 生体試料中セマグルチド濃度測定法

非臨床試験では、経口投与後のセマグルチドの血漿中濃度を、蛍光酸素チャネリング免疫測定〔LOCI (AlphaLISA)〕法又は液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法の 2 種類のバリデートされた測定法のいずれかを用いて測定した。これらの測定法は皮下投与セマグルチドで使用した測定法と同一である [M1.13.1 オゼンピック皮下注 2mg (以下、オゼンピック) 申請資料]。各測定法で報告されるセマグルチド濃度の整合性を担保するため、測定法バリデーションの一環として、免疫測定法を基盤とした測定法 (LOCI 法) の測定結果とクロマトグラフィーを基盤とした測定法 (LC-MS/MS 法) の測定結果を比較した。当初、サルを用いた予備試験で得られたすべての血漿試料は LOCI 法により測定されたが、その後、LC-MS/MS 法で再測定 (クロスバリデーション) が行われた (M 1.13.1 オゼンピック申請資料)。この比較の結果、2 つの測定法の結果が同等であることが確認された。各試験で用いられた測定法の概要を [表 2.6.4-1](#) に示す。

表 2.6.4-1 非臨床試験における生体試料中セマグルチド濃度測定法

Study ID	Study	Species	Matrix	Validation Study ID	Assay Platform
208301	DRF	Rat	K ₂ EDTA plasma	209097	LOCI
208300	6-week	Rat	K ₂ EDTA plasma	209097	LOCI
210196	26-week	Rat	K ₂ EDTA plasma	209302	LC-MS/MS
208302	DRF	Monkey	K ₂ EDTA plasma	207416	LOCI
209153	6-week	Monkey	K ₂ EDTA plasma	207416	LOCI
209428	17-week	Monkey	K ₂ EDTA plasma	207416	LOCI

Validation Study: Evaluated in s.c. administered semaglutide as Ozempic registration file

免疫測定法を基盤とした測定法に性能上の問題が生じたため、開発段階で測定法を変更した。当初は LOCI 法を用いていたが、LOCI 法では経時的に血漿マトリックスによる干渉の影響と希釈直線性の問題が生じた。そのため測定法を、マトリックスによる干渉の影響を受けないことが示された LC-MS/MS 法に変更した。

すべての非臨床試験において用いられた測定法は、Novo Nordisk A/S において、真度、精度、選択性、感度、再現性及び安定性に関する現行の生体試料中薬物濃度測定法ガイドライン^{1,2}に準拠して開発され、バリデートされた。バリデート済みの測定法の概要を表 2.6.4-3 に、血漿中の安定性に関するデータの概要を表 2.6.4-4 に示す。比較のために、ヒトにおける測定法パラメータを含めた。ヒトにおける測定法の詳細については、M 2.7.1 生物薬剤学及び関連する分析法の概要を参照のこと。

2.6.4.2.1.1 LOCI

簡潔にいえば、LOCI 法とは、ユーロピウムでコートされたアクセプタービーズ及びストレプトアビジンをコートしたドナービーズの 2 種類のビーズの近接に基づくホモジニアスな近接アッセイ (homogeneous proximity assay) である。セマグルチドに対する特異的抗体 (GLPb-7F1) をアクセプタービーズに結合させることにより、特異性を持った試薬とした。ストレプトアビジンをコートしたドナービーズは非特異的である。ビオチン化抗セマグルチド抗体 (GLP162-3F15) を添加して抗体サンドイッチ (immuno-sandwich) を形成させる。レーザー励起によりアクセプタービーズで化学発光シグナルが生じると、これによりドナービーズから放出される蛍光シグナルがさらに活性化される。このシグナルを Envision® リーダーで読み取る。未知試料、検量線試料及び QC 検体は、K₂エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 加血漿として採取又は調製され、各 2 回測定した。血漿試料中濃度は重みづけロジスティックフィッティング (weighted logistic fitting) を用いて算出された。

ラット及びサルから採取した K₂EDTA 加血漿を用いて、LOCI 法をバリデートした (表 2.6.4-3)。

2.6.4.2.1.2 LC-MS/MS

血漿中セマグルチドは、血漿タンパク質を沈殿除去した血漿を用いて LC-MS/MS 法（エレクトロスプレーイオン化、Positive MRM モード、 $m/z: 1029.5 \rightarrow 136.3$ ）により測定した。 $m/z 1029.5$ の 4、4 値の荷電分子イオンとそのフラグメントである $m/z 136.3$ が最も信号強度が強く、選択的なイオンであったため、定量に用いることとした。セマグルチドの構造類似体 (NNC0113-0000-0679) 又は安定同位体標識類似体 (NNC0113-0000-4168) を内部標準物質（それぞれ、 $m/z: 1106.6 \rightarrow 123.2$ 及び $m/z: 1033.5 \rightarrow 136.3$ ）として用いた（表 2.6.4-2）。未知試料、検量線用試料及び QC 検体を、K₂EDTA 加血漿として採取又は調製した。血漿試料中の濃度は、重み付け直線回帰フィッティング（weighted linear regression fitting, 1/x）を用いて算出した。

ラット及びサルから採取した K₂EDTA 加血漿を用いて、LC-MS/MS 法をバリデートした（表 2.6.4-3）。

表 2.6.4-2 LC-MS/MS 法で用いたセマグルチド及び内部標準物質

Name	NN Compound ID	Chemical Formula and Molecular Weight
Semaglutide	NNC0113-0000-0217	C ₁₈₇ H ₂₉₁ N ₄₅ O ₅₉ – Mw: 4113.7 g/mol
Assay internal standard	NNC0113-0000-0679	C ₂₀₃ H ₃₁₈ N ₄₈ O ₆₂ – Mw: 4423.1 g/mol
Structure Analogue		
Assay internal standard	NNC0113-0000-4168	¹³ C ₁₄ C ₁₇₃ H ₂₉₁ ¹⁵ N ₂ N ₄₃ O ₅₉ – Mw: 4129.4 g/mol
Stable Isotope Labelled (SIL)		

2.6.4.2.1.3 測定パラメータ

バリデートされた測定法の定量下限 (LLOQ) 及び測定範囲を表 2.6.4-3 に示す。LOCI 法と LC-MS/MS 法のバリデーションはいずれも、試験実施施設で手順と現行ガイドラインに準拠し、関連する非臨床試験で用いた動物種の血漿及びヒトの血漿と尿を用いて実施された¹²。実試料の再現性 (ISR) は、LOCI 法と LC-MS/MS 法とともにラットとサルの血漿で検討された。ISR は許容限度内であった。各動物種におけるセマグルチドの血漿中での長期安定性を表 2.6.4-4 に示す。

表 2.6.4-3 非臨床及び臨床試験におけるセマグルチド測定バリデーション

Species	Matrix	Assay type	LLOQ (nmol/L)	Range (nmol/L)	Validation Study ID	Laboratory
Rat	K ₂ EDTA plasma	LOCI	1.00	1.00 - 35.0	209097 ⁱ	Novo Nordisk
Rat ^a	K ₂ EDTA plasma	LOCI	1.00	1.00 - 35.0	M 4.2.2.1-A-1, 209405	Novo Nordisk
Rat	K ₂ EDTA plasma	LC-MS/MS	4.86	4.86 - 912	209302 ⁱ	Novo Nordisk
Rat ^a	K ₂ EDTA plasma	LC-MS/MS	4.86	4.86 - 912	209447 ⁱ	Novo Nordisk
Monkey	K ₂ EDTA plasma	LOCI	1.00	1.00-100	207416 ⁱ	Novo Nordisk
Monkey ^a	K ₂ EDTA plasma	LOCI	1.00	1.00-100	M 4.2.2.1-A-2, 209406	Novo Nordisk
Monkey ^b	K ₂ EDTA plasma	LC-MS/MS	4.86	4.86 - 912	209219 and 209285 ⁱ	Novo Nordisk
Monkey ^a	K ₂ EDTA plasma	LC-MS/MS	4.86	4.86 - 912	209446 ⁱ	Novo Nordisk
Human	EDTA plasma	LOCI	0.500	0.500 - 50.0	207163 ⁱ	Novo Nordisk
Human ^a	EDTA plasma	LOCI	0.500	0.500 - 50.0	M 5.3.1.4, 210190	Novo Nordisk
Human	K ₃ EDTA plasma	LC-MS/MS	1.94	1.94 - 194	AA91659 ⁱ	[REDACTED]
Human ^{c, d, e}	K ₃ EDTA plasma	LC-MS/MS	0.729	0.729 - 60.8	AA95860, CA11388 and ZZ44775 ⁱ	[REDACTED]
Human ^f	K ₃ EDTA plasma/ Urine	LC-MS/MS	0.729	0.729 - 60.8	M 5.3.1.4, CA23034	[REDACTED]
Human ^g	K ₃ EDTA plasma	LC-MS/MS	0.729	0.729 - 60.8	M 5.3.1.4, CA24615	[REDACTED]
Human ^h	Urine	LC-MS/MS	0.729	0.729 - 60.8	CA11773 ⁱ	[REDACTED]

a: ISR

b: LOCI and LC-MS/MS assays in monkey plasma were cross-validated in study No. 209285

c: The sensitivity of the human assay (Study AA91659) was increased and the assay re-validated (Study AA95860).

d: The assay (Study AA95860) was partially re-validated including a stable labelled Internal Standard (Study CA11388)

e: Automated sample preparation added to validation (Study ZZ44775)

f: Recovery estimation

g: Selectivity co-administered drugs

h: Corrected for addition of Triton X-100 the assay range is 0.810 - 67.5 nmol/L urine

i: Evaluated in s.c. administered semaglutide as Ozempic registration file

表 2.6.4-4 非臨床試料及び臨床検体中のセマグルチドの長期安定性

Species	Matrix	Assay	Storage stability	Storage temperature	Study ID	Laboratory
Rat	K ₂ EDTA plasma	LOCI	4 months	-20°C	209056 ^d	Novo Nordisk
Rat	K ₂ EDTA plasma	LOCI	4 months	-80°C	209056 ^d	Novo Nordisk
Rat	K ₂ EDTA plasma	LC-MS/MS	24 months	-20°C	209437 ^d	Novo Nordisk
Monkey	K ₂ EDTA plasma	LOCI	7 months	-20°C	208395 ^d	Novo Nordisk
Monkey	K ₂ EDTA plasma	LOCI	12 months	-80°C	208395 ^d	Novo Nordisk
Monkey	K ₂ EDTA plasma	LC-MS/MS	28 months	-20°C	209436 ^d	Novo Nordisk
Human	EDTA plasma	LOCI	12 months	-20°C	209082 ^d	Novo Nordisk
Human ^a	K ₃ EDTA plasma	LC-MS/MS	582 days (19 months)	-20°C	AA95112 ^d	[REDACTED]
Human ^{b, c}	K ₃ EDTA plasma	LC-MS/MS	1021 days (33 months)	-20°C	CA17145 ^d	[REDACTED]
Human	Urine	LC-MS/MS	225 days (7 months)	-20°C	CA11773 ^d	[REDACTED]

a: Assay range 1.94 – 194 nmol/L

b: Assay range 0.729 – 60.8 nmol/L

c: Initially stability was tested in AA95860, extended stability was tested in CA17145

d: validation report evaluated in s.c. administered semaglutide as Ozempic registration file

2.6.4.2.2 抗セマグルチド抗体分析

反復投与毒性試験における抗セマグルチド抗体の検出は、スクリーニング分析用抗体放射免疫測定法（RIA）を用いて実施した。本測定法は、皮下投与セマグルチド（オゼンピック）申請資料（M1.13.1）で使用された方法と同一の方法である。本測定法関連のある white paper^{3,4}に準拠し、ラット及びサル血清についてバリデートされている。確認された抗体陽性試料は、その後、スクリーニング測定用 RIA によりヒト GLP-1 との交叉反応性を測定した。

2.6.4.2.2.1 スクリーニング分析

QC 試料を含む、すべての血清試料を ¹²⁵I 標識セマグルチドとともにインキュベーションした。一晩インキュベーション後、抗体に結合した放射標識セマグルチドをポリエチレングリコールで沈降させ、沈殿物中の放射能を測定した。カットポイントは、抗体陰性の投与前試料に基づく 95% 又は 99% 信頼区間により決定した。カットポイントを上回った試料には確定分析を行い、過剰量の非標識セマグルチドの非存在下（シリーズ A）又は存在下（シリーズ B）で試料を再分析した。シリーズ A の分析結果が分析法特異的なカットポイントを上回り、かつシリーズ B の分析結果がシリーズ A の分析結果と比較して十分に阻害された場合に、その試料は抗体陽性と認められた。抗体陽性試料における内因性 GLP-1 に対する交叉反応性は、非標識セマグルチドではなく非標識 GLP-1 を添加した試料（シリーズ

C) を用いたことを除き、確認用分析と同じ方法を用いて評価した。結果は、非標識セマグルチドの非存在下で添加された全放射能 (T) に対する結合した放射能 (B) の比率 (%) として示された。

本分析法では、抗体を含まない試料 (QC neg) とセマグルチドと反応する mAb を添加した 3 種類の陽性対照 QC 試料 (QC low : 各動物種血清中に GLIP-C1 F27 を 0.1 µg/mL 含有する) 、QC medium : ヒト血清中に GLIP-C1 F27 を 1 µg/mL 含有する及び QC high : ヒト血清中に GLIP-C1 F27 を 2.5 µg/mL 含有する) から成る、4 濃度の QC 試料を使用した。バリデーションパラメータ及びバリデーション結果 (207146、オゼンピック申請資料) の一覧を表 2.6.4-5 に示す。

表 2.6.4-5 抗体スクリーニング分析、バリデーションパラメータ及び結果

Parameter	Level	Rat ^d	Monkey ^d
MRD		1/10	1/10
Intra assay Precision	QC Neg ^a	6.7 %CV	6.7 %CV
	QC Low	5.3 %CV	9.1 %CV
	QC Medium ^a	10.6 %CV	10.6 %CV
	QC High ^a	4.8 %CV	4.8 %CV
Inter assay Precision	QC Neg ^a	18.3 %CV	18.3 %CV
	QC Low	10.6 %CV	15.4 %CV
	QC Medium ^a	10.7 %CV	10.7 %CV
	QC High ^a	5.8 %CV	5.8 %CV
Validation assay specific cut point calculated as		Mean Negative control × normalisation factor ^b	
Specificity and cross reactivity cut point at 99% confidence level	Difference between a sample with and without 5 µg/mL semaglutide or human GLP-1	A - B ≥ 1.96×√2×SD ^c	
Recovery	150 ng/mL antibody	Above cut point	Above cut point
Haemolysis	Grade 1-4	No effect	No effect
Sensitivity	No semaglutide	31 ng/mL antibody	16 ng/mL antibody
	5 nmol/L semaglutide	< 120 ng/mL antibody	< 120 ng/mL antibody
	50 nmol/L semaglutide	< 1100 ng/mL antibody	< 1100 ng/mL antibody
	500 nmol/L semglutide	< 3300 ng/mL antibody	< 3300 ng/mL antibody
Drift	First and last in assay	No drift	No drift

Abbreviation: MRD: Minimum required dilution.

a: QC neg, QC medium and QC high are all made in human serum. Only QC low is in species specific serum.

b: Assay cut point determined based on 10 specie-specific sera.

c: Mean SD of medium and high QC samples = 4.2.

d: validation report evaluated in s.c. administered semaglutide as Ozempic registration file

2.6.4.3 吸收

臨床投与経路である経口投与後のセマグルチドのPKを評価した。これに加えて、サルでは静脈投与及び皮下投与後のPKも検討した。

2.6.4.3.1 単回投与後の吸收

単回経口及び単回静脈投与後の主要なPKパラメータの一覧を表2.6.4-6に示す。セマグルチドの単回経口投与後の最高血漿中濃度到達時間(t_{max})の中央値は、ラット及びサルでそれぞれ2時間及び4時間であり、この値はヒトの t_{max} と同様であった。経口投与した全ての動物種における曝露量には、皮下投与及び静脈投与と比べて大きな個体差が認められた。ラット及びサルにおける曝露量は用量に伴って増大し、PKの明らかな性差は認められなかった。ラットよりも高い曝露量(用量正規化 AUC_{0-24h})がサルにおいて認められた。

表 2.6.4-6 用量正規化(1 mg/kg/日) セマグルチドの平均PKパラメータの動物種間比較

Species	oral administration (steady state)						i.v. administration (single dose)		
	C_{max} (nmol/L)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-24h)}$ (h×nmol/L)	C_{avg} (nmol/L)	$t_{1/2}$ (h)	F (%)	CL (L/h/kg)	V_z (L/kg)	$t_{1/2}$ (h)
Rat	8.6	2	39	1.6	6.5	-	-	-	-
Monkey	12.0	4	220	9.1	60	0.16	0.0022	0.18	54
Human	104	1.5	2215	92.3	145	~1	0.0004	0.08	137

Data from studies: Rat: 208300, 208301 (both studies group 3 and 4), 210196. Monkey: 208302, 209157, 209115 (i.v. data incl. F). Human (PK values BW normalised): Phase 3a modelling report (M 5.3.3.5), NN9535-3687 (i.v. data). C_{max} , AUC_{0-24h} , C_{avg} and F are mean values, $t_{1/2}$ and t_{max} are median values.

サルにセマグルチドを静脈投与した後の血漿中濃度は2相性の減少を示した(図2.6.4-1)。第1相は循環血外への分布を示し、第2相の終末相は循環血中からの消失を示す。分布容積(V_z)は、サルの細胞外液の水分量にほぼ一致する0.18 L/kgであり、このことから、セマグルチドはアルブミンと同程度に血漿及び末梢組織への分布が裏付けられた⁵。サルにおける $t_{1/2}$ は経口及び静脈投与後で同様であり(それぞれ48時間及び54時間)、このことから、胃での吸収速度は消失速度の律速とならないこと、また半減期延長の主要なメカニズムはセマグルチドの血清アルブミンへの結合と考えられることが示された。同様の情報がヒトでも得られており、ヒトにおける経口及び静脈投与後の $t_{1/2}$ はそれぞれ145時間及び137時間であった(表2.6.4-6)。サルにおける絶対的経口バイオアベイラビリティは0.07～0.30%と推定された(M2.6.5.3.B、209115)。

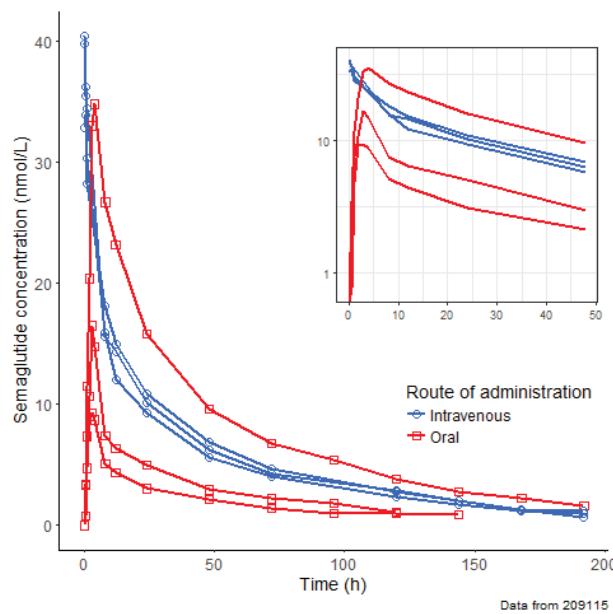


図 2.6.4-1 サルにおける静脈及び経口投与後のセマグルチドの血漿中濃度

カニクイザルを用いた最大耐量（MTD）試験において、経口投与後のセマグルチドの PK は評価し、皮下投与に対する相対的経口バイオアベイラビリティを決定した（M2.6.5.3.A、208302）。雌雄各 2 匹のサルに対し、0.01 mg/kg の用量で皮下投与した後、14 日間の間隔において 31 mg の固定用量（カプセル）を経口投与した。相対的経口バイオアベイラビリティは、平均で 0.09~4.04% と推定された。経口投与時における動物間の血漿中濃度には、皮下投与時よりも大きな個体差が認められた。経口投与後の平均 t_{max} は 4 時間、皮下投与後では 24 時間であった。

2.6.4.3.2 反復投与試験

ラット（M2.6.5.4.B/208300、M2.6.5.4.A/208301、M2.6.5.4.C/210196）及びカニクイザル（M2.6.5.4.D/208302、M2.6.5.4.E/209153）を用いた反復投与毒性試験で、セマグルチドの反復経口投与後の PK を検討した。

高用量での忍容性を高める目的で、ラット及びサルに対して用量漸増期を設定した。目標用量の初回投与日及び最終投与日に血液を採取したが、用量漸増期には概して血液を採取しなかった。したがって、全体的に各用量における実際の累積係数はほとんど決定できなかった。経口投与による用量範囲設定（DRF）試験（M2.6.5.4.A、208301）において、雌雄 Sprague-Dawley 系ラットに 6.67、33.3 及び 66.7 mg/kg の用量でセマグルチド溶液を 1 日 1 回強制経口投与し、PK を決定した。高用量側の 2 用量が投与された全動物で曝露が確認されたのに対して、低用量が投与された動物では一部のみに曝露が確認された。全身曝露量は用量に伴って増大したが、2 週間の反復投与後の曝露量は単回投与時よりも低かった。本試験では PK パラメータの明確な性差は示されなかった。

ラットを用いた反復投与毒性試験として、雌雄 Sprague Dawley 系ラットにセマグルチドをそれぞれ、6.67、33.3 及び 66.7 mg/kg の各用量を 6 週間ならびに 6、20 及び 60 mg/kg の用量で 26 週間 1 日 1 回強制経口投与した 2 試験が実施された (M2.6.5.4.B、208300 及び M2.6.5.4 C、210196)。2 試験ともにセマグルチドへの曝露は全動物では確認されなかったが、用量の増大に伴い曝露が認められた動物数が増加した。本試験では、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} で評価した曝露量は用量比を上回って増大し、用量依存性が確認された。 t_{max} は投与後 2~12 時間に認められた。雌雄差に関して結論は得られなかった。さらに、2 試験ともに抗セマグルチド抗体が認められなかったことから、6 週間投与試験 (208300) で最も顕著であった反復投与後の曝露量減少は吸収の個体差で説明できると考えられた。反復投与後に累積が認められなかった又は軽度の累積のみが認められ、累積係数は約 1 であった。6 週間投与試験における平均 $t_{1/2}$ は 4.3~26 時間と推定された。

サルを用いた経口 MTD 試験 (M2.6.5.4.E、208302) において、雌雄サルにセマグルチド (カプセル) 10.69、15.63 及び 31.26 mg/頭/日の用量で 1 日 1 回経口投与し、セマグルチドの PK を決定した。固定用量投与期ではサルに 31.26 mg/頭/日の用量でセマグルチドを 1 日 1 回 14 日間投与した。 t_{max} は大部分が投与 4 時間後に観察され、検討した用量においては、セマグルチドの用量と血漿中曝露量との間に明らかな関係は認められなかった。累積比の観察値 (Rac_{obs}) の平均値は 1.4~3.0 であったことから、半減期と投与頻度に応じてセマグルチドはある程度累積することが示された。

6 週間投与毒性試験 (M2.6.5.4.F、209153) では、雌雄サルに 5 又は 10 mg/kg の用量 (カプセル) を 1 日 1 回経口投与した。PK データから投与した全動物における全身曝露が確認された。 t_{max} は大半の動物で 2~8 時間であった。 C_{max} と AUC_{0-24h} は雌雄共に用量の増加に伴って増大した。雄ではほぼ用量に比例した増大が、雌では用量比を上回る増大が認められた。動物は最初の 1 週間を用量漸増期としてセマグルチドに曝露されたため、真の累積について検討できなかった。しかし、 Rac_{obs} は 0.147~12.4 であった。回復期の動物における推定 $t_{1/2}$ は 39.7~64.5 時間であった。PK パラメータの明らかな性差は認められなかった。

表 2.6.4-7 セマグルチドの反復経口投与時の PK パラメータ

Species	Dose (mg/kg)	Animal no./group	Week	C_{max} (nmol/L)		AUC_{0-24h} (h nmol/L)		t_{max} (h)	
				Male	Female	Male	Female	Male	Female
Rats ^a	6	20	1	NC	6.01	NC	53.7	NC	6
		20	26	NC	9.37	NC	86.0	NC	6
	20	20	1	28.8	22.8	316	155	2	2
		20	26	1500	60.6	3170	333	2	2
	60	20	1	234	537	2650	5540	2	12
		20	26	383	288	3140	4250	2	12

Species	Dose	Animal	Week	C _{max} (nmol/L)	AUC _{0-24h} (h nmol/L)	t _{max} (h)
Monkey ^b	5	6	1	57.1 ± 40.8	33.4 ± 40.8	979 ± 698 607 ± 744
		6	6	64.5 ± 63.5	25.4 ± 21.9	1180 ± 1090
	10	6	1	102 ± 55.5	267 ± 361 ±1060	1540 3580 ± 4680
		6		160 ± 151	281 ± 232	2870 ± 2740
					5150 ± 4470	3.0 ± 1.1 2.0 ± 1.3

a: Composite mean based on mean plasma concentration at sampling time point.

b: Mean ± SD

NC: Not calculated.

2.6.4.4 分布

オゼンピックの申請資料においてセマグルチドの分布を評価した。これらの試験で、セマグルチドのタンパク質結合率は検討したいずれの動物種でも99%超であり、皮下投与後、時間の経過とともに大部分の組織に分布し、血液及び肺、腎、歯髄及び子宮など血流量の高い組織での分布が最も高かった。この分布パターンはアルブミンの分布パターンと同様であった。経口投与により、セマグルチドの分布が変化することはないと考えられたため、経口投与したセマグルチドに関する追加の*in vivo* 組織分布試験は実施しなかった。

2.6.4.5 代謝

脂肪酸側鎖をトリチウム (³H) 標識したセマグルチドを経口投与し、セマグルチドの代謝について検討した（図 2.6.4-2）。

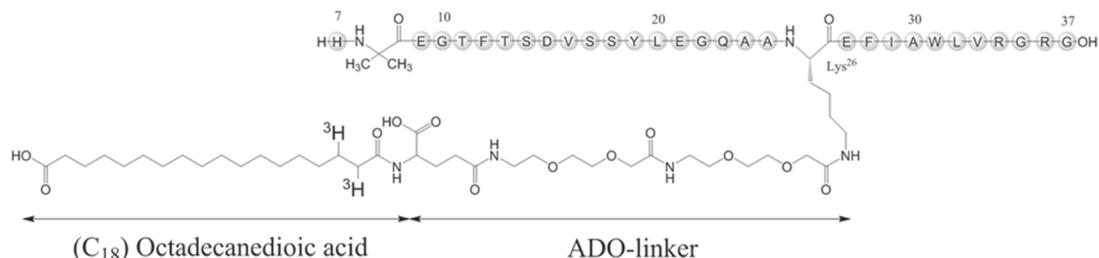


図 2.6.4-2 ³H-Oct-セマグルチドの構造

2.6.4.5.1 ラット及びサルにおける *in vivo* 血漿中代謝物プロファイル

セマグルチドを単回経口投与した雄性 Sprague Dawley 系ラットで血漿中代謝物プロファイルを検討した。[³H]Oct-セマグルチド 1.65 mg (21 MBq/kg) 及び SNAC 50 mg を含有する液剤 (M2.6.5.9.A、209157) 又は [³H]Oct-セマグルチド 1 mg (189 MBq/kg) 及び SNAC 30 mg を含有する錠剤 (M2.6.5.9.B、209112) のいずれかをラットに投与した。トリチウム水、親化合物及び 3 種類の代謝物から成る 5 成分が、血漿中に認められた。代謝物のうち 2 種は（クロマトグラム上の保持時間に基づき）セマグルチドとの関連性が高く、残り 1 種の代謝物は親化合物よりも疎水性が高かった（表 2.6.4-8）。液剤又は錠剤投与後の血漿中代謝物プロファイルは同様であった。

単回経口投与した雄性カニクイザルで血漿中代謝物プロファイルを検討した。[³H]Oct-セマグルチド 15 mg (4.5 MBq/kg) 及び SNAC 450 mg を含有する錠剤をサルに経口投与した (M2.6.5.9.C、209323)。サルに経口投与したときの代謝物プロファイルでは、トリチウム水、親化合物及び比較的疎水性の高い代謝物からなる 3 種類のピークが示された（表 2.6.4-8）。

表 2.6.4-8 経口及び皮下投与後のセマグルチドの血漿中代謝物プロファイル

Species	Route of administration	Study ID	Relative retention time (to semaglutide)					
			0.08-0.09 ^a	0.91-0.95	0.96-0.99	1.00 ^b	1.02-1.1	1.43-1.61
Rat	Oral (solution)	209157	✓		✓	✓		✓
Rat	Oral (tablet)	209112	✓		✓	✓		✓
Rat	s.c.	207347 ^c	✓	✓	✓	✓		✓
Monkey	Oral (tablet)	209323	✓			✓		✓
Monkey	s.c.	209041 ^c	✓		✓	✓	✓	✓

a: Tritiated water (³H-H₂O)

b: Semaglutide

c: Studies evaluated in s.c. administered semaglutide as the Ozempic registration file

2.6.4.6 排泄

雄性サルに [³H]Oct-セマグルチド 0.01 mg/kg の単回静脈投与時、又は用量 4.5 mg/kg の [³H]Oct-セマグルチド錠剤を経口投与時のセマグルチドの排泄を検討した。

表 2.6.4-9 [³H]Oct-セマグルチド関連物質の排泄 (%用量)

Species	Monkey oral	Monkey i.v.
Route of administration		
Dose (mg/kg)	4.5 (15.2 MBq/kg)	0.01 (3.8 MBq/kg)
Urine (%)	14.8	20.1
Faeces (%)	48.0	12.5
Other ^a	1.8	3.6
Total recovery (%) ^b	64.6	36.2

a: cage-wash, cage debris and swabs

b: Collected 0-192 h post-dose

静脈投与後 192 時間の回収時間における総回収率は 36.2% であった (表 2.6.4-9)。検討時間中にセマグルチド関連物質は尿中及び糞中の両方に排泄されたことから、尿及び糞がセマグルチドの排泄経路であることが示唆された。静脈投与後に糞中に放射能が認められたことから、胆汁中排泄が示された。

経口投与後の放射能の総回収率が 64.6% であり、セマグルチド関連物質がより急速に、主として糞中に排泄されることを反映したものと考えられた (表 2.6.4-9)。

2.6.4.7 薬物動態学的相互作用

オゼンピックの申請資料においてセマグルチドの薬物動態学的薬物相互作用を評価した (M1.13.1)。CYP の誘導及び阻害作用ならびにトランスポーターの阻害作用に及ぼすセマグルチドの影響を検討したが、セマグルチドに関して薬物動態学的相互作用が生じる可能性は示されなかった。セマグルチドの薬物動態学的相互作用の特性は十分に評価されていると考えられたため、追加の試験は実施しなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

単回及び反復投与試験から、セマグルチドの PK に関する十分な特性評価が行われたと判断した。したがって、追加の PK 試験は実施しなかった。

2.6.4.9 考察及び結論

すべてのセマグルチド投与群のラット及びサルから採取した血液で血漿中セマグルチド濃度が定量可能であったことから、経口投与後のセマグルチドの全身曝露が示された。経口投与した動物間の血漿中曝露量には、皮下及び静脈内投与時よりも大きな個体差が認められた。すなわち、全身曝露量の個体差には吸収率の差が関係していると考えられる⁶。C_{max} 及び AUC_{0-24h} で評価した曝露量は用量に伴って増大し、PK パラメータの明らかな性差は認められなかった。ラットにおける投与 2~26 週間後の蓄積係数は約 1 であった。サルにおける投与 6 週間後の累積係数には 0.15~12 と大きな個体差がみられた。これは吸収率の個体差による可能性が最も高いと考えられた。推定 t_{1/2} はラットで最も短く（4.3~26 時間）、サルでは 40~65 時間であった。サルに錠剤を投与したときの絶対的経口バイオアベイラビリティは平均 0.07~0.30% であり、カプセル剤投与時の皮下投与時と比較した相対的経口バイオアベイラビリティは 0.09~4.04% であった。

以前に実施された皮下投与試験において、セマグルチドは、ペプチド骨格のタンパク質分解による切断及び脂肪酸側鎖の連続的 β 酸化によって代謝されること、ならびに代謝は特定の臓器に限定されないことが示されている⁷。また、ヒトにおけるセマグルチドの代謝物プロファイルは、検討した非臨床試験の動物種と同様と考えられた⁷。

ラットとサルで経口投与時のセマグルチドの血漿中代謝物プロファイルは皮下投与時と比較して同等であった。経口投与後の血漿についてクロマトグラム上で認められたピークの数は少なかったものの、観察されたピークの保持時間は皮下投与後の血漿と同じ保持時間に確認された。したがって、ラット及びサルにおける経口投与後の血漿中代謝物プロファイルは、皮下投与後のプロファイルと同様であり、セマグルチドの代謝経路は投与経路に依存しないと結論された。

カニクイザルにおける排泄試験の結果から、静脈及び経口投与後の総放射能の消失は緩徐であるが、尿及び糞がともにセマグルチドの排泄経路であることが示された。静脈投与後に糞中に放射能が認められたことから、セマグルチドは一部が胆汁中に排泄されることが示されたが、この結果はセマグルチドを皮下投与したラットでも認められている。

参考文献

- ¹ FDA. Guidance to Industry. Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Veterinary Medicine (CVM). May 2001.
- ² EMA. Guideline on Bioanalytical Method Validation. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). EMEA/CHMP/EWP/192217/2009, February 2012.
- ³ Mire-Sluis AR, Barrett YC, Devanarayan V, Koren E, Liu H, Maia M, et al. Recommendations for the design and optimization of immunoassays used in the detection of host antibodies against biotechnology products. *J Immunol Methods*. 2004;289(1-2):1-16.
- ⁴ Shankar G, Devanarayan V, Amaravadi L, Barrett YC, Bowsher R, Finco-Kent D, et al. Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products. *J Pharm Biomed Anal*. 2008;48(5):1267-81.
- ⁵ Diao L, Meibohm B. Pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic correlations of therapeutic peptides. *Clin Pharmacokinet*. 2013;52(10):855-68.
- ⁶ Hellriegel ET, Bjornsson TD, Hauck WW. Interpatient variability in bioavailability is related to the extent of absorption: implications for bioavailability and bioequivalence studies. *Clin Pharmacol Ther*. 1996;60(6):601-7.
- ⁷ Jensen L, Helleberg H, Roffel A, van Lier JJ, Bjørnsdottir I, Pedersen PJ, et al. Absorption, metabolism and excretion of the GLP-1 analogue semaglutide in humans and nonclinical species. *Eur J Pharm Sci*. 2017;104:31-41.

リベルサス錠 3mg
リベルサス錠 7mg
リベルサス錠 14mg

2.6.4.10 付録
サルカプロザートナトリウム
薬物動態試験の概要文

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	3
表目次	4
略語一覧	5
2.6.4.10.1 まとめ	9
2.6.4.10.2 測定法	11
2.6.4.10.2.1 生体試料中 SNAC 濃度測定法	13
2.6.4.10.2.1.1 Novo Nordisk A/S の測定法	13
2.6.4.10.2.1.2 Avantix Laboratories Inc. の測定法	13
2.6.4.10.2.1.3 AAI Deutschland GmbH & Co. KG の測定法	14
2.6.4.10.2.1.4 MDS Pharma Services Inc. (Blainville) の測定法	14
2.6.4.10.2.1.5 Gesellschaft für Therapeutische Forschung mbH (GTF) の測定法	14
2.6.4.10.2.1.6 MDS Pharma Services, Montreal の測定法	15
2.6.4.10.2.1.7 Elan Pharmaceutical Services の測定法	15
2.6.4.10.2.2 生体試料中 β 酸化代謝物 E494 及び E506 濃度測定法	15
2.6.4.10.2.2.1 Novo Nordisk A/S の測定法	15
2.6.4.10.2.3 生体試料中グルクロン酸抱合代謝物 E1245、E1246 及び E1247 の濃度測定法	16
2.6.4.10.2.3.1 Novo Nordisk A/S	16
2.6.4.10.3 吸収	21
2.6.4.10.3.1 単回投与	22
2.6.4.10.3.2 反復投与	23
2.6.4.10.4 分布	24
2.6.4.10.4.1 組織分布	25
2.6.4.10.4.2 胎盤通過	26
2.6.4.10.4.3 タンパク結合	26
2.6.4.10.5 代謝	27
2.6.4.10.5.1 <i>In vitro</i> 代謝	30
2.6.4.10.5.2 <i>In vivo</i> 代謝	30
2.6.4.10.6 排泄	35
2.6.4.10.6.1 尿中、胆汁中及び糞中への排泄	35
2.6.4.10.6.2 乳汁中への分泌	36
2.6.4.10.7 薬物動態学的相互作用	36

2.6.4.10.7.1	被相互作用薬評価.....	37
2.6.4.10.7.1.1	薬物代謝酵素.....	37
2.6.4.10.7.1.2	トランスポーター基質.....	38
2.6.4.10.7.1.3	裏付けとなる臨床試験.....	38
2.6.4.10.7.1.4	結論.....	39
2.6.4.10.7.2	相互作用薬評価.....	39
2.6.4.10.7.2.1	酵素阻害.....	40
2.6.4.10.7.2.2	酵素誘導.....	44
2.6.4.10.7.2.3	トランスポーター阻害.....	44
2.6.4.10.7.2.4	併用投与される経口薬に対する吸収促進作用.....	47
2.6.4.10.7.2.5	裏付けとなる臨床試験.....	47
2.6.4.10.7.2.6	結論.....	47
2.6.4.10.8	その他の薬物動態試験.....	48
2.6.4.10.9	考察及び結論	49
	参考文献.....	52

図目次

	ページ	
図 2.6.4.10-1	ラットにおける強制経口投与後の SNAC の平均総血漿中濃度	22
図 2.6.4.10-2	サルにおける急速静脈内投与後の血漿中 SNAC 濃度－時間プロファイル	23
図 2.6.4.10-3	用量正規化 AUC 及び用量の関係	24
図 2.6.4.10-4	¹⁴ C-SNAC (左) 及び ³ H-SNAC (右) の標識位置	25
図 2.6.4.10-5	ヒトにおける SNAC の推定代謝経路	29
図 2.6.4.10-6	遺伝子組換えヒト UGT 酵素による SNAC、E494 及び E506 のグルクロン酸抱合代謝物への変換	30

表目次

	ページ
表 2.6.4.10-1 薬物動態試験プログラム	9
表 2.6.4.10-2 生体試料中薬物濃度測定で用いた SNAC、SNAC 代謝物及び内部標準物質の名称及び化学構造	11
表 2.6.4.10-3 非臨床試験における生体試料中 SNAC 及び代謝物濃度測定法	16
表 2.6.4.10-4 非臨床及び臨床試験における SNAC の測定バリデーション	18
表 2.6.4.10-5 非臨床及び臨床試験における SNAC β 酸化代謝物の測定バリデーション	19
表 2.6.4.10-6 非臨床及び臨床試験における SNAC グルクロン酸抱合代謝物の測定バリデーション	20
表 2.6.4.10-7 非臨床試料及び臨床検体中の SNAC 及び代謝物の長期安定性	20
表 2.6.4.10-8 ヒト及び動物種で確認された ¹⁴ C-SNAC 由来の代謝物	32
表 2.6.4.10-9 ヒト、マウス及びラットにおける ¹⁴ C-SNAC の単回経口投与後の SNAC 及び代謝物の血漿中曝露量 (AUC)	34
表 2.6.4.10-10 ¹⁴ C-SNAC の単回経口投与後の SNAC 由来放射能の排泄率 (%用量)	35
表 2.6.4.10-11 SNAC 及び薬物間相互作用評価に関連する主要代謝物の臨床濃度	37
表 2.6.4.10-12 SNAC と代謝物のトランスポーター基質評価	38
表 2.6.4.10-13 被相互作用薬の評価を裏付ける臨床薬物相互作用試験の要約	38
表 2.6.4.10-14 SNAC 及び代謝物による CYP 酵素の阻害	41
表 2.6.4.10-15 SNAC による消化管 CYP3A4 の阻害	42
表 2.6.4.10-16 SNAC 及び代謝物による UGT 酵素の阻害	43
表 2.6.4.10-17 SNAC による腸 P-gp 及び BCRP の阻害	45
表 2.6.4.10-18 SNAC による肝 OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の阻害	46
表 2.6.4.10-19 SNAC 代謝物による肝 OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の阻害	46
表 2.6.4.10-20 SNAC 及び代謝物による腎 OAT1/3 及び OCT2、ならびに肝 BSEP 及び MRP2 の阻害	46
表 2.6.4.10-21 相互作用薬の評価を裏付ける臨床薬物間相互作用試験の要約	47

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 (血漿中濃度一時間曲線下面積)
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	β -hydroxy butyric acid (β -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 _{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 β -oxidisation metabolite (2 carbon less) [SNAC の β 酸化代謝物 (2炭素喪失型)]

E506	SNAC β-oxidisation metabolite (4 carbon less) [SNAC の β 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 ₅₀	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) [ニコチニアミドアデニジヌクリオチドリン酸 (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 _{app}	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 (单回投与)
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)
Tm	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)

2.6.4.10.1 まとめ

経口投与後のサルカプロザートナトリウム (SNAC) の薬物動態 (PK) 特性を、単回投与及び反復投与薬物動態試験、トキシコキネティクス、ならびに分布・代謝・排泄試験で検討した ([表 2.6.4.10-1](#))。

表 2.6.4.10-1 薬物動態試験プログラム

Study type and duration	Route of administration	Species
Single Dose Absorption		
	oral (gavage) i.v.	mouse, rat rat, monkey
Repeat Dose Absorption		
2 weeks	oral (gavage) and i.v.	rat, rabbit
13 weeks	oral (gavage)	mouse, rat
26 weeks	oral (gavage)	rat
39 weeks	oral (gavage)	monkey
52 weeks	oral (gavage)	rat
Distribution		
Tissue distribution	oral (gavage)	mouse, rat
Plasma protein binding (SNAC and metabolites)	<i>in vitro</i> assay	mouse, rat, rabbit, monkey, human
Blood-to-plasma concentration ratio (R_B)	<i>in vitro</i> assay	rat, human
Metabolism		
<i>In vitro</i> metabolite profiles	<i>in vitro</i> assay	rat, monkey and human
<i>In vitro</i> UGT metabolism (SNAC + metabolites)	<i>in vitro</i> assay	human
<i>In vivo</i> plasma metabolite profile	oral (gavage)	mouse, rat, monkey, human
Excretion		
Excretion – Urine and faeces	oral (gavage)	mouse, human
Excretion – Urine, bile, faeces and milk	oral (gavage)	rat
Drug-drug interaction		
CYP and UGT inhibition (SNAC + metabolites)	<i>in vitro</i> assay	human
Drug transporter inhibition (SNAC + metabolites)	<i>in vitro</i> assay	human
Transporter substrate (SNAC + metabolites)	<i>in vitro</i> assay	human
CYP induction	<i>in vitro</i> assay	human

すべての動物種で、SNAC は速やかに吸収され (t_{max} はマウス及びラットでは 2~5 分以内、サルでは若干遅い)、速やかに排出される [終末相血漿中消失半減期 ($t_{1/2}$) は全動物種で 1~3 時間]。SNAC を経口投与後の全身バイオアベイラビリティは、ラットで 5~16%、サルで 15% である。SNAC の最高

濃度 (C_{max}) 及び総曝露量 (AUC) には用量関連性がみられるが、 C_{max} は用量比に応じて増大した一方、AUC は概して用量比を超えて増大した。ヒトにおける SNAC の臨床用量は 300 mg である。1.2～3.6 g (SNAC 300 mg 錠 4、8 及び 12 錠) までの用量の試験では、AUC は用量に比例的に増大した (4247 試験)。マウス、ラット、サル及びヒトへの 1 日 1 回投与による明らかな累積は認められていない。

SNAC のヒト血漿タンパク質との結合は高く、遊離分画は 1.6～3.1% の範囲であり、主にアルブミンと結合する。動物における遊離分画はヒトよりも若干高かった。SNAC 及び SNAC 由来代謝物は、血流量の高い組織に分布し、胎盤関門を通過し、乳汁中に分泌される。組織中濃度は血漿中濃度とほぼ同程度であり、同様の速度で低下した。

代謝はマウス、ラット、サル及びヒトで検討された。動物及びヒトにおける SNAC 未変化体のクリアランスの大部分は代謝によるものであった。血漿中の全 SNAC 関連物質中に占める SNAC の割合は低く、尿中及び糞中に排泄される SNAC 未変化体はごくわずかであった。

動物及びヒトの双方において、SNAC は側鎖の連続的 β 酸化又はグルクロロン酸抱合のいずれかを介して速やかに代謝される。SNAC の β 酸化代謝物もグルクロロン酸と抱合する。SNAC からは、 β 酸化代謝物 (E494 と E506) ならびにグルクロロン酸抱合代謝物 (E1245、E1246 及び E1247) の 5 種の主要代謝物が生成される (図 2.6.4.10-5)。複数の UGT 酵素が、SNAC ならびに β 酸化代謝物である E494 及び E506 のグルクロロン酸抱合反応に関与している。ヒト血漿中で確認されている SNAC 代謝物はすべて動物においても生成される。

マウス、ラット及びヒトでは、経口投与後の ^{14}C -SNAC 由来放射能の大部分が尿中に速やかに排泄されるが、SNAC 未変化体の排泄量はごくわずか (1%未満) であった。糞中に回収された放射能は限定的なものであった。SNAC を経口投与後の全身バイオアベイラビリティが低いことも考慮すると、SNAC が消化管 (GI) からほぼ完全に吸収され、その後、広範な初回通過代謝を受けることが示された。

SNAC 透過性は高いことが *in vitro* 試験で示された。SNAC は排出トランスポーター BCRP の基質であり、SNAC の主要代謝物は BCRP、OAT1、OAT3 及び MRP2 の内、1 種以上のトランスポーターの基質であることが確認された。続いて実施した臨床薬物相互作用 (DDI) 試験 (4394 試験、M 5.3.3.4) では、SNAC の曝露量 (C_{max} 及び AUC) は、シクロスボリン (BCRP 典型阻害薬) 又はプロベネシド (OAT1 及び OAT3 典型阻害薬かつ広範な UGT 阻害薬) の併用投与による影響を受けないことが示された。

臨床的に意義のある血漿中濃度において、SNAC とその 5 種の主要代謝物はいずれもチトクローム P 450 (CYP) 及び UGT 酵素を阻害しない。さらに、300 mg の用量での投与後の消化管における推定

SNAC 濃度から、消化管中の CYP3A4/5 は阻害されないことが示された。*In vitro* 試験の結果から、SNAC はヒト CYP 誘導をしないことが示される。

同様に SNAC とその 5 種の主要代謝物はいずれも、ヒトの P-gp、BSEP、MRP2、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1 及び OCT2 トランスポーターを阻害しなかった。*In vitro* 試験では、SNAC が消化管の BCRP を阻害する可能性が示唆されたが、続いて実施した臨床薬物相互作用試験（4250 試験、M 5.3.3.4）では、ロスバスタチン（BCRP の典型基質）の薬物動態は SNAC の併用投与による影響を受けなかった。

以上より、これらの結果から、他の薬剤との併用時に SNAC が臨床的に意義のある薬物相互作用の被相互作用薬又は相互作用薬となる可能性は低い。

2.6.4.10.2 測定法

非臨床試験では、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて、SNAC 及び SNAC 代謝物の血漿中濃度を測定した。非臨床試験で用いた生体試料中薬物濃度測定法の概要をそれぞれ、[表 2.6.4.10-4](#)（SNAC）、[表 2.6.4.10-5](#)（SNAC の β 酸化代謝物）及び[表 2.6.4.10-6](#)（SNAC のグルクロン酸抱合代謝物）に示す。バリデーション報告書を M 4.2.2.1 に示す。化合物の名称及び化学構造の概要は[表 2.6.4.10-2](#)に、SNAC の代謝経路の概要は[図 2.6.4.10-5](#)に示す。各試験で用いた測定法の概要を[表 2.6.4.10-3](#)に示す。

測定法は、Novo Nordisk A/S、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]
[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]
[REDACTED] 及び [REDACTED] において、試験実施施設の手順と生体試料中薬物濃度測定法に関する現行のガイドライン^{1,2,3}に準拠して開発され、バリデートされた。バリデートされた測定法の概要を[表 2.6.4.10-4](#)、[表 2.6.4.10-5](#)及び[表 2.6.4.10-6](#)に、血漿中の安定性に関するデータの概要を[表 2.6.4.10-7](#)に示す。比較のために、ヒトにおける測定法パラメータを含めた。ヒトにおける測定法の詳細については、M 2.7.1（生物薬剤学及び関連する分析法）の概要を参照のこと。

表 2.6.4.10-2 生体試料中薬物濃度測定で用いた SNAC、SNAC 代謝物及び内部標準物質の名称及び化学構造

Name	NN Compound ID	Chemical Formula and Molecular Weight	Structure
SNAC (E414)	NNC0113-0000-3363	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄ Mw: 279.3 g/mol	

Name	NN Compound ID	Chemical Formula and Molecular Weight	Structure
Assay IS	NNC0113-0000-3341	C ₁₄ H ₁₈ O ₅ Mw: 250.3 g/mol	
Structure Analogue			
Assay IS	NNC0113-0000-4196	C ₁₅ H ₁₇ D ₄ NO ₄ Mw: 283.3 g/mol	
Stable Isotope Labelled			
Assay IS (E537)	N/A	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃ Mw: 277.4 g/mol	
Structure Analogue			
E494	NNC0113-0000-3706	C ₁₃ H ₁₇ NO ₄ Mw: 251.3 g/mol	
(SNAC β-oxidised metabolite)			
E506	NNC0113-0000-3708	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄ Mw: 223.2 g/mol	
(E494 β-oxidised metabolite)			
E1245	NNC0113-0000-3705	C ₂₁ H ₂₉ NO ₁₀ Mw: 455.5 g/mol	
(SNAC O-glucuronide metabolite)			
E1246	NNC0113-0000-3707	C ₁₉ H ₂₅ NO ₁₀ Mw: 427.4 g/mol	
(E494 O-glucuronide metabolite)			

Name	NN Compound ID	Chemical Formula and Molecular Weight	Structure
E1247 (E506 O-glucuronide metabolite)	NNC0113-0000-3709	C ₁₇ H ₂₁ NO ₁₀ Mw: 399.4 g/mol	

2.6.4.10.2.1 生体試料中 SNAC 濃度測定法

2.6.4.10.2.1.1 Novo Nordisk A/S の測定法

SNAC の測定は、K₂EDTA 加血漿を用いてインライン固相抽出 LC-MS/MS 法（エレクトロスプレーイオン化、Negative MRM モード、m/z: 278.1 → 118.1）により実施した。m/z 278.1 の 1 値分子イオン及びそのフラグメントである m/z 118.1 が最も信号強度が強く、選択的なイオンであったため、定量に用いることとした。SNAC の構造類似体（NNC0113-0000-3341）を内部標準物質（m/z: 249.0 → 135.0）として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 試料はそれぞれ K₂EDTA 加血漿として採取・調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング（weighted linear regression fitting, 1/x²）を用いて算出した。

バリデートされた測定法の定量下限（LLOQ）及び測定範囲を表 2.6.4.10-4 に示す。測定バリデーションはいずれも、試験実施施設の手順と現行ガイドラインに準拠して、マウス、ラット及びサルの K₂EDTA 加血漿を用いて実施した²³。マウスについては、測定バリデーションは、4 種の系統（BALB/C、C57BL6、rasH2 及び CD-1）のマウス血漿を用いて実施した。実試料の再現性（ISR）は、マウス（M 4.2.2.1-B-2、212479）、ラット（M 4.2.2.1-B-6、209175）及びサル（M 4.2.2.1-B-9、209174）の血漿で検討した。ISR は、いずれの動物種も許容限度内であった。各動物種における SNAC の血漿中の長期安定性は表 2.6.4.10-7 に示す通りであった。

2.6.4.10.2.1.2 [REDACTED] の測定法

SNAC の測定は、クエン酸ナトリウム加血漿を用いて、血漿タンパク質を沈殿除去後に LC-MS/MS 法（エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、m/z: 280.1 → 262.1）により実施した。SNAC の構造類似体（E537）を内部標準物質（IS）（エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、m/z: 278.0 → 119.1）として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 検体をそれぞれクエン酸ナトリウム加血漿として採取・調製した。血漿試料中の濃度は、ラット及びサル血漿については重みづけ 2 次回帰フィッ

ティング (weighted quadratic regression fitting, $1/x$) を、ヒト血漿については重みづけ直線回帰 (weighted linear regression, $1/x$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-4 に示す。測定バリデーションは、試験実施施設の手順と現行ガイドライン²に準拠して、ヒトのクエン酸ナトリウム加血漿及び部分的にラットとサルのクエン酸ナトリウム加血漿を用いて実施された。

2.6.4.10.2.1.3 [REDACTED] の測定法

SNAC の測定は、ヘパリンリチウム加血漿を用いて固相抽出 (SPE) 後、の LC-MS/MS 法 (エレクトロスプレーイオン化、Positive MRM モード) により実施した。LC-MS/MS 法による測定の前に、血漿試料をリン酸で希釈し、イオン交換 SPE により不純物を除去した。SNAC の構造類似体 (E537) を内部標準物質 (IS) として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 試料をヘパリンリチウム加血漿として採取・調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング (weighted linear regression fitting, $1/x^2$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-4 に示す。測定バリデーションは、試験実施施設の手順と現行ガイドライン²に準拠して、ラットのヘパリンリチウム加血漿を用いて実施された。

2.6.4.10.2.1.4 [REDACTED] の測定法

SNAC の測定は、クエン酸ナトリウム加血漿を用いて、血漿タンパク質を沈殿除去後に LC-MS/MS 法 (エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、m/z: 279.8 → 262.1) により実施した。SNAC の構造類似体 (E537) を内部標準物質 (IS) (エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、m/z: 277.9 → 119.2) として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 試料はそれぞれクエン酸ナトリウム加血漿を用いて採取・調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング (weighted linear regression fitting, $1/x$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-4 に示す。測定バリデーションは、試験実施施設の手順と現行ガイドラインに沿って、サルのクエン酸ナトリウム加血漿を用いて実施された²。SNAC のサル血漿中での長期安定性は表 2.6.4.10-7 に示す通りであった。

2.6.4.10.2.1.5 [REDACTED] の測定法

SNAC の測定は、クエン酸加血漿を用いて、血漿タンパク質を沈殿除去後に LC-MS/MS 法 (エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、m/z: 280 → 121) により実施した。SNAC の構造類似体 (E537) を内部標準物質 (IS) (エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、m/z: 278 → 119) として用いた。

未知の試料、検量線用試料及びQC検体をそれぞれクエン酸加血漿として採取・調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング (weighted linear regression fitting, $1/x$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-4 に示す。測定バリデーションは、試験実施施設の手順と現行ガイドライン¹に準拠して、サルのクエン酸加血漿を用いて実施された。

2.6.4.10.2.1.6 [REDACTED] の測定法

SNAC の測定は、ヘパリン加血漿を用いて血漿タンパク質を沈殿除去後に LC-MS/MS 法により実施した。SNAC の構造類似体 (E537) を内部標準物質 (IS) として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 試料をそれぞれヘパリン加血漿として採取・調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング (weighted linear regression fitting, $1/x^2$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-4 に示す。測定バリデーションは、試験実施施設の手順と現行ガイドライン²に沿って、マウスのヘパリン加血漿を用いて実施された。

2.6.4.10.2.1.7 [REDACTED] の測定法

SNAC の測定は、クエン酸ナトリウム加血漿を用いて、血漿タンパク質を沈殿除去後に LC-MS/MS 法 (エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、 $m/z: 280 \rightarrow 121$) により実施した。SNAC の構造類似体 (E537) を内部標準物質 (IS) (エレクトロスプレーイオン化、MRM モード、 $m/z: 278 \rightarrow 119$) として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 試料をそれぞれクエン酸ナトリウム加血漿として採取・調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング (weighted linear regression fitting, $1/x^2$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-4 に示す。測定バリデーションは、試験実施施設の手順と現行ガイドライン¹に準拠し、クエン酸ナトリウム加ヒト血漿を用いて実施され、またクエン酸ナトリウム加ウサギ血漿に対するクロスバリデーションが実施された。

2.6.4.10.2.2 生体試料中 β 酸化代謝物 E494 及び E506 濃度測定法

2.6.4.10.2.2.1 Novo Nordisk A/S の測定法

SNAC の β 酸化代謝物である E494 (NNC0113-0000-3706) 及び E506 (NNC0113-0000-3708) の測定は、K₂EDTA 加血漿を用いてインライン固相抽出・LC-MS/MS 法 (エレクトロスプレーイオン化、Negative MRM モード、E494 の $m/z: 250.0 \rightarrow 118.0$ 、E506 の $m/z: 222.0 \rightarrow 136.0$) により実施した。 m/z 250.0 と 222.0 の 1 倍分子イオンとそのフラグメントである m/z 118.0 と 136.0 が最も信号強度が強く、選択的なイオンであったため、定量に用いることとした。SNAC の構造類似体 (NNC0113-0000-3341) を内部標準物質 ($m/z: 249.0 \rightarrow 135.0$) として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 試料をそれぞれ

K_2EDTA 加血漿として採取・調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング (weighted linear regression fitting, $1/x^2$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-5 に示す。測定バリデーションはいずれも、試験実施施設の手順と現行ガイドライン^{2,3}に準拠して、ラット及びマウスの K_2EDTA 加血漿を用いて実施された。実試料の再現性 (ISR) は、マウス (M 4.2.3.7.3-B-7, JLY0557) 及びラット (M 4.2.3.7.3-B-12, JLY0517) の血漿で検討した。各動物種における SNAC の β 酸化代謝物の血漿中での長期安定性は表 2.6.4.10-7 に示す通りであった。

2.6.4.10.2.3 生体試料中グルクロン酸抱合代謝物 E1245、E1246 及び E1247 の濃度測定法

2.6.4.10.2.3.1 Novo Nordisk A/S

SNAC のグルクロン酸抱合代謝物である E1245 (NNC0113-0000-3705)、E1246 (NNC0113-0000-3707) 及び E1247 (NNC0113-0000-3709) の測定は、 K_2EDTA 加血漿を用いてインライン固相抽出・LC-MS/MS 法 (エレクトロスプレーイオン化、Negative MRM モード、E1245 の m/z: 454.1 → 278.1、E1246 の m/z: 426.1 → 250.0、E1247 の m/z: 398.0 → 222.1) により実施した。m/z 454.1、426.1 及び 398.9 の 1 倍分子イオンとそのフラグメントである m/z 278.1、250.0 及び 222.1 が最も信号強度が強く、選択的なイオンであったため、定量に用いることとした。SNAC の構造類似体 (NNC0113-0000-3341) を内部標準物質 (m/z: 249.0 → 135.0) として用いた。未知試料、検量線用試料及び QC 試料を、それぞれ K_2EDTA 加血漿として調製した。血漿試料中の濃度は、重みづけ直線回帰フィッティング (weighted linear regression fitting, $1/x^2$) を用いて算出した。

バリデートされた測定法の LLOQ 及び測定範囲を表 2.6.4.10-6 に示す。測定バリデーションはいずれも、試験実施施設の手順と現行ガイドライン^{2,3}に準拠して、ラット及びマウスの K_2EDTA 加血漿を用いて実施された。実試料の再現性 (ISR) は、マウス (M 4.2.3.7.3-B-7, JLY0557) 及びラット (M 4.2.3.7.3-B-12, JLY0517) の血漿を用いて検討した。各動物種における SNAC のグルクロン酸抱合代謝物の血漿中での長期安定性は表 2.6.4.10-7 に示す通りであった。

表 2.6.4.10-3 非臨床試験における生体試料中 SNAC 及び代謝物濃度測定法

Study ID	NN Ref. No.	Study	Species	Analyte	Matrix	Validation Study No.	Laboratory
JLY0382	212159	6 week DRF	Mouse	SNAC	K_2EDTA plasma	212384	Novo Nordisk
JLY0436	213067	26 week carc.	Mouse	SNAC	K_2EDTA plasma	212384	Novo Nordisk
JLY0557	214311	SD tox.	Mouse	SNAC	K_2EDTA plasma	212384	Novo Nordisk
				E494/E506	K_2EDTA plasma	214341	Novo Nordisk
				Glucuronides	K_2EDTA plasma	214342	Novo Nordisk
A16705	209247	13 week tox.	Mouse	SNAC	Heparin plasma	LMS-S-8182-	[REDACTED]

Study ID	NN Ref. No.	Study	Species	Analyte	Matrix	Validation Study No.	Laboratory
						01 ^a	
208301	208301	DRF	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	NR ^b	Novo Nordisk
208300	208300	6 week tox.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
JLY0532	214214	13 week tox.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
				E494/E506	K ₂ EDTA plasma	213313	Novo Nordisk
JLY0278	210196	26 week tox.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
JLY0366	211519	104 week carc.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
JLY0412	212392	SD tox.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
JLY0468	213299	SD tox.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
				E494/E506	K ₂ EDTA plasma	213313	Novo Nordisk
				Glucuronides	K ₂ EDTA plasma	213449	Novo Nordisk
JLY0517	214112	SD dose response	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
				E494/E506	K ₂ EDTA plasma	213313	Novo Nordisk
				Glucuronides	K ₂ EDTA plasma	213449	Novo Nordisk
523561	212329	Immuno tox.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
JLY0413	212434	SD IV bolus + inf.	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
0NNC11	212471	Telemetry	Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209020	Novo Nordisk
BNA00004	209243	52 week tox	Rat	SNAC	Na-Citrate plasma	77-0701	[REDACTED]
A62807	209242	13 week tox.	Rat	SNAC	Li-heparin plasma	PA546 ^a	[REDACTED]
WIL-315003	211246	13 week tox.	Rat	SNAC	Na-Citrate plasma	NA	NA
805-001P	209255	DRF repro	Rabbit	SNAC	Na-Citrate Plasma	V-TM082-2	[REDACTED]
805-001	209256	Main repro	Rabbit	SNAC	Na-Citrate Plasma	V-TM082-2	[REDACTED]
JLY0186	208302	DRF	Monkey	SNAC	K ₂ EDTA plasma	NR ^a	Novo Nordisk
JLY0223	209153	6 week tox.	Monkey	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209021	Novo Nordisk
JLY0387	212246	16 week tox.	Monkey	SNAC	K ₂ EDTA plasma	209021	Novo Nordisk
BNA00001	209257	Safety Pharm.	Monkey	SNAC	Na-Citrate plasma	VAL 52.1	[REDACTED]
BNA00003	209258	39 week tox.	Monkey	SNAC	Na-Citrate plasma	77-0701	[REDACTED]
3007-97	209244	2 week tox	Monkey	SNAC	Citrate plasma	E414-VAL-342P-96 ^a	[REDACTED]

a: Validation report not available

b: Not Reportable. Assay not validated at time of bioanalysis

NA: Not Applicable

表 2.6.4.10-4 非臨床及び臨床試験における SNAC の測定バリデーション

Species	Matrix	LLOQ (ng/mL)	Range (ng/mL)	Validation Study ID	Report Year	Laboratory
BALB/C and C57BL6 Mouse	K ₂ EDTA plasma	18.5	18.5 - 9270	M 4.2.2.1-B-1, 212384	2013	Novo Nordisk
BALB/C and C57BL6 Mouse ^a	K ₂ EDTA plasma	18.5	18.5 - 9270	M 4.2.2.1-B-2, 212479	2013	Novo Nordisk
BALB/C and TGrasH2 Mouse	K ₂ EDTA plasma	20.0	20.0 - 10000	M 4.2.2.1-B-3, 214132	2015	Novo Nordisk
BALB/C and CD-1 Mouse	K ₂ EDTA plasma	20.0	20.0 - 10000	M 4.2.2.1-B-4, 214340	2016	Novo Nordisk
Mouse	Heparin plasma	10.1	10.1 - 6080	LMS-S-8182-01 ^f	2005	[REDACTED]
Sprague Dawley Rat	K ₂ EDTA plasma	18.5	18.5 - 9270	M 4.2.2.1-B-5, 209020	2009	Novo Nordisk
Sprague Dawley Rat ^a	K ₂ EDTA plasma	18.5	18.5 - 9270	M 4.2.2.1-B-6, 209175	2009	Novo Nordisk
Rat ^b	Na-Citrate plasma	5.00	5.00 - 6000	M 4.2.2.1-B-7, 77- 0701	2009	[REDACTED]
Rat	Li-Heparin plasma	10.0	10.0 - 20000	PA546 ^f	2006	[REDACTED]
Rabbit	Na-Citrate Plasma	90.0	90.0 - 9270	V-TM082-2 ^{g,h} M 4.2.3.5.2-B-4/805- 001	1997	[REDACTED]
Cynomolgus Monkey	K ₂ EDTA plasma	18.5	18.5 - 9270	M 4.2.2.1-B-8, 209021	2009	Novo Nordisk
Cynomolgus Monkey ^a	K ₂ EDTA plasma	18.5	18.5 - 9270	M 4.2.2.1-B-9, 209174	2009	Novo Nordisk
Monkey ^b	Na-Citrate plasma	5.00	5.00-6000	M 4.2.2.1-B-7, 77- 0701 VAL 52.1 ^g	2009	[REDACTED]
Rhesus Monkey	Na-Citrate plasma	10.0	10.0 - 6000	M 4.2.1.3-B- 6/BNA00001	2005	[REDACTED]
Monkey	Citrate plasma	15.5	15.5 - 5040	E414-VAL-342P-96 ^f	1996	[REDACTED]
Human	K ₃ EDTA plasma	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, AA89946	2010	[REDACTED]
Human ^d	K ₃ EDTA plasma	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, CA19073	2016	[REDACTED]
Human ^e	K ₃ EDTA plasma	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, CA19075	2016	[REDACTED]
Human	Na-Citrate plasma	5.00	5.00 - 5000	VAL 76.1 ^g M 5.3.3.1, ERP23		[REDACTED]
Human	Urine	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, CA11775	2016	[REDACTED]
Human	Urine	5.08	5.08 - 5000	VAL 83.0 ^g M 5.3.3.1, ERP23		[REDACTED]

a: ISR report

b: Partial validation based on full validation in human Na-Citrate plasma (Study ID 77-0209, Report Year 2002)

c: MDS changed name to Celerion in 2010

d: The assay was re-validated changing sample preparation and including a stable labelled Internal Standard

e: Re-validation of CA19073 including SNAC β-Oxidised Metabolites

f: Validation report not available

g: Validation report included in main study report

h: Cross-validation to human validation

表 2.6.4.10-5 非臨床及び臨床試験における SNAC β 酸化代謝物の測定バリデーション

Analyte	Species	Matrix	LLOQ (ng/mL)	Range (ng/mL)	Validation Study ID	Laboratory
E494	Mouse	K ₂ EDTA plasma	20.0	20.0 - 10000	M 4.2.2.1-B-10, 214341	Novo Nordisk
E506			20.0	20.0 - 10000		
E494	Rat	K ₂ EDTA plasma	20.0	20.0 - 10000	M 4.2.2.1-B-11, 213313	Novo Nordisk
E506			20.0	20.0 - 10000		
E494	Human	K ₃ EDTA plasma	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, CA11772	[REDACTED]
E506			5.00	5.00 - 2000		
E494	Human ^a	K ₃ EDTA plasma	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, CA19075	[REDACTED]
E506			5.00	5.00 - 2000		
E494	Human	Citrate/heparin plasma	10.0	10.0 - 1000	VAL 76.1 ^b M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
E506			10.0	10.0 - 5000		
E494	Human	Urine	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, CA11775	[REDACTED]
E506			5.00	5.00 - 2000		
E494	Human	Urine	10.0	10.0 - 1000	VAL 83.0 ^b M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
E506			10.1	10.1 - 5000		

a: Update and re-validation of CA11772. Sample preparation changed. Assay includes bioanalysis for SNAC

b: Validation report included in main study report

表 2.6.4.10-6 非臨床及び臨床試験における SNAC グルクロン酸抱合代謝物の測定バリデーション

Analyte	Species	Matrix	LLOQ (ng/mL)	Range (ng/mL)	Validation Study ID	Laboratory
E1245	Mouse	K ₂ EDTA plasma	20.0	20.0 - 10000	M 4.2.2.1-B-12, 214342	Novo Nordisk
E1246			40.0	40.0 - 20000		
E1247			60.0	60.0 - 30000		
E1245	Rat	K ₂ EDTA plasma	20.0	20.0 - 10000	M 4.2.2.1-B-13, 213449	Novo Nordisk
E1246			40.0	40.0 - 20000		
E1247			60.0	60.0 - 30000		
E1245	Human	K ₃ EDTA plasma	5.00	5.00 - 2000	M 5.3.1.4, CA11771	[REDACTED]
E1246			5.00	5.00 - 2000		
E1247			5.00	5.00 - 2000		
E1245	Human	Citrate/heparin plasma	25.0	25.0 - 25000	VAL 76.1 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
E1246			25.0	25.0 - 25000		
E1247			25.0	25.0 - 25000		
E1245	Human	Urine	10.0	10.0 - 2000	M 5.3.1.4, CA11774	[REDACTED]
E1246			30.0	30.0 - 6000		
E1247			50.0	50.0 - 10000		
E1245	Human	Urine	25.0	25.0 - 20000	VAL 83.0 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
E1246			25.0	25.0 - 20000		
E1247			50.0	50.0 - 20000		

a: Validation report included in main study report

表 2.6.4.10-7 非臨床試料及び臨床検体中の SNAC 及び代謝物の長期安定性

Species	Analytes	Matrix	Storage stability	Storage temperature	Study ID	Laboratory
Mouse	SNAC	K ₂ EDTA plasma	7 months	-20°C	M 4.2.2.1-B-14, 212385	Novo Nordisk
	E494/E506	K ₂ EDTA plasma	9 months	-20°C		
	E1245/E1246/E1247	K ₂ EDTA plasma	10 months	-20°C	M 4.2.2.1-B-16, 215304	
Rat	SNAC	K ₂ EDTA plasma	6 months	-20°C	M 4.2.2.1-B-17, 209037	Novo Nordisk
	E494/E506	K ₂ EDTA plasma	9 months	-20°C	M 4.2.2.1-B-18, 215297	

Species	Analytes	Matrix	Storage stability	Storage temperature	Study ID	Laboratory
	E1245/E1246/E1247	K ₂ EDTA plasma	10 months	-20°C	M 4.2.2.1-B-19, 215298	Novo Nordisk
Monkey	SNAC	K ₂ EDTA plasma	6 months	-20°C	M 4.2.2.1-B-20, 209038	Novo Nordisk
Monkey	SNAC	Na-citrate plasma	658 days	-20°C	VAL 52.1 ^a M 4.2.1.3-B- 6/BNA00001	[REDACTED]
Human	SNAC	K ₃ EDTA plasma	496 days	-20°C	M 5.3.1.4, CA17145	[REDACTED]
	E494/E506	K ₃ EDTA plasma	1066 days	-20°C	M 5.3.1.4, CA17146	[REDACTED]
	E1245/E1246/E1247	K ₃ EDTA plasma	993 days	-20°C	M 5.3.1.4, CA17147	[REDACTED]
Human	SNAC	Citrate/heparin plasma	295 days	-10°C	VAL 76.1 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
	E494/E506	Citrate/heparin plasma	295 days	-10°C	VAL 76.1 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
	E1245/E1246/E1247	Citrate/heparin plasma	295 days	-10°C	VAL 76.1 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
Human	SNAC	Urine	372 days	-20°C	M 5.3.1.4, CA11775	[REDACTED]
	E494/E506	Urine	372 days	-20°C	M 5.3.1.4, CA11775	[REDACTED]
	E1245/E1246/E1247	Urine	495 days	-20°C	M 5.3.1.4, CA11774	[REDACTED]
Human	SNAC	Urine	294 days	-10°C	VAL 83.0 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
	E494/E506	Urine	294 days	-10°C	VAL 83.0 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]
	E1245/E1246/E1247	Urine	294 days	-10°C	VAL 83.0 ^a M 5.3.3.1, ERP23	[REDACTED]

a: Validation report included in main study report

2.6.4.10.3 吸収

臨床投与経路である経口投与後の SNAC の薬物動態を評価した。

マウス [M 2.6.5.16 付録 : M 2.6.5.16.3.A (JLY0363) 及び M 2.6.5.16.4.B (A16705)] 及びラット [M 2.6.5.16 付録 : M 2.6.5.16.3.D (1113-97) 、 M 2.6.5.16.4.D (8264634) 、 M 2.6.5.16.4.E (A62807) 、 M

2.6.5.16.4.G (JLY0278) 及び 2.6.5.16.4.H (211504)] を用いた、初期の PK 試験及び毒性試験において SNAC 曝露量の評価に用いた試料採取計画は、SNAC の急速な吸収と初期の血漿中動態を捉える点では概して最適化されていなかったため、報告された PK パラメータ (t_{max} 、 C_{max}) の解釈には注意を要する。マウス (JLY0557) 及びラットを用いた試験 (JLY0468 及び JLY0517) では、SNAC の吸収動態を評価するため、より広範かつ早期の血漿試料採取 (1回目の採取時点は投与後 2又は 5 分) を実施したため、げっ歯類における SNAC の薬物動態プロファイルを最も代表すると考えられる。サルを用いた毒性試験 [M 2.6.5.16 付録 : M 2.6.5.16.3.G (980305/EMISTOX98003) 、 M 2.6.5.16.3.H (R96006) 、 M 2.6.5.16.4.K (215104) 及び 2.6.5.16.4.L (211503)] において SNAC の PK を評価した。大部分の試験で SNAC の曝露量パラメータに非常に大きな個体差が認められた。

2.6.4.10.3.1 単回投与

げっ歯類において単回経口投与後の SNAC は急速に吸収され、通常、投与 2~5 分後に C_{max} が観察された [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.3.B (JLY0557) 、 2.6.5.16.3.E (JLY0468) 及び 2.6.5.3.F (JLY0517)] (図 2.6.4.10-1)。サルではげっ歯類よりも若干の吸収の遅延及び延長がみられ、 t_{max} 値は経口投与後 5 分 (1回目の試料採取時間) から 2 時間であった (M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.3.H (R96006) 、 2.6.5.16.4.L (211503) の ‘Day 1’ 及び 2.6.5.16.4.H (211504) の ‘Day 1’)。

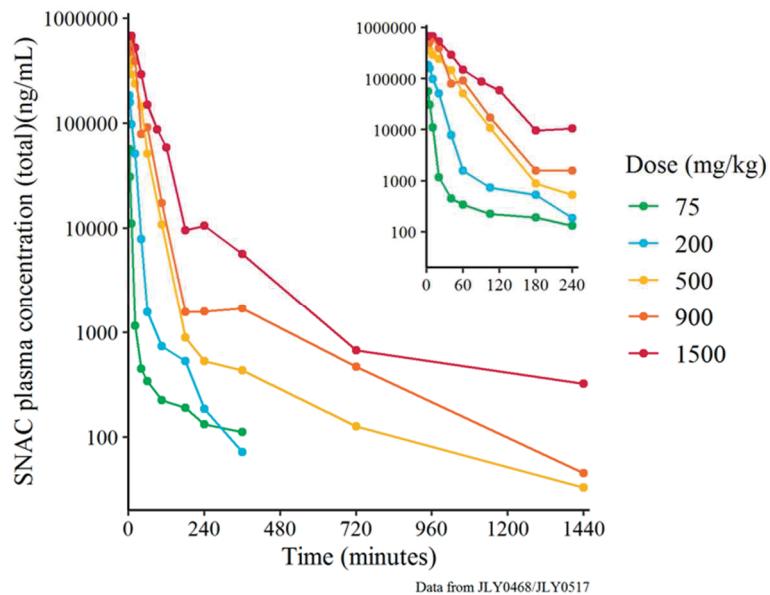


図 2.6.4.10-1 ラットにおける強制経口投与後の SNAC の平均総血漿中濃度

SNAC は消化管でほぼ完全に吸収されることが、胆管カニュレーションラットを用いた試験において示された [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.14.A (8264643)]。しかし、SNAC を経口投与後の絶対的全身バイオアベイラビリティは、ラットで 5~16%、サルで約 15% であった。以上より、本結果から SNAC は

経口投与後に顕著な初回通過代謝を受けることが示された〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.4.D (8264634) 及び 2.6.5.16.3.H (R96006) 〕。

マウス〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.3.A (JLY0363) 及び 2.6.5.16.3.B (JLY0557) 〕及びラット〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.3.F (JLY0517) 及び 2.6.5.16.4.F (JLY0532) 〕に SNAC を単回強制経口投与したときの曝露量 (AUC) は、全体的に用量比を超えて増大した一方、 C_{max} は用量比に応じ増大した。この AUC の用量非線形的な増大は、検討した用量範囲における吸収率の違いというよりも、高曝露時における排出（代謝）能の限界によるものと考えられる。このことは、雌性ラットに同用量 (200 mg/kg) の SNAC を急速静脈内又は持続静脈内投与時のデータから裏付けられる〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.3.C (JLY0413) 〕。持続静脈内投与群と比較して、急速静脈内投与群のクリアランスは 4 分の 1 に低下し、曝露量 (AUC) の増大が認められた。以上より、マウス及びラットにおける SNAC の代謝は、曝露量が増大すると限界（飽和）に達することが示された。この排出（代謝）能の限界については、雌雄アカゲザルに 150、250 又は 350 mg/kg の SNAC を単回急速静脈内投与した試験〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.3.G (980305/EMISTOX98003) 〕でさらに実証された（図 2.6.4.10-2）。用量を比較したクリアランスは非線形性が明らかであり、最低用量と最高用量との間ではクリアランスに 2 倍の差が認められた。曝露量が用量比を超えて増大したことから、非常に高い用量では SNAC の排出（代謝）能が飽和することが示唆される。

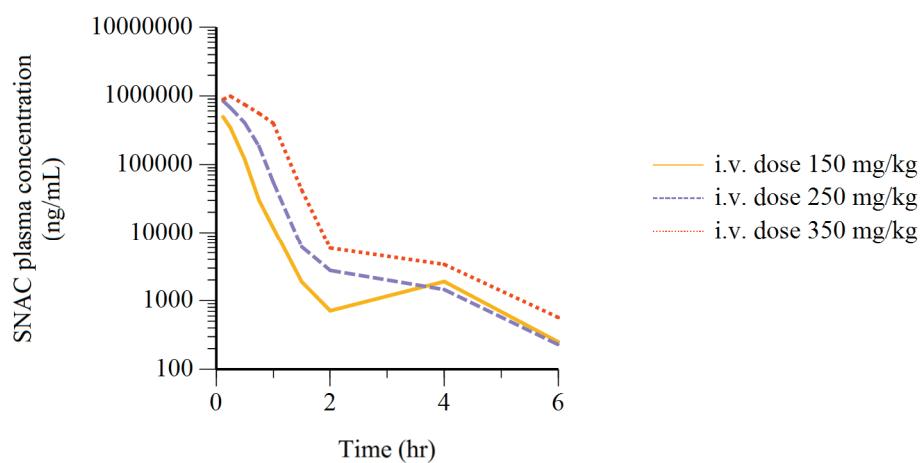


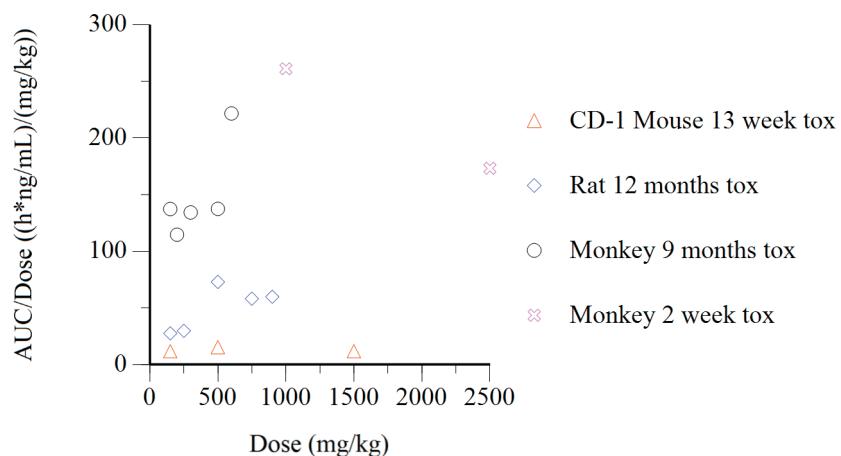
図 2.6.4.10-2 サルにおける急速静脈内投与後の血漿中 SNAC 濃度－時間プロファイル

2.6.4.10.3.2 反復投与

げっ歯類を用いた反復投与毒性試験における SNAC の曝露量評価に用いた試料採取計画は、 t_{max} 評価に最適化されていなかった。これらの試験の大部分では、1 回目の血漿採取時間は投与 10 分～2 時間後であり、げっ歯類の血漿中プロファイルは大部分が 2 匹以上の動物から得られた試料で構成されてい

た。したがって、これらの試験で報告された t_{max} 値の解釈には注意を要する。げつ歯類・ヒト間の曝露量比の算出には、TK 試料採取計画が最適化された動物試験 [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.3.B (JLY0557) 、 2.6.5.16.3.E (JLY0468) 及び 2.6.5.16.3.F (JLY0517)] のデータを用いた。

非臨床試験の全動物種において、高用量の投与では曝露量 (AUC) が用量比を超えて増大した ([図 2.6.4.10-3](#))。マウスを用いた反復投与試験は該当しなかったが、TK 試料採取計画が最適化されていなかった（投与 1 時間後に 1 回目の試料が採取された）ことから、データの解釈には注意を要する [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.4.B (A16705)]。ヒトにおける SNAC の臨床用量は 300 mg である。1.2~3.6 g (SNAC 300 mg 錠 4、8 及び 12 錠)までの用量を用いた試験では、AUC は用量比例性を示した (4247 試験)。



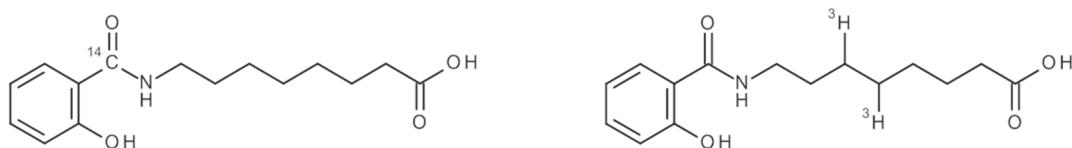
Data: mouse: A16705, rat: BNA0004, monkey: BNA0003, 3007-97

図 2.6.4.10-3 用量正規化 AUC 及び用量の関係

マウス、ラット、サル及びヒトにおいて 1 日 1 回投与による SNAC の血漿中での累積は認められなかった。曝露量には概して性差が認められなかった。

2.6.4.10.4 分布

SNAC の分布・代謝・排泄試験には、2 種類の放射能標識トレーサーである ^{14}C -SNAC 又は ^3H -SNAC のいずれかを用いた ([図 2.6.4.10-4](#))。

図 2.6.4.10-4 ¹⁴C-SNAC（左）及び³H-SNAC（右）の標識位置

2.6.4.10.4.1 組織分布

MDCKII 細胞モノレイヤーを用いて SNAC の透過性を検討した〔M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.12.G (XT168030)〕。頂端側から基底側 (A-to-B) 方向 ($19\sim28\times10^{-6}$ cm/s) 及び基底側から頂端側 (B-to-A) 方向 ($18\sim24\times10^{-6}$ cm/s) の見かけの透過性係数 (P_{app}) から、SNAC は高い透過性を有することが示された。

雌雄 CD-1 系マウスに用量 300 mg/kg (11.1 MBq/kg) の ³H-SNAC を単回経口投与し、定量的全身オートラジオグラフィ (QWBA) 法を用いて、その組織分布について最長投与 24 時間後まで検討した〔M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.5.A (806-96)〕。放射能は、急速に吸収されて組織中に分布した後、急速に尿中に排泄された。放射能の分布及び排泄には性差が認められなかった。投与経路及び主要な排出経路に一致して、胃及び小腸の内容物、肝臓及び腎臓に最高濃度の放射能が認められた。マウスを用いた薬物動態試験で認められた血漿中の SNAC 及びその代謝物の急速なクリアランスが認められたことと同様に、肝臓及び腎臓における放射能は投与後急速に減少した。その後、消化管（胃、小腸及び大腸）の内容物に最高濃度の放射能が認められた。投与 12 時間後に検出可能な濃度の放射能が認められたのは、腸の内容物のみであった。

また、雌雄 Sprague Dawley 系白色ラットに用量 500 mg/kg (7.4 MBq/kg) の ¹⁴C-SNAC を単回経口投与し、その組織分布について QWBA 法を用いて検討した〔M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.5.B (8264635)〕。放射能は、急速に吸収された後、血流量の多いすべての組織に分布した。ほぼすべての組織中の放射能は、観察期間の 36 時間にわたって血漿中濃度を下回り、吸収及び組織からの排出パターンは血漿中動態を反映するものであった。代謝及び排出に関与する組織（腎臓、肝臓及び胆管）中の放射能はその他の組織よりも濃度が高かった。消化管内の放射能は最長で投与 24 時間後まで認められた。

有色ラット (Lister Hooded 系) を用いた同様の試験を実施した結果、Sprague Dawley 系白色ラットにおける結果と一致し、SNAC 及びその代謝物には眼のブドウ膜に含まれるメラニンに対する選択的な結合親和性が認められないことが示された〔M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.5.C (8293636)〕。

Sprague Dawley 系ラットに用量 500 mg/kg (11.1 MBq/kg) の ¹⁴C-SNAC を単回経口投与し、肝臓、脳及び脳脊髄液 (CSF) における ¹⁴C-SNAC の分布を直接的に評価した〔M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.5.D (JLY0539)〕。総放射能は脳及び CSF への急速に分布したが、脳及び CSF における放射能濃度は血

漿中放射能濃度よりも非常に低かった。（それぞれ AUC_{0-30min} 及び AUC_{0-20min} に基づく）全脳／血漿中放射能比（AUC_{0-30min} に基づく）及び CSF／血漿中放射能比（AUC_{0-20min} に基づく）はそれぞれ 0.059 及び 0.025 であった。肝臓への分布も急速であり、肝臓／血漿中放射能比（AUC_{0-30min} に基づく）は 0.90 であった。

¹⁴C-SNAC の血液／血漿中濃度比（R_B）については、ラット及びヒト血液を用いて *in vitro* で評価した。新鮮な血液を Sprague Dawley 系ラット及びヒトボランティア（両性混合プール）から採取し、濃度範囲 1000～50000 ng/mL の ¹⁴C-SNAC とともにインキュベーションした [M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.8.A (8361742)]。その結果から、ラットとヒトのいずれにおいても、インキュベーション中を通じて ¹⁴C-SNAC の変化は認められなかった。両動物種の血液／血漿中濃度比は約 0.6（ヘマトクリット値として約 1）であり、このことから評価した濃度範囲において ¹⁴C-SNAC は、主に血漿コンパートメントに存在し、赤血球への確認可能な分布は認められないことが示される。これらの結果は、マウス [M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.9.A (JLY0497)] 及びラット [M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.5.B (8264635)] を用いた *in vivo* 薬物動態評価によってさらに裏付けられた。これらの試験において、¹⁴C-SNAC 及びその標識代謝物の血液／血漿中曝露量比（AUC_{last}）はそれぞれ約 0.5 及び 0.6 であった。

2.6.4.10.4.2 胎盤通過

妊娠アルビノラット（妊娠 18 日目）に用量 500 mg/kg (7.4 MBq/kg) の ¹⁴C-SNAC を単回経口投与し、その組織分布について検討した [M 2.6.5.16 付録：2.6.5.7.A (8293637)]。放射能は急速に吸収されて、胎盤、乳腺組織、胎児組織及び羊水などの母体組織に広く分布した。胎児組織及び胎盤の総放射能曝露量（AUC）は母体の血漿と同程度であり、母体の血漿、胎盤及び胎児間の SNAC 及び／又は代謝物はほぼ平衡状態であることが示される。

2.6.4.10.4.3 タンパク結合

SNAC 及び 5 種の代謝物 [β 酸化代謝物 2 種 (E494 及び E506) 及びグルクロン酸抱合代謝物 3 種 (E1245、E1246 及び E1247)] (図 2.6.4.10-5) の血漿タンパク結合率について、平衡透析法を用いて評価した [M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.6.B (8288420)]。SNAC はヒト血漿タンパク質と高く結合し、その遊離型画分は 1.6～3.1% であった。定常状態における SNAC の日本人健常人における臨床曝露量（、4140 試験における C_{max} : 1083 ng/mL）を大きく上回る濃度範囲 (300～100000 ng/mL) の検討において、タンパク結合は SNAC 濃度に影響されなかった。ヒト血漿中における β 酸化代謝物 (E494、E506) の遊離型画分は SNAC の遊離型画分よりも多く、それぞれ約 13～15% 及び約 7～13% であった。グルクロン酸抱合代謝物 (E1245、E1246 及び E1247) の遊離型画分はそれぞれ、約 9～15%、約 48～59% 及び約 25～33% であった。全体的に、SNAC 及び 5 種の代謝物とヒト血漿との結合は、試験動物種の血漿との結合よりも強かった。

動物の血漿中では SNAC の濃度が 30000 ng/mL を上回ると遊離型画分が増加する傾向（CD-1 系マウスでは 12%から 35%、ラットでは 6.3%から 35%に、サルでは 3.2%から 25%に増加した）が認められたことから、結合部位で飽和が生じることが示唆される。最高濃度における遊離型画分の増加傾向は 2 種の β 酸化代謝物（E494 及び E506）でも認められたが、増加の程度は SNAC よりも小さかった。グルクロン酸抱合代謝物（E1245、E1246 及び E1247）の動物の血漿中における遊離型画分の割合は全体的にそれぞれに抱合されるアグリコンでの遊離型画分の割合よりも高く、また、それらの結合は血漿中濃度に影響を受けなかった。

限外ろ過法を用いて ^{14}C -SNAC とマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿タンパク質との結合を *in vitro* で検討した際にも同様の結果が得られた [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.6.A (993132)]。さらに、ヒト血清アルブミン（HSA）と α 1-酸性糖タンパク質とともにインキュベーションした結果から、 ^{14}C -SNAC はヒト血漿中では HSA とのみ結合していることが示された。

最後に、2 種類の臨床試験（4079 試験、M 5.3.3.3 及び 4082 試験、M 5.3.3.3）で SNAC を 1 日 1 回 10 日間反復投与したヒト健康被験者から採取した血漿を用いて、平衡透析法により SNAC の血漿タンパク結合を評価した。投与開始 10 日目の投与 30 分後 (t_{\max} に相当) に採取した血漿検体中の SNAC 遊離型画分の幾何平均値は約 2% であった。

2.6.4.10.5 代謝

SNAC の代謝については ^3H -SNAC と ^{14}C -SNAC を用いて *in vitro* 及び *in vivo* で検討した（図 2.6.4.10-4）。*In vivo* での代謝については、マウス、ラット、サル及びヒトの血漿及び排泄物を用いて検討した。

動物及びヒトにおける SNAC のクリアランスの大部分には代謝が寄与していた。血漿中の全 SNAC 関連物質中の SNAC の占める割合は小さく（用量の 5%以下、表 2.6.4.10-9）、尿中及び糞中に排泄される SNAC 未変化体はごくわずかであった（用量の 1%未満）。

すべての動物種及びヒトにおいて、SNAC は β 酸化及び *O*-グルクロン酸抱合を介して速やかに代謝された（図 2.6.4.10-5）。SNAC のオクタン（C8）酸側鎖は、 β 酸化により 2 炭素単位が連続して喪失してヘキサン（C6）酸代謝物である E494 とテトラエン（C4）酸代謝物である E506 が生成し、これらはそれぞれ SNAC と同様に *O*-グルクロン酸抱合される。副次的な SNAC 代謝物は、E506 の側鎖が β 酸化により短縮して最終的に生成される酢酸（C2）代謝物の SNAC-6(CH₂)、ならびに、グルクロン酸抱合、脱水素化及び水酸化により生成する代謝物であった。SNAC 代謝の副次的経路として、SNAC、E494 及び E506 のアシルグルクロン酸抱合体も認められた。

動物及びヒトの双方で、 β 酸化代謝物（E494、E506）及びグルクロン酸抱合代謝物（E1245、E1246及びE1247）が、少量のその他の副次的な代謝物と共に共通して認められた。SNAC及び代謝物は、急速かつほぼ完全に尿中に排泄された。

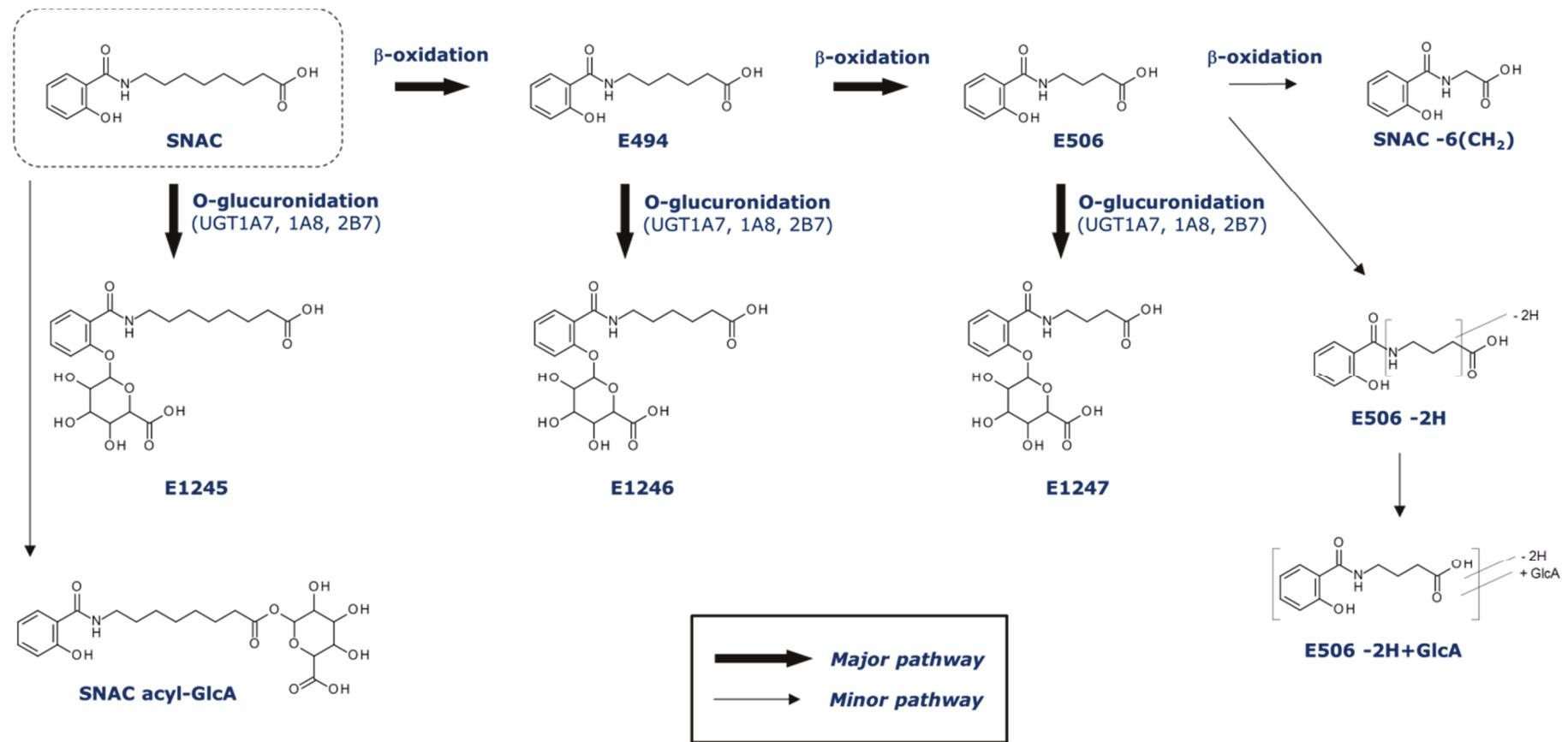


図 2.6.4.10-5 ヒトにおける SNAC の推定代謝経路

2.6.4.10.5.1 *In vitro* 代謝

ラット、アカゲザル及びヒト由来の初代培養肝細胞において、SNACは連続的にβ酸化されてE494とE506が生成された〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.10.A（991596）〕。さらに、3種の代謝物が認められ、これらはグルクロロン酸抱合代謝物（E1245、E1246及びE1247）と同定された〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.10.B（993529）〕。ラット肝細胞代謝率（即ちSNACの消失）が最も高く、次いでサル及びヒトの肝細胞ではそれより低かった。

13種類の遺伝子組換えヒトUGT酵素を用いた*in vitro*試験において、SNAC及びβ酸化代謝物（E494とE506）の、グルクロロン酸抱合代謝物への代謝反応に関与するUGT酵素が特定された〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.10.C（XT154037）〕。SNAC、E494及びE506はいずれも、3種のUGT酵素（UGT1A7、UGT1A8及びUGT2B7）により高率にグルクロロン酸抱合された（図2.6.4.10-6）。これら3種の酵素はすべて消化管（胃、小腸及び大腸）及び腎臓での発現が認められる⁴。UGT2B7は肝臓でも発現し、このことから肝臓におけるSNAC及びβ酸化代謝物（E494及びE506）のグルクロロン酸抱合について、UGT2B7が主に関与することが示唆される。

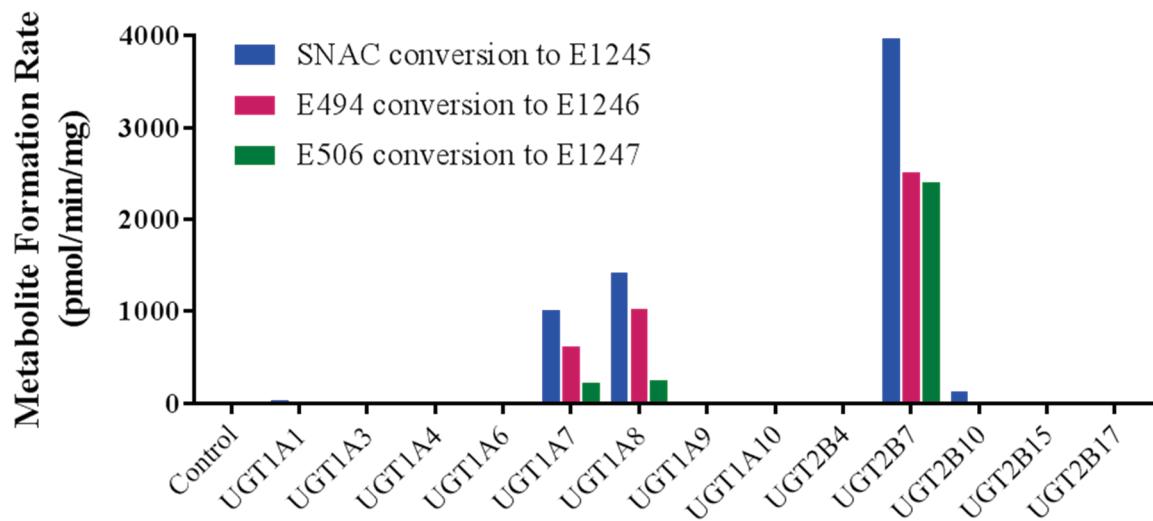


図 2.6.4.10-6 遺伝子組換えヒトUGT酵素によるSNAC、E494及びE506のグルクロロン酸抱合代謝物への変換

2.6.4.10.5.2 *In vivo* 代謝

¹⁴C-SNACを投与した非臨床試験の動物種及びヒトから採取した血漿及び排泄物試料の代謝プロファイリング及びLC-MS/MS分析により、SNACの*in vivo*での代謝について検討した。加えて、放射能標

識 SNAC を使用しない臨床試験も実施した。ヒト及び動物種で認められた SNAC 由来の代謝物の概要を表 2.6.4.10-8 に、排泄物中の ¹⁴C-SNAC 由来の総放射能についての概要を表 2.6.4.10-10 に示す。

表 2.6.4.10-8 ヒト及び動物種で確認された ¹⁴C-SNAC 由来の代謝物

Metabolite	Biotransformation	Plasma					Urine			Bile	Faeces	
		Human ^a	Mouse ^b	Rat ^c	Rat ^d	Monkey ^f	Human ^a	Rat ^c	Monkey ^f	Rat ^c	Human ^a	Rat ^c
E494	SNAC -2(CH ₂)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
E506	SNAC -4(CH ₂)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
E1245	SNAC +GlcA	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
E1246	E494 +GlcA	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
E1247	E506 +GlcA	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
	SNAC -6(CH ₂)	✓	✓	✓			✓	✓				
E506 -2H		✓ ^e	✓	✓	✓			✓			✓	
E494 -2H +GlcA				✓								
E506 -2H +GlcA		✓ ^e	✓				✓	✓		✓		
E506 +OH			✓	✓	✓		✓	✓			✓	
E494 +OH											✓	✓
E506 +OH +GlcA		✓					✓			✓		
E506 sulphate			✓	✓	✓							
E494 sulphate				✓				✓				
SNAC Acyl GlcA		✓ ^e			✓							
E494 Acyl GlcA				✓	✓		✓	✓				
E506 Acyl GlcA					✓			✓		✓		
E1247 Acyl GlcA										✓		
E506 +glycine								✓				
E494 +taurine										✓		
SNAC +taurine										✓		

a: Human AME (M 2.6.5.16, Appendix, Table 2.6.5.16.9.E, ERP23)

b: Mouse ADME (M 2.6.5.16, Appendix, Table 2.6.5.16.9.A, 8298400)

c: Rat ADME (M 2.6.5.16, Appendix, Table 2.6.5.16.9.B, 8265975)

d: Rat PK, PV/JV cannulated, plasma sampled for 1 hour post dose, (M 2.6.5.16, Appendix, Table 2.6.5.16.9.C, 8299924)

e: Human steady-state (10 weeks daily dosing, M 2.6.5.16, Appendix, Table 2.6.5.16.9.F, 8288449): Metabolite identification using LC-MS/MS. SNAC not radiolabelled

f: Primate (Rhesus monkey) ADME (M 2.6.5.16, Appendix, Table 2.6.5.16.9.D, F080)

動物及びヒトにおける SNAC の主要代謝経路は、 β 酸化及びそれに続く β 酸化代謝物の *O*-グルクロン酸抱合ならびに直接的な SNAC の *O*-グルクロン酸抱合である。マウス、ラット、サル及びヒトでは β 酸化代謝物（E494 と E506）及びグルクロン酸抱合代謝物（E1245、E1246 及び E1247）が生成される（表 2.6.4.10-8）。SNAC を単回投与したヒトにおける血漿中の SNAC 及び SNAC 由来代謝物の総曝露量の概して 96%以上がこれらの代謝物であった（表 2.6.4.10-9）。さらに、ヒト血漿中で確認された SNAC 代謝物はすべて動物でも確認された。

マウスの総血漿中曝露量（AUC）に占める ^{14}C -SNAC の割合は 2%未満と推定された。放射能の大部分は 2 回 β 酸化された代謝物の E506 及びそのグルクロン酸抱合体である E1247 に関連するものであり、これらの合計は総血漿中放射能曝露量の約 60%であった（表 2.6.4.10-9）。グルクロン酸抱合代謝物の E1245 及び E1246 及びその他の副次的な 5 種の代謝物（それぞれ総血漿中放射能曝露量の 2%以下）が認められた〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.9.A（8298400）〕。

ラットにおける ^{14}C -SNAC 由来の血漿中代謝物プロファイルはマウスと同様であり、血漿中総 AUC に占める SNAC の割合は 7%未満であった（表 2.6.4.10-9）。2 回 β 酸化された代謝物である E506 が血中に最も多く認められ、血漿中放射能の 63%であった〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.9.B（8265975）〕。その他の代謝物はいずれも、血漿中の総放射能曝露量の 10%未満であった。 ^{14}C -SNAC の経口投与後 1 時間の吸収と分布を検討したラット試験でも、同様のパターンが認められた。投与 1 時間後までに、SNAC ならびに 1 回 β 酸化された代謝物である E494 及び SNAC のグルクロン酸抱合体である E1245 の血漿中での割合は急速に減少し、投与 1 時間後には血漿中総曝露量の約 80%が E506 及びそのグルクロン酸抱合体である E1247 であった〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.9.C（8299924）〕。SNAC、E494 及び E506 のアシルグルクロン酸抱合代謝物は合わせて、総血漿中放射能曝露量 ($\text{AUC}_{0-1\text{hr}}$) の 2%未満であった。

^{14}C -SNAC を単回経口投与したアカゲザルの血漿中（投与 1 時間及び 2 時間後）及び尿中の代謝物プロファイルについて評価した。グルクロン酸抱合体である E1245、E1246 及び E1247 は、血漿中で最も多く認められた代謝物であり、尿中ではこれらの代謝物のみが認められた〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.9.D（F080）〕。

動物種の血漿及び尿中で認められたその他の副次的な代謝物は、全体的に、SNAC、E494、E506 及び E1247 の水酸化代謝物、タウリン抱合体、グリシン抱合体、硫酸抱合体及びアシルグルクロン酸抱合体、ならびに β 酸化の中間生成物と考えられる脱水素化代謝物であった（表 2.6.4.10-8）。

ヒト血漿中の SNAC 代謝物プロファイルについて、臨床吸収・代謝・排泄試験において 9 例の健康被験者に ^{14}C -SNAC 2.25 g を単回経口投与して検討した（ERP23 試験、M 5.3.3.1）。SNAC 代謝物の E494、E506、E1245、E1246 及び E1247 が血漿中で認められた（図 2.6.4.10-5）。またその他の血中代

謝物としては SNAC-6(CH₂) (E506 の β 酸化で生じる最終産物) のみが 2 例の被験者の血漿中（投与 30 分後の時点のみ）で認められた。グルクロン酸抱合代謝物である E1247 の AUC が最も高く、他のグルクロン酸抱合代謝物である E1245 及び E1246 がこれに続いた（表 2.6.4.10-9）。ヒト尿中で確認されたその他の代謝物は、E506 と E1247 の水酸化体、E1247 の脱水素化代謝物及び E494 のアシルグルクロノ酸抱合体であった。

さらに、3991 試験で SNAC を 300 mg 含有する経口セマグルチドを 10 週間連日反復投与した健康被験者と 2 型糖尿病を有する被験者の一部（各 5 例）において、SNAC 及び 5 種の主要代謝物（E494、E506、E1245、E1246 及び E1247）の薬物動態を評価した（3991 試験、M 5.3.3.1）。全体として、代謝物曝露量は、¹⁴C-SNAC を単回投与した吸收・代謝・排泄試験で認められた値と同等であった（ERP23 試験）。また反復投与後において他の副次的な代謝物の有無を、3991 試験の 2 つ目の被験者サブセット（3 例）から得た血漿を用いて評価した〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.9.F (8288449)〕。SNAC とその 5 種の主要代謝物に加えて、E506 の β 酸化体 [SNAC-6(CH₂)]、SNAC のアシルグルクロノ酸抱合代謝物（SNAC Acyl GlcA）ならびに E506 及び E1247 の脱水素化代謝物（E506-2H 及び E506-2H +GlcA）が副次的な成分として検出された（表 2.6.4.10-8）。E494 及び E506 のアシルグルクロノ酸抱合代謝物は、これらの被験者から得られた血漿試料中には認められなかった。

表 2.6.4.10-9 ヒト、マウス及びラットにおける ¹⁴C-SNAC の単回経口投与後の SNAC 及び代謝物の血漿中曝露量（AUC）

Species (Study ID) parent/metabolite	Human ^a (ERP23)	Mouse (8298400)	Rat (8265975)	Rat ^b (8299924)
		% of total plasma exposure (AUC)		
SNAC	5.1	1.3	1.6	6.8
E494	1.4	1.2	5.2	13
E506	7.9	23	63	56
E1245	14	4.8	4.2	4.7
E1246	13	16	2.0	1.8
E1247	55	36	4.5	2.7
% Total Radioactivity	96%	82%	81%	85%

a: Metabolite exposures (LC-MS/MS) as a percentage of total radioactivity (LSC) – calculated in M 2.6.5.16, Appendix, Table 2.6.5.16.A

b: Exposures evaluated only within the 1st hour after dosing, with extensive sampling

全体として、ヒトにおける SNAC の代謝経路は動物と同様であり、SNAC は β 酸化及びグルクロノ酸抱合されることが明らかになった。定常状態（3991 試験）におけるヒトの血漿中代謝物プロファイルは、単回投与（ERP23 試験）後のプロファイルと一致し、その違いは定常状態における 3 種の副次的な代謝物（SNAC Acyl GlcA、E506-2H、E506-2H +GlcA）の存在に限定されていた。この違いはおそ

らく、定常状態における代謝物プロファイルの評価に用いた測定法（LC-MS/MS）の感度が向上したためと考えられる。

2.6.4.10.6 排泄

2.6.4.10.6.1 尿中、胆汁中及び糞中への排泄

マウス、無処置ラット、胆管カニュレーションラット及びヒトに対し ¹⁴C-SNAC を経口投与し、これに由来する放射能の排泄について検討した。結果を表 2.6.4.10-10 に要約する。

表 2.6.4.10-10 ¹⁴C-SNAC の単回経口投与後の SNAC 由来放射能の排泄率（%用量）

Species (Study ID)	Human (ERP23)	Mouse (768-95)	Rat (8264643)	Rat ^a (8264643)
Sampling time (h)	0-216	0-120	0-96	0-96
% of dose				
Urine	82	87	90	71
Bile	-	-	-	27
Faeces	3.8	7.3	8.4	1.6
Carcass	-	< 0.1	< 1.0	< 1.0
Total recovery	86	94	99	100

a: Bile duct cannulated rats

全体的に、げっ歯類とヒトに経口投与された ¹⁴C-SNAC 及びその代謝物は速やかに排出され、投与された放射能の大部分は尿中に回収される。

マウスでは、¹⁴C-SNAC 由来放射能の約 87%が尿中で回収され、77%が投与後 24 時間以内に回収された [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.13.A (768-95)]。マウスにおける排出経路及び排出率にはいずれも性差が認められなかった。

ラットでは、放射能の 90%が尿中に排出され、大部分 (87%) が投与後 24 時間で排出された [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.14.A (8264643)]。¹⁴C-SNAC 由来放射能の大部分が、2 回 β 酸化された E506 及び E506 のグルクロン酸抱合体である E1247 として尿中に排泄され、SNAC 未変化体は定量下限未満であった [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.9.B (8265975)]。胆管カニュレーションラットでは、投与用量の 27%が胆汁中に排泄され、尿中への排泄は大幅に減少した (71%)。このことから、無処置ラットでは胆汁中に分泌された放射能物質の顕著な再吸収（腸肝循環）が示唆された。¹⁴C-SNAC 投与後 24 時間に胆汁中に排出された放射能物質について、SNAC の寄与分は 1%以下で、グルクロン酸抱合体 (E1245、E1246、E1247) 全体の寄与分は 76%超であった。

ヒトにおける吸収・代謝・排泄を検討した臨床試験（ERP23 試験）でヒトにおける¹⁴C-SNAC の排泄プロファイルを評価したところ、動物と同様のパターンが確認された〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.9.E (ERP23 試験)〕。平均して投与した放射能の 82%が尿中で回収され（投与後 24 時間に約 80%が）、少量（約 4%）が糞中で回収された。¹⁴C-SNAC 由来放射能の大部分は、グルクロン酸抱合代謝物（多い順に E1247、E1246 及び E1245）として尿中に排泄され、これらは全体で尿中放射能の約 83%であった。尿中に回収される SNAC 未変化体は投与した用量の約 0.1%であった。

2.6.4.10.6.2 乳汁中への分泌

分娩後約 10 日目の雌性ラットに用量 500 mg/kg (7.4 MBq/kg) の¹⁴C-SNAC を単回経口投与したところ、SNAC 由来の放射能が授乳ラットの乳汁中に検出された〔M 2.6.5.16 付録：2.6.5.16.7.A (8293637)〕。乳汁中の放射能量は母体血漿中よりも高く（乳汁／母体血漿中 AUC 比は約 5）、このことから¹⁴C-SNAC 及びその標識代謝物は選択的に乳汁中に分泌されることが示される。

2.6.4.10.7 薬物動態学的相互作用

SNAC 及び主要代謝物についての代謝酵素及びトランスポーターを介した薬物相互作用の可能性を評価するため、*in vitro* 試験及び臨床試験を実施した。本項では、*in vitro* 試験のデザイン及び結果について、関連するすべての臨床薬物相互作用試験の結論とともに示す。

臨床的に問題となる薬物相互作用を、FDA のドラフトガイダンス文書^{5,6}及び本邦の薬物相互作用ガイドライン⁷に従い検討し、部分的にヒトの定常状態における推定最高血漿中濃度 (I_{max} 、 C_{max} と同一) 及び血漿タンパク結合率 (fu) に基づいて評価した（表 2.6.4.10-11）。SNAC の I_{max} 値は、臨床薬理試験（4140 試験、M 5.3.3.3）において SNAC 300 mg を含有する経口セマグルチドを 1 日 1 回 91 日間投与した日本人健康被験者（17 例）から得た。4140 試験では代謝物の曝露については評価しなかったため、4082 試験、M 5.3.3.3において SNAC 300 mg を含有する経口セマグルチドを 1 日 1 回 10 日間経口投与したコーカシアン健康被験者（22 例）から、代謝物の血漿中濃度（幾何平均値）を得た。経口セマグルチドの 1 日 1 回 10 週間投与した健康被験者（5 例）と 2 型糖尿病被験者（5 例）のサブセットにおいて、SNAC の代謝物曝露量を評価した反復投与 3991 試験では、SNAC とその代謝物の曝露量は 2 型糖尿病被験者と健康被験者の間で同等であった。

表 2.6.4.10-11 SNAC 及び薬物間相互作用評価に関する主要代謝物の臨床濃度

Compound	SNAC	E494	E506	E1245	E1246	E1247
I _{max} (ng/mL)	1083	125	1075	3030	1811	6523
Molecular Weight (g/mole)	279	251	223	455	427	399
I _{max} (μM)	3.88	0.498	4.82	6.66	4.24	16.3
f _u (plasma)	0.017	0.13	0.084	0.12	0.56	0.30
I _{max,u} (μM)	0.0660	0.0647	0.405	0.799	2.37	4.89
I _{inlet,max} (μM)	65.5	-	-	-	-	-
I _{inlet,max,u} (μM)	1.11	-	-	-	-	-
I _{gut} (μM)	3987	-	-	-	-	-

Clinical I_{max} values (equivalent to C_{max}) are geometric means obtained from Trial 4140 (SNAC) and Trial 4082 (metabolites)

I_{max} = Maximal plasma concentration (steady-state) equivalent to C_{max}; I_{max,u} = unbound I_{max}

f_u = fraction unbound in plasma; estimated from linear regression of human plasm protein binding as a function of compound concentration (Described in study report 309773), values with two significant figures (as shown) were used

I_{inlet,max} = estimated maximum concentration at the inlet to the liver; I_{inlet,max,u} = unbound I_{inlet,max}

I_{gut} = intestinal luminal concentration estimated as dose/250 mL

2.6.4.10.7.1 被相互作用薬評価

代謝は SNAC クリアランスの主要な決定因子であり、β 酸化及びグルクロン酸抱合の 2 種の代謝経路が並行して作用する。SNAC が UGT を介した薬物相互作用の被相互作用薬となる可能性について、SNAC 及び β 酸化代謝物のグルクロン酸抱合に関与する UGT 酵素を確認した *in vitro* 試験において評価した。

加えて、SNAC 及びその主要代謝物がトランスポーターを介した薬物相互作用の被相互作用薬となる可能性についても評価した。*In vitro* 試験及び薬物相互作用の評価は FDA のドラフトガイダンス文書^{5,6} 及び本邦の薬物相互作用ガイドライン⁷に沿って実施された。

2.6.4.10.7.1.1 薬物代謝酵素

図 2.6.4.10-6 に示すように、複数の UGT 酵素により、SNAC から E1245 が、E494 から E1246 が、E506 から E1247 がグルクロン酸抱合代謝物として生成されることが、*in vitro* 試験 (2.6.4.10.5.1) において確認された。グルクロン酸抱合体の生成における UGT1A1 酵素多型の関与は無視できる程度であった。

β 酸化経路による脂肪酸及びその他の内因性物質の代謝能が非常に高いことから、β 酸化を介した薬物相互作用は評価しなかった。約 250 mmol/日の脂肪酸を代謝可能な内因性 β 酸化経路の代謝能に比べると、300 mg (1 mmol) /日の SNAC の投与はごく少量である⁸。また、β 酸化を高度かつ持続的に抑制する化合物／薬物は、肝毒性（脂肪変性）の懸念があるため、臨床では使用されていない。したが

って、SNAC の β 酸化が抑制される可能性は低いと考えられることから、*in vitro* 又は *in vivo* の薬物相互作用評価は実施しなかった。

2.6.4.10.7.1.2 トランスポーター基質

SNAC 及びその 5 種の代謝物 (E494、E506、E1245、E1246 及び E1247) が、ヒトの P-gp、BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、MATE-1 及び MATE2-K トランスポーターの基質となる可能性を評価した。加えて、SNAC 及び β 酸化代謝物 (E494 及び E506) が OATP1B1 と OATP1B3 の基質である可能性について、及びグルクロロン酸抱合代謝物 (E1245、E1246 及び E1247) が MRP2 の基質である可能性についても評価した [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.12.G (XT168030)]。薬物相互作用に関する本邦におけるガイドライン²に従い、基質と判定するための閾値は排出比又は取り込み比 2 以上とし、結果が陽性であれば評価したトランスポーターに対して高い特異性を有する阻害薬を用いて確認した。*In vitro* 試験結果を表 2.6.4.10-12 に要約する。

表 2.6.4.10-12 SNAC と代謝物のトランスポーター基質評価

Compound	P-gp	BCRP	OATP1B1	OATP1B3	OAT1	OAT3	OCT2	MATE1	MATE2-K	MRP2
SNAC	No	Yes	No	No	No	No	No	No	No	-
E494	No	Yes	No	No	No	Yes	No	No	No	-
E506	No	Yes	No	No	Yes	Yes	No	No	No	-
E1245	No	No	-	-	No	Yes	No	No	No	Yes
E1246	No	No	-	-	No	Yes	No	No	No	Yes
E1247	No	No	-	-	No	Yes	No	No	No	Yes

Compounds evaluated at 1, 3, 10 and 100 µM (MRP2 studies utilized a single concentration; 10 µM)

“-” denotes not evaluated

2.6.4.10.7.1.3 裏付けとなる臨床試験

経口セマグリチドの臨床薬理試験プログラムに含まれる、薬物相互作用における被相互作用薬としての SNAC の評価に関連する臨床薬物相互作用評価について、表 2.6.4.10-13 に要約する。試験のデザイン及び結果については M 2.7.2 (臨床薬理試験 付録 5.2.3.1.8) に示す。

表 2.6.4.10-13 被相互作用薬の評価を裏付ける臨床薬物相互作用試験の要約

Trial	Perpetrator Drug	Relevance to DDI evaluation
4394	Probenecid	Index inhibitor of OAT1 and OAT3, general UGT inhibitor
4394	Ciclosporine	Index inhibitor of BCRP, OATP1B1, OATP1B3 and inhibitor of MRP2

4394 試験、M 5.3.3.4 では、SNAC 300 mg を含有する経口セマグルチドを単回投与したときの SNAC 曝露量 (C_{\max} 及び AUC) は、シクロスボリン又はプロベネシドの併用投与による影響を受けないことが示された。

2.6.4.10.7.1.4 結論

SNAC の代謝には複数の代謝経路 (β 酸化及びグルクロン酸抱合) が存在すること、ならびに、SNAC 及び代謝物のグルクロン酸抱合に関与する UGT 酵素が複数存在することから、UGT を介した薬物相互作用が生じるリスクは低いと考えられる。このことは、一般的な UGT 阻害剤であるプロベネシドにより SNAC の全身曝露量が増大しなかったことが示された 4394 試験 (M 5.3.3.4) の結果からさらに裏付けられた。

In vitro 試験では、SNAC が BCRP トランスポーターの基質であること、ならびに、SNAC の代謝物が BCRP、OAT1、OAT3 及び MRP2 トランスポーターの内、少なくとも一つの基質であることが示された。しかしながら、SNAC とその代謝物はいずれも P-gp、OATP1B1、OATP1B3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K トランスポーターの基質ではなかった。以上の *in vitro* 試験、ならびに、複数のトランスポーターの典型阻害薬を併用投与した臨床薬物相互作用試験 (4394 試験) の結果から ([表 2.6.4.10-13](#))、SNAC がトランスポーターを介した薬物相互作用の被相互作用薬である可能性は低いことが示された。

2.6.4.10.7.2 相互作用薬評価

FDA のドラフトガイダンス文書^{5,6}及び本邦の薬物相互作用ガイドライン⁷に従い、SNAC とその代謝物 (E494、E506、E1245、E1246 及び E1247) が主要な肝 CYP 酵素、消化管 CYP3A4/5 及び UGT 酵素の阻害剤となる可能性を評価した。また、SNAC 及び代謝物が薬物トランスポーターを阻害又は CYP 酵素を誘導する可能性を評価した。

一般的に、CYP 及び UGT の阻害測定では、典型基質をその K_m 値に近い濃度 ([S]) で用いて実施する。競合阻害を控えめに仮定して、 K_i 値を、 $K_i = IC_{50}/2$ (Cheng-Prusoff の式⁹) として算出した。トランスポーター阻害の算出には、[S]と K_m 値のいずれも控えめに考慮する必要性から、(IC₅₀ の代わりに) *in vitro* における K_i 値を用いた。トランスポーターアッセイは (2 つの例外を除いて)、[S]を K_m より 10 倍以上低い濃度とすることにより K_i は IC₅₀ と等しい ($K_i = IC_{50}$) ものとして実施した。BCRP 及び MRP2 阻害の評価は、[S]をそれぞれ K_m より約 3 倍及び 2 倍低い濃度とすることにより、それぞれの K_i 値を $K_i = IC_{50}/1.3$ (BCRP) 及び $K_i = IC_{50}/1.5$ (MRP2) として実施した。

2.6.4.10.7.2.1 酵素阻害

被験物質の存在下及び非存在下の双方における、各 CYP 酵素に対する特異性の高い典型基質の代謝について、ヒト肝ミクロソームを用いて酵素阻害の可能性を検討した。SNAC と E494 は最高 100 μmol/L まで、E506、E1245、E1246 及び E1247 は最高 600 μmol/L までの濃度で評価した。NADPH の存在下又は非存在下において、各被験物質をヒト肝ミクロソームとともに 30 分間プレインキュベーションすることにより、代謝及び時間依存性阻害を評価した。各 CYP 酵素に対する既知の直接的な代謝依存性阻害薬を陽性対照として用いた [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.12.A (XT125038) 、 2.6.5.16.12.B (XT12A029) 、 2.6.5.16.12.C (XT175053)] 。XT12A029において、グルクロロン酸抱合代謝物 E1245 は濃度 100 μmol/L で CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2C19 を阻害することが示されたが、その程度には個体差が認められた。この結果について検討するため、フォローアップ試験 (XT175053) では濃度範囲を（最高 600 μmol/L まで）拡大し、繰り返し数 (number of replicates) と対照の数を増加して評価した。E1245 による直接的又は時間依存的 CYP 阻害を示すデータは得られなかったことから、E1245 はいずれの CYP 酵素の阻害薬でもないと判断された。

SNAC 又はその代謝物のいずれも、検討した最高濃度において CYP 酵素を 50% 超の阻害を示さず、CYP2C19 に対する約 25% の阻害が最大であった。IC₅₀ 値を実験的に求めることができなかつたため、競合的阻害 (Michaelis-Menten 反応) と仮定して被験物質の最高濃度 (600 μmol/L 又は 100 μmol/L) で観察される阻害率 (実際の阻害率%) から、下記の式により IC₅₀ 値を推定した。

$$\text{推定 } IC_{50} = \left(\frac{\text{最大阻害率} \cdot [\text{阻害剤濃度}]}{\text{実際の阻害率\%}} \right) - [\text{阻害剤濃度}]$$

ここで最大阻害率は 100% (完全阻害) とする。推定 IC₅₀ 値を、推定 K_{i,u} 値 (非結合型の阻害定数) とともに [表 2.6.4.10-14](#) に示す。1+(I_{max,u}/K_{i,u}) として推定した肝 CYP 酵素、ならびに、1+(I_{gut}/K_{i,u}) として推定した消化管 CYP3A4 酵素の R 値を、それぞれ [表 2.6.4.10-14](#) 及び [表 2.6.4.10-15](#) に示す。SNAC とその代謝物の R 値は、検討したすべての肝 CYP 酵素のカットオフ値 1.02 を下回り ([表 2.6.4.10-14](#)) 、また消化管 CYP3A4 のカットオフ値 11 を下回った ([表 2.6.4.10-15](#)) 。

表 2.6.4.10-14 SNAC 及び代謝物による CYP 酵素の阻害

Compound	$I_{max,u}$ (μM)	Estimated IC_{50}^a (μM)							Estimated $K_{i,u}^b$ (μM)							$R = 1 + (I_{max,u}/K_{i,u})$ with cutoff ≥ 1.02
		CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4/5 ^c	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4/5 ^c	
SNAC	0.0660	669	NI	567	7043	300	1216	3025 / NI	331	NI	281	3486	149	602	1497 / NI	<1.02
E494	0.0647	NI	1182	910	NI	14186	NI	NI / 16567	NI	591	455	NI	7093	NI	NI / 8283	<1.02
E506	0.405	4015	4400	4855	7733	20829	NI	4855 / 9077	2008	2200	2427	3867	10414	NI	2427 / 4539	<1.02
E1245	0.799	7295	59400	2929	3400	8096	9926	5400 / 7192	3647	29700	1465	1700	4048	4963	2700 / 3596	<1.02
E1246	2.37	4400	4015	2929	12443	4855	19400	4400 / NI	2200	2008	1465	6222	2427	9700	2200 / NI	<1.02
E1247	4.89	5400	8631	5400	8491	4015	5400	14785 / 4400	2700	4315	2700	4245	2008	2700	7392 / 2200	<1.02

a: IC_{50} values were estimated from the degree of direct inhibition observed at the highest concentration of test article (100 or 600 μM) according to the following equation:

$$Estimated IC_{50} = \left(\frac{\text{Maximum inhibition - [inhibitor]}}{\text{Actual \% inhibition}} \right) - [\text{inhibitor}] \text{ where the maximum degree of inhibition is 100\% (complete inhibition).}$$

b: Values of unbound K_i ($K_{i,u}$) were estimated from $(IC_{50}/2) \times fu_{inc}$. K_i equals $IC_{50}/2$ when the substrate concentration is equal to K_m (which it was) and based on the conservative assumption that the inhibition was competitive in nature^[10]. The fraction of unbound test article in the microsomal incubation (fu_{inc}) was 0.99 for SNAC and 1.00 for all metabolites, calculated using Gertz^[11] (protein ≤ 0.1 mg/mL, Log D_{7.4} value for SNAC 0.65, and predicted < -1 for the metabolites)

c: CYP3A4/5 inhibition evaluated using two substrates and results are reported as “Testosterone 6 β -hydroxylation / Midazolam 1'-hydroxylation”

NI: No Inhibition observed at highest test article concentration

表 2.6.4.10-15 SNAC による消化管 CYP3A4 の阻害

Compound	I _{gut} (μM)	Estimated IC ₅₀ ^a (μM)	Estimated K _{i,u} ^a (μM)	R = 1 + (I _{gut} /K _{i,u}) with cutoff ≥ 11
SNAC	3987	3025	1497	3.7

I_{gut} = intestinal luminal concentration calculated as 300 mg dose/250 mL (SNAC sodium salt MW: 301)

a: Estimated CYP3A4/5 IC₅₀ and K_{i,u} values are calculated in 表 2.6.4.10-14

ヒト肝ミクロソームを用いて、最高 100 μmol/Lまでの濃度で SNAC とその代謝物 (E1245、E494、E1246、E506 及び E1247) が、UGT1A1、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7 の直接的な阻害剤であるかどうかについても、被験物質の存在下及び非存在下における各 UGT 酵素に対する特異性の高い典型基質の代謝を測定する事により評価した。UGT 酵素に対する既知の直接的な阻害剤を陽性対照として用いた (表 2.6.4.10-16)。

SNAC 又はその代謝物のいずれも、最高 100 μmol/Lまでの濃度において、薬剤のグルクロン酸抱合に関与する主要な肝 UGT (UGT1A1、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7) を 50%超阻害しなかった。SNAC の β 酸化代謝物の E494 による UGT1A4 に対する約 25%の阻害が最大であった。IC₅₀ 値を実験的に求めることができなかったため、上記の CYP 酵素の阻害と同様に、被験物質の最高濃度 (100 μM) で観察される阻害率から、酵素の阻害率を推定した。

グルクロン酸抱合代謝物である E1247 による UGT1A4 の阻害の R 値は 1.024 であったことを除き SNAC 及び代謝物の R 値はいずれも、検討したすべての UGT 酵素のカットオフ値 1.02 を下回った (表 2.6.4.10-16)。E1247 は検討したすべての濃度で UGT1A4 を約 20%阻害したことから、この結果は偽陽性と判断された。濃度依存性の UGT1A4 阻害が認められなかったことから、E1247 のすべての濃度で認められたみかけの阻害は、おそらく対照 (被験物質非存在下) の UGT1A4 活性が正常よりもわずかに高かったことによるアーチファクトと考えられた。これらの結果から、SNAC 又は代謝物のいずれも UGT 酵素の阻害剤ではないことが示唆された。

表 2.6.4.10-16 SNAC 及び代謝物による UGT 酵素の阻害

Compound	$I_{max,u}$ (μM)	Estimated IC_{50}^1 (μM)					Estimated $K_{i,u}^2$ (μM)					$R = 1 + (I_{max,u}/K_{i,u})$ with cutoff ≥ 1.02
		UGT1A1	UGT1A4	UGT1A6	UGT1A9	UGT2B7	UGT1A1	UGT1A4	UGT1A6	UGT1A9	UGT2B7	
SNAC	0.0660	NI	33233	24900	203	567	NI	16451	12326	101	281	<1.02
E494	0.0647	1063	305	NI	713	862	531	152	NI	357	431	<1.02
E506	0.405	NI	NI	NI	1182	2226	NI	NI	NI	591	1113	<1.02
E1245	0.799	1199	1308	835	614	NI	599	654	417	307	NI	<1.02
E1246	2.37	NI	NI	1036	4900	2603	NI	NI	518	2450	1301	<1.02
E1247	4.89	NI	410	562	NI	1513	NI	205	281	NI	756	<1.02 $UGT1A4 = 1.024$

1: IC_{50} values were estimated from the degree of direct inhibition observed at the highest test article concentration (100 μM) as described above and 表 2.6.4.10-14, footnote 'a'.

2: Unbound K_i ($K_{i,u}$) was estimated from $(IC_{50}/2) \times fu_{inc}$ as described above and 表 2.6.4.10-14, footnote 'b'.

NI: No Inhibition observed at highest test article concentration

2.6.4.10.7.2.2 酵素誘導

SNAC が CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 の発現を誘導又は抑制する可能性について、3 名のヒトドナー由来のサンドイッチ培養肝細胞を用いて評価した（M 2.6.5.16 付録、XT123037 の表 2.6.5.12.D）。3 日間馴化培養後、肝細胞に対して DMSO（対照）、SNAC（0.4～200 μmol/L の範囲で 6 濃度）又は陽性対照〔オメプラゾール（芳香族炭化水素受容体（AhR）アゴニスト）、フェノバルビタール（構成的アンドロスタン受容体（CAR）アクチベーター）、リファンピシン（pregnane X 受容体（PXR）/CAR アゴニスト）の 3 種類〕のいずれかによる処理を連日 3 日間実施した。CYP 発現の変化を、mRNA 量ならびに各 CYP 酵素に高い特異性を有する典型基質に対する酵素活性に基づいて評価した。一部の培養細胞に対しては、3 日目の処理に ¹⁴C-SNAC（4～200 μmol/L）を用い、各処理時間（0、1、3、6 及び 24 時間）における培養液中の SNAC 及び代謝物の濃度を、HPLC 放射分析法を用いて測定した。

各ヒト肝細胞試料を用いた試験では、陽性対照物質による CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4/5 の mRNA 量及び／又は酵素活性の 5 倍以上の増加がみられた。検討したすべての濃度において SNAC により、3 例の肝細胞試料のいずれにおいても CYP3A4 mRNA 値及び CYP3A4/5 活性の 2 倍未満の増加がみられた。検討した最高濃度（200 μM）において SNAC は、3 例の肝細胞試料すべてで CYP1A2 の mRNA 値及び酵素活性を 2 倍未満に増加させた。3 例中 2 例の培養肝細胞試料で、低濃度の SNAC により CYP1A2 mRNA 値が 2 倍以上に増加する例が散発的に認められたが、そのいずれにも濃度依存性の増加は認められず、増加量はいずれも陽性対照のオメプラゾールの 20%未満であった。検討したすべての濃度において SNAC は、3 例の肝細胞試料のいずれも CYP2B6 活性の増加は 2 倍未満であった。3 例中 2 例の（H1152 及び H1155）肝細胞試料においても、検討したすべての濃度で SNAC は、CYP2B6 mRNA 値の増加は 2 倍未満であった。しかし、残り 1 例（H1150）の肝細胞試料では、最高濃度の SNAC（200 μmol/L）により CYP2B6 mRNA 値が 2.41 倍（陽性対照の 20%超）増加した。対応する CYP2B6 活性は、フェノバルビタールでは 8.28 倍の増加が認められたのに対し、SNAC による増加は認められなかった（1.07 倍）ことから、おそらく偽陽性と考えられる。

評価した SNAC の最高濃度である 200 μmol/L は、 $I_{max,u}$ （0.0665 μmol/L）の約 3000 倍高かった。さらに、培養液の分析から、肝細胞試料は SNAC のヒト血中主要代謝物にも曝露していたことが示された。以上を要約すると、これらの結果から SNAC は臨床的に意義のある濃度では CYP 酵素の誘導剤ではないことが示された。

2.6.4.10.7.2.3 トランスポーター阻害

P-gp と BCRP トランスポーターの阻害については、それぞれ Caco-2 細胞と MDCKII 細胞を用いて各典型基質の透過性を双方向に評価した。小胞型 BSEP と MRP2 の阻害については、典型基質の蓄積か

ら評価した。OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、OAT1 及び OAT3 の阻害については、HEK-293 細胞を用いて典型基質の細胞内蓄積から評価した。トランスポーターの典型基質濃度は、各 K_m 値より 10 倍より低い濃度とし、BCRP 及び MRP2 については、 K_m 値よりそれぞれ 3 倍及び 2 倍低い濃度とした。1 回目の *in vitro* 阻害試験 [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.12.E (XT128043)] の結果は、ヒトにおける SNAC 及び主要代謝物の曝露量に基づいて、濃度範囲を拡大して評価した 2 回目の試験 [M 2.6.5.16 付録 : 2.6.5.16.12.F (XT168009)] の結果によりさらに裏付けられた。すなわち、SNAC 及び E494 は最高 100 $\mu\text{mol/L}$ まで、E506、E1245、E1246 及び E1247 は最高 600 $\mu\text{mol/L}$ までの濃度で評価した。

In vitro 試験の結果は以下の通りであった：

- SNAC (300 mg) は消化管の BCRP を阻害する可能性が認められた ([表 2.6.4.10-17](#))。しかし、続いて実施された臨床薬物相互作用試験 (4250 試験、M 5.3.3.4) ではロスバスタチン (BCRP の典型基質) の薬物動態は SNAC の併用投与による影響を受けなかった。
- SNAC は肝 OATP1B1、OATP1B3 又は OCT1 の阻害剤ではなかった ([表 2.6.4.10-18](#))。
- 主要代謝物 (E494、E506、E1245、E1246 及び E1247) は、肝 OATP1B1、OATP1B3 又は OCT1 の阻害剤ではなかった ([表 2.6.4.10-19](#))。
- SNAC とその主要代謝物 (E494、E506、E1245、E1246 及び E1247) は OAT1、OAT3、OCT2、BSEP 又は MRP2 の阻害剤ではなかった ([表 2.6.4.10-20](#))。

表 2.6.4.10-17 SNAC による腸 P-gp 及び BCRP の阻害

Transporter	$I_{\text{gut}} (\mu\text{M})^{\text{a}}$	$IC_{50} (\mu\text{M})$	$K_i (\mu\text{M})$	I_{gut} / K_i with cutoff ≥ 10
P-gp	3987	2620	2620	1.5
BCRP	3987	145	112	36

I_{gut} = intestinal luminal concentration calculated as 300 mg dose/250 mL (SNAC sodium salt MW: 301)
 P-gp and BCRP substrate concentrations were 10-fold and 3-fold below their respective K_m values, (P-gp: $K_i = IC_{50}$; BCRP: $K_i = IC_{50}/1.3$ as described above)

表 2.6.4.10-18 SNAC による肝 OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の阻害

Compound	I_{max} (μM)	$I_{inlet,max}$ (μM)	f_u	K_i^a (μM)			$1 + (f_u * I_{inlet,max} / K_i)$ with cutoff ≥ 1.1		
				OATP1B1	OATP1B3	OCT1	OATP1B1	OATP1B3	OCT1
SNAC	3.88	65.5	0.017	68.4	275	NI	1.02	1.00	NI

a: OATP1B1 IC₅₀ determined experimentally, OATP1B3 IC₅₀ estimated (as described above). K_i values are equivalent to IC₅₀ values as substrate concentrations were >100-fold below their respective K_m values ($K_i = \text{IC}_{50}$).

$I_{inlet,max} = I_{max} + (k_a \times \text{Dose} \times F_a F_g / Q_h)$ Estimated maximum inhibitor concentration at the inlet to the liver

$F_a F_g = 1$ (default); $k_a = 0.1 \text{ min}^{-1}$ (default); SNAC dose = 996 μmol ; $Q_h = \text{Human hepatic blood flow (1.62 L/min)}$ [¹²]; NI: No Inhibition observed at highest SNAC concentration (100 μM)

表 2.6.4.10-19 SNAC 代謝物による肝 OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の阻害

Metabolite	$I_{max,u}$ (μM)	Estimated K_i^a			$1 + (I_{max,u} / K_i)$ with cutoff ≥ 1.1	
		OATP1B1	OATP1B3	OCT1	All Transporters	
E494	0.0647	567	NI	119	<1.1	
E506	0.405	1026	7971	NI	<1.1	
E1245	0.799	4710	3374	3780	<1.1	
E1246	2.37	3812	45554	1790	<1.1	
E1247	4.89	NI	2888	9569	<1.1	

a: IC₅₀ values estimated as described above. K_i values are equivalent to IC₅₀ values as substrate concentrations were >100-fold below their respective K_m values ($K_i = \text{IC}_{50}$).

表 2.6.4.10-20 SNAC 及び代謝物による腎 OAT1/3 及び OCT2、ならびに肝 BSEP 及び MRP2 の阻害

Metabolite	$I_{max,u}$ (μM)	Measured or Estimated K_i^b					$1 + (I_{max,u} / K_i)$ with cutoff ≥ 1.1	
		OAT1	OAT3	OCT2	BSEP	MRP2	All Transporters	
SNAC	0.0660	28 ^a	5 ^a	8991	NI	NI	<1.1	
E494	0.0647	33 ^a	21 ^a	1393	NI	191	<1.1	
E506	0.405	7 ^a	10 ^a	NI	NI	NI	<1.1	
E1245	0.799	32 ^a	93 ^a	NI	NI	125	<1.1	
E1246	2.37	77 ^a	1664	49400	NI	894	<1.1	
E1247	4.89	679	1900	2829	NI	6052	<1.1	

a: K_i based on an experimentally determined IC₅₀ value, all other based on estimated IC₅₀ values.

b: IC₅₀ values estimated as described above. K_i values are equivalent to IC₅₀ values as substrate concentrations were >40-fold below their respective K_m values ($K_i = \text{IC}_{50}$), with the exception of MRP2 substrate concentration which was ~2-fold below K_m ($K_i = \text{IC}_{50}/1.5$).

NI: No Inhibition observed at highest SNAC concentration (100 μM)

2.6.4.10.7.2.4 併用投与される経口薬に対する吸収促進作用

セマグルチドの吸収に及ぼす SNAC の影響を評価するための一連の試験が実施されている（M 2.6.2.7 付録、2.6.2.7.2）。これらの試験に基づき、経口投与したセマグルチドは主に胃で吸収され、吸収は錠剤表面近傍の領域に限定されており、SNAC との製剤化による投与が必要であることが示された。このことから、併用投与薬の PK は SNAC による影響を受けないことが示唆される。このことを、SNAC と共に（別の錠剤として）経口投与した薬物の薬物動態を評価する幅広い臨床薬物相互作用試験においてさらに評価した。これらの試験には、吸収促進作用の影響を最も受けやすいと考えられる、透過性が限定的で吸収が不十分な複数の薬物（BCS クラス III）が含まれている。全体として、これらの試験の結果から、SNAC の吸収促進作用には SNAC を添加物として製剤化することが必要であり、別の錠剤として SNAC を併用投与しても併用薬の曝露量は増大しないことが示された（M 2.7.2 臨床薬理試験 付録 5.2.3.1.8）。したがって、この機序による薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

2.6.4.10.7.2.5 裏付けとなる臨床試験

経口セマグルチドの臨床薬理開発プログラムに含まれる、薬物相互作用における相互作用薬としての SNAC の評価に関連する臨床薬物相互作用評価については表 2.6.4.10-21 に要約する。これらの臨床試験には、経口セマグルチドの評価に加えて、SNAC 単独の作用を評価する期間も含まれた。

表 2.6.4.10-21 相互作用薬の評価を裏付ける臨床薬物間相互作用試験の要約

Trial	Victim Drug	Relevance to DDI evaluation
4250	Furosemide	Index substrate of OAT1 and OAT3
4250	Rosuvastatin	Index substrate of BCRP, OATP1B1 and OATP1B3
4145	Metformin	Index substrate of MATE1, MATE-2K and OCT2
4145	Digoxin	Index substrate of P-gp

SNAC（300 mg）に消化管の BCRP を阻害する可能性があることが示唆された *in vitro* 評価に続いて実施した 4250 試験において、ロスバスタチン（BCRP の典型基質）の薬物動態は SNAC の併用投与による影響を受けないことが示された。すべての臨床薬物相互作用試験のデザイン及び結果については M 2.7.2（臨床薬理試験 付録 5.2.3.1.8）に示す。

2.6.4.10.7.2.6 結論

以上より、SNAC 及び主要代謝物（E494、E506、E1245、E1246 及び E1247）は、主要な肝 CYP 酵素及び消化管 CYP3A4/5 に対する直接的な、時間依存性及び代謝依存性阻害剤ではない。さらに、SNAC

及び主要代謝物は、薬物のグルクロロン酸抱合に関する主要な肝 UGT に対する直接的な阻害剤ではなく、主要な肝 CYP 酵素のいずれに対する誘導剤でもない。

In vitro 試験の結果から、300 mg の用量での SNAC 経口投与により消化管内の BCRP が阻害される可能性が示唆された。しかしながら、続いて実施した BCRP の典型基質であるロスバスタチンを用いた臨床薬物相互作用試験（4250 試験）では、臨床的に意味のある相互作用が認められなかつたことから、本機序による薬物相互作用の可能性は低いと考えられた。さらに、複数の臨床薬物相互作用試験において、SNAC は併用で経口投与される他の薬剤の薬物曝露量 (C_{max} 又は AUC) を増大させるような吸収促進作用を有しないことが示された。

以上の結果から、SNAC が臨床薬物相互作用の相互作用薬である可能性は低いと考えられる。

2.6.4.10.8 その他の薬物動態試験

実施した単回及び反復投与試験において、SNAC の薬物動態特性は十分に評価されたと判断した。したがって、追加の薬物動態試験は実施しなかつた。

2.6.4.10.9 考察及び結論

経口投与後の SNAC の薬物動態特性を、単回投与及び反復投与 PK/TK 試験、ならびに分布・代謝・排泄試験で検討した。

ヒト及び非臨床試験の全動物種において、SNAC は速やかに吸収され、速やかに排出される。経口投与と静脈内投与後における PK の比較に基づき、SNAC が糞中に排泄されないこと及び SNAC 由来物質が尿中に広範に排出されること、経口投与後の SNAC の全身バイオアベイラビリティから、SNAC は完全に吸収された後に広範な初回通過代謝を受けると考えられた。

非臨床試験の全動物種において、高用量の投与では曝露量 (AUC) が用量比を超えて増大した。ヒトにおける曝露量 (AUC) は、臨床的に意義のある用量範囲において用量比に応じて増大した。マウス、ラット、サル及びヒトにおいて連日投与による SNAC の血漿中での累積は認められなかった。概して曝露量には性差が認められなかった。

SNAC はヒト血漿タンパク質と高く結合し、その遊離型画分は 1.6~3.1% の範囲であり、血漿中濃度に影響されない。¹⁴C-SNAC はヒト血漿中ではアルブミンとのみ結合していると考えられた。全体的に β 酸化代謝物 (E494 及び E506) の遊離型画分は SNAC よりも多く、グルクロロン酸抱合代謝物 (E1245, E1246 及び E1247) の遊離型画分はそれぞれのアグリコンよりも多かった。全体的に、ヒト血漿における SNAC 及び 5 種の主要代謝物のタンパク結合は、動物種 (マウス、ラット、ウサギ及びサル) の血漿における結合よりも強かった (遊離型画分が少なかった)。

¹⁴C-SNAC を用いてマウス及びラットにおける組織分布を検討した結果、急速な吸収ならびに血流量の多い組織への分布が明らかになった。組織中濃度は血漿中濃度とほぼ平衡状態であり、同様の速度で低下する。¹⁴C-SNAC 由来の放射能は、胎盤関門を通過し、乳汁中にも分泌されることが示された。

動物及びヒトにおける SNAC のクリアランスの大部分は代謝の寄与によるものであった。血漿中の全 SNAC 関連物質中の SNAC の割合は小さく、尿中及び糞中に排泄される SNAC 未変化体はごくわずかであった。

全動物種及びヒトにおいて、SNAC は連続的 β 酸化を受けて速やかに代謝されるか、あるいはグルクロロン酸と抱合し E1245 が生じる。また、SNAC の β 酸化代謝物である E494 (β 酸化を 1 回受けたもの) 及び E506 (β 酸化を 2 回受けたもの) もグルクロロン酸と抱合して、それぞれ E1246 と E1247 が生じる。全体として、SNAC 及び 5 種の主要代謝物 (E494, E506, E1245, E1246 及び E1247) が、ヒトにおける血漿中の SNAC 及び SNAC 由来代謝物の総曝露量の 96% 以上であった。残りのヒト血漿中曝露量は一連の副次的な代謝物であり、これらには E506 の β 酸化体 [SNAC-6(CH₂)]、SNAC のアシルグルクロロン酸抱合代謝物 (SNAC Acyl GlcA) 及び E506 と E1247 の脱水素化代謝物と考えられる E506-2H と

E506-2H +GlcA が含まれる。マウス及びラットでは、SNAC、E494 又は E506 のタウリン抱合体、グリシン抱合体、硫酸抱合体及び水酸化代謝物、ならびに、SNAC、E494、E506 及び E1247 のアシルグルクロン酸抱合体も認められた。ヒト血漿中で確認されているすべての SNAC 代謝物は、動物においても生成された。さらに、*in vitro* 肝細胞培養で得られた代謝物プロファイルは、*in vivo* 代謝試験の結果とよく相關していた。

SNAC の排泄パターンは全動物種で同様である。マウス、ラット及びヒトの主要な排泄経路は尿であり、用量の 80%超が速やかに排泄されるが、そのうち SNAC 未変化体が占める割合は 1%未満である。糞中では放射能回収量は限定的であり、経口投与による全身バイオアベイラビリティが低いことを考慮すると、SNAC は消化管からほぼ完全に吸収され、その後、広範な初回通過代謝を受けることが示される。さらに、胆管カニュレーションラットでは、放射能用量の 27%が胆汁中で回収され、糞中に回収されたのはわずか 2%であったことから、経口投与された SNAC のほぼ完全な吸収と腸肝循環が確認された。

3 種の UGT 酵素 (UGT1A7、UGT1A8 及び UGT2B7) が、SNAC 及び β 酸化代謝物 (E494 と E506) のグルクロン酸抱合代謝物への代謝反応に関与している。チトクローム P450 酵素は SNAC の代謝に関与しないと考えられる。SNAC は BCRP トランスポーターの基質であり、SNAC の代謝物は BCRP、OAT1、OAT3 及び MRP2 トランスポーターのいずれか又は複数の基質である。続いて実施した臨床薬物相互作用試験 (4394 試験) では、SNAC 曝露量 (C_{max} 及び AUC) は、シクロスボリン (BCRP の典型阻害剤) 又はプロベネシド (OAT1、OAT3 及び複数の UGT の典型阻害剤) の併用投与による影響を受けないことが示された。これらの結果から、SNAC がその他の併用薬との薬物相互作用における被相互作用薬である可能性は低いことが示される。

ヒト肝ミクロソームを用いた可逆的な時間依存性阻害に関する試験の結果により、SNAC 及び 5 種の代謝物 (E494、E506、E1245、E1246 及び E1247) は、肝臓の主要な薬物代謝酵素である CYP 及び UGT 酵素又は腸の CYP3A の阻害剤ではないことが示された。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験では、SNAC 及び *in situ* で生じる代謝物は CYP 酵素を誘導しないことが示された。同様に、SNAC 及び 5 種の代謝物は、P-gp、BSEP、MRP2、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1 及び OCT2 トランスポーターの阻害剤ではなかった。*In vitro* 試験では、SNAC は消化管の BCRP を阻害する可能性があることが示唆されたが、続いて実施した臨床薬物相互作用試験 (4250 試験) では、ロスバスタチン (BCRP の典型基質) の薬物動態は SNAC の併用投与による影響を受けなかった。以上より、SNAC がその他の併用薬との薬物相互作用における相互作用薬である可能性は低いと考えられる。

結論として、すべての動物種において、SNAC は速やかに吸収され、速やかに排出される。経口投与後の SNAC の全身バイオアベイラビリティは、広範な初回通過代謝のため、比較的低い。薬物動態や

代謝の大きな性差は認められず、1日1回の反復投与後に累積は生じない。また、SNACが臨床的に意義のある薬物間相互作用の被相互作用薬又は相互作用薬となる可能性は低いと考えられる。

参考文献

- ¹ Shah VP, Midha KK, Dighe S, McGilveray IJ, Skelly JP, Yacobi A et al. Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies (Conference Report). *Pharm. Res.* 1992;9(4):588-92.
- ² FDA. Guidance to Industry. Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Veterinary Medicine (CVM). May 2001.
- ³ EMA. Guideline on Bioanalytical Method Validation. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). EMEA/CHMP/EWP/192217/2009, February 2012.
- ⁴ Oda S, Fukami T, Yokoi T, Nakajima M. A comprehensive review of UDP-glucuronosyltransferase and esterases for drug development. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2015;30(1):30-51.
- ⁵ FDA. Draft Guidance for Industry Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations, February 2012.
- ⁶ FDA. Draft Guidance for Industry. In Vitro Metabolism- and Transporter- Mediated Drug-Drug Interaction Studies. October 2017.
- ⁷ MHLW. Guideline on drug interaction for drug development and appropriate provision of information, July 2018.
- ⁸ Koutsari C, Basu R, Rizza RA, Nair KS, Khosla S, Jensen MD. Nonoxidative free fatty acid disposal is greater in young women than men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(2):541-7.
- ⁹ Cheng Y, Prusoff WH. Relationship between the inhibition constant (K_1) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol.* 1973;22(23):3099-108.
- ¹⁰ Haupt LJ, Kazmi F, Ogilvie BW, Buckley DB, Smith BD, Leatherman S, et al. The Reliability of Estimating K_i Values for Direct, Reversible Inhibition of Cytochrome P450 Enzymes from Corresponding IC₅₀ Values: A Retrospective Analysis of 343 Experiments. *Drug Metab Dispos.* 2015;43(11):1744-50.
- ¹¹ Gertz M, Kilford PJ, Houston JB, Galetin A. Drug lipophilicity and microsomal protein concentration as determinants in the prediction of the fraction unbound in microsomal incubations. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(3):535-42.
- ¹² Yang J, Jamei M, Yeo KR, Tucker GT, Rostami-Hodjegan A. Prediction of intestinal first-pass drug metabolism. *Curr Drug Metab.* 2007;8(7):676-84.

リベルサス錠 3mg
リベルサス錠 7mg
リベルサス錠 14mg

2.6.5 薬物動態試験の概要表

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
薬物動態試験の概要表	3
2.6.5.1 薬物動態試験一覧	3
2.6.5.2 分析法及びバリデーション報告書	4
2.6.5.3 吸収（単回投与）	5
2.6.5.3.1 サルにおける最大耐量及び薬物動態試験（経口及び皮下；208302）	5
2.6.5.3.2 ³ H-[Oct]-セマグルチドを用いたサルにおける薬物動態試験（209115）	6
2.6.5.3.3 吸収（反復投与）	7
2.6.5.3.3.1 ラットにおける 2 週間経口投与用量範囲設定試験（208301）	7
2.6.5.3.3.2 ラットにおける 6 週間経口投与毒性試験（208300）	8
2.6.5.3.3.3 ラットにおける 26 週間経口投与毒性試験（210196）	10
2.6.5.3.3.4 サルにおける最大耐量及び薬物動態試験（経口及び皮下；208302）	11
2.6.5.3.3.5 サルにおける 6 週間毒性試験（209153）	12
2.6.5.4 組織分布	14
2.6.5.5 血漿タンパク質結合	14
2.6.5.6 妊娠又は授乳動物を用いた試験	14
2.6.5.7 その他の分布試験	14
2.6.5.8 <i>In vivo</i> 代謝	15
2.6.5.8.1 ラット血漿中代謝物プロファイリング（単回投与、液剤；209157）	15
2.6.5.8.2 ラット血漿中代謝物プロファイリング（単回投与、錠剤；209112）	16
2.6.5.8.3 サル血漿中代謝物プロファイリング（単回投与、錠剤；209323）	17
2.6.5.9 <i>In vitro</i> 代謝	18
2.6.5.10 推定代謝経路	18
2.6.5.11 薬物代謝酵素誘導／阻害	18
2.6.5.12 排泄	19
2.6.5.13 胆汁中排泄	20
2.6.5.14 薬物相互作用	20
2.6.5.15 その他の薬物動態試験	20
2.6.5.16 付録 サルカプロザートナトリウム：薬物動態試験の概要表	20

付録

2.6.5.16 付録 サルカプロザートナトリウム：薬物動態試験の概要表

薬物動態試験の概要表

A comprehensive nonclinical pharmacokinetic (PK) evaluation of subcutaneous administered semaglutide was made for the Ozempic registration file (Please see Module 1.13.1).

In addition, the PK of oral semaglutide has been evaluated in the species used in the repeat dose toxicity studies; Sprague Dawley rat and cynomolgus monkey. Furthermore, the metabolism and excretion of semaglutide have been evaluated *in vivo* in the same species. These studies are tabulated below.

The PK evaluation of the new excipient salcaprozate sodium (SNAC) is tabulated in ‘Salcaprozate sodium: Pharmacokinetic Tabulated Summary’, included in Module 2.6.5.16 Appendix.

2.6.5.1 薬物動態試験一覧

Test article: Semaglutide

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	Location in CTD
Absorption, single dose					
Pharmacokinetics	Cynomolgus Monkey	Oral (capsule) and s.c.	[REDACTED]	208302	4.2.3.2-A-4
Pharmacokinetics	Cynomolgus Monkey	Oral (tablet) and i.v.	[REDACTED]	209115	4.2.2.2-A-1
Absorption, repeat dose					
DRF rats	Rat	Oral (liquid)	Novo Nordisk A/S	208301	4.2.3.2-A-1
6 weeks rat ^{GLP}	Rat	Oral (liquid)	Novo Nordisk A/S	208300	4.2.3.2-A-2
26 weeks rat ^{GLP}	Rat	Oral (liquid)	[REDACTED]	210196	4.2.3.2-A-3
MTD monkey	Cynomolgus Monkey	Oral (capsule) and s.c.	[REDACTED]	208302	4.2.3.2-A-4
6 weeks monkey ^{GLP}	Cynomolgus Monkey	Oral (capsule)	[REDACTED]	209153	4.2.3.2-A-5
Distribution					
No studies were performed following oral administration of semaglutide					
Metabolism					
<i>In vivo</i> plasma metabolite profile	Rat	Oral (liquid)	Novo Nordisk A/S	209157	4.2.2.4-A-1
<i>In vivo</i> plasma metabolite profile	Rat	Oral (tablet)	Novo Nordisk A/S	209112	4.2.2.4-A-2

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	Location in CTD
In vivo plasma metabolite profile	Cynomolgus Monkeys	Oral (tablet)	Novo Nordisk A/S	209323	4.2.2.4-A-3
Possible Metabolic Pathways					
No studies were performed following oral administration of semaglutide					
Induction/Inhibition of Drug-Metabolizing Enzymes					
No studies were performed following oral administration of semaglutide					
Excretion					
Excretion, monkey	Cynomolgus Monkeys	Oral (Tablet) and i.v.	[REDACTED]	209115	4.2.2.2-A-1
Pharmacokinetic Drug Interactions					
No studies were performed following oral administration of semaglutide					
Other					
No other studies performed					

2.6.5.2 分析法及びバリデーション報告書

See 2.6.4.2 Method of Analysis

2.6.5.3 吸收（単回投与）

Test article: Semaglutide

2.6.5.3.1 サルにおける最大耐量及び薬物動態試験（経口及び皮下；208302）

Report title: NNC 0113-0217 with carrier protein NNC 0113-3363: Maximum tolerated dose study by oral (capsule) administration and pharmacokinetic study by oral (capsule) and subcutaneous administration to cynomolgus monkeys

Date of First Dose: 11 November 2008**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.3.2-A-4

Study ID: 208302			
Species	Cynomolgus monkeys		
Gender (M/F) / Number of animals	2M/2F		
Feeding condition	Fed two hours after dosing		
Vehicle/Formulation	Subcutaneous vehicle: aqueous solution of 1.42 mg/mL Na ₂ HPO ₄ , 14 mg/mL propylene glycol, 5.5 mg/mL phenol, pH 7.4) and oral capsule containing SNAC		
Method of Administration	Oral and subcutaneous		
Dose (mg/kg)	Oral: 31 mg and s.c.: 0.01 mg/kg		
Sample (Matrix)	Plasma		
Analyte	Semaglutide		
Assay	LOCI		
PK parameters (individual values separated by ;):			
Dose			
t_{max} (h)	M	24; 24	4; 4
	F	24; 24	4; 4
C_{max} (nM)	M	11.5; 9.6	621; 18.4
	F	16.4; 11.5	2.9; 791
AUC (h×nM)	M	1200; 913	32300; 819
	F	1500; 1200	155; 43100
t_½(h)	M	60; 50	44; 5.8
	F	51; 64	NC; NC
F_{rel} (%);	-		
	2.38 ± 2.05 ^a		

Additional Information: NNC 0113-3363 is the NN compound number for SNAC.

NC = not calculable;

a: pooled M and F (n=3; F_{rel} not calculable for one animal) presented as mean ± SD

2.6.5.3.2 ^3H -[Oct]-セマグルチドを用いたサルにおける薬物動態試験 (209115)

Report title: ^3H -Oct-NNC 0113-0000-0217 with carrier compound NNC 0113-3363: A study of disposition following intravenous and oral administration to the male cynomolgus monkey

Date of First Dose: 29 April 2009

Duration of Dosing: 1 day

Location in CTD: 4.2.2.2-A-1

	Study ID: 209115	
Species	Cynomolgus monkeys	
Gender (M/F) / Number of animals	3M	
Feeding condition	Fed two hours after dosing	
Vehicle/Formulation	Intravenous vehicle: Disodium hydrogen phosphate 2H ₂ O (1.42 mg/mL), Propylene glycol (14.0 mg/mL), Phenol (5.50 mg/mL) and a pH of approximately 7.4 . Tablets contained: 450 mg NNC 0113-3363	
Method of Administration	Intravenous and oral	
Dose (mg/kg)	Intravenous: 0.01 mg/kg Oral: 4.5 mg/kg	
Sample (Matrix)	Plasma	
Analyte	Semaglutide	
Assay	LOCI	
PK parameters:		
Dose	Intravenous (0.01 mg/kg)	Oral (4.5 mg/kg)
t_{max} (h)	-	3.3±0.58
C_{5 min} (nM)	38±4.2	-
C_{max} (nM)	-	20.2±13.1
AUC (h×nM)	1070±73.8	1040±773
t_½(h)	54±3.7	51±3.7
F (%)	-	0.16±0.13
CL (L/h/kg)	0.00227±0.000155	-
V_z (L/kg)	0.177±0.0192	-

Additional information: The monkeys were dosed with radioactive semaglutide. However, PK based on measurement of radioactivity was not calculated as metabolite profiling data (209323) showed that tritiated water was present in high amounts in samples which then would not provide helpful PK results. Individual F values were 0.07, 0.10, and 0.30%.

The blood:plasma ratio was investigated and suggested low uptake into red blood cells (range 0.47-0.77 irrespective of dose route).

- = not applicable.

2.6.5.3.3 吸收（反復投与）

Test article: Semaglutide

2.6.5.3.3.1 ラットにおける 2 週間経口投与用量範囲設定試験（208301）

Report title: 2-week dose range finding study in Sprague-Dawley rats by daily oral administration**Date of First Dose:** 23 October 2008**Duration of Dosing:** 2 weeks**Location in CTD:** 4.2.3.2-A-1

Study ID: 208301						
Species	Sprague Dawley rat					
Gender (M/F) / Number of animals	2M/2F animals per time point					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Vehicle: semaglutide:SNAC (ratio 1:15) and water adjusted to pH 8.5 with NaOH					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Dose (mg/kg)	6.67, 33.36, 66.67 (Once daily dosing)					
Sample (Matrix)	Plasma					
Analyte	Semaglutide					
Assay	LOCI					
PK parameters:						
Day				1		
Dose (mg/kg)		6.67	33.36	66.67	6.67	33.36
t_{max} (h)	M	0.5	0.5	2.0	0.5	0.5
	F	NR	2.0	6.0	NR	0.5
C_{max} (nM)	M	2.14	169	1640	0.563	7.68
	F	NR	509	1340	NR	37.7
AUC_{0-24h} (h×nM)	M	NR	1470	11900	NR	NA
	F	NR	4060	14400	NR	256
AUC (h×nM)	M	NR	1620	12500	NR	NR
	F	NR	NR	NR	NR	651
Rac_{obs}	M	NA	NA	NA	NC	0.0120
	F	NA	NA	NA	NC	0.0632
						0.0337

Additional Information: PK parameters are composite mean based on mean plasma concentration at sampling time point.

NC: Not Calculated, NA: Not Applicable, NR: Not Reported,

2.6.5.3.3.2 ラットにおける 6 週間経口投与毒性試験 (208300)

Report title: 6-week oral toxicity study in rats**Date of First Dose:** 27 January 2009**Duration of Dosing:** 6 weeks**Location in CTD:** 4.2.3.2-A-2

Study ID: 208300	
Species	Sprague Dawley rats
Gender (M/F) / Number of animals	12M/12F (n=3/2/1) per time point
Feeding condition	Fed
Vehicle/Formulation	Vehicle: semaglutide:SNAC (ratio 1:15) and water adjusted to pH 8.5 with NaOH
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	6.67, 33.36, 66.67 (Once daily dosing)
Sample (Matrix)	Plasma
Analyte	Semaglutide
Assay	LOCI
PK parameters:	

Day	1			42		
Dose (mg/kg)	6.67	33.36	66.67	6.67	33.36	66.67
t_{max} (h)	M	NC	6.0	2.0	NC	6.0
	F	6.0	6.0	2.0	6.0	6.0
C_{max} (nM)	M	NC	141	705	NC	87.5
	F	1.59	286	2130	10.9	109
t_½ (h)	M	NC	4.4	5.8	NC	NR
	F	26	4.3	NR	NC	NR
AUC_{0-24h} (h×nM)	M	NC	1350	6260	NC	732
	F	24.2	2200	20400	41.6	1050
AUC (h×nM)	M	NC	1390	6710	NC	NR
	F	NR	2280	NC	NC	NR
Rac_{obs}	M	NA	NA	NA	NC	0.543
	F	NA	NA	NA	1.72	0.476
C_{max}/dose (nM)/(mg/kg)	M	NC	4.23	10.6	NC	2.64
	F	0.24	8.57	31.9	1.63	3.27
AUC_{0-24h} /dose (h×nM)/(mg/kg)	M	NC	41	94	NC	22
	F	4	66	306	6	32
						71

Additional Information: PK parameters are composite mean based on mean plasma concentration at sampling time point. Antibody development was assessed using an anti-semaglutide antibody RIA. All animals were negative for anti-drug antibodies.

NC: Not Calculated, NA: Not Applicable; NR: Not Reported

2.6.5.3.3.3 ラットにおける 26 週間経口投与毒性試験 (210196)

Report title: Toxicity Study by Oral Gavage Administration to Sprague-Dawley Rats for 26 Weeks Followed by a 4 Week Recovery Period **Date of First Dose:** 12 October 2010

Duration of Dosing: 26 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-A-3

Study ID: 210196	
Species	Sprague Dawley rats
Gender (M/F) / Number of animals	20M/20F (n=4) per time point
Feeding condition	Fed
Vehicle/Formulation	Vehicle: semaglutide:SNAC (ratio 1:15) and water adjusted to pH 8.5 with NaOH
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	6, 20 and 60 (Once daily dosing)
Sample (Matrix)	Plasma
Analyte	Semaglutide
Assay	LOCI
PK parameters:	

Week	1			26			
	Dose (mg/kg)	6	20	60	6	20	60
t_{max} (h)	M	NC	2	2	NC	2	2
	F	6	2	12	6	2	12
C_{max} (nM)	M	NC	28.8	234	NC	1500	383
	F	6.01	22.8	537	9.37	60.6	288
AUC_{0-24h} (h×nM)	M	NC	316	2650	NC	3170	3140
	F	53.7	155	5540	86.0	333	4250
Rac_{obs}	M	NC	NC	NC	NC	10.0	1.18
	F	NC	NC	NC	1.6	1.55	0.767

Additional Information: PK parameters are composite mean based on mean plasma concentration at sampling time point. AUC_{0-12h} was reported for Group 5 (6 mg/kg) females in both week 1 and 26 and for Group 6 (20 mg/kg) in week 1. AUC_{0-12h} was used to calculate Rac_{Obs} for females Group 5 (6 mg/kg) and 6 (20 mg/kg). Antibody development was assessed using an anti-semaglutide antibody RIA. All animals were negative for anti-drug antibodies. NC: Not Calculated, NA: Not Applicable.

2.6.5.3.3.4 サルにおける最大耐量及び薬物動態試験（経口及び皮下；208302）

Report title: NNC 0113-0217 with carrier protein NNC 0113-336: Maximum tolerated dose study by oral (capsule) administration and pharmacokinetic study by oral (capsule) and subcutaneous administration to cynomolgus monkeys		Date of First Dose: 11 November 2008
		Duration of Dosing: 2 weeks
		Location in CTD: 4.2.3.2-A-4
Study ID: 208302		
Species	Cynomolgus monkey	
Gender (M/F) / Number of animals	4M/4F	
Feeding condition	Fed two hours after dosing	
Vehicle/Formulation	Vehicle: oral capsules containing semaglutide and SNAC (ratio 1:15)	
Method of Administration	Oral	
Dose (mg)	10.69, 15.63, 31.26 (Once daily dosing)	
Sample (Matrix)	Plasma	
Analyte	Semaglutide	
Assay	LOCI	
PK parameters:		
Day	1	14
Dose (mg)	31	
t_{max} (h)		
M	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
F	5.0 ± 2.0	4.0 ± 3.3
C_{max} (nM)		
M	184 ± 127	172 ± 126
F	104 ± 71.7	229 ± 295
AUC_{tau} (h×nM)		
M	3040 ± 2230	2960 ± 2120
F	1650 ± 1180	4500 ± 5730
Rac_{obs}		
M	-	1.40 ± 0.95
F	-	3.04 ± 2.13

Additional Information: Mean ± SD

NNC 0113-3363 is the NN compound number for SNAC.

Only data from the fixed dose phase where the animals were dosed a fixed dose for 2 weeks. The PK arm of the study is tabulated under single dose administration.

2.6.5.3.3.5 サルにおける 6 週間毒性試験 (209153)

Report title: Toxicity study by oral capsule administration to cynomolgus monkeys for 6 weeks followed by a 2 week recovery period

Date of First Dose: 08 June 2009

Duration of Dosing: 6 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-A-5

Study ID: 209153				
Species	Cynomolgus monkey			
Gender (M/F) / Number of animals	6M/6F			
Feeding condition	Fed two hours after dosing			
Vehicle/Formulation	Vehicle: oral capsules containing semaglutide and SNAC (ratio 1:15)			
Method of Administration	Oral			
Dose (mg/kg)	5.0 and 10.0 (Once daily dosing)			
Sample (Matrix)	Plasma			
Analyte	Semaglutide			
Assay	LOCI			
PK parameters:				
Day	1		42	
Dose (mg/kg)	5.0	10.0	5.0	10.0
t_{max} (h)				
M	2.0 (2.0 to 8.0)	3.0 (2.0 to 24.0)	4.0 (0.0 to 8.0)	3.0 (2.0 to 4.0)
F	2.0 (0.0 to 4.0)	3.0 (2.0 to 8.0)	3.0 (0.0 to 8.0)	2.0 (0.0 to 4.0)
C_{max} (nM)				
M	57.1 ± 40.8	102 ± 55.5	64.5 ± 63.5	160 ± 151
F	33.4 ± 40.8	267 ± 361	25.4 ± 21.9	281 ± 232
t_½ (h)				
M	NC	NC	52.1 (N=2)	52.4 (N=2)
F	NC	NC	53.9 (N=1)	61.9 (N=2)
AUC_{0-24h} (h×nM)				
M	979 ± 698	1540 ± 1060	1180 ± 1090	2870 ± 2740
F	607 ± 744	3580 ± 4680	445 ± 344	5150 ± 4470
Rac_{obs}				
M	NA	NA	1.70 ± 1.31	1.51 ± 0.74
F	NA	NA	3.22 ± 4.78	3.66 ± 4.26

Report title: Toxicity study by oral capsule administration to cynomolgus			Date of First Dose: 08 June 2009	
C_{max}/dose (nM)/(mg/kg)				
M	11.4	10.2	12.9	16.0
F	6.68	26.7	5.08	28.1
AUC_{0-24h} /dose (hxnM)/(mg/kg)				
M	196	154	236	287
F	121	358	89.0	515
Additional Information: Mean ±SD except t _{max} [Median (range)], C _{max} /dose and AUC _{0-24h} /dose : Calculated from mean values of C _{max} and AUC _{0-24h} , respectively. t1/2 : shown only mean due to small number on animal which could be calculate. NC, not calculable; NA, not applicable.				

2.6.5.4 組織分布**Test article:** Semaglutide

The distribution of semaglutide has been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.5 血漿タンパク質結合**Test article:** Semaglutide

The plasma protein binding of semaglutide has been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.6 妊娠又は授乳動物を用いた試験**Test article:** Semaglutide

Studies in pregnant and nursing animals with semaglutide have been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.7 その他の分布試験**Test article:** Semaglutide

No other studies performed.

2.6.5.8 *In vivo* 代謝**Test article:** Semaglutide

2.6.5.8.1 ラット血漿中代謝物プロファイリング（単回投与、液剤；209157）

Species:	Sprague Dawley rat							
Gender (M/F) / Number of animals:	18M							
Feeding condition:	Fed 2 h after dosing							
Vehicle/Formulation:	1.1 mg/mL semaglutide (90 µCi/mL [³ H]Oct-semaglutide) and 33.3 mg/mL NNC 0113-3363 (SNAC) in MilliQ water adjusted to pH 8.5							
Method of Administration:	Oral (gavage)							
Dose (mg/kg):	Mean dose: 6.9 mg/kg (567 µCi/kg, 21 MBq/kg)							
Radionuclide:	³ H-[Oct]							
Specific Activity:	13 GBq/mmol (0.35 Ci/mmol)							
Species	Sample	Sampling Period	Parent (40.8 min)	% of AUC Metabolite P2 (39.4 min)	% of AUC Metabolite P3 (40.0 min)	% of AUC Metabolite P4 (60.1 min)	Study ID	Location in CTD
Rat (male)	Plasma	5 min - 24 h	24	53	12	11	209157	4.2.2.4-A-1

Additional Information:

The prefix P is a letter code representing plasma as biological matrix. The numbers refer to the elution order of the chromatographic (HPLC) peaks and these peak numbers cannot necessarily be compared between studies.

a: The relative exposure was calculated as the percentage of $AUC_{(peak)}$ relative to $AUC_{(all\ peaks\ minus\ P1)}$. P1 is expected to be tritiated water as it is eluted in the front of the chromatogram and disappears when the sample is freeze dried. P1 is therefore not regarded as a closely related metabolite and not taken in account when calculating relative exposure values. Values in parenthesis are mean elution time (minutes).

The metabolites P2 and P3 eluted close to semaglutide and they are therefore closely related metabolites. P4 eluted approximately 20 min. later than semaglutide and is therefore much more hydrophilic than the parent molecule.

2.6.5.8.2 ラット血漿中代謝物プロファイリング（単回投与、錠剤；209112）

Species:	Sprague Dawley rat
Gender (M/F) / Number of animals:	18M
Feeding condition:	Fed 2 h after dosing
Vehicle/Formulation:	Tablet: 1 mg semaglutide (190 µCi [³ H]-Oct-semaglutide) and 30 mg SNAC
Method of Administration:	Oral
Dose (mg/kg):	Mean dose: 4.2 mg/kg (189 MBq/kg)
Radionuclide:	[³ H]Oct
Specific Activity:	29 GBq/mmol
Assay	HPLC system equipped with an autosampler, pump, radiochemical detector and an UV detector

Species	Sample	Sampling Period		% of AUC ^a				Study ID	Location
				semaglutide (40.9 min)	Metabolite P2 (39.7 min)	Metabolite P3 (40.3 min)	Metabolite P4 (60.1 min)		
Rat (male)	Plasma	30 min - 24 h		41	2	40	7	209112	4.2.2.4-A-2

Additional Information:

The prefix P is a letter code representing plasma as biological matrix. The numbers refer to the elution order of the chromatographic (HPLC) peaks and these peak numbers cannot necessarily be compared between studies.

a: The relative exposure was calculated as the percentage of AUC_(peak) relative to AUC_(all peaks minus P1). P1 is expected to be tritiated water as it is eluted in the front of the chromatogram and disappears when the sample is freeze dried. P1 is therefore not regarded as a closely related metabolite and not taken in account when calculating relative exposure values. Values in parenthesis are mean elution time (minutes).

The metabolites P2 and P3 eluted close to semaglutide and they are therefore closely related metabolites. P4 eluted approximately 20 min. later than semaglutide and is therefore much more hydrophobic than the parent molecule.

2.6.5.8.3 サル血漿中代謝物プロファイリング（単回投与、錠剤；209323）

Species:	Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of animals:	3M
Feeding condition:	Fed 2 h after dosing
Vehicle/Formulation:	Tablet 15 mg semaglutide (405 µCi 3 H-[Oct]-semaglutide) and 450 mg SNAC
Method of Administration:	Oral
Dose (mg/kg):	Mean dose: 4.5 mg/kg (121 µCi/kg, 4.5 MBq/kg)
Radionuclide:	3 H-[Oct]
Specific Activity:	4.1 GBq/mmol
Assay	HPLC online radiodetection

Species	Sample	Sampling Period		% of AUC^a		Study ID	Location in CTD
				semaglutide (37.8 min)	Metabolite P2^b (60.8 min)		
Monkey(male)	Plasma	30 min - 24 h		50	50	209323	4.2.2.4-A-3

Additional Information:

The prefix P is a letter code representing plasma as biological matrix. The numbers refer to the elution order of the chromatographic (HPLC) peaks and these peak numbers cannot necessarily be compared between studies.

a: The relative exposure was calculated as the percentage of $AUC_{(peak)}$ relative to $AUC_{(all\ peaks\ minus\ P1)}$. P1 is expected to be tritiated water as it is eluted in the front of the chromatogram and disappears when the sample is freeze dried. P1 is therefore not regarded as a closely related metabolite and not taken in account when calculating relative exposure values. Values in parenthesis are mean elution time (minutes).

b: The P2 metabolite eluted approximately 20 min. later than semaglutide and is therefore much more hydrophobic than the parent molecule. P2 the same as P4 in rat following oral dosing (see [2.6.5.8.2](#))

2.6.5.9 *In vitro* 代謝**Test article:** Semaglutide

The *in vitro* metabolism of semaglutide has been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.10 推定代謝経路**Test article:** Semaglutide

Metabolic pathways for semaglutide have been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.11 薬物代謝酵素誘導／阻害**Test article:** Semaglutide

Effect of semaglutide on drug metabolising enzymes has been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.12 排泄

Test article: Semaglutide

³H-セマグルチドを単回静脈内及び経口投与時のサルにおける排泄

Species:	Cynomolgus monkey				Cynomolgus monkey			
Gender (M/F) / Number of animals:	3M				3M			
Feeding condition:	Fed 2 h after dosing				Fed 2 h after dosing			
Vehicle/Formulation:	Disodium hydrogen phosphate 2H ₂ O (1.42 mg/mL), Propylene glycol (14.0 mg/mL), Phenol (5.50 mg/mL) and a pH of approximately 7.4				Tablet containing 450 mg NNC 0113-3363 (SNAC)			
Method of Administration:	Intravenous				Oral (tablet)			
Dose (mg/kg):	Mean dose of 0.01 mg/kg (103 µCi/kg, 3.8 MBq/kg)				Mean dose of 4.5 mg/kg (411 µCi/kg, 15.2 MBq/kg)			
Analyte:	³ H (total radioactivity)				³ H (total radioactivity)			
Assay	LSC				LSC			
Excretion route (%)	Urine	Faeces	Cage wash	Total	Urine	Faeces	Cage wash	Total
Time								
0 – 24 hr	3.23	0.092	0.29	3.61	1.93	6.91	0.39	9.23
0 – 192 hr	20.10	12.46	3.67	36.23	14.78	47.99	1.39	64.56
Study ID	209115				209115			
Location in CTD	4.2.2.2-A-1				4.2.2.2-A-1			

Additional Information:

The presence of radioactivity in faeces (34% of total radioactivity, calculated as Faeces_{0-192h} over Total_{0-192h}) after intravenous administration indicates that biliary excretion was occurring.

LSC = Liquid Scintillation Counting

2.6.5.13 胆汁中排泄**Test article:** Semaglutide

Bile excretion of semaglutide has been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.14 薬物相互作用**Test article:** Semaglutide

The drug-drug interaction potential of semaglutide has been evaluated as part of the Ozempic nonclinical programme (See Module 1.13.1).

2.6.5.15 その他の薬物動態試験**Test article:** Semaglutide

No other studies performed.

リベルサス錠 3mg
リベルサス錠 7mg
リベルサス錠 14mg

2.6.5.16 付録
サルカプロザートナトリウム
薬物動態試験の概要表

ノボノルディスク ファーマ株式会社

目次

	ページ
目次	2
2.6.5.16.1薬物動態試験一覧	5
2.6.5.16.2分析法及びバリデーション報告書	8
2.6.5.16.3吸收（単回投与）	9
2.6.5.16.3.A CD-1マウスにおける薬物動態試験（JLY0363）	9
2.6.5.16.3.B CD-1マウスにおける忍容性及びトキシコネティクス（JLY0557）	10
2.6.5.16.3.C ラットにおける経口投与時の薬物動態（JLY0413）	12
2.6.5.16.3.D 絶食及び非絶食ラットにおける ¹⁴ C放射能標識E414の薬物動態プロファイリング (1113-97)	13
2.6.5.16.3.E ラットにおける作用機序試験（グルコース持続注入；JLY0468）	14
2.6.5.16.3.F ラットにおける作用機序試験（副作用の作用機序；JLY0517）	15
2.6.5.16.3.G アカゲザルにおける静脈内投与最大耐量試験（980305/EMISTOX98003）	16
2.6.5.16.3.H 静脈内及び経口投与カニクイザルにおけるE414の動態（R96006）	17
2.6.5.16.4吸收（反復投与）	18
2.6.5.16.4.A rasH2マウスにおける6週間用量範囲設定試験（JLY0382）	18
2.6.5.16.4.B CD-1マウスにおける13週間強制経口投与毒性試験（A16705）	19
2.6.5.16.4.C rasH2マウスにおける26週間がん原性試験（JLY0436）	20
2.6.5.16.4.D Sprague-Dawleyラットにおける2週間強制経口投与薬物動態試験（8264634）	21
2.6.5.16.4.E Wistarラットにおける13週間強制経口投与毒性試験（A62807）	22
2.6.5.16.4.F Sprague-Dawleyラットにおける13週間強制経口投与毒性試験（JLY0532）	23
2.6.5.16.4.G Sprague-Dawleyラットにおける26週間強制経口投与毒性試験（補足報告書； JLY0278）	25
2.6.5.16.4.H Sprague-Dawleyラットにおける12箇月強制経口投与毒性試験（211504）	26
2.6.5.16.4.I Sprague-Dawleyラットにおける104週間強制経口投与がん原性試験（JLY0366）	28
2.6.5.16.4.J 妊娠ウサギにおける強制経口投与用量範囲設定試験（215066）	30
2.6.5.16.4.K アカゲザルにおける14日間強制経口投与毒性試験（215104）	31
2.6.5.16.4.L アカゲザルにおける9箇月間強制経口投与がん原性試験（211503）	32
2.6.5.16.5組織分布	34
2.6.5.16.5.A マウスにおける定量的全身オートラジオグラフィー（806-96）	34
2.6.5.16.5.B アルビノラットにおける全身オートラジオグラフィー（8264635）	35
2.6.5.16.5.C 有色ラットにおける全身オートラジオグラフィー（8293636）	40
2.6.5.16.5.D ラットにおける組織分布（JLY0539）	43

2.6.5.16.6 血漿タンパク質結合	44
2.6.5.16.6.A 血漿タンパク質及びアルブミン結合 (993132)	44
2.6.5.16.6.B 血漿タンパク質結合 (8288420)	46
2.6.5.16.7 妊娠又は授乳動物を用いた試験	48
2.6.5.16.7.A ラットにおける胎盤通過及び乳汁分泌 (8293637)	48
2.6.5.16.8 その他の分布試験	51
2.6.5.16.8.A <i>In vitro</i> 血球分配 (8361742)	51
2.6.5.16.9 <i>In vivo</i> 代謝	52
2.6.5.16.9.A RasH2 マウスにおける薬物動態及び代謝物プロファイリング (JLY0497 及び 8298400)	52
2.6.5.16.9.B ラットにおける代謝物プロファイリング (8265975)	55
2.6.5.16.9.C ラットにおける代謝物プロファイリング (8299924)	58
2.6.5.16.9.D アカゲザルにおける代謝物プロファイリング (F080)	60
2.6.5.16.9.E ヒトにおける代謝物プロファイリング (ERP23)	61
2.6.5.16.9.F ヒトにおける代謝物プロファイリング (8288449)	62
2.6.5.16.10 <i>In vitro</i> 代謝	63
2.6.5.16.10.A 肝細胞における代謝 (991596)	63
2.6.5.16.10.B 肝細胞における代謝 (993529)	64
2.6.5.16.10.C UDP グルクロン酸転移酵素 (UGT) における代謝 (XT154037)	65
2.6.5.16.11 ヒトにおける SNAC の推定代謝経路	66
2.6.5.16.12 薬物代謝酵素誘導／阻害	67
2.6.5.16.12.A CYP 及び UGT 酵素阻害 (XT125038)	67
2.6.5.16.12.B CYP 及び UGT 酵素阻害 (XT12A029)	69
2.6.5.16.12.C CYP 酵素阻害 (XT175053)	73
2.6.5.16.12.D CYP 酵素誘導 (XT123037)	76
2.6.5.16.12.E トランスポーター阻害 (XT128043)	78
2.6.5.16.12.F トランスポーター阻害 (XT168009)	80
2.6.5.16.12.G トランスポーター基質の評価 (XT168030)	81
2.6.5.16.13 排泄	83
2.6.5.16.13.A マウスにおける排泄 (768-95)	83
2.6.5.16.14 胆汁中排泄	84
2.6.5.16.14.A ラットにおける胆汁中排泄 (8264643)	84
2.6.5.16.15 薬物相互作用	85
2.6.5.16.16 その他の薬物動態試験	85

2.6.5.16.16.A 総 ^{14}C -SNAC 由来放射能曝露量の割合を指標としたヒト血漿中代謝物曝露量の算出 (ERP23)	85
--	----

2.6.5.16.1 薬物動態試験一覧

**Test article: salcaprozate sodium
(SNAC)**

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	NN Reference Number	Location in CTD
Absorption, single dose						
Pharmacokinetic Study in CD-1 Mice	Mouse/CD-1	Oral	[REDACTED] [REDACTED]	JLY0363	211523	4.2.2.2-B-1
Assessment of Tolerability and Toxicokinetics in the CD-1 Mouse after a Single Oral Dose	Mouse/CD-1	Oral	[REDACTED] [REDACTED]	JLY0557	214311	4.2.3.7.3-B-7
Investigative study by intravenous administration to compare a single bolus against a continuous infusion in Sprague Dawley rats	Rat/Sprague Dawley	Intravenous (bolus and infusion)	[REDACTED] [REDACTED]	JLY0413	212434	4.2.3.7.3-B-10
Pharmacokinetic profiling of the radiolabel following ¹⁴ C-E414 in Fasted and Unfasted Sprague Dawley Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral	[REDACTED] [REDACTED]	1113-97	209226	4.2.2.2-B-2
Investigative Study by a Single Oral Gavage Administration to Sprague Dawley Rats Concomitantly Treated with Glucose	Rat/Sprague Dawley	Oral	[REDACTED] [REDACTED]	JLY0468	213299	4.2.3.7.3-B-11
Investigating the Mechanisms Underlying the Side Effects of a Single Oral Gavage Administration to Sprague Dawley Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral	[REDACTED] [REDACTED]	JLY0517	214112	4.2.3.7.3-B-12
A Maximum Tolerated Dose (MTD) Study Evaluating SNAC Following Intravenous Injection to Rhesus Monkeys	Rhesus Monkey	Intravenous	[REDACTED] [REDACTED]	980305/EMISTOX98003	215097	4.2.2.2-B-3
Disposition in Cynomolgus Macaques following Intravenous and Oral Dosing	Cynomolgus monkey	Oral/intravenous	[REDACTED] [REDACTED]	R96006	209235	4.2.2.2-B-4

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	NN Reference Number	Location in CTD
Absorption, repeated dose						
6 week DRF	Mouse/rasH2	Oral	[REDACTED]	JLY0382	212159	4.2.3.2-B-1
13-week oral (gavage) toxicity study in CD-1 mice	Mouse/CD-1	Oral	[REDACTED]	A16705	209247	4.2.3.2-B-2
26-Carcinogenicity Study in rasH2 Mice	Mouse/rasH2	Oral	[REDACTED]	JLY0436	213067	4.2.3.4.2-B-1
2-week oral (gavage) PK study	Rat/Sprague Dawley	Oral/intravenous	[REDACTED]	8264634	212150	4.2.2.2-B-5
13-week oral toxicity (gavage) study in Wistar rats followed by a 4-week recovery period	Rat/Wistar	Oral	[REDACTED]	A62807	209242	4.2.3.2-B-5
13-week oral toxicity (gavage) in Sprague Dawley Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral	[REDACTED]	JLY0532	214214	4.2.3.7.3-B-13
26-week oral toxicity study by oral gavage with 4 week recovery period – Supplementary report	Rat/Sprague Dawley	Oral	[REDACTED]	JLY0278	210196	4.2.3.2-B-7
Toxicokinetics based on a 12-month oral toxicity (gavage) study in Sprague Dawley rats with 6-month interim sacrifice	Rat/Sprague Dawley	Oral	Novo Nordisk A/S	211504	211504	4.2.2.2-B-6
104-week Carcinogenicity Study in Sprague Dawley Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral	[REDACTED]	JLY0366	211519	4.2.3.4.1-B-1
Toxicokinetics based on an oral (stomach tube) dose range development toxicity study of E414 and E414/heparin in rabbits	Rabbit/New Zealand White	Oral	Novo Nordisk A/S	215066	215066	4.2.2.2-B-7
Toxicokinetics based on E414/heparin: A 14-day Oral Toxicity Study in Rhesus Monkeys	Rhesus monkey	Oral	Novo Nordisk A/S	215104	215104	4.2.2.2-B-8
Toxicokinetics based on a 9-month oral toxicity (gavage) study in Rhesus monkey	Rhesus monkey	Oral	Novo Nordisk A/S	211503	211503	4.2.2.2-B-9

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	NN Reference Number	Location in CTD
Distribution						
Tissue distribution ^a	Mouse/CD-1	Oral (single dose)	[REDACTED]	806-96	209228	4.2.2.3-B-1
Tissue distribution	Rat/Sprague Dawley	Oral (Single dose)	[REDACTED]	8264635	212181	4.2.2.3-B-2
Tissue distribution	Rat/Lister Hooded	Oral (single dose)	[REDACTED]	8293636	213511	4.2.2.3-B-3
Tissue distribution (Brain, CSF, Liver)	Rat/Sprague Dawley	Oral (single dose)	[REDACTED]	JLY0539	214106	4.2.2.4-B-1
<i>In vitro</i> protein binding	Mouse, rat, rabbit, monkey and human plasma	N/A	[REDACTED]	993132	209233	4.2.2.3-B-4
<i>In vitro</i> protein binding (SNAC and five metabolites)	Mouse, rat, rabbit, monkey and human plasma	N/A	[REDACTED]	8288420	214194	4.2.2.3-B-5
Placental transfer/milk secretion	Rat/Sprague Dawley	Oral (single dose)	[REDACTED]	8293637	213445	4.2.2.3-B-6
<i>In vitro</i> blood/plasma partitioning	Human, Rat	N/A	[REDACTED]	8361742	300089	4.2.2.3-B-7
Metabolism						
<i>In vivo</i> plasma metabolite profiling	Mouse/RasH2	Oral (single dose)	[REDACTED]	JLY0497	213404	4.2.2.4-B-2
<i>In vivo</i> plasma metabolite profiling	Mouse/RasH2	Oral (single dose)	[REDACTED]	8298400	214063	4.2.2.4-B-3
<i>In vivo</i> plasma metabolite profile	Rat/Sprague Dawley	Oral (single dose)	[REDACTED]	8265975	212270	4.2.2.4-B-4
<i>In vivo</i> plasma metabolite profile	Rat/Sprague Dawley	Oral (single dose)	[REDACTED]	8299924	214303	4.2.2.4-B-5
<i>In vivo</i> plasma and urine metabolite profiling. Identification of major metabolites	Rhesus monkey	Oral (single dose)	[REDACTED]	F080	209227	4.2.2.4-B-6
<i>In vivo</i> plasma metabolite profile	Human	Oral	[REDACTED]	ERP23	ERP23	5.3.3.1
<i>In vivo</i> plasma metabolite profile	Human	Oral	[REDACTED]	8288449	213287	5.3.2.3
<i>In vitro</i> hepatocyte metabolite profile	Rat, monkey and human	N/A	[REDACTED]	991596	209231	4.2.2.4-B-7
Identification of metabolites	Human	N/A	[REDACTED]	993529	209234	4.2.2.4-B-8
<i>In vitro</i> hepatocyte metabolite profile	Human	N/A	[REDACTED]	XT154037	215112	4.2.2.4-B-9
Identification and confirmation of metabolites	Recombinant Proteins (UGTs)	N/A	[REDACTED]			
<i>In vitro</i> metabolite profile						
UGT reaction phenotyping						

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	NN Reference Number	Location in CTD
<i>In vitro</i> CYP and UGT inhibition (SNAC)	Human	N/A	[REDACTED]	XT125038	212422	4.2.2.4-B10
<i>In vitro</i> CYP and UGT inhibition (metabolites)	Human	N/A	[REDACTED]	XT12A029	213026	4.2.2.4-B11
<i>In vitro</i> CYP inhibition (metabolites)	Human (HLM)	N/A	[REDACTED]	XT175053	301340	4.2.2.4-B12
<i>In vitro</i> CYP induction (SNAC)	Human (Hepatocytes)	N/A	[REDACTED]	XT123037	212430	4.2.2.4-B13
<i>In vitro</i> transporter inhibition (SNAC and pool of five metabolites)	Cell lines	N/A	[REDACTED]	XT128043	212524	4.2.2.4-B14
<i>In vitro</i> transporter inhibition (metabolites)	Cell lines/vesicles	N/A	[REDACTED]	XT168009	301430	4.2.2.4-B15
<i>In vitro</i> transporter substrate evaluation (SNAC and metabolites)	Cell lines/vesicles	N/A	[REDACTED]	XT168030	216350	4.2.2.4-B16
Excretion						
Excretion – urine and faeces ^a	Mouse/CD-1	Oral (single dose)	[REDACTED]	768-95	209237	4.2.2.5-B1
Excretion – urine, bile and faeces	Rat/Sprague Dawley	Oral (single dose)	[REDACTED]	8264643	212180	4.2.2.5-B2
Pharmacokinetic Drug Interactions						
No studies performed						
Other						
No studies performed						

a: Good Laboratory Practice

2.6.5.16.2 分析法及びバリデーション報告書

See section M 2.6.4.10 Appendix, 2.6.4.10.2 Method of Analysis for a description of assays used in Novo Nordisk sponsored studies.

2.6.5.16.3 吸收（単回投与）

Test article: SNAC

2.6.5.16.3.A CD-1 マウスにおける薬物動態試験 (JLY0363)

Test Article: SNAC**Report title:** Pharmacokinetic Study in CD-1 Mice**Date of First Dose:** 05-Jan-2012**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.2.2-B-1

		Study ID: JLY0363 NN Reference No.: 211523			
Species	CD-1 mice				
Gender (M/F) / Number of animals	15M/15F				
Feeding condition	Fed				
Vehicle/Formulation	WFI				
Method of Administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	15, 50, 150, and 500 mg/kg				
Sample (Matrix)	Plasma				
Analyte	SNAC				
Assay	LC-MS/MS				
PK parameters:					
Dose					
t_{max} (h)	M	15 mg/kg	50 mg/kg	150 mg/kg	500 mg/kg
	F	1	0.17	0.17	0.17
C_{max} (ng/mL)	M	218	138	274	2280
	F	353	351	1090	5180
AUC_{last} (h*ng/mL)	M	182	152	753	3490
	F	227	496	1820	11600

Additional Information:

Sparse sampling used of TK assessment. First plasma sampling time point was 10 minutes post dose

Suboptimal sampling schedule for assessment of SNAC exposure; first sampling time point is 0.17h (10 minutes post dose). Based on JLY0557, t_{max} is around 2 to 5 minutes post dose.

2.6.5.16.3.B CD-1 マウスにおける忍容性及びトキシコキネティクス (JLY0557)

Test Article: SNAC**Report title:** Assessment of Tolerability and Toxicokinetics in the CD-1 Mouse after a Single Oral Dose**Date of First Dose:** 12-Sep-2014**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.3.7.3-B-7

			Study ID: JLY0557 NN Reference No.: 214311		
Species			CD-1 mice		
Gender (M/F) / Number of animals			15M/15F		
Feeding condition			Fed		
Vehicle/Formulation			WFI		
Method of Administration			Oral gavage		
Dose (mg/kg)			150, 500 and 1000 mg/kg		
Sample (Matrix)			Plasma		
Analyte			SNAC, E494, E506, E1245, E1246, E1247		
Assay			LC-MS/MS		
PK parameters:					
SNAC	t_{max} (h)	M	150 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
			0.033	0.083	0.033
			F 0.033	0.083	0.033
	C_{max} (ng/mL)	M	11000	80200	121000
			F 8940	83300	183000
	AUC_{last} (h*ng/mL)	M	2410	12100	37300
			F 3550	24000	62200
E494	t_{max} (h)	M	0.083	0.083	0.17
			F 0.083	0.083	0.17
	C_{max} (ng/mL)	M	3390	25500	26600
			F 12900	32300	51200
	AUC_{last} (h*ng/mL)	M	2170	7820	15900
			F 2320	14900	34700
E506	t_{max} (h)	M	0.083	0.083	0.17
			F 0.083	0.17	0.33
	C_{max} (ng/mL)	M	25900	80100	166000
			F 75900	138000	261000

	AUC_{last} (h*ng/mL)	M	11800	41700	115000
		F	25200	151000	362000
E1245	t_{max} (h)	M	0.083	0.083	0.17
		F	0.083	0.083	0.17
	C_{max} (ng/mL)	M	16100	88400	178000
		F	14100	45300	102000
	AUC_{last} (h*ng/mL)	M	18100	53500	142000
		F	17600	81700	122000
E1246	t_{max} (h)	M	0.33	0.33	0.67
		F	0.33	0.33	0.67
	C_{max} (ng/mL)	M	26100	103000	105000
		F	16200	36300	58300
	AUC_{last} (h*ng/mL)	M	50400	154000	380000
		F	40000	141000	257000
E1247	t_{max} (h)	M	0.33	0.33	0.67
		F	0.33	0.67	1.00
	C_{max} (ng/mL)	M	60700	116000	187000
		F	62500	104000	190000
	AUC_{last} (h*ng/mL)	M	150000	376000	876000
		F	145000	495000	843000

Additional Information:

Optimal sampling time used for assessment of C_{max} of SNAC

There was an indication of possible sex differences with a generally higher exposure in female CD-1 mice for SNAC. The higher SNAC exposure in females were more pronounced for the higher given dose of SNAC

2.6.5.16.3.C ラットにおける経口投与時の薬物動態 (JLY0413)

Test article: SNAC

Report title: Investigative study by intravenous administration to compare a single bolus against a continuous infusion in Sprague-Dawley rats

Date of First Dose: 14 November 2012**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.3.7.3-B-10

Study ID: JLY0413 NN Reference No.: 212434			
Species	<u>Rat/Sprague Dawley</u>		
Gender (M/F) / Number of animals	6F (3 animals per time point)		
Feeding condition	Overnight fasting before dosing until approximately one hour after dosing		
Vehicle/Formulation	Water for injection, adjusted to pH 8.5		
Method of Administration	Intravenous (bolus or continuous infusion for 3.5 h)		
Dose (mg/kg)	200		
Sample (Matrix)	Plasma		
Analyte	SNAC		
Assay	LC-MS/MS		
PK parameters:	i.v. bolus	i.v. infusion	
C₀ (h)	593000	NA	
C_{max} (ng/mL)	547000*	19800	
AUC_{last} (ng·h/mL)	169000	37300	
AUC_{0-0.083} (ng·h/mL)	47300	278	

Additional Information:

*Concentration at 5 minutes post dose following i.v. bolus administration

2.6.5.16.3.D 絶食及び非絶食ラットにおける ^{14}C 放射能標識 E414 の薬物動態プロファイリング
(1113-97)

Test Article: ^{14}C - SNAC

	Study ID: 1113-97 NN Reference No.: 209226			
Species	Sprague Dawley rats			
Gender (M/F) / Number of animals	3M /3F (jugular vein cannulated)			
Feeding condition	Fed/fasted			
Vehicle/Formulation	Vehicle: Purified water with pH adjustment between 7.5 and 8.5			
Method of Administration	Oral			
Dose (mg/kg)	300 and 1000 (~ 300 and 1000 $\mu\text{Ci/kg}$)			
Sample (Matrix)	Plasma			
Analyte	SNAC			
Assay	Liquid scintillation			
PK parameters:				
Feeding condition			Fasted	Fed
Dose (mg/kg)			300	1000
t_{max} (h)	M	0.5	0.75	0.5
		F	1	1.5
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	M	218.63	526.35	82.18
		F	235.80	625.95
AUC_{0-6h} ($\mu\text{g} \times \text{min}/\text{mL}$)	M	38376	134154	12403
		F	54112	182622
Additional Information:				
E414 is the synonym used for SNAC in this study. First sample at 10 min post dose				

2.6.5.16.3.E ラットにおける作用機序試験（グルコース持続注入；JLY0468）

Test Article: SNAC

Report title: Investigative Study by a Single Oral Gavage Administration to Sprague-Dawley Rats Concomitantly Treated with Glucose

Date of First Dose: 24-Sep-2013**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.3.7.3-B-11

Study ID: JLY0468 NN Reference No.: 213299												
Species	Sprague Dawley rats											
Gender (M/F) / Number of animals	15F in all groups and 15M in group 5											
Feeding condition	Overnight fasted											
Vehicle/Formulation	WFI											
Method of Administration	Oral gavage											
Dose (mg/kg)	1500 mg/kg											
Sample (Matrix)	Plasma											
Analyte	SNAC											
Assay	LC-MS/MS											
Dose	Group 3A and 4A combined (saline infusion)				Group 3B and 4B combined (Glucose infusion)				Group 5 TK animals			
TK parameters ^a	AUC _{last} (h*ng/mL)	t _{last} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-ter} ^{\$} (h*ng/mL)	AUC _{last} (h*ng/mL)	t _{last} (h)	AUC _{0-ter} ^{\$} (h*ng/mL)	AUC _{last} (h*ng/mL)	t _{last} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-ter} ^{\$} (h*ng/mL)	
Female												
No clinical signs	106000	0.33	467000	NA	424000 [!]	1	NA	281000	24	503000	NA	
Mild clinical sign	173000	0.33	679000	NA	237000	1	NA	411000	24	692000	NA	
Moderate clinical signs	274000	0.33	1080000	NA	227000	1	NA	437000	24	851000	NA	
Marked clinical signs	299000	0.33	1180000	NA	616000	1	NA	1190000	24	833000	NA	
Marked – euthanised*	213000	0.21	1480000	255000	274000	0.29	346000	350000	0.45	1190000	456000	
Male												
No clinical signs	-	-	-	-	-	-	-	163000	24	396000	NA	
Mild clinical sign	-	-	-	-	-	-	-	323000	19.2	577000	NA	
Moderate clinical signs	-	-	-	-	-	-	-	361000	16.5	538000	NA	
Marked clinical signs	-	-	-	-	-	-	-	521000	24	663000	NA	
Marked – euthanised*	-	-	-	-	-	-	-	511000	0.95	799000	607000	

Additional Information:

^{\$} AUC_{ter} = AUC from time of dosing to termination due to severity of clinical signs last observation carried forward

*Animals euthanised due to severity of clinical signs; NA = Not applicable; n = 1

t_{max} of SNAC was early after dosing, ranged from 5 to 20 minutes in animals with no, mild, moderate or marked clinical signs, with the majority of the values being 5 or 10 minutes, where the first sampling time point was 5 minutes.

2.6.5.16.3.F ラットにおける作用機序試験（副作用の作用機序；JLY0517）

Test Article: SNAC

Report title: Investigating the Mechanisms Underlying the Side Effects of a Single Oral Gavage administration to Sprague-Dawley Rats

Date of First Dose: 03-Apr-2014**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.3.7.3-B-12

Study ID: JLY0517 NN Reference No.: 214112				
Species	Sprague Dawley rat			
Gender (M/F) / Number of animals	3F TK phase			
Feeding condition	Overnight fasting			
Vehicle/Formulation	WFI			
Method of Administration	Oral gavage			
Dose (mg/kg)	TK phase: 75, 200, 500 and 900 mg/kg			
Sample (Matrix)	Plasma			
Analyte	SNAC			
Assay	LC-MS/MS			
PK parameters:				
Dose	75 mg/kg	200 mg/kg	500 mg/kg	900 mg/kg
t_{max} (h)	F 0.03	0.07	0.05	0.09
C_{max} (ng/mL)	F 56700	210000	434000	348000
AUC_{last} (h*ng/mL)	F 6580	44600	214000	226000

2.6.5.16.3.G アカゲザルにおける静脈内投与最大耐量試験 (980305/EMISTOX98003)

Test Article: SNAC

Report title: A Maximum Tolerated Dose (MTD) Study Evaluating SNAC Following Intravenous Injection to Rhesus Monkeys

Date of First Dose: 13 January 1999**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.2.2-B-3

	Study ID: 980305/EMISTOX98003 NN Reference No.: 215097			
Species	Rhesus Monkey			
Gender (M/F) / Number of animals	4M/4F			
Feeding condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	0.9% sodium chloride USP for injection			
Method of Administration	Intravenous bolus			
Dose (mg/kg)	0, 150, 250 and 350 mg/kg			
Sample (Matrix)	Plasma			
Analyte	SNAC			
Assay	LC-MS/MS			
PK parameters:				
Feeding condition				
Dose	150 mg/kg	250 mg/kg	350 mg/kg	
C_{max} (ng/mL)	M F	540405 444009	924805 756453	1051413 944885
AUC (h*ng/mL)	M F	227461 180033	461153 458954	939040 784278
CL (L/h/kg)	M F	0.6595 0.8332	0.5421 0.5447	0.3727 0.4463
V_d area (L/kg)	M F	0.6657 0.8097	0.6659 1.1058	0.5244 0.7817
t_½ (h)	M F	0.7	0.9 1.4	1.0 1.2

Additional Information:

E414 is the synonym used for SNAC in this study

2.6.5.16.3.H 静脈内及び経口投与カニクイザルにおける E414 の動態 (R96006)

Test Article: SNAC**Report title:** The Disposition of E414 in Cynomolgus Macaques following Intravenous and Oral Dosing**Date of First Dose:** Information unavailable**Duration of Dosing:** 1 day**Location in CTD:** 4.2.2.2-B-4

	Study ID: R96006 NN Reference No.: 209235	
Species	Cynomolgus Monkeys	
Gender (M/F) / Number of animals	3M	
Feeding condition	Fed	
Vehicle/Formulation	Deionized water, propylene glycol, pH adjusted to <8.5 with HCl	
Method of Administration	Intravenous and oral	
Dose (mg/kg)	Intravenous: 15 mg/kg and oral: 300 mg/kg	
Sample (Matrix)	Plasma	
Analyte	SNAC	
Assay	LC-MS/MS	
PK parameters:		
Dose	Intravenous (15 mg/kg)	Oral (300 mg/kg)
t_{max} (h)	-	0.08
C_{max} (ng/mL)	143800 ^a	19700
AUC (h*ng/mL)	15410	45400
Vz (L)	0.39	-
CL (L/h)	3.35	-
t_½	1.055	2.52
F (%)	-	14.9

Additional Information:

E414 is the synonym used for SNAC in this study

a: C₀

2.6.5.16.4 吸収（反復投与）

2.6.5.16.4.A rasH2 マウスにおける 6 週間用量範囲設定試験 (JLY0382)

Test Article: SNAC

Report title: SNAC: Dose Range Finding Study by Oral Gavage Administration to rasH2 Wild Type Mice for 6 Weeks

Date of First Dose: 11 July 2012

Duration of Dosing: 6 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-B-1

Study ID: JLY0382 NN Reference No.: 212159							
Species	rasH2 mouse						
Gender (M/F) / Number of animals	10M /10F (3 animals per timepoint n=3)						
Feeding condition	Fed						
Vehicle/Formulation	Deionized water pH adjusted to 8.2						
Method of Administration	Oral by gavage						
Dose (mg/kg)	150, 500, 750 1000* (Once daily dosing)						
Sample (Matrix)	Plasma						
Analyte	SNAC						
Assay	LC-MS/MS						
PK parameters:							
Day	Day 1				Week 6		
Dose mg/kg	150	500	750	1000*	150	500	750
t_{max} (h)**	M F	0.25 0.25	0.25 0.25	0.25 0.25	0.25 0.25	0.25 0.25	0.25 0.25
C_{max} (ng/ml)	M F	365 863	7290 3260	163000 5850	107000 166000	867 469	2410 2070
AUC_{last} (h×ng/ml)	M F	580 898	6140 3300	48700 4420	48000 54400	804 449	5230 4990
t_{last} (h)	M F	3.0 7.0	7.0 24	7.0 24	24 24	3.0 3.0	24 24

Additional Information:

*No animals at 1000 mg/kg/day survived to the end of week 6, hence no toxicokinetics data after repeated dose are available for this dose level.

**The t_{max} was observed to be 0.25 h (first sampling point post dose) after the first and last dose for all compositized profiles

For TK based on optimal sampling schedule in CD-1 mice, see data from JLY0557.

2.6.5.16.4.B CD-1 マウスにおける 13 週間強制経口投与毒性試験 (A16705)

Test Article: SNAC**Report title:** SNAC: 13-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in CD-1 Mice**Date of First Dose:** 18 August 2005**Duration of Dosing:** 13 weeks**Location in CTD:** 4.2.3.2-B-2

Study ID: A16705 NN Reference No.: 209247							
Species	CD-1 mice						
Gender (M/F) / Number of animals	12M /12F (3 animals per timepoint n=3)						
Feeding condition	Fed						
Vehicle/Formulation	Deionized water pH adjusted to 8.2						
Method of Administration	Oral by gavage						
Dose (mg/kg)	150, 500, 1500/1000* (Once daily dosing)						
Sample (Matrix)	Plasma						
Analyte	SNAC						
Assay	LC-MS/MS						
PK parameters:							
Day	1		41		90		
Dose (mg/kg)	150	500	1500	150	500	150	500
t_{max} (h)	M F	1 1	1 1	3 1	1 1	1 1	1 3
C_{max} (ng/ml)	M F	462 431	2050 2310	2770 4340	719 836	3140 1710	418 1040
AUC_{0-24h} (h×ng/ml)	M F	1630 1320	5110 11600	14500 20800	1820 1710	8450 4770	1810 2250
R_ac_{obs}	M F	- -	- -	- -	1.11 1.30	1.65 0.412	1.11 1.71
C_{max}/dose (ng/mL)/(mg/kg)	M F	3.08 2.87	4.11 4.62	1.85 2.90	4.80 5.57	6.28 3.41	2.79 6.95
AUC_{0-24h} /dose (h*ng/mL)/mg/kg)	M F	10.9 8.78	10.2 23.2	9.65 13.9	12.1 11.4	16.9 9.54	12.1 15.0

Additional Information:

*Treatment with 1500 mg/kg stopped after day 2 restarted with 1000 mg/kg from day 5 onwards stopped on day 9 Due to sampling schedule (1, 3, 7 and 24 h post dose) exposure assessment is not optimal.

For TK based on optimal sampling schedule in CD-1 mice, see data from JLY0557.

2.6.5.16.4.C rasH2 マウスにおける 26 週間がん原性試験 (JLY0436)

Test Article: SNAC**Report title:** Carcinogenicity Study by Oral Gavage Administration to Transgenic rasH2 Mice for 26 Weeks**Date of First Dose:** 16 July 2013**Duration of Dosing:** 26 weeks**Location in CTD:** 4.2.3.4.2-B-1

Study ID: JLY0436 NN Reference No.: 213067						
Species	rasH2 mouse					
Gender (M/F) / Number of animals	21M /21F (3 animals per timepoint n=3)					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Deionized water pH adjusted to 8.2					
Method of Administration	Oral by gavage					
Dose (mg/kg)	30, 100, 300 (Once daily dosing)					
Sample (Matrix)	Plasma					
Analyte	SNAC					
Assay	LC-MS/MS					
PK parameters:						
Day	Day 1			Day 182		
Dose (mg/kg)	30	100	300	30	100	300
t_{max} (h)	M F	0.25 0.25	0.25 0.25	0.25 0.25	0.25 0.25	0.25 1.00
C_{max} (ng/mL)	M F	56.2 73.1	201 367	512 1030	90.6 209	334 628
AUC_{last} (h×ng/mL)	M F	41.9 42.9	397 535	1680 1770	56.7 271	387 666
t_{last} (h)	M F	1.0 1.0	5.0 7.0	7.0 7.0	3.0 7.0	7.0 7.0

Additional Information:

SNAC tended to accumulate in female animals following daily oral gavage administration for 182 days. However, due to limited number of data and large variation, results should be interpreted with caution.

For TK based on optimal sampling schedule in CD-1 mice, see data from JLY0557.

2.6.5.16.4.D Sprague-Dawley ラットにおける 2 週間強制経口投与薬物動態試験 (8264634)

Test Article: SNAC

Report title: A comparative study of pharmacokinetics in the rat following a single oral administration, single intravenous administration or daily repeated oral administration for 2 weeks

Date of First Dose: 08 July 2012**Duration of Dosing:** 2 weeks**Location in CTD:** 4.2.2.2-B-5

Study ID: 8264634 NN Reference No.: 212150					
Species	Sprague Dawley rats				
Gender (M/F) / Number of animals	3-6 M/3-6 F per group (7-9 PK samples per animal)				
Feeding condition	Fed				
Vehicle/Formulation	Water for injection pH adjusted to 8.25				
Method of Administration	Oral by gavage or intravenous				
Dose (mg/kg)	200 and 500 mg/kg single dose or repeated daily dose for 2 weeks. 100 mg/kg intravenous (single dose)				
Sample (Matrix)	Plasma				
Analyte	SNAC				
Assay	LC-MS/MS				
PK parameters:					
Day	1		14		
Dose (mg/kg)	100 (iv)	200 (oral)	500 (oral)	200 (oral)	500 (oral)
t_{max} (h)	M F	NA NA	0.170 0.170	0.170 0.170	0.170 0.170
C_{max} (ng/ml)	M F	3330 26700	44000 257000	9460 22200	19000 271000
C₀ (ng/ml)	M F	924000 758000	NA NA	NA NA	NA NA
AUC_{0-4h} (h×ng/ml)	M F	NC NC	3020 8770	12800 60900	4630 10400
AUC_{0-24h} (h×ng/ml)	M F	NC NC	4930 10900	18800 65700	4630 10400
AUC (h×ng/ml)	M F	69600 80400	NC NC	NC NC	NC NC
R_ac_{obs}	M F	NA NA	NA NA	0.939 0.950	0.700 0.980
t_½ (h)	M F	2.27 2.46	NC NC	NC NC	NC NC

Additional Information:

NA, not applicable; NC, not calculated. Bioavailability of 5 to 16% calculated outside PK report

2.6.5.16.4.E Wistar ラットにおける 13 週間強制経口投与毒性試験 (A62807)

Test Article: SNAC

Report Title: 13-Week Oral Toxicity (Gavage) Study in Wistar Rats followed by a 4-Week Recovery Period							Date of First Dose: 27 March 2007
							Duration of Dosing: 13 weeks
							Location in CTD: 4.2.3.2-B-5
Study ID: A62807 NN Reference No.: 209242							
Species	Wistar rats						
Gender (M/F) / Number of animals	5M /5F (2 animals per timepoint n=2)						
Feeding condition	Fed						
Vehicle/Formulation	Vehicle: Purified water without pH adjustment						
Method of Administration	Oral						
Dose (mg/kg)	100, 500 and 1000 (Once daily dosing)						
Sample (Matrix)	Plasma						
Analyte	SNAC						
Assay	LC-MS/MS						
PK parameters:							
Week	1			13			
Dose	100	500	1000	100	500	1000	
t_{max} (h)	M F	1 0.5	1 0.5	0.5 0.5	0.5 0.5	0.5 1	0.5 0.5
C_{max} (ng/mL)	M F	1530 1370	4830 7990	15000 41400	1030 3530	3880 6770	5800 29100
AUC_{0-24h} (h×ng/mL)	M F	5460 4990	25500 22500	65200 93100	2560 8020	18500 38800	44400 108000
R_ac_{obs}	M F	- -	- -	- -	0.468 1.61	0.723 1.73	0.680 1.16
C_{max/dose} (ng/mL)/(mg/kg)	M F	15.3 13.7	9.65 16.0	15.0 41.4	10.3 35.3	7.76 13.5	5.80 29.1
AUC_{0-24h} /dose (h×ng/mL)/mg/kg)	M F	54.6 49.9	51.0 45.0	65.2 93.1	25.6 80.2	36.9 77.7	44.4 108

2.6.5.16.4.F Sprague-Dawley ラットにおける 13 週間強制経口投与毒性試験 (JLY0532)

Test Article: SNAC

Report Title: Investigative Toxicity Study by a Daily Oral Gavage Administration to Sprague-Dawley Rats for 13 Weeks	Date of First Dose: 03 April 2014					
	Duration of Dosing: 13 weeks					
	Location in CTD: 4.2.3.7.3-B-13					
Study ID: JLY0532 NN Reference No.: 214214						
Species	Sprague Dawley rats					
Gender (M/F) / Number of animals	8M /8F (full profiles in TK animals, 4-9 samples per animal per occasion)					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Purified water without pH adjustment					
Method of Administration	Oral					
Dose (mg/kg)	75, 200 and 500 (Once daily dosing)					
Sample (Matrix)	Plasma					
Analyte	SNAC, E494, E506					
Assay	LC-MS/MS					
PK parameters:						
Analyte: SNAC						
Week	1		13			
Dose (mg/kg/day)	75	200	500	75	200	500
t_{max} (h)	M 0.052 F 0.11	0.058 0.15	0.094 0.13	0.071 0.033	0.15 0.11	0.16 0.12
C_{max} (ng/mL)	M 22800 F 71800	38800 130000	118000 273000	14000 13500	81600 115000	123000 302000
AUC_{0-0.33h} (h×ng/mL)	M 3250 F 12800	4510 29500	23100 65700	1890 1770	17000 23100	30100 68200
Rac_{obs}	M NA F NA	NA	NA	1.20 0.975	8.45* 0.828	1.11 1.05

Additional Information:

There was an indication of possible sex differences with a generally higher exposure in female rats for SNAC and both metabolites.

*The individual accumulation ratio, RacObs, ranged from 0.0370 to 4.85, and was evaluated using AUC_{0-0.33h} after single (week 1) versus repeat dosing (week 13). Three animals had outlying and higher accumulation, RacObs; 17.2, 17.7 and 21.0 (Animal No. 111, 114, 115). Due to the considerable variability in the plasma concentration data no conclusions regarding time dependency and accumulation could be made.

Analyte: E494		1			13		
Week	Dose	75	200	500	75	200	500
t_{max} (h)	M	0.13	0.14	0.28	0.19	0.32	0.59
	F	0.21	0.31	0.31	0.15	0.30	0.44
C_{max} (ng/mL)	M	9920	15400	47400	13600	44700	77800
	F	52200	67000	79600	11100	64600	101000
AUC_{0-0.33h} (h×ng/mL)	M	1900	3250	9550	2670	8360	10700
	F	11200	11400	14100	2430	12200	14800
Rac_{obs}	M	NA	NA	NA	1.54	4.0	1.21
	F	NA	NA	NA	0.539	1.27	1.12

Additional Information:

The individual accumulation ratio, RacObs, ranged from 0.0648 to 3.78, and was evaluated using AUC_{0-0.33h} after single (week 1) versus repeat dosing (week 13). Three animals had outlying and higher accumulation, RacObs; 6.00, 6.93 and 10.9 (Animal No. 111, 114, 115, same animals as for SNAC accumulation). Due to the considerable variability in the plasma concentration data, no conclusions regarding time dependency and accumulation could be made.

Analyte: E506		1			13		
Week	Dose	75	200	500	75	200	500
t_{max} (h)	M	0.27	0.31	0.31	0.42	1.20	1.8
	F	0.30	0.33	0.31	0.81	0.52	1.6
C_{max} (ng/mL)	M	36700	42300	86500	49600	159000	258000
	F	102000	110000	112000	64500	199000	325000
AUC_{0-0.33h} (h×ng/mL)	M	6990	8560	14300	7700	13500	18400
	F	18400	15900	17700	11800	21400	23500
Rac_{obs}	M	NA	NA	NA	1.11	1.72	1.31
	F	NA	NA	NA	0.842	1.65	1.39

Additional Information:

Due to the considerable variability in the plasma concentration data, no conclusions regarding time dependency and accumulation could be made.

2.6.5.16.4.G Sprague-Dawley ラットにおける 26 週間強制経口投与毒性試験（補足報告書；JLY0278） Test Article: SNAC

Report Title: Toxicity Study by Oral Gavage Administration to Sprague-Dawley Rats for 26 Weeks followed by a 4-Week Recovery Period – Supplementary Report	Date of First Dose: 12 October 2010
	Duration of Dosing: 26 weeks
	Location in CTD: 4.2.3.2-B-7

Study ID: JLY0278 NN Reference no.: 210196				
Species	Sprague Dawley rats			
Gender (M/F) / Number of animals	10M /10F (4 animals per timepoint n=4)			
Feeding condition	Fed			
Vehicle/Formulation	Vehicle: Deionised water			
Method of Administration	Oral			
Dose (mg/kg/day)	Semaglutide/SNAC: 0/0, 0/300, 0/900, 20/300, 60/900 (Once daily dosing)			
Sample (Matrix)	Plasma			
Analyte	SNAC			
Assay	LC-MS/MS			
PK parameters:				
Week	1			
Dose	0/300	0/900	20/300	60/900
t_{max} (h)	M F	2 2	2 6	24 0
C_{max} (ng/mL)	M F	1230 1800	6210 2420	693 754
AUC_{0-24h} (h×ng/mL)	M F	5140 6810	23900 20200	7490 5540
Week	26			
Dose	0/300	0/900	20/300	60/900
t_{max} (h)	M F	2 6	24 6	6 6
C_{max} (ng/mL)	M F	1500 1670	3250 7420	495 906
AUC_{0-24h} (h×ng/mL)	M F	8970 14300	18800 42000	9440 15300
R_{acobs}	M F	1.75 2.10	0.787 2.08	1.26 2.76
				2.34 11.5

2.6.5.16.4.H Sprague-Dawley ラットにおける 12 箇月強制経口投与毒性試験 (211504)

Test Article: SNAC

Report Title: Toxicokinetics based on A 12-Month Toxicity Study of SNAC and SNAC/[REDACTED] Administered by Oral Gavage to Rats with a 6-Month interim sacrifice

Date of First Dose: 04 April 2007**Duration of Dosing:** 52 weeks**Location in CTD:** 4.2.2.2-B-6

	Study ID: 211504 TK analysis was made on bioanalysis data reported in repeat dose toxicity study (M 2.6.7.18, Appendix, Table 2.6.7.18.7.F, BNA00004/209243)
Species	Sprague Dawley rats
Gender (M/F) / Number of animals	8M/8F (3 animals per timepoint n=3)
Feeding condition	Fed
Vehicle/Formulation	Vehicle: Deionised water
Method of Administration	Oral
Dose (mg/kg/day)	SNAC/[REDACTED]: 0/0, 150/[REDACTED], 250, 500, 750/[REDACTED] and 900 (Once daily dosing)
Sample (Matrix)	Plasma
Analyte	SNAC
Assay	LC-MS/MS
PK parameters:	

Day	1				
Dose	150/[REDACTED]	250	500	750/[REDACTED]	900
t_{max} (h)	M	0.17	0.17	0.17	0.17
	F	0.17	0.17	0.17	0.17
C_{max} (ng/mL)	M	3050	6810	22000	82800
	F	3970	8010	28900	72300
AUC_{0-4h} (h×ng/mL)	M	1540	3230	11300	40900
	F	2490	8170	21500	28500

Day	91				
Dose	150/[■]	250	500	750/[■]	900
t_{max} (h)	M 0.17 F 0.17	0.17 0.17	0.5 0.17	0.17 0.17	0.17 0.17
C_{max} (ng/mL)	M 8190 F 20200	13600 29600	66700 171000	90100 54900	90000 191000
AUC_{0-4h} (h×ng/mL)	M 4520 F 7230	7150 12700	31900 34600	31700 19300	27500 73000
Rac_{obs}	M 2.93 F 2.90	2.21 1.56	2.82 1.61	0.78 0.68	0.65 0.82
Day	273				
Dose	150/[■]	250	500	750/[■]	900
t_{max} (h)	M 0.17 F 0.17	0.17 0.17	0.17 0.17	0.17 0.17	0.17 0.17
C_{max} (ng/mL)	M 14900 F 6510	15300 19600	243000 144000	273000 193000	243000 288000
AUC_{0-4h} (h×ng/mL)	M 4390 F 2960	5780 6110	70900 39200	83700 44100	46700 88200
Rac_{obs}	M 2.84 F 1.19	1.79 0.75	6.26 1.82	2.05 1.55	1.10 0.99
Day	364				
Dose	150/[■]	250	500	750/[■]	900
t_{max} (h)	M 0.17 F 0.17	0.17 0.17	0.17 0.17	0.17 0.17	0.17 0.17
C_{max} (ng/mL)	M 9550 F 19800	28900 8070	177000 131000	341000 57600	229000 33800
AUC_{0-4h} (h×ng/mL)	M 3790 F 6100	12100 4190	51600 30500	77000 23300	47400 16500
Rac_{obs}	M 2.46 F 2.45	3.75 0.51	4.55 1.42	1.88 0.82	1.12 0.19

Additional Information: Sampling schedule not optimal for TK assessment. Sampling timepoints 0, 0.17, 0.5, 1, 2, 4 hours. Due to the considerable variability in the plasma concentration data no conclusions could be drawn regarding dose proportionality and time dependency.

2.6.5.16.4.I Sprague-Dawley ラットにおける 104 週間強制経口投与がん原性試験 (JLY0366)

Test Article: SNAC**Report Title:** Carcinogenicity Study by Oral Gavage Administration to the Sprague-Dawley Rat for 104 Weeks**Date of First Dose:** 23 May 2012**Duration of Dosing:** 104 weeks**Location in CTD:** 4.2.3.4.1-B-1

Study ID: JLY0366 NN Reference no.: 211519				
Species	Sprague Dawley rats			
Gender (M/F) / Number of animals	18M /18F (3 animals per timepoint)			
Feeding condition	Fed			
Vehicle/Formulation	Vehicle: Deionised water			
Method of Administration	Oral			
Dose (mg/kg/day)	SNAC: 75, 200, 500			
Sample (Matrix)	Plasma			
Analyte	SNAC			
Assay	LC-MS/MS			
PK parameters:				
Week	Day 1			
Dose	75	200	500	
t_{max} (h)	M	1	0.17	0.17
	F	0.50	0.17	0.17
C_{max} (ng/mL)	M	404	1780	94200
	F	670	27400	110000
AUC_{0-4h} (h×ng/mL)	M	904	3420	27600
	F	919	9070	39800
Week	50			
Dose	75	200	500	
t_{max} (h)	M	0.17	0.17	0.17
	F	0.17	0.17	0.17
C_{max} (ng/mL)	M	4880	37800	156000
	F	9520	120000	258000
AUC_{0-4h} (h×ng/mL)	M	3100	17400	55900
	F	3520	26600	82600

Week	99		
Dose	75	200	500
t_{max} (h)	M F	0.17 0.17	0.17 0.17
C_{max} (ng/mL)	M F	29100 1930	82000 9170
AUC_{0-4h} (h×ng/mL)	M F	6800 1520	22100 3970
			197000 160000
			64600 43700

Additional information: Due to the considerable variability in the plasma concentration data, conclusions regarding time dependency and accumulation should be interpreted with caution.

2.6.5.16.4.J 妊娠ウサギにおける強制経口投与用量範囲設定試験 (215066)

Test Article: SNAC

Report Title: Toxicokinetics based on an oral (stomach tube) dose range development toxicity study of E414 and E414/[REDACTED] in rabbits

Date of First Dose: 16-Aug-1997**Duration of Dosing:** GD6 – GD18**Location in CTD:** 4.2.2.2-B-7

	Study ID: 215066 TK analysis was made on bioanalysis data reported in repeat dose toxicity study (M 2.6.7.18, Appendix, Table 2.6.7.18.11, 805-001P/209255)				
Species	New Zealand White rabbits				
Gender (M/F) / Number of animals	Female (6 animals pr. group)				
Feeding condition	Fed				
Vehicle/Formulation	Solution				
Method of Administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg/day)	SNAC/[REDACTED]: 1000/0, 2000/0, 1000/[REDACTED], 2000/[REDACTED] (Once daily dosing)				
Sample (Matrix)	Plasma				
Analyte	SNAC				
Assay	LC-MS/MS				
PK parameters:					
Day	GD6				
Dose	1000/0 Gr. II	2000/0 Gr. IV	1000/[REDACTED] Gr VII	2000/[REDACTED] Gr. VIII	
t_{max} (h)	F 0.25	0.25	0.25	0.25	
C_{max} (ng/mL)	F 350000	1020000	413000	912000	
AUC_{last} (h×ng/mL)	F 156000	1110000	207000	776000	
Day	GD18				
Dose	1000/0 Gr. II	2000/0 Gr. IV	1000/[REDACTED] Gr VII	2000/[REDACTED] Gr. VIII	
t_{max} (h)	F 0.25	0.25	0.25	0.25	
C_{max} (ng/mL)	F 181000	443000	547000	670000	
AUC_{last} (h×ng/mL)	F 96400	292000	320000	499000	
R_{ac}_{obs}	F 0.612	0.264	1.54	0.643	

2.6.5.16.4.K アカゲザルにおける 14 日間強制経口投与毒性試験 (215104)

Test Article: SNAC

Report Title: Toxicokinetics based on E414/[REDACTED]: A 14-Day Oral Toxicity Study in Rhesus Monkeys

Date of First Dose: 21-Aug-1997

Duration of Dosing: 14 days

Location in CTD: 4.2.2.2-B-8

	Study ID: 215104 TK analysis was made on bioanalysis data reported in repeat dose toxicity study (M 2.6.7.18, Appendix, Table 2.6.7.18.7.G, 3007-97/209244)				
Species	Rhesus monkey				
Gender (M/F) / Number of animals	3M/3F				
Feeding condition	Fed				
Vehicle/Formulation	Solution				
Method of Administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg/day)	1000 and 2500				
Sample (Matrix)	Plasma				
Analyte	SNAC				
Assay	LC-MS/MS				
PK parameters:					
Day	Day 1		Day 14		
Dose		1000 mg/kg	2500 mg/kg	1000 mg/kg	2500 mg/kg
t_{max} (h)	M	1.4	0.5	0.75	4
	F	0.38	1.4	1.3	0.88
C_{max} (ng/mL)	M	352000	373000	157000	87800
	F	66300	397000	80600	108000
AUC_{last} (h×ng/mL)	M	602000	386000	183000	394000
	F	161000	573000	191000	341000
R_{aC_{obs}}	M	NA	NA	0.359	1.02
	F	NA	NA	1.18	0.561

2.6.5.16.4.L アカゲザルにおける9箇月間強制経口投与がん原性試験 (211503)

Test Article: SNAC

Report Title: Toxicokinetics based on A 9-Month Toxicity Study of SNAC and SNAC/[REDACTED] Administered Once Daily by Oral Gavage to Rhesus Monkeys

Date of First Dose: 10 April 2007**Duration of Dosing:** 9 Months**Location in CTD:** 4.2.2.2-B-9

	Study ID: 211503 TK analysis was made on bioanalysis data reported in repeat dose toxicity study (M 2.6.7.18, Appendix, Table 2.6.7.18.7.K, BNA00003/209258)
Species	Rhesus Monkeys
Gender (M/F) / Number of animals	3M /3F
Feeding condition	Fed
Vehicle/Formulation	Vehicle: Deionised water
Method of Administration	Oral
Dose (mg/kg/day)	SNAC/[REDACTED]: 0/0, 150/[REDACTED], 200, 300, 500/[REDACTED] and 600 (Once daily dosing)
Sample (Matrix)	asma
Analyte	SNAC
Assay	LC-MS/MS
PK parameters:	

Day	1				
Dose	150/[REDACTED]	200	300	500/[REDACTED]	600
t_{max} (h)	M 0.5	0.25	0.25	0.5	0.25
	F 0.25	0.5	0.25	0.5	2.0
C_{max} (ng/mL)	M 26500	50500	39400	58100	142000
	F 52300	17400	37500	44800	114000
AUC_{0-8h} (h×ng/mL)	M 27900	29100	45300	75100	130000
	F 32000	23900	50500	63600	188000

Day	90				
Dose	150/[■]	200	300	500/[■]	600
t_{max} (h)	M	1.0	1.0	2.0	1.0
	F	0.5	2.0	0.5	2.0
C_{max} (ng/mL)	M	9000	16300	16400	29400
	F	13100	7260	16100	43400
AUC_{0-8h} (h×ng/mL)	M	15000	24000	35800	58900
	F	16800	21700	41500	83100
Rac_{obs}	M	0.57	0.86	0.8	1.37
	F	0.74	0.92	0.86	1.31
					0.65

Day	180				
Dose	150/[■]	200	300	500/[■]	600
t_{max} (h)	M	0.25	1.0	0.5	0.5
	F	0.5	1.0	0.25	2.0
C_{max} (ng/mL)	M	12500	12500	13400	17500
	F	11700	7810	21500	35700
AUC_{0-8h} (h×ng/mL)	M	15400	20100	30200	50600
	F	16400	18700	38100	80900
Rac_{obs}	M	0.64	0.75	0.67	1.08
	F	0.76	0.80	0.77	1.31
					0.49

2.6.5.16.5 組織分布

Test article: SNAC

2.6.5.16.5.A マウスにおける定量的全身オートラジオグラフィー (806-96)

Test Article: SNAC**Report title:** A Whole Body Autoradiography Study following a Single Oral Administration of ³H-labelled E414 to Mice**Study ID:** 806-96**NN Reference No.:** 209228**Location in CTD:** 4.2.2.3-B-1

Species	CD-1 Mouse
Gender (M/F) / Number of animals:	M/5 and F/5
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	60 mg/ml SNAC dissolved in 25% v/v aqueous propylene glycol, pH 7.74
Method of Administration:	Oral gavage
Dose:	300 mg/kg (11.1 MBq/kg)
Radionuclide:	³ H
Specific Activity:	1590000 MBq/mmol
Sampling time:	15 min, 2, 4, 12 and 24 h

Additional Information:

The results of study were qualitative (see M 2.6.4.10, Appendix, section 2.6.4.10.4.1) – no concentration levels in any organs were determined.

2.6.5.16.5.B アルビノラットにおける全身オートラジオグラフィー (8264635)	Test Article: SNAC
Report title: Salcaprozate sodium (SNAC): Tissue Distribution of Radioactivity in the Rat by Quantitative Whole-Body Autoradiography	Study ID: 8264635 NN Reference No.: 212181 Location in CTD: 4.2.2.3-B-2
Species	Sprague Dawley Rat
Gender (M/F) / Number of animals:	M/9 and F/9
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	100 mg/mL SNAC dissolved water for injection
Method of Administration:	Oral gavage
Dose:	500 mg/kg (7.4 MBq/kg)
Radionuclide:	¹⁴ C
Specific Activity:	7.4 MBq/mg
Sampling time:	0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24 and 36 hours post-dose

Male albino rats		µg equivalents SNAC/g of tissue										
Tissue group	Sample	Animal number and sex		101M 0.5 h	102M 1 h	103M 1.5 h	104M 2 h	105M 4 h	106M 8 h	107M 12 h	108M 24 h	109M 36 h
Blood-vascular	Plasma EDTA			66.8	177	154	120	108	41.1	6.72	1.65	0.737
	Aortic wall			25.8	36.8	68.6	32.7	49.4	13.8	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood			45.4	84.8	102	61.3	75.7	17.8	5.86	1.98	BLQ
	Blood EDTA			37.8	105	92.0	74.0	63.5	22.8	4.02	0.982	0.415
	Bone marrow			7.49	15.6	12.3	9.48	12.6	3.02	1.61	BLQ	BLQ
Lymphatic	Mandibular lymph nodes			12.1	26.5	33.1	13.4	15.7	3.20	BLQ	BLQ	BLQ
	Spleen			21.4	20.6	42.6	15.2	17.3	2.68	BLQ	BLQ	BLQ
Excretory	Bile ducts			196	1430	1200	1120	391	53.1	29.0	BLQ	BLQ
	Kidney cortex (whole)			98.3	140	228	166	161	78.6	20.4	9.08	1.39
	Kidney medulla			97.0	180	222	152	306	103	13.7	14.0	1.24
	Liver			47.9	101	140	103	113	28.9	7.28	2.07	BLQ
Respiratory	Lung			25.1	65.8	85.5	46.7	58.2	14.5	3.50	1.46	BLQ
	Nasal mucosa			5.81	11.3	24.1	15.5	9.71	3.36	BLQ	3.12	BLQ

<i>Male albino rats</i>			$\mu\text{g equivalents SNAC/g of tissue}$								
Tissue group	Sample	Animal number and sex	101M	102M	103M	104M	105M	106M	107M	108M	109M
			0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	36 h
Reproductive	Bulbo-urethral gland		13.7	37.0	30.0	16.4	22.7	4.89	2.51	BLQ	BLQ
	Epididymis		9.68	16.9	32.8	14.8	23.8	6.14	2.82	1.51	BLQ
	Preputial gland		7.61	20.7	21.9	15.1	47.7	3.29	3.03	1.20	BLQ
	Prostate		7.44	20.8	52.1	13.6	51.7	7.04	BLQ	BLQ	BLQ
	Seminal vesicles		3.29	9.18	14.6	19.6	6.21	1.61	BLQ	BLQ	BLQ
	Testis		5.60	12.2	19.1	5.71	13.9	2.69	BLQ	BLQ	BLQ
Endocrinial	Adrenal cortex		10.9	27.5	29.3	21.2	29.2	6.57	BLQ	BLQ	BLQ
	Adrenal medulla		8.91	35.0	39.9	23.9	29.4	5.64	BLQ	BLQ	BLQ
	Pancreas		17.7	23.4	34.0	16.2	22.3	3.83	1.61	BLQ	BLQ
	Pineal body		18.3	24.2	37.4	21.3	17.4	5.33	BLQ	BLQ	BLQ
	Pituitary		12.8	29.4	29.3	13.7	24.6	6.35	3.08	BLQ	BLQ
	Thymus		5.69	14.3	17.7	6.55	11.0	1.75	BLQ	BLQ	BLQ
	Thyroid		17.3	27.3	27.5	13.4	21.7	4.39	1.60	1.88	BLQ
Ocular	Exorbital lachymal gland		7.25	17.3	19.1	11.4	17.0	2.70	1.33	BLQ	BLQ
	Harderian gland		7.03	19.3	19.8	10.6	13.4	2.53	BLQ	BLQ	BLQ
	Intra-orbital lachymal gland		8.90	22.7	27.2	11.8	19.1	2.93	1.43	1.30	BLQ
	Lens of the eye		BLQ	BLQ	BLQ	1.59	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Uveal tract/retina		13.9	36.3	35.6	31.7	25.3	7.03	2.13	BLQ	BLQ
Central nervous system	Brain		1.44	2.64	2.66	1.38	2.18	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Choroid plexus		2.27	8.74	11.9	9.95	25.1	6.49	BLQ	BLQ	BLQ
	Meninges		4.93	31.9	50.9	7.54	10.4	4.95	2.60	BLQ	BLQ
	Spinal cord		1.43	1.45	4.23	BLQ	2.08	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Gastrointestinal	Caecum mucosa		11.4	31.9	46.6	11.5	337	193	124	23.4	BLQ
	Large intestine mucosa		17.3	33.7	44.4	17.5	141	403	352	39.4	BLQ
	Oesophageal wall		65.7	24.4	37.8	20.1	27.7	6.34	BLQ	3.96	BLQ
	Rectum mucosa		13.2	21.0	28.4	12.8	47.2	38.6	186	BLQ	BLQ
	Small intestine mucosa		166	830	677	1060	1040	659	95.9	BLQ	BLQ
	Stomach mucosa (fundus)		511	591	257	359	541	8.27	2.24	BLQ	BLQ
	Stomach mucosa (non-fundic)		3330	4670	1790	3440	1770	23.3	1.97	77.2	BLQ
Adipose	Brown fat		13.8	34.4	54.5	29.7	45.5	12.0	11.7	6.39	BLQ
	White fat		2.71	7.05	13.7	1.93	12.8	4.92	11.1	BLQ	2.06

<i>Male albino rats</i>		$\mu\text{g equivalents SNAC/g of tissue}$									
Tissue group	Sample	Animal number and sex	101M	102M	103M	104M	105M	106M	107M	108M	109M
			0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	36 h
Oral	Periodontal membrane		17.5	28.3	33.5	17.9	36.2	9.53	4.10	BLQ	BLQ
	Salivary glands		11.0	26.6	31.0	14.8	19.0	4.98	1.40	BLQ	BLQ
	Tongue		12.2	25.5	25.3	15.0	16.2	4.26	1.41	BLQ	BLQ
	Tooth pulp		14.4	40.1	66.5	40.4	46.2	8.78	3.08	BLQ	BLQ
Unclassified	Muscle		4.35	10.6	13.4	6.13	7.71	1.68	BLQ	BLQ	BLQ
	Myocardium		18.0	37.6	46.7	25.4	31.7	6.59	1.77	BLQ	BLQ
	Skin		13.6	22.6	41.3	15.6	16.6	6.69	7.10	2.24	BLQ

Upper limit of quantification = 4938 $\mu\text{g equiv/g}$
Lower limit of quantification = 1.17 $\mu\text{g equiv/g}$

BLQ – Radioactivity concentration below lower limit of quantification

<i>Female albino rats</i>		$\mu\text{g equivalents/g of tissue}$									
Tissue group	Sample	Animal number and sex	110F	111F	112F	113F	114F	115F	116F	117F	118F
			0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	36 h
Blood-vascular	Plasma EDTA		302	321	281	98.6	200	157	19.4	1.32	0.408
	Aortic wall		93.8	197	74.7	42.8	79.7	47.9	6.59	BLQ	BLQ
	Blood		148	222	142	65.7	106	83.6	14.3	1.35	BLQ
	Blood EDTA		204	213	186	60.4	125	94.9	11.3	0.841	ND
	Bone marrow		30.2	90.8	31.3	12.9	52.6	23.0	20.8	BLQ	BLQ
Lymphatic	Mandibular lymph nodes		44.7	82.5	45.7	17.2	44.9	30.0	4.74	1.42	BLQ
	Spleen		57.6	66.8	38.8	14.6	35.9	22.9	1.73	BLQ	BLQ
Excretory	Bile ducts		209	183	314	251	406	271	27.8	BLQ	BLQ
	Kidney cortex (whole)		191	261	219	183	234	135	55.0	11.7	BLQ
	Kidney medulla		219	212	157	330	147	107	21.2	6.59	BLQ
	Liver		132	112	122	48.9	106	66.4	11.0	2.00	BLQ
Respiratory	Lung		97.6	121	75.0	48.7	73.2	68.9	9.49	1.44	BLQ
	Nasal mucosa		20.3	34.1	24.1	10.3	19.7	21.1	3.78	BLQ	BLQ
Reproductive	Clitoris		33.8	74.2	37.1	14.1	54.5	24.8	16.2	2.35	BLQ
	Ovary		56.1	70.5	43.3	23.8	55.9	29.1	11.6	8.88	3.45
	Uterus		70.4	126	65.1	27.1	59.8	43.2	5.31	5.03	BLQ

<i>Female albino rats</i>			<i>µg equivalents/g of tissue</i>								
<i>Tissue group</i>	<i>Sample</i>	<i>Animal number and sex</i>	<i>Sampling time</i>								
			110F	111F	112F	113F	114F	115F	116F	117F	118F
Endocrinial	Adrenal cortex	103	102	30.2	35.2	43.5	42.4	7.64	6.89	BLQ	BLQ
	Adrenal medulla	71.6	77.2	37.7	36.4	51.1	44.4	5.61	9.28	BLQ	BLQ
	Pancreas	38.4	94.4	41.1	27.2	40.6	32.6	3.73	BLQ	BLQ	BLQ
	Pineal body	61.6	66.8	76.7	16.8	47.0	39.4	3.92	BLQ	BLQ	BLQ
	Pituitary	38.8	69.7	35.9	15.8	36.1	22.3	2.16	BLQ	BLQ	BLQ
	Thymus	28.6	53.4	27.0	13.1	28.5	17.5	1.29	BLQ	BLQ	BLQ
	Thyroid	36.9	73.2	40.7	12.4	22.0	21.6	4.36	BLQ	BLQ	BLQ
Ocular	Exorbital lachymal gland	47.0	61.5	23.3	16.2	23.7	16.1	1.99	BLQ	BLQ	BLQ
	Harderian gland	49.7	82.4	39.4	17.2	36.6	28.5	3.27	BLQ	BLQ	BLQ
	Intra-orbital lachymal gland	57.8	99.8	30.7	30.5	24.9	46.1	3.92	BLQ	BLQ	BLQ
	Lens of the eye	BLQ	3.92	1.32	BLQ						
	Uveal tract/retina	45.3	83.3	34.4	24.4	48.7	35.3	4.11	BLQ	BLQ	BLQ
Central nervous system	Brain	3.07	7.08	3.00	1.59	3.32	2.02	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Choroid plexus	18.1	29.8	27.4	12.4	20.0	29.1	4.05	BLQ	BLQ	BLQ
	Meninges	19.8	32.8	14.8	4.92	19.2	13.4	4.68	BLQ	BLQ	BLQ
	Spinal cord	2.14	5.45	2.23	1.39	2.69	2.82	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Gastrointestinal	Caecum mucosa	36.7	75.1	59.7	54.3	141	359	240	BLQ	BLQ	BLQ
	Large intestine mucosa	44.4	75.6	48.7	29.0	52.9	162	276	BLQ	BLQ	BLQ
	Oesophageal wall	33.2	87.9	55.5	21.2	48.8	36.8	1.86	BLQ	BLQ	BLQ
	Rectum mucosa	47.2	95.0	47.5	21.2	47.7	27.9	133	BLQ	BLQ	BLQ
	Small intestine mucosa	63.1	595	1040	365	866	395	161	BLQ	BLQ	BLQ
	Stomach mucosa (fundus)	1490	276	529	504	704	163	5.56	BLQ	BLQ	BLQ
	Stomach mucosa (non-fundic)	8740	5880	3630	3010	731	574	129	BLQ	BLQ	BLQ
Adipose	Brown fat	68.6	229	105	43.2	57.4	55.4	13.5	1.72	BLQ	BLQ
	White fat	12.2	32.6	17.1	13.6	11.1	9.08	5.43	7.14	6.40	BLQ
Oral	Periodontal membrane	50.2	72.1	70.0	23.5	39.9	23.4	5.03	BLQ	BLQ	BLQ
	Salivary glands	44.1	79.5	42.1	17.0	34.7	21.2	2.56	BLQ	BLQ	BLQ
	Tongue	51.7	89.5	37.7	14.1	38.3	26.5	2.83	BLQ	BLQ	BLQ
	Tooth pulp	82.2	93.9	102	29.2	68.9	58.3	8.10	BLQ	BLQ	BLQ
Unclassified	Muscle	22.9	36.2	16.7	7.07	17.5	10.3	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Myocardium	79.1	126	74.9	28.3	58.9	43.6	4.53	BLQ	BLQ	BLQ
	Skin	51.1	96.2	46.3	32.2	42.6	26.0	5.53	2.08	4.24	BLQ

2.6.5.16.5.C 有色ラットにおける全身オートラジオグラフィー (8293636)		Test Article: SNAC
Report title: Salcaprozate sodium (SNAC): Tissue Distribution of Radioactivity in the Partially Pigmented Rat by Quantitative Whole-Body Autoradiography		Study ID: 8293636 NN Reference No.: 213511 Location in CTD: 4.2.2.3-B-3
Species	Lister Hooded Rat (partially pigmented)	
Gender (M/F) / Number of animals:	M/4	
Feeding condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:	100 mg/ml SNAC dissolved water for injection <i>ca</i> pH 8	
Method of Administration:	Oral gavage	
Dose:	500 mg/kg (7.4 MBq/kg)	
Radionuclide:	¹⁴ C	
Specific Activity:	0.017 MBq/mg	
Sampling time:	1.5, 24, 72, and 168 hours	

Tissues/organs	μg equivalents SNAC/gram of tissue				T _½ (h)
	1.5 h	24 h	72 h	168 h	
Plasma	223	0.517	ND	ND	NC
Aortic wall	97.5	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Blood	151	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Bone marrow	45.9	5.84	BLQ	BLQ	NC
Bone surface	22.4	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Mandibular lymph nodes	55.0	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Spleen	35.6	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Bile ducts and contents	189	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Kidney cortex	206	4.15	BLQ	BLQ	NC
Kidney medulla	166	2.00	BLQ	BLQ	NC
Liver	146	2.06	0.926	BLQ	NC
Urinary bladder wall	1270	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Urinary bladder contents	12000	92.0	7.89	BLQ	NC
Lung	90.2	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Nasal mucosa	31.1	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Trachea	79.6	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Bulbo-urethral gland	105	86.5	BLQ	BLQ	NC
Epididymis	39.0	2.72	BLQ	BLQ	NC
Preputial gland	42.5	4.16	BLQ	BLQ	NC

Tissues/organs	μg equivalents SNAC/gram of tissue				T _½ (h)
	1.5 h	24 h	72 h	168 h	
Prostate gland	143	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Seminal vesicles	13.7	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Testis	26.5	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Adrenal cortex	62.8	2.44	BLQ	BLQ	NC
Adrenal medulla	71.4	1.86	BLQ	BLQ	NC
Pancreas	62.2	1.43	BLQ	BLQ	NC
Pineal body	94.3	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Pituitary gland	43.9	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Thymus	26.2	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Thyroid gland	47.0	2.13	BLQ	BLQ	NC
Exorbital lachymal gland	32.2	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Harderian gland	47.0	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Intra-orbital lachymal gland	46.4	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Lens of the eye	1.43	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Uveal tract/retina	57.7	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Brain	5.20	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Choroid plexus	20.7	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Meninges	32.9	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Spinal cord	3.44	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Caecum mucosa	1480	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Large intestine mucosa	108	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Oesophageal wall	47.4	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Rectum mucosa	47.8	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Small intestine mucosa	1270	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Stomach mucosa (fundus)	583	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Stomach mucosa (non-fundic)	1740	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Brown fat	65.7	1.44	1.12	1.98	NC
White fat	13.7	4.56	1.14	5.08	NC
Periodontal membrane	47.4	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Salivary glands	54.8	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Tongue	46.7	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Tooth pulp	71.3	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Muscle	17.1	BLQ	BLQ	BLQ	NC
Myocardium	69.0	BLQ	BLQ	BLQ	NC

Tissues/organs	μg equivalents SNAC/gram of tissue				$T_{1/2}$ (h)
	1.5 h	24 h	72 h	168 h	
Skin (non-pigmented)	58.0	1.38	BLQ	1.79	NC
Skin (pigmented)	80.1	3.65	1.45	2.07	244

Upper limit of qualification: 7380 μg equiv/g

Lower limit of quantification: 0.854 μg equiv/g

BLQ – Radioactivity concentration below lower limit of quantification

ND – Not detected (limit of detection for liquid scintillation counting : 0.238 μg equiv/g)

NC - Not Calculable

2.6.5.16.5.D ラットにおける組織分布 (JLY0539)		Test Article: SNAC
Report title: [¹⁴ C]-Salcaprozate Sodium(SNAC): Pharmacokinetic Studies in the Female Rat after Single Oral Dosing		Study ID: JLY0539 NN Reference No.: 214106 Location in CTD: 4.2.2.4-B-1
Species	Sprague Dawley Rat	
Gender (M/F) / Number of animals:	F/15	
Feeding condition:	Fasted	
Vehicle/Formulation:	Water for injection at pH 8.5	
Method of Administration:	Oral gavage	
Dose:	500 mg/kg (11.1 MBq/kg)	
Radionuclide:	¹⁴ C	
Specific Activity:	0.02 MBq/mg	
Sampling time:	Plasma: Predose, 1, 2, 3, 4, 7, 10, 20, 30 and 60 minutes Liver, brain, CSF: 3, 7, 10, 20 and 30 minutes	
Tissues sampled:	Plasma, liver, brain, CSF	
Assay:	LSC	

Tissue	Total ¹⁴ C-SNAC derived Radioactivity						
	C _{max} (μ g equiv/mL)	t _{max} (min)	AUC _{20min} (min \times μ g equiv/mL)	AUC _{30min} (min \times μ g equiv/mL)	AUC _{60min} (min \times μ g equiv/mL)	AUC _{inf} (min \times μ g equiv/mL)	Tissue:Jugular Vein Plasma Ratio
Jugular Vein Plasma	380	30	4280	7190	17000	-	-
Brain	16.4	20	263	421	-	-	0.059 (AUC _{30min})
Cerebrospinal Fluid	7.35	10	105	-	-	-	0.025 (AUC _{20min})
Liver	289	7	4530	6440	-	19000	0.90 (AUC _{30min})

2.6.5.16.6 血漿タンパク質結合

Test article: SNAC

2.6.5.16.6.A 血漿タンパク質及びアルブミン結合 (993132)

Test Article: SNAC

Report title: *In vitro* Evaluation of Binding of ^{14}C -SNAC to Mouse, Rat, Rabbit, Monkey and Human Plasma Proteins and to Protein Solutions (HSA and AAG) by Ultrafiltration

Study ID: 993132
NN Reference No.: 209233
Location in CTD: 4.2.2.3-B-4

Study system: *In vitro* evaluation of ^{14}C -SNAC plasma protein, albumin and α_1 -acid-glycoprotein binding

Target entity, Test system and method: The binding of ^{14}C - SNAC in commercially obtained mouse (CD-1), rat (Sprague Dawley), rabbit (New Zealand), monkey (Cynomolgus) and human plasma and to human serum albumin and α_1 -acid glycoprotein was determined by ultrafiltration. Linearity of ^{14}C -SNAC plasma protein binding was assessed over the concentration range of 2 to 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$. After an incubation at 37°C for ca. 15 min, each incubation mixture was centrifuged at 37°C at 1000 $\times g$ for 9 min (5 min for α_1 -acid-glycoprotein) to obtain an ultrafiltrate sample. The ^{14}C -SNAC free fraction was then determined using liquid scintillation counting of the ultrafiltrate and matrix reference.

Species/Protein	Matrix	Concentration (ng/mL)	Free fraction (%)
Mouse	Plasma	2,000	16.3
		10,000	16.4
		20,000	19.8
		100,000	24.3
		200,000	30.4
Rat	Plasma	2,000	10.7
		10,000	10.6
		20,000	10.7
		100,000	13.5
		200,000	17.2
Rabbit	Plasma	2,000	7.90
		10,000	7.98
		20,000	8.19
		100,000	9.24
		200,000	10.5
Monkey	Plasma	2,000	2.54
		10,000	2.63
		20,000	2.92
		100,000	4.03
		200,000	6.22
Human	Plasma	2,000	2.10
		10,000	2.16
		20,000	2.24
		100,000	3.23
		200,000	4.72
Human Serum Albumin (HSA)	40 mg HSA/mL in PBS buffer pH 7.4	2,000	2.25
		10,000	2.28
		20,000	2.32
		100,000	2.96
		200,000	3.80
Human α_1 -acid-glycoprotein (AAG)	1 mg AAG/mL in PBS buffer pH 7.4	2,000	102
		10,000	103
		20,000	103
		100,000	104
		200,000	105

2.6.5.16.6.B 血漿タンパク質結合 (8288420)

Test Article: SNAC, E494,
E506, E1245, E1246, E1247

Report title: Salcaprostate sodium (SNAC): *In vitro* binding of SNAC and primary metabolites to human, rat, monkey, rabbit and mouse plasma proteins

Study ID: 8288420

NN Reference No.: 214194

Location in CTD: 4.2.2.3-B-5

Species:	Mouse (CD-1 and RasH2), Rat (Sprague Dawley), Rabbit (New Zealand White), Monkey (Cynomolgus) and Human
Gender:	Females
Test system and method:	Plasma protein binding was determined by equilibrium dialysis using the Thermo-Scientific Rapid Equilibrium Device (RED) over a 6 hour dialysis period at 37°C/5%CO ₂ . Concentrations of SNAC, E494, E506, E1245, E1246 or E1247 in plasma and buffer were determined by LC-MS/MS.

Species	Concentration (ng/mL)	Free fraction (%)					
		SNAC	E494	E506	E1245	E1246	E1247
Mouse (CD-1)	300	13.2	49.0	60.4	88.9	97.0	108
	3,000	11.5	41.4	58.8	84.3	97.2	84.8
	10,000	12.8	46.3	54.9	74.5	99.1	97.5
	30,000	11.8	47.3	57.8	85.4	99.5	104 ^a
	300,000	24.4	55.2	66.0	83.7	105	117 ^a
	1,500,000	34.8	54.1	60.2	86.4	96.2	109
Mouse (RasH2)	10,000	11.9	49.0	54.7	85.7	101	102
Rat	300	6.51	32.7	30.1	56.3	89.9	89.0
	1,000	5.67	-	27.8	-	-	-
	3,000	-	24.9	-	63.5	94.5	72.7
	10,000	5.52	27.4	28.4	62.2	90.2	94.1
	30,000	6.33	27.6	29.7	60.4	91.2	92.2
	100,000	-	32.3	-	65.3	89.7	91.7
	300,000	15.7	39.1	42.3	63.8	98.6	95.1
	1,500,000	34.7	-	61.0	-	-	-

Species	Concentration (ng/mL)	Free fraction (%)					
		SNAC	E494	E506	E1245	E1246	E1247
Rabbit	300	7.19	-	-	-	-	-
	3,000	6.31	-	-	-	-	-
	10,000	6.93	-	-	-	-	-
	100,000	8.91	-	-	-	-	-
	300,000	12.0	-	-	-	-	-
	1,500,000	31.8	-	-	-	-	-
Monkey	300	4.01	27.3	20.5	34.6	72.2	61.7
	3,000	2.77	20.4	14.6	26.0	85.3	56.5
	10,000	2.75	31.1	20.2	28.4	81.1	66.8
	30,000	3.17	31.3	23.8	37.7	81.6	69.8
	100,000	-	-	-	-	-	-
	300,000	12.3	36.2	32.7	42.4	79.3	75.0
	1,000,000	25.4	51.1	65.5	67.6	86.9	91.4
Human	300	2.15	14.2	9.09	11.5	55.8	31.0
	1,000	1.85	12.6	7.99	8.99	57.3	25.2
	3,000	1.63	12.8	7.06	11.6	48.5	29.4
	10,000	1.63	12.5	9.51	11.8	59.6	31.3
	30,000	1.92	13.5	10.8	13.5	58.9	31.3
	100,000	3.05 ^a	15.3	12.5	15.2	58.6	33.3

“-“ denotes species/analyte/concentration combinations not evaluated

a - Results of two determinations only

2.6.5.16.7 妊娠又は授乳動物を用いた試験

Test Article: SNAC

2.6.5.16.7.A ラットにおける胎盤通過及び乳汁分泌 (8293637)		Test Article: SNAC
Report title: Salcaprozate Sodium (SNAC): Placental Transfer and Lacteal Secretion of Drug Related Material in the Rat after an Oral Dose of ¹⁴ C-SNAC		Study ID: 8293637 NN Reference No.: 213445 Location in CTD: 4.2.2.3-B-6
Species	Sprague Dawley Rat	
Gender (M/F) / Number of animals:	Placental Transfer Study: F/5 (day 18 of gestation) Milk Secretion Study: F/15 (day 10 <i>post-partum</i>)	
Feeding condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:	100 mg/ml SNAC dissolved water for injection <i>ca</i> pH 8	
Method of Administration:	Oral gavage	
Dose:	500 mg/kg (7.4 MBq/kg)	
Radionuclide:	¹⁴ C	
Specific Activity:	0.015 MBq/mg (4.2 MBq/mmol)	
Sampling time:	1, 2, 4, 8 and 24 h	
Assay:	Placental Transfer Study: QWBA Milk Secretion Study: Liquid Scintillation Counting (LSC)	

Time	Dam - µg SNAC equivalents/gram of tissue				
	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Plasma	148	244	273	30.2	0.741
Aortic wall	58.6	137	122	38.3	4.74
Blood	93.5	156	201	22.3	BLQ
Bone marrow	18.7	28.9	53.9	4.64	1.83
Bone surface	24.0	24.6	48.4	10.4	14.5
Mandibular lymph nodes	25.9	59.6	96.3	9.09	BLQ
Spleen	26.5	54.1	63.7	4.85	BLQ
Bile ducts and contents	173	154	563	63.7	8.15
Kidney cortex	206	243	314	141	11.0
Kidney medulla	107	286	366	83.6	2.00
Liver	61.9	120	151	22.1	1.54
Urinary bladder wall	153 ^a	1750 ^a	1010 ^a	225 ^a	8.73
Urine	5190	5180	9240	4180	33.6

Time	Dam - µg SNAC equivalents/gram of tissue				
	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Lung	79.5	133	141	19.2	BLQ
Nasal mucosa	14.8	23.5	53.2	2.26	2.29
Trachea	33.6	38.3	148	7.43	20.6
Clitoris	49.9	50.2	70.2	4.78	2.27
Ovary	31.7	46.3	81.0	11.2	2.77
Uterus	24.6	56.8	72.8	56.5	8.28
Adrenal cortex	41.0	53.1	68.5	8.94	3.36
Adrenal medulla	58.4	91.8	98.6	15.2	BLQ
Pancreas	32.1	52.7	62.5	5.90	BLQ
Pineal body	28.3	64.9	87.2	9.48	BLQ
Pituitary gland	25.3	50.3	61.2	11.6	BLQ
Thymus	20.3	44.8	45.5	3.52	BLQ
Thyroid gland	29.4	83.2	65.2	18.5	1.37
Exorbital lachymal gland	15.6	37.6	31.1	4.02	BLQ
Harderian gland	18.4	64.6	135	7.52	BLQ
Intra-orbital lachymal gland	20.9	43.1	44.7	4.51	BLQ
Lens	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Uveal tract/retina	35.3	62.3	72.3	8.81	5.26
Brain	1.79	2.42	3.67	BLQ	BLQ
Choroid plexus	9.48	15.4	15.3	1.84	BLQ
Meninges	18.1	31.5	32.4	3.08	BLQ
Spinal cord	1.63	2.68	3.46	BLQ	BLQ
Caecum mucosa	49.7	79.3	380	403 ^a	17.0
Large intestine mucosa	47.6	66.6	157	286	8.41
Oesophageal wall	80.6	74.7	104	17.1	2.14
Rectum mucosa	31.8	73.9	132	8.51	3.51
Small intestine mucosa	45.0	323 ^a	258	119	2.01
Stomach mucosa (fundic)	345 ^a	275 ^a	92.9	7.97	BLQ
Stomach mucosa (non-fundic)	1200 ^a	1440 ^a	1150 ^a	51.5	1.78
Brown fat	27.5	103	84.6	24.9	42.5
White fat	13.3	43.8	41.9	12.6	9.67
Periodontal membrane	31.1	45.6	71.6	5.80	BLQ
Salivary glands	20.9	54.6	54.3	6.64	2.96
Tongue	30.6	70.1	74.5	7.97	1.38
Tooth pulp	61.3	122	101	14.1	BLQ
Muscle	8.28	18.0	23.5	1.95	BLQ
Myocardium	35.4	80.2	89.2	9.09	BLQ

Time	Dam - µg SNAC equivalents/gram of tissue				
	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Skin	42.8	85.3	102	8.05	13.2
<hr/>					
Time	Foetal Tissues- µg SNAC equivalents/gram of tissue				
	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Amniotic fluid	BLQ	24.3	2.49	4.19	1.67
Foetal adrenal	27.6	47.9	79.3	19.1	1.37
Foetal blood	23.4	61.0	80.3	16.4	BLQ
Foetal brain	2.39	10.3	26.0	6.42	BLQ
Foetal eye	11.7	50.4	69.0	14.3	2.39
Foetal gastrointestinal tract	9.90	59.0	79.3	19.7	84.6
Foetal kidney	35.1	53.9	78.6	25.9	2.63
Foetal liver	17.0	48.9	70.6	13.8	BLQ
Foetal lung	11.7	41.0	61.6	10.9	2.28
Foetal myocardium	6.43	45.6	66.6	12.6	BLQ
Foetal skin	14.3	87.3	83.6	21.2	3.22
Foetal uveal tract	10.1	49.2	68.8	15.7	2.76
Mammary tissue	55.6	130	52.9	34.7	25.4
Placenta	47.9	90.3	103	15.2	BLQ

Upper limit of quantification = 8376 µg equivalents/g

Lower limit of quantification = 1.34 µg equivalents/g

BLQ – Radioactivity concentration below lower limit of quantification

a – Measurement affected by high level of radioactivity in adjacent tissue

Excretion into milk	µg SNAC equivalents/g					h×µg SNAC equiv/g
Time	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	AUC _{all}
Milk:	413 ± 232	557 ± 277	702 ± 253	407 ± 69.7	8.36 ± 2.70	5760
Maternal Plasma:	263 ± 54.4	217 ± 53.7	100 ± 47.2	37.6 ± 12.5	0.831 ± 0.060	1080
Milk / plasma Ratio:	1.60 ± 0.946	2.69 ± 1.35	7.22 ± 0.836	12.1 ± 5.80	10.0 ± 3.15	5.3

2.6.5.16.8 その他の分布試験

Test Article: SNAC2.6.5.16.8.A *In vitro* 血球分配 (8361742)**Test Article:** SNAC**Study Title:** [¹⁴C]-Salcaprozate sodium (SNAC): In vitro plasma/blood cell partitioning**Study ID:** 8361742**NN Reference No.:** 300089**Location in CTD:** 4.2.2.3-B-7

Species:	Sprague Dawley rat and human whole blood (mixed sex pools)
Radionuclide:	¹⁴ C
Specific Activity:	4.1 MBq/mmol
Methods:	Blood samples fortified with the test compound at nominal concentrations of 1000, 5000, 10,000, 20,000, 30,000 and 50,000 ng/mL were incubated at 37°C for 15 minutes. Following solubilisation, aliquots of blood were analysed for radioactivity using liquid scintillation counting to determine the concentration of ¹⁴ C-SNAC in whole blood. The remainder of each blood sample was centrifuged to prepare plasma which was analysed by liquid scintillation counting to determine the concentration of ¹⁴ C-SNAC in plasma. Total recovery of radioactivity, blood/plasma ratios, partition coefficients and the percentage of ¹⁴ C-SNAC associated with red blood cells were calculated.

***In vitro* blood cell partitioning of ¹⁴C-SNAC in rat blood following incubation at 37°C for 15 minutes**

Nominal concentration (ng/mL)	Mean packed cell volume ^a	Blood/ plasma ratio	Association with RBC (%)	Partition coefficient (%)	Recovery (%)
1000	48	0.683	23.8	76.2	107
5000	50	0.616	18.8	81.2	96.1
10000	52	0.604	20.4	79.6	92.0
20000	50	0.599	16.6	83.4	117
30000	48	0.605	14.1	85.9	95.6
50000	49	0.582	12.3	87.7	90.1

***In vitro* blood cell partitioning of ¹⁴C-SNAC in human blood following incubation at 37°C for 15 minutes**

Nominal concentration (ng/mL)	Mean packed cell volume ¹	Blood/ plasma ratio	Association with RBC (%)	Partition coefficient (%)	Recovery (%)
1000	44	0.640	12.6	87.4	107
5000	47	0.585	9.40	90.6	95.7
10000	44	0.598	6.33	93.7	99.1
20000	47	0.580	8.66	91.3	96.4
30000	45	0.598	8.03	92.0	95.0
50000	47	0.577	8.17	91.8	93.8

a: Packed cell volume is equivalent to haematocrit (ratio); RBC = Red blood cells

2.6.5.16.9 *In vivo* 代謝**Test Article:** SNAC

2.6.5.16.9.A RasH2 マウスにおける薬物動態及び代謝物プロファイリング (JLY0497 及び 8298400)

Test Article: SNAC

Report title: JLY0497: A Study of Disposition in Plasma following Single Oral Dosing to rasH2 Hemizygous Mouse 8298400: [¹⁴ C]-Salcaprozate sodium (SNAC): Investigation of metabolite profiles in plasma, following single oral administration to RasH2 hemizygous mice	Study ID: JLY0497 and 8298400 NN Reference No.: 213404 and 214063 Location in CTD: 4.2.2.4-B-2, 4.2.2.4-B-3
Species Gender (M/F) / Number of animals: Feeding condition: Vehicle/Formulation: Method of Administration: Dose: Radionuclide: Specific Activity: Time points Assay: Note:	RasH2 hemizygous Mouse M/15 and F/15 Fed 30.1 mg/mL SNAC in water for injection, pH 8.5 Oral gavage 300 mg/kg (18.5 MBq/kg) ¹⁴ C 0.06 MBq/mg 0.167, 1, 3, 5, 8 hours Radio HPLC; LC-MS/MS; LSC Naming of metabolites (with the exception of E494, E506, E1245, E1246, E1247) were not standardized across species or studies therefore additional caution is warranted when comparing across studies

PK results of total radioactivity (Study JLY0497):

Sex Matrix	Male		Female	
	Whole blood	Plasma	Whole blood	Plasma
T _{max} (h)	0.167	0.167	0.167	0.167
C _{max} (μ g-equiv/mL)	138	217	121	216
AUC _{last} (μ g-equiv x h/mL)	140	276	179	332
t _{last} (h)	(0 – 8)	(0 – 8)	(0 – 8)	(0 – 8)
t _{1/2} (h)	2.2 ^a	3.6	1.8	1.9
Whole blood to plasma total radioactivity ratio (based on AUC _{last})	0.51		0.54	

a: Terminal rate constant could not be accurately estimated in accordance with the acceptance criteria

Plasma metabolite identification and profiling (Study 8298400)

Peak Identity^a	Radio RT (min)	Accurate <i>m/z</i> [H⁻]	Proposed Identity
M1	5.82	414.1045	E506 +OH +GlcA
Minor peak	6.80	unknown	Not Identified
E1247	7.34	398.1089	E1247
M2	8.27	302.0337	E506 +sulphate
Minor peak	9.40	unknown	Not Identified
M3	10.56	396.0936	E506 -2H +GlcA
M4	10.94	424.1248	E494 -2H +GlcA
E1246	11.78	426.1403	E1246
M5	13.23	238.0721	E506 +OH
M6	16.84	194.0453	SNAC-6(CH ₂)
E1245	18.66	454.1714	E1245
E506	19.78	222.0770	E506
M7	21.36	220.0611	E506 -2H
M8	23.41	220.0612	E506 -2H
E494	27.72	250.1082	E494
SNAC	37.55	278.1395	SNAC

a: Metabolites without a corresponding reference standard were named numerically based on retention time with prefix "M" to designate species (mouse)

GlcA: Glucuronic Acid. RT: HPLC retention time

Metabolite plasma exposures as % of total radioactivity

	Males			Females			Mean
	t _{last} (hr)	AUC _{last} (h×ng equiv/g)	Contribution ^a (%)	t _{last} (hr)	AUC _{last} (h×ng equiv/g)	Contribution ^a (%)	Contribution ^a (%)
SNAC	8	2,910	1.06	8	5,330	1.61	1.34
E494	8	3,170	1.15	8	3,870	1.17	1.16
E506	8	55,000	19.94	8	88,000	26.56	23.3
E1245	8	12,900	4.67	8	16,500	4.99	4.83
E1246	8	51,700	18.77	8	44,200	13.35	16.1
E1247	8	100,000	36.39	8	117,000	35.32	35.9
E506 +OH +GlcA (M1)	8	2,910	1.06	8	5,690	1.72	1.39
E506 -2H +GlcA (M3)	8	4,170	1.51	8	3,970	1.20	1.36
E494 -2H +GlcA (M4)	8	4,480	1.62	8	5,660	1.71	1.67
E506 -2H (M7)	5	2,500	0.91	8	5,300	1.60	1.26
E506 -2H (M8)	5	5,560	2.02	8	8,690	2.62	2.32
Sum of metabolites		245,300	88.1		304,210	91.9	90.6
Total plasma radioactivity		276,000			332,000		

a: Contribution to total plasma exposure calculated by: (Analyte AUC_{last}) / (Total plasma radioactivity AUC_{last}): GlcA: Glucuronic Acid

Metabolites identified in mouse plasma but in amounts insufficient for quantification and estimation of AUC_{last} are not shown

2.6.5.16.9.B ラットにおける代謝物プロファイリング (8265975)		Test Article: SNAC
Report title: Salcaprozate sodium (SNAC): Investigation of metabolite profiles in plasma, urine, bile and faeces following oral - administration to the rat		Study ID: 8265975 NN Reference No.: 212270 Location in CTD: 4.2.2.4-B-4
Species Gender (M/F) / Number of animals: Feeding condition: Vehicle/Formulation: Method of Administration: Dose: Radionuclide: Specific Activity: Assay: Note:	Sprague Dawley Rat Plasma: M/9 and F/9 Urine and faeces: Pooled (3-4 animals per collection interval/sex) Bile: Pooled (4 animals per collection interval/sex) Fed 100 mg/mL SNAC in water for injection Oral gavage 500 mg/kg (7.4MBq/kg) ¹⁴ C 0.093 MBq/mg Radio HPLC; LC-MS/MS; LSC Naming of metabolites (with the exception of E494, E506, E1245, E1246, E1247) were not standardized across species or studies therefore additional caution is warranted when comparing across studies	

Peak Identity ^a	Matrix	Radio Peak	m/z	Proposed Identity
R1	bile	RB1a	414.1042	E506 +OH +GlcA
R2	bile	RB1b	574.1415	E1247 Acyl GlcA
E1247	plasma, urine and bile	E1247	398.1091	E1247
R3	plasma	RP1	302.0338	E506 Sulphate
R4	urine and bile	RU1, RB2	396.0936	E506 -2H +GlcA
E1246	plasma, urine and bile	E1246	426.1407	E1246
R5	plasma and urine	RP2, RU2a	238.0719	E506 +OH
R6	plasma and urine	RP3a, RU2b	330.0649	E494 Sulphate
R7	plasma ^b and urine	RP3b ^b , RU3	194.0457	SNAC - 6(CH ₂)
R8	urine and bile	RU4a, RB3	398.1093	E506 Acyl GlcA
R9	urine	RU4b	279.0985	E506 glycine conjugate
R10	bile	RB4	357.1123	E494 taurine conjugate
R11	faeces	RF4	266.1035	E494 +OH
E1245	plasma, urine and bile	E1245	454.1717	E1245

Peak Identity ^a	Matrix	Radio Peak	m/z	Proposed Identity
E506	plasma, faeces, urine and bile	E506	222.0769	E506
R12	plasma and urine	RP4, RU5a	220.0611	E506 -2H
R13	plasma and urine	RP5, RU5b	426.1408	E494 Acyl GlcA
R14	plasma, faeces and urine	RP6, RF5, RU6	220.0611	E506 -2H
R15	bile	RB5	385.1435	SNAC taurine conjugate
E494	plasma, faeces, urine ^b and bile ^b	E494	250.1084	E494
SNAC	plasma, faeces, urine ^b and bile ^b	SNAC	278.1399	SNAC

a: Metabolites without a corresponding reference standard were named numerically based on retention time with prefix "R" to designate species (rat)

b: Peak observed in LC-MS/MS analysis but not present above limit of detection in the radio-HPLC chromatogram; GlcA: Glucuronic Acid

Metabolite plasma exposures as % of total radioactivity

	Radio Peak Number	t _{last} (hr)	Males		t _{last} (hr)	AUC _{last} (h×ng equiv/g)	Contribution ^a (%)	Females	Mean Contribution ^a (%)
			AUC _{last} (h×ng equiv/g)	Contribution ^a (%)					
SNAC	-	12	18,900	2.34	12	13,600	0.79	1.57	
E494	-	8	47,800	5.91	12	76,700	4.43	5.17	
E506	-	12	445,000	55.0	12	1,230,000	71.1	63.1	
E1245	-	12	57,000	7.05	12	24,600	1.42	4.24	
E1246	-	12	21,100	2.61	12	23,300	1.35	1.98	
E1247	-	12	46,200	5.71	12	57,600	3.33	4.52	
E506 -2H (R14)	6	12	39,500	4.88	12	87,500	5.06	4.97	
E506 Sulphate (R3)	1	12	48,500	6.00	12	63,300	3.66	4.83	
E506 -2H (R12)	4	8	10,200	1.26	12	24,800	1.43	1.35	
E506 +OH (R5)	2	8	17,100	2.11	8	16,200	0.94	1.53	
E494 Acyl GlcA (R13)	5	8	6,710	0.83	12	10,600	0.61	0.72	
Sum of metabolites	-		758,010	93.7	-	1,628,200	94.1	94.0	
Total plasma radioactivity		12	809,000	-	12	1,730,000	-	-	

a: Contribution to total plasma exposure calculated by: (Analyte AUC_{last}) / (Total plasma radioactivity AUC_{last}); GlcA: Glucuronic Acid

Metabolites identified in rat plasma but in amounts insufficient for quantification and estimation of AUC_{last} are not shown

Urinary excretion of SNAC and 5 principal metabolites (0 – 24h)	% of Radioactive Dose			% of Total Urine Radioactivity		
	Male	Female	Mean	Male	Female	Mean
SNAC	ND	ND	-	-	-	-
E494	ND	ND	-	-	-	-
E506	36.6	44.7	40.7	43.1	49.9	46.5
E1245	2.64	4.45	3.55	3.11	4.97	4.04
E1246	4.03	4.47	4.25	4.75	4.99	4.87
E1247	26.6	21.3	24.0	31.3	23.8	27.6
Total (SNAC + Five Metabolites)	69.9	74.9	72.5	82.3	83.7	83.0
Total urine radioactivity (as percentage of radioactive dose) ^a	84.9	89.6				

a: corrected for radioactivity present in cage wash (derived from urine); ND: Not detected

Biliary excretion of SNAC and 5 principal metabolites (0 – 24h)	% of Radioactive Dose			% of Total Bile Radioactivity		
	Male	Female	Mean	Male	Female	Mean
SNAC	0.18	0.03	0.11	0.53	0.13	0.33
E494	0.02	0.06	0.04	0.06	0.25	0.16
E506	1.43	1.50	1.47	4.24	6.33	5.29
E1245	6.32	8.36	7.34	18.8	35.3	27.1
E1246	5.45	3.49	4.47	16.2	14.7	15.5
E1247	13.8	6.40	10.1	40.9	27.0	34.0
Total (SNAC + Five Metabolites)	27.0	19.8	23.4	80.7	83.7	82.4
Total bile radioactivity (as percentage of radioactive dose)	33.7	23.7				

2.6.5.16.9.C ラットにおける代謝物プロファイリング (8299924)

Test Article: SNAC

Report title: Investigation of metabolite profiles in plasma, CSF, liver and brain, following single oral administration to the female rat

Study ID: 8299924**NN Reference No.:** 214303**Location in CTD:** 4.2.2.4-B-5

Species	Sprague Dawley Rat
Gender (M/F) / Number of animals:	F/30
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Water for injection at pH 8.5
Method of Administration:	Oral gavage
Dose:	500 mg/kg (11.1 MBq/kg)
Radionuclide:	¹⁴ C
Specific Activity:	0.02 MBq/mg
Sampling time:	Plasma: Predose, 1, 2, 3, 4, 7, 10, 20, 30 and 60 minutes Liver, brain, CSF: 3, 7, 10, 20 and 30 minutes
Tissues sampled:	Plasma (portal vein and jugular vein), liver, brain, CSF
Note:	Naming of metabolites (with the exception of E494, E506, E1245, E1246, E1247) were not standardized across species or studies therefore additional caution is warranted when comparing across studies

Peak Identity ^a	Radio RT (min)	Accurate m/z [H ⁺]	Proposed Identity
E1247	7.34	398.1091	E1247
M2	10.64	302.0337	E506 +Sulphate
E1246	11.47	426.1403	E1246
M5	13.33	238.0721	E506 +OH
E506 Acyl Glucuronide	14.98	398.1089	E506 Acyl GlcA
E1245	18.29	454.1714	E1245
E506	19.53	222.0774	E506
E494 Acyl Glucuronide	21.60	426.1404	E494 Acyl GlcA
M7	21.18	220.0611	E506 -2H
M8	23.25	220.0612	E506 -2H
E494	27.38	250.1087	E494
SNAC Acyl Glucuronide	29.66	454.1716	SNAC Acyl GlcA
SNAC	37.51	278.1398	SNAC
M9 ^b	47.64	306.1701	SNAC +C ₂ H ₄

a: Metabolites without a corresponding reference standard were named numerically based on retention time with prefix "M"

b: M9 may be a component formed *ex vivo* (artefact) and not a true metabolite; GlcA: Glucuronic Acid.; RT: Retention time

Metabolite plasma and tissue exposures as % of total radioactivity^a

Peak Identity	RT (mins)	Hepatic Portal Vein Plasma	Jugular Vein Plasma	Liver	Brain	CSF
M1 (Not identified)	4.4	0.01	0.03	NC	NC	NC
E1247	6.4	3.44	2.72	NC	NC	NC
M2	9.2	0.63	0.63	NC	NC	NC
E1246	10.3	2.49	1.84	NC	NC	NC
M5	12.1	0.65	0.83	NC	NC	NC
E506 Acyl Glucuronide	13.6	NC	0.53	NC	NC	NC
M6 (Not identified)	15.1	NC	0.30	NC	NC	NC
E1245	16.8	7.27	4.74	NC	2.68	0.91
E506	18.1	51.76	55.71	32.34	49.34	26.54
E494 Acyl Glucuronide	19.7	1.20	1.22	NC	NC	NC
M7	20.2	0.05	0.08	NC	NC	NC
M8	21.5	3.34	3.44	2.72	3.73	NC
E494	25.7	11.89	13.23	25.39	23.71	25.49
SNAC Acyl Glucuronide	27.8	0.06	0.05	NC	NC	NC
SNAC	35.3	9.66	6.75	16.10	9.89	30.55
M9	44.6	NC	NC	8.83	0.81	NC

a: Calculated: (Analyte AUC_{last}) / (Total plasma or tissue radioactivity AUC_{last})

T_{last}: 20 minutes (CSF), 30 minutes (brain and liver) or 60 minutes (both plasma types)

NC: Not calculated; RT: Retention time (approximate)

2.6.5.16.9.D アカゲザルにおける代謝物プロファイリング (F080)

Test Article: SNAC

Report title: Pharmacokinetic Profiling and Metabolite Identification of [¹⁴C]-SNAC and [³H]-SNAC Derived Radioactivity following Oral Administration in Rhesus Monkeys

Study ID: F080**NN Reference No.:** 209227**Location in CTD:** 4.2.2.4-B-6

Species:	Rhesus monkey (<i>Macaca mulatta</i>)
Gender (M/F) / Number of animals:	M/1 and F/1
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	No information available
Method of Administration:	Oral gavage
Dose:	300 mg/kg (¹⁴ C: 1.39 MBq/kg; ³ H: 1.76 MBq/kg)
Radionuclide:	¹⁴ C-SNAC and ³ H-SNAC
Specific Activity:	0.0046 MBq/mg ¹⁴ C-SNAC; 0.0059 MBq/mg ³ H-SNAC
Sampling time:	Plasma: 0.166, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6 and 12 h Urine: 0-12 h interval collection
Assay:	Radio HPLC; LC-MS/MS

Animal ID (Sex)	Matrix	Sampling period	% of Total Sample Radioactivity (¹⁴ C)					
			SNAC	E494	E506	E1245	E1246	E1247
1001A-JCX (M)	Plasma	1 and 2 h (combined)	7.80	ND	7.39	23.82	16.56	41.74
1501A-AC7E (F)	Plasma	1 and 2 h (combined)	6.48	1.03	11.12	23.24	14.33	39.54
1001A-JCX (M)	Urine	0-12 h	ND	ND	ND	54.38	16.61	20.46
1501A-AC7E (F)	Urine	0-12 h	QNS	QNS	QNS	QNS	QNS	QNS

Additional Information: One male and one female rhesus monkey were administered a single oral dose (300 mg/kg) of SNAC with approximately 1.39 MBq/kg of ¹⁴C-SNAC. SNAC and the two β-oxidation products E494 and E506 were identified using reference standards. The three glucuronide metabolites were identified by molecular ion mass to charge ratio shift (+176). Identities (i.e. E1245, E1246, E1247) have been assigned retrospectively to facilitate comparison with other studies. After a washout period, these same two animals were administered the same total dose of SNAC with approximately 1.76 MBq/kg of ³H-SNAC. However, the plasma pharmacokinetic profiles of ³H-derived total radioactivity suggest the label position was unstable, and no further data are presented.

QNS = Quantity not sufficient (for analysis); ND = Not detected

2.6.5.16.9.E ヒトにおける代謝物プロファイリング (ERP23)

Test Article: SNAC

Report title: An open-label study to evaluate the metabolism and excretion of ^{14}C -SNAC following a single oral dose of SNAC/[REDACTED] containing ^{14}C -SNAC in healthy male subjects

Study ID: ERP23
NN Reference No.: ERP23
Location in CTD: 5.3.3.1

Species:	Human
Gender (M/F)	M/9 (Only six subjects included in mass balance and excretion results due to incomplete urine collections)
Method of Administration:	Oral
Dose:	2.25 g ^{14}C -SNAC (3.7 MBq) co-formulated with [REDACTED] USP [REDACTED] units
Sampling time:	Urine: 0 – 216 h; Faeces: 0 – 216 h
Assay:	LSC; LC-MS/MS

Mass balance: Total recovery of radioactive dose (N=6)

	Mean	CV%	Range
Urine (0 – 216 h)	82.31	8.71	74.01 – 90.93
Urine (0 – 24 h)	80.45	7.78	73.90 – 88.13
Faeces (0 – 216 h)	3.75	85.46	0.71 – 9.50
Total	86.06	5.60	80.90 – 93.13

Metabolite excretion as percentage of radioactive dose (N=6)

	Mean Cumulative Percent of Dose Recovered (%)		
	Urine: 0 – 24 h	Urine: 0 – 216 h	Faeces^a: 0 – 216 h
SNAC	0.11	0.11	0.73
E494	0.31	0.31	0.19
E506	2.18	2.20	1.70
E1245	9.42	9.46	BLOQ
E1246	17.05	17.18	BLOQ
E1247	40.84	41.99	BLOQ
Total (as percentage of radioactive dose)	69.91	71.25	2.62
Total (as percentage of total of urine/faeces radioactivity)	86.91	86.56	69.87
Glucuronides E1245, E1246, E1247 (as percentage of total of urine radioactivity)	83.67	83.38	NA

Additional Information: SNAC and metabolites were measured in urine using LC-MS/MS and in faeces using radio-HPLC. Cumulative recoveries are expressed relative to the 2.25 g ^{14}C -SNAC dose. BLOQ: Below limit of quantification NA: Non-applicable

^a: Faeces results obtained from profiling only one or two collection intervals per subject, which collectively for each subject contained >88% of all radioactivity excreted in faeces.

2.6.5.16.9.F ヒトにおける代謝物プロファイリング (8288449)

Test Article: SNAC

Report title: Salcaprozate sodium (SNAC): Characterisation and identification of metabolites in human plasma following multiple administration to healthy male subjects and male subjects with type 2 diabetes

Study ID: 8288449**NN Reference No.:** 213287**Location in CTD:** 5.3.2.3

Species:	Human
Gender (M/F)	M/3
Method of Administration:	Oral, once-daily administration for 10 weeks
Dose:	300 mg SNAC
Sampling time:	Plasma: 0.5, 1, 3, 6 h
Assay:	LC-MS/MS

Metabolite	Approx RT (min)	m/z	Percentage of Total Peak Area											
			Subject 101080 (210)				Subject 101207 (415)				Subject 101228 (421)			
			0.5h	1h	3h	6h	0.5h	1h	3h	6h	0.5h	1h	3h	6h
SNAC	35.5	278.1398	28.7	8.6	3.6	9.2	46.6	17.4	1.9	1.6	34.9	16.2	0.4	14.8
E494	25.9	250.1085	1.2	0.9	0.3	0.6	2.2	1.3	0.2	ND	2	1.9	0.1	ND
E506	18.2	222.0772	23.2	14	5.3	7.9	15.4	11.6	2.1	3.2	30.8	26	4.8	63.5
SNAC -C ₄ H ₁₀ (I)	19.9	220.0613	ND	#	#	ND	ND	#	ND	ND	ND	#	#	ND
SNAC -C ₄ H ₁₀ (II)	21.9	220.0613	ND	ND	ND	ND	1.3	3.9	0.5	0.4	2	3	0.2	ND
SNAC - 6(CH ₂) (III)	12.7	194.0457	8.2	7.2	3.1	2.7	3.2	7.2	1.7	1.1	5.4	7.8	1.8	ND
E1245	16.8	454.1719	22.9	26.6	20.5	27.7	21.8	37.9	25.3	20.8	16	17	11.3	15.3
E1246	10.3	426.1406	4.7	5.4	3.2	3.3	4.2	11.6	7.4	5.8	3.3	6.3	4.8	ND
E1247	6.4	398.1093	8.6	34.7	61.6	41.1	2.5	5.6	57.3	63.5	3.6	19.8	74	6.4
SNAC Acyl GlcA	27.8	454.1719	2.5	1.7	0.7	0.8	2.8	2.5	0.5	0.4	1.8	1.2	0.2	ND
E506 -2H +GlcA	9.4	396.0936	ND	ND	ND	ND	0.2	1.1	3.1	3.1	0.1	0.7	2.5	ND

ND = not detected; GlcA: Glucuronic Acid.

= present at less than 1% of total peak area

Note: Metabolites either not detected or detected in pre-dose control levels not shown

2.6.5.16.10 *In vitro* 代謝**Test Article:** SNAC

2.6.5.16.10.A	肝細胞における代謝 (991596)	Test Article: SNAC										
Report title:	Species Comparison of the Metabolite Profile of SNAC with and without [REDACTED] using Human, Rhesus Monkey and Sprague-Dawley Rat Primary Hepatocytes	Study ID: 991596 NN Reference No.: 209231 Location in CTD: 4.2.2.4-B-7										
Study system:	Cryopreserved human and rhesus monkey primary hepatocytes (obtained from one subject/animal) Sprague Dawley rat hepatocytes were freshly isolated (obtained from one animal)											
Concentration:	10 µM SNAC (only results of incubations containing SNAC without [REDACTED] are reported)											
Assay:	LC-MS/MS											
Species:		Rat Monkey Human										
Incubation time (h):	1 2 4 6	1 2 4 6										
Metabolites Detected		Percent Contribution to Total Metabolite Formation										
M1 (E1245 ^a)	ND	ND	ND	ND	50.7	42.4	37.3	38.3	23.5	23.9	22.3	23.2
M2 (E494 ^a)	6.9	3.4	1.8	ND	6.7	5.4	4.6	3.3	39.5	36.1	27.5	22.2
M3 (E1246 ^a)	ND	ND	ND	ND	17.7	19.4	19.6	19.5	9.8	11.7	12.3	15.0
M4 (E506 ^a)	93.1	96.6	98.2	100.0	16.7	22.7	27.2	26.2	27.2	28.3	28.8	28.8
M5 (E1247 ^a)	ND	ND	ND	ND	8.1	10.1	11.3	12.7	ND	ND	9.1	10.7

a: Identity retrospectively assigned in Study 993529/209234

ND = Not detected

Additional Information:

Metabolism was rapid, with SNAC disappearance rates from highest to lowest: rat > monkey > human. All incubation had less than 6% SNAC remaining at 4 h.

2.6.5.16.10.B	肝細胞における代謝 (993529)	Test Article: SNAC
---------------	--------------------	--------------------

Report title: Identification of SNAC Metabolites in Human Primary Hepatocytes	Study ID: 993529 NN Reference No.: 209234 Location in CTD: 4.2.2.4-B-8
--	---

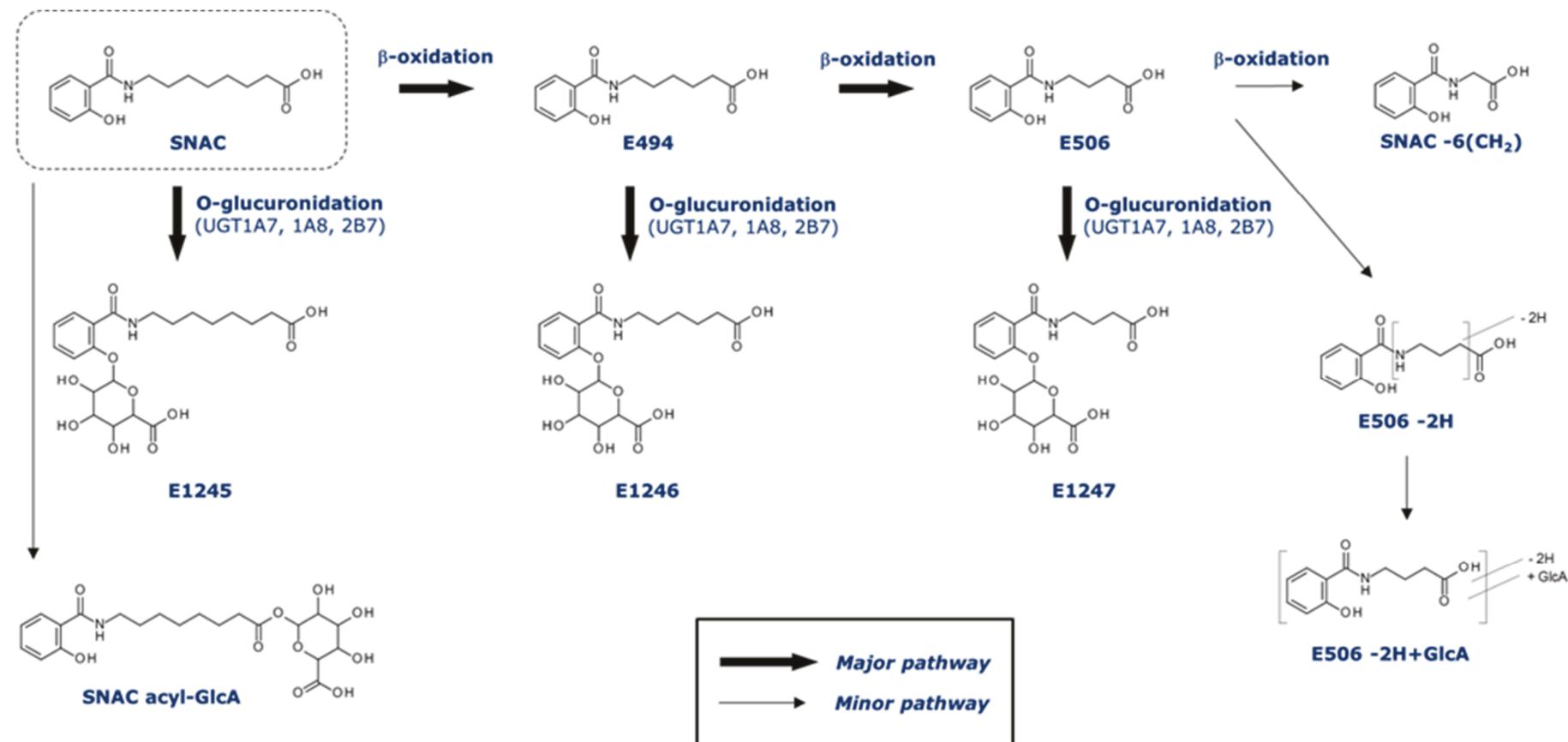
Study system: Concentration: Assay:	Cryopreserved primary human hepatocytes isolated from a male donor 10 µM SNAC LC-MS/MS	
Percent Contribution to Total Metabolite Formation		
Metabolites Detected^a	2 hour	4 hours
E494	31.1	28.3
E506	22.9	26.5
E1245	18.7	14.4
E1246	16.3	17.8
E1247	11.1	12.9

a: All metabolites detected by LC-MS/MS were conclusively identified with reference standards

2.6.5.16.10.C	UDP グルクロン酸転移酵素 (UGT) における代謝 (XT154037)	Test Article: SNAC, E494, E506
Report title: Salcaprozate Sodium (SNAC): <i>In Vitro</i> UDP-Glucuronosyltransferase (UGT) Reaction Phenotyping of SNAC	Study ID: XT154037 NN Reference No.: 215112 Location in CTD: 4.2.2.4-B-9	
Type of study: <i>In vitro</i> incubations using human liver microsomes and recombinant UGT enzymes		
Method: The metabolism of SNAC, E494 and E506 was measured using LC-MS/MS to quantify metabolite formation and loss of substrate. Preliminary incubations were performed using human liver microsomes, and follow-up incubations were performed using recombinant UGT enzyme.		
Tabulated results:	Experiment	Results
	Preliminary evaluation:	<p>SNAC, E494 and E506 metabolism was evaluated in separate incubations conducted at three different substrate concentrations (1, 10 and 100 µM) and three different microsomal protein concentrations (0.125, 0.25 and 0.5 mg protein/mL). Substrate and metabolite concentrations were evaluated at zero, 15, 60 and 120 min.</p> <p>A maximum of 24% loss of SNAC was observed in the presence of human liver microsomes. The UDPGA-dependent loss of SNAC could be directly accounted by the formation of E1245.</p> <p>A maximum of 14% loss of E494 was observed in the presence of human liver microsomes. The UDPGA-dependent loss of E494 could be directly accounted by the formation of E1246.</p> <p>A maximum of 12% loss of E506 was observed in the presence of human liver microsomes. The UDPGA-dependent loss of E506 could be directly accounted by the formation of E1247.</p>
	Recombinant UGT Enzymes:	<p>SNAC was converted to E1245 in the presence of the following recombinant enzymes: UGT1A1, UGT1A3, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT2B4, UGT2B7 and UGT2B10.</p> <p>E494 was converted to E1246 in the presence of the following recombinant enzymes: UGT1A7, UGT1A8 and UGT2B7.</p> <p>E506 was converted to E1247 in the presence of the following recombinant enzymes: UGT1A7, UGT1A8 and UGT2B7.</p>
	Additional Information: In conclusion, UGT1A1, UGT1A3, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT2B4, UGT2B7 and UGT2B10 appear to be capable of converting SNAC to E1245. UGT1A7, UGT1A8 and UGT2B7 appear to be capable of converting E494 to E1246 and E506 to E1247.	

2.6.5.16.11 ヒトにおける SNAC の推定代謝経路

Test Article: SNAC



In mice, rats, monkeys and human the essential metabolism pathway is a stepwise degradation of the acid side chain, analogous to fatty acid degradation. This pathway involves β-oxidation where methylene moieties are removed from the SNAC eight-carbon chain to form the metabolites E494 and E506. SNAC and the two β-oxidation metabolites then undergo conjugation with glucuronic acid to form the three glucuronides: E1245, E1246 and E1247. Additional minor metabolites are found in mouse, rat and human.

2.6.5.16.12 薬物代謝酵素誘導／阻害

Test Article: SNAC

2.6.5.16.12.A	CYP 及び UGT 酵素阻害 (XT125038)	Test Article: SNAC
Report title:	Salcaprozate sodium (SNAC): <i>In Vitro</i> Evaluation of SNAC as an Inhibitor of Cytochrome P450 (CYP) and UDP-glucuronosyltransferase (UGT) Enzymes in Human Liver Microsomes	Study ID: XT125038 NN Reference No. 212422 Location in CTD: 4.2.2.4-B-10
Type of study:	<i>In vitro</i> evaluation of CYP and UGT enzyme inhibition	
Method:	Potential inhibitory effect of SNAC on CYP and UGT activity was evaluated using human liver microsomal protein (pooled from 16 donors) and marker substrates. Experiments were designed to determine inhibitory constants (IC_{50}) for direct inhibition of human CYP and UGT enzymes, and identify time-dependent (NADPH-independent) and/or metabolism-dependent (NADPH-dependent) inhibition of CYP enzymes. Enzyme activities for IC_{50} determinations were assessed using LC-MS/MS. Incubations contained human liver microsomes at a concentration ≤ 0.1 mg/mL and a probe substrate at a concentration equivalent to its approximate K_m or S_{50} value.	

Enzyme	Enzyme reaction	Direct inhibition		Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition Potential ^c	
		No Preincubation		30-minute preincubation (- NADPH)		30-minute preincubation (+ NADPH)			
		IC ₅₀ (μM) ^a	Inhibition at 100 μM (%) ^b	IC ₅₀ (μM) ^a	Inhibition at 100 μM (%) ^b	IC ₅₀ (μM) ^a	Inhibition at 100 μM (%) ^b		
CYP1A2	Phenacetin <i>O</i> -dealkylation	> 100	13	> 100	15	> 100	14	Little or no	
CYP2B6	Efavirenz 8-hydroxylation	> 100	NA	> 100	4.5	> 100	14	Little or no	
CYP2C8	Amodiaquine <i>N</i> -dealkylation	> 100	15	> 100	17	> 100	13	Little or no	
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylation	> 100	1.4	> 100	4.3	> 100	6.2	Little or no	
CYP2C19	S-Mephenytoin 4'-hydroxylation	> 100	25	> 100	18	> 100	26	Little or no	
CYP2D6	Dextromethorphan <i>O</i> -demethylation	> 100	7.6	> 100	7.8	> 100	1.2	Little or no	
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	> 100	3.2	> 100	7.5	> 100	0.3	Little or no	
CYP3A4/5	Midazolam 1'-hydroxylation	> 100	NA	> 100	NA	> 100	NA	Little or no	
UGT1A1	17β-Estradiol 3-glucuronidation	> 100	NA	ND	ND	ND	ND	ND	
UGT1A4	Trifluoperazine glucuronidation	> 100	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	
UGT1A6	1-Naphthol glucuronidation	> 100	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	
UGT1A9	Propofol glucuronidation	> 100	33	ND	ND	ND	ND	ND	
UGT2B7	Morphine 3-glucuronidation	> 100	15	ND	ND	ND	ND	ND	

a: Average of duplicate samples obtained from each test article incubation were used to calculate IC₅₀ values using XLFit.

b: Inhibition observed (%) = 100% - activity observed at 100 μM relative to solvent control (%)

c: Metabolism-dependent inhibition was determined by comparison of IC₅₀ values both with and without preincubation and with and without NADPH-generating system present in the preincubation, by comparison of the observed inhibition (%) for all preincubation conditions and by visual inspection of the IC₅₀ plots.

NA Not applicable. No value was obtained as the rates at the highest concentration of SNAC evaluated (100 μM) were higher than the control rates.

ND Not determined. UGT enzymes were not evaluated for time- or metabolism-dependent inhibition.

2.6.5.16.12.B	CYP 及び UGT 酵素阻害 (XT12A029)	Test Articles: E494, E506, E1245, E1246, E1247 Study ID: XT12A029 NN Reference No. 213026 Location in CTD: 4.2.2.4-B-11
Report title:	Salcaprozate sodium (SNAC): <i>In Vitro</i> Evaluation of NNC0113-0000-3705, NNC0113-0000-3706, NNC0113-0000-3707, NNC0113-0000-3708, NNC0113-0000-3709, as an Inhibitors of Cytochrome P450 (CYP) and UDP-glucuronosyltransferase Enzymes (UGT) in Human Liver Microsomes	
Type of study:	<i>In vitro</i> evaluation of CYP and UGT enzyme inhibition	
Method:	<p>Potential inhibitory effect of SNAC metabolites E1245, E494, E1246, E506, and E1247 on CYP and UGT activity was evaluated using human liver microsomal protein (pooled from 16 donors) and marker substrates. Experiments were designed to determine inhibitory constants (IC_{50}) for direct inhibition of human CYP and UGT enzymes, and identify time-dependent inhibition of CYP enzymes. Enzyme activities for IC_{50} determinations were assessed using LC-MS/MS. Incubations contained human liver microsomes at a concentration ≤ 0.1 mg/mL and a probe substrate at a concentration equivalent to its approximate K_m or S_{50} value.</p>	

Enzyme	Enzyme reaction	E1245				E494				TDI Potential
		Direct inhibition		TDI	TDI Potential	Direct inhibition		TDI		
		No Preincubation		30 min Preincubation		No Preincubation		30 min Preincubation		
		IC ₅₀ (μM)	Inhibition at 100 μM (%)	IC ₅₀ (μM)		IC ₅₀ (μM)	Inhibition at 100 μM (%)	IC ₅₀ (μM)		
CYP1A2	Phenacetin <i>O</i> -dealkylation	>100	37.6	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP2B6	Efavirenz 8-hydroxylation	>100	36.7	49	Yes	>100	7.8	>100	Little or no	
CYP2C8	Amodiaquine <i>N</i> -dealkylation	>100	47.8	78	Little or no	>100	9.9	>100	Little or no	
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylation	>100	11.8	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP2C19	S-Mephenytoin 4'-hydroxylation	>100	32.0	>100	Little or no	>100	0.70	>100	Little or no	
CYP2D6	Dextromethorphan <i>O</i> -demethylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP3A4/5	Midazolam 1'-hydroxylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	0.6	>100	Little or no	
UGT1A1	17β-Estradiol 3-glucuronidation	>100	7.7	ND	ND	>100	8.6	ND	ND	
UGT1A4	Trifluoperazine glucuronidation	>100	7.1	ND	ND	>100	24.7	ND	ND	
UGT1A6	1-Naphthol glucuronidation	>100	10.7	ND	ND	>100	NI	ND	ND	
UGT1A9	Propofol glucuronidation	>100	14.0	ND	ND	>100	12.3	ND	ND	
UGT2B7	Morphine 3-glucuronidation	>100	NI	ND	ND	>100	10.4	ND	ND	

Enzyme	Enzyme reaction	E1246				E506				TDI Potential
		Direct inhibition		TDI	TDI Potential	Direct inhibition		TDI	TDI Potential	
		No Preincubation		30 min Preincubation		No Preincubation		30 min Preincubation		
		IC ₅₀ (μM)	Inhibition at 100 μM (%)	IC ₅₀ (μM)		IC ₅₀ (μM)	Inhibition at 100 μM (%)	IC ₅₀ (μM)		
CYP1A2	Phenacetin <i>O</i> -dealkylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	18.5	>100	Little or no	
CYP2B6	Efavirenz 8-hydroxylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP2C8	Amodiaquine <i>N</i> -dealkylation	>100	5.4	>100	Little or no	>100	7.2	>100	Little or no	
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP2C19	<i>S</i> -Mephenytoin 4'-hydroxylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP2D6	Dextromethorphan <i>O</i> -demethylation	>100	7.3	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	>100	NI	>100	Little or no	>100	1.6	>100	Little or no	
CYP3A4/5	Midazolam 1'-hydroxylation	>100	7.1	>100	Little or no	>100	NI	>100	Little or no	
UGT1A1	17β-Estradiol 3-glucuronidation	>100	NI	ND	ND	>100	NI	ND	ND	
UGT1A4	Trifluoperazine glucuronidation	>100	NI	ND	ND	>100	NI	ND	ND	
UGT1A6	1-Naphthol glucuronidation	>100	8.8	ND	ND	>100	NI	ND	ND	
UGT1A9	Propofol glucuronidation	>100	2.0	ND	ND	>100	7.8	ND	ND	
UGT2B7	Morphine 3-glucuronidation	>100	3.7	ND	ND	>100	4.3	ND	ND	

Enzyme	Enzyme reaction	E1247				TDI Potential	
		Direct inhibition		TDI			
		No Preincubation		30 min Preincubation			
		IC ₅₀ (μM)	Inhibition at 100 μM (%)	IC ₅₀ (μM)			
CYP1A2	Phenacetin <i>O</i> -dealkylation	>100	NI	>100		Little or no	
CYP2B6	Efavirenz 8-hydroxylation	>100	NI	>100		Little or no	
CYP2C8	Amodiaquine <i>N</i> -dealkylation	>100	16.7	>100		Little or no	
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylation	>100	NI	>100		Little or no	
CYP2C19	S-Mephenytoin 4'-hydroxylation	>100	NI	>100		Little or no	
CYP2D6	Dextromethorphan <i>O</i> -demethylation	>100	NI	>100		Little or no	
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	>100	NI	>100		Little or no	
CYP3A4/5	Midazolam 1'-hydroxylation	>100	3.6	>100		Little or no	
UGT1A1	17β-Estradiol 3-glucuronidation	>100	NI	ND		ND	
UGT1A4	Trifluoperazine glucuronidation	>100	19.6	ND		ND	
UGT1A6	1-Naphthol glucuronidation	>100	15.1	ND		ND	
UGT1A9	Propofol glucuronidation	>100	NI	ND		ND	
UGT2B7	Morphine 3-glucuronidation	>100	6.2	ND		ND	

TDI: Time-dependent inhibition; NI: No inhibition (percent of control activity); ND: Not determined (UGT enzymes were not evaluated for time-dependent inhibition)

Additional Information:

IC₅₀ values obtained using averages (percent of control activity) of duplicate incubations at each test article concentration. Time-dependent inhibition was determined by comparison of IC₅₀ values with and without 30 min preincubation containing NADPH, comparison of observed inhibition (%) for all preincubation conditions and visual inspection of IC₅₀ plots.

The glucuronide metabolite E1245 demonstrated varying degrees of inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, and CYP2C19 at 100 μM. These findings were addressed in a follow-up study (XT175053) which evaluated an extended concentration range (up to 600 μM) and employed an increased number of replicates and controls. No evidence of either direct- or time-dependent CYP inhibition by E1245 was observed, therefore E1245 is not considered an inhibitor of any of the CYP enzymes.

2.6.5.16.12.C

CYP 酵素阻害 (XT175053)

Test Articles: E506, E1245, E1246, E1247

Report title: *In Vitro* Evaluation to Further Investigate NNC0113-3705, NNC0113-3707, NNC0113-3708 and NNC0113-3709 as Inhibitors of Cytochrome P450 (CYP) Enzymes in Human Liver Microsomes

Study ID: XT175053

NN Reference No.: 301340

Location in CTD: 4.2.2.4-B-12

Type of study:	<p><i>In vitro</i> evaluation of CYP and UGT enzyme inhibition.</p> <p>This study supplements the results of study XT12A029/213026 by evaluating higher SNAC metabolite concentrations (up to 600 µM).</p>
Method:	Potential inhibitory effect of SNAC metabolites E1245, E1246, E506, and E1247 on CYP activity was evaluated using human liver microsomal protein (pooled from 200 donors) and marker substrates. Experiments were designed to determine inhibitory constants (IC_{50}) for direct inhibition, and identify time-dependent (NADPH-independent) and/or metabolism-dependent (NADPH-dependent) inhibition of CYP enzymes. Enzyme activities for IC_{50} determinations were assessed using LC-MS/MS. Incubations contained human liver microsomes at a concentration ≤ 0.1 mg/mL and a probe substrate at a concentration equivalent to its approximate K_m or S_{50} value.

Enzyme	Substrate	E1245						
		Direct inhibition		Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		
		Zero-min preincubation		30-min preincubation (- NADPH)		30-min preincubation (+ NADPH)		Metabolism-dependent inhibition Potential ^c
		IC_{50} (µM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC_{50} (µM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC_{50} (µM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	
CYP1A2	Phenacetin	> 600	7.6	> 600	5.0	> 600	8.1	None
CYP2B6	Efavirenz	> 600	1.0	> 600	0.5	> 600	3.3	None
CYP2C8	Amodiaquine	> 600	17	> 600	12	> 600	16	None
CYP2C9	Diclofenac	> 600	15	> 600	15	> 600	16	None
CYP2C19	S-Mephenytoin	> 600	6.9	> 600	3.5	> 600	6.8	None
CYP2D6	Dextromethorphan	> 600	5.7	> 600	4.4	> 600	10	None
CYP3A4/5	Midazolam	> 600	7.7	> 600	6.7	> 600	8.1	None
CYP3A4/5	Testosterone	> 600	10	> 600	7.7	> 600	6.7	None

Enzyme	Substrate	E1246						
		Direct inhibition		Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		
		Zero-min preincubation		30-min preincubation (- NADPH)		30-min preincubation (+ NADPH)		Metabolism-dependent inhibition Potential ^c
		IC ₅₀ (μM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC ₅₀ (μM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC ₅₀ (μM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	
CYP1A2	Phenacetin	> 600	12	> 600	6.8	> 600	9.0	None
CYP2B6	Efavirenz	> 600	13	> 600	11	> 600	12	None
CYP2C8	Amodiaquine	> 600	17	> 600	12	> 600	16	None
CYP2C9	Diclofenac	> 600	4.6	> 600	5.0	> 600	8.2	None
CYP2C19	S-Mephenytoin	> 600	11	> 600	3.1	> 600	13	None
CYP2D6	Dextromethorphan	> 600	3.0	> 600	NA	> 600	11	None
CYP3A4/5	Midazolam	> 600	NA	> 600	NA	> 600	NA	None
CYP3A4/5	Testosterone	> 600	12	> 600	8.0	> 600	8.3	None

Enzyme	Substrate	E506						
		Direct inhibition		Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		
		Zero-min preincubation		30-min preincubation (- NADPH)		30-min preincubation (+ NADPH)		Metabolism-dependent inhibition Potential ^c
		IC ₅₀ (μM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC ₅₀ (μM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC ₅₀ (μM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	
CYP1A2	Phenacetin	> 600	13	> 600	7.1	> 600	13	None
CYP2B6	Efavirenz	> 600	12	> 600	2.1	> 600	8.0	None
CYP2C8	Amodiaquine	> 600	11	> 600	9.2	> 600	13	None
CYP2C9	Diclofenac	> 600	7.2	> 600	1.2	> 600	8.6	None
CYP2C19	S-Mephenytoin	> 600	2.8	> 600	0.9	> 600	8.8	None
CYP2D6	Dextromethorphan	> 600	NA	> 600	NA	> 600	1.3	None
CYP3A4/5	Midazolam	> 600	6.2	> 600	1.7	> 600	3.1	None
CYP3A4/5	Testosterone	> 600	11	> 600	8.9	> 600	3.9	None

Enzyme	Substrate	E1247						
		Direct inhibition		Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		
		Zero-min preincubation		30-min preincubation (- NADPH)		30-min preincubation (+ NADPH)		Metabolism-dependent inhibition Potential ^c
		IC ₅₀ (µM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC ₅₀ (µM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	IC ₅₀ (µM) ^a	Maximum inhibition (%) ^b	
CYP1A2	Phenacetin	> 600	10	> 600	2.4	> 600	10	None
CYP2B6	Efavirenz	> 600	6.5	> 600	0.1	> 600	9.4	None
CYP2C8	Amodiaquine	> 600	10	> 600	5.7	> 600	12	None
CYP2C9	Diclofenac	> 600	6.6	> 600	4.2	> 600	10	None
CYP2C19	S-Mephenytoin	> 600	13	> 600	10	> 600	15	None
CYP2D6	Dextromethorphan	> 600	10	> 600	8.4	> 600	14	None
CYP3A4/5	Midazolam	> 600	12	> 600	8.9	> 600	11	None
CYP3A4/5	Testosterone	> 600	3.9	> 600	NA	> 600	10	None

a: Average of duplicate samples obtained from each test article incubation were used to calculate IC₅₀ values.

b: Maximal observed inhibition at any test article concentration relative to the solvent control (0 µM test article)

c: Metabolism-dependent inhibition was determined by comparison of IC₅₀ values both with and without preincubation and with and without NADPH-generating system present in the preincubation, by comparison of the observed inhibition (%) for all preincubation conditions and by visual inspection of the IC₅₀ plots.

NA: Not applicable. No inhibition observed at any concentration of test article evaluated.

2.6.5.16.12.D CYP 酵素誘導 (XT123037)											Test Article: SNAC					
Report title: Salcaprozate sodium (SNAC): <i>In vitro</i> Evaluation of SNAC as an Inducer of Cytochrome P450 Expression in Cultured Human Hepatocytes											Study ID: XT123037 NN Reference No.: 212430 Location in CTD: 4.2.2.4-B-13					
Type of study: Induction of CYP isoenzymes in primary human hepatocytes by Salcaprozate sodium (SNAC)																
Method: SNAC was incubated with primary human hepatocytes for 72 hours. Catalytic activities were assessed via phenacetin O-dealkylation (CYP1A2), bupropion-hydroxylation (CYP2B6), amodiaquine-N-dealkylation (CYP2C8), diclofenac 4'-hydroxylation (CYP2C9), S-mephenytoin 4'-hydroxylation (CYP2C19), dextromethorphan O-demethylation (CYP2D6) and testosterone 6β-hydroxylation (CYP3A4/5) using LC-MS/MS. CYP RNA expression was analyzed by qRT-PCR. Media was evaluated on treatment days 1-3 for the presence of the five primary human metabolites (E494, E506, E1245, E1246, E1247).																
CYP	Hepatocyte Batch	Positive Control Inducer	Enzyme activity fold change ^a						Control	mRNA fold change ^b						
			0.4	4	20	40	100	200		SNAC (μM)	0.4	4	20	40	100	200
CYP1A2	H1150	Omeprazole (50μM)	1.26	1.11	1.06	1.20	0.984	1.14	18.4	3.83	3.18	2.39	4.08	2.24	1.75	218
	H1152		1.29	0.963	1.26	1.11	0.932	1.13	20.1	0.278	0.556	0.332	0.437	0.406	0.465	65.3
	H1155		1.31	1.07	1.17	1.17	0.991	1.04	10.6	0.430	1.15	5.59	9.01	2.15	0.721	88.7
CYP2B6	H1150	Phenobarbital (750μM)	1.24	1.10	1.04	1.03	0.881	1.07	8.28	1.30	1.34	0.632	2.18	1.15	2.41	2.57
	H1152		0.982	0.814	0.818	1.00	0.975	0.940	14.3	0.444	0.0870	0.362	0.254	0.232	0.229	2.13
	H1155		1.12	1.14	1.13	1.03	0.935	1.00	5.35	0.554	0.660	1.60	1.48	0.584	0.550	9.98
CYP2C8	H1150	Rifampin (10μM)	1.23	1.42	1.02	1.01	0.905	1.55	3.79	0.808	1.50	2.24	2.41	1.63	4.16	15.9
	H1152		1.78	1.23	1.04	1.10	1.23	1.13	4.83	0.943	0.208	1.22	0.789	0.727	0.816	7.77
	H1155		1.34	1.05	1.05	0.992	0.916	1.07	5.80	0.875	1.11	2.52	3.02	0.441	0.475	37.1
CYP2C9	H1150	Rifampin (10μM)	1.27	1.16	0.972	1.27	0.782	1.21	2.04	0.954	0.870	0.946	1.02	0.908	1.04	9.64
	H1152		1.29	1.05	0.973	1.03	1.02	0.910	3.51	1.87	1.10	0.422	0.324	0.250	0.329	1.10
	H1155		1.10	1.06	0.978	1.11	0.942	1.08	2.15	0.867	0.956	1.00	0.866	0.901	0.979	0.745
CYP2C19	H1150	Rifampin (10μM)	1.06	1.05	0.936	0.983	0.758	1.08	2.47	0.896	0.793	0.704	0.770	0.796	1.00	2.04
	H1152		0.963	0.786	0.961	1.01	0.901	1.05	14.9	1.73	0.820	0.533	0.544	0.488	0.560	2.57
	H1155		1.16	1.35	1.29	1.14	1.11	1.15	4.40	0.960	0.919	1.02	0.951	1.15	0.895	0.597

CYP	Hepatocyte Batch	Positive Control Inducer	Enzyme activity fold change ^a SNAC (μM)						Control	mRNA fold change ^b SNAC (μM)						Control
			0.4	4	20	40	100	200		0.4	4	20	40	100	200	
CYP2D6	H1150	None	1.02	1.02	1.06	0.956	0.870	1.30	NA	1.01	1.08	1.11	1.20	1.20	1.16	NA
	H1152		1.09	1.11	1.11	1.02	1.02	1.10	NA	1.56	1.26	0.990	0.850	0.919	1.05	NA
	H1155		0.950	0.970	0.915	0.964	0.815	0.957	NA	0.758	0.809	0.848	0.831	0.999	0.918	NA
CYP3A4/5	H1150	Rifampin (10μM)	1.13	1.07	0.967	1.09	0.900	1.02	6.56	0.943	0.968	1.03	1.01	0.782	0.712	9.18
	H1152		0.959	0.757	1.04	1.17	0.992	1.13	3.99	0.716	0.718	0.652	1.03	0.913	1.07	6.31
	H1155		0.869	0.924	0.998	0.884	0.692	0.894	2.81	1.10	1.03	1.11	0.979	1.11	1.13	5.45

a: Fold change = activity of test article treated cells / activity of vehicle control (0.1% DMSO).

b: Fold change values are relative to vehicle control, normalized to GAPDH mRNA levels. All values are the mean of three determinations.

Additional Information: The five primary human metabolites E494, E506, E1245, E1246 and E1247 were all identified in the hepatocyte cultures.

2.6.5.16.12.E	トランスポーター阻害 (XT128043)				Test Article: SNAC, E494, E506, E1245, E1246, E1247
Report title: Salcaprozate sodium (SNAC): <i>In Vitro</i> Evaluation of SNAC and Pool of 5 Metabolites as inhibitors of Human P-gp, BCRP, BSEP, MRP2, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1 and OCT2 Transporters					Study ID: XT128043 NN Reference No.: 212524 Location in CTD: 4.2.2.4-B-14
Type of study:	<i>In vitro</i> evaluation of transporter inhibition				
Method:	Transporter activities for the evaluation of inhibition were measured by LC-MS/MS or LSC. Inhibition of P-gp in Caco-2 cells and BCRP in MDCKII cells was evaluated by assessing the bidirectional permeability of a probe substrate. Inhibition of BSEP and MRP2 in vesicles was evaluated by assessing accumulation of a probe substrate. Inhibition of OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1 and OAT3 in HEK-293 cells was evaluated by measuring probe substrate intra-cellular accumulation. The pooled metabolites consisted of E494, E506, E1246, E1246 and E1247.				
Transporter	Test system	Probe substrate	Inhibitor	% Inhibition at highest concentration reported	IC ₅₀ (μM)
P-gp	Caco-2	Digoxin	SNAC (23.5 – 3310 μM)	49.8	2620
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	No inhibition	NA
BCRP	MDCKII	Prazosin	SNAC (23.5 – 4300 μM)	100	145
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	44.8	NA
BSEP	Vesicles	Taurocholic acid	SNAC (0.1 – 100 μM)	No inhibition	> 100
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	No inhibition	NA
MRP2	Vesicles	Estradiol glucuronide	SNAC (0.1 – 100 μM)	No inhibition	> 100
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	25.9	NA
OATP1B1	HEK293	Estradiol glucuronide	SNAC (0.1 – 100 μM)	59.5	68.4
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	15.0	NA
OATP1B3	HEK293	Estradiol glucuronide	SNAC (0.1 – 100 μM)	26.7	> 100
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	No inhibition	NA
OCT1	HEK293	Tetraethylammonium bromide	SNAC (0.1 – 100 μM)	No inhibition	> 100
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	45.6	NA
OCT2	HEK293	Metformin	SNAC (0.1 – 100 μM)	1.1	> 100
			Pooled metabolites (1 – 100 μM)	6.7	NA
OAT1	HEK293	p-Aminohippurate	SNAC (0.1 – 100 μM)	78.2	28.3

Transporter	Test system	Probe substrate	Inhibitor	% Inhibition at highest concentration reported	IC₅₀ (μM)
		Estrone sulfate	Pooled metabolites (1 – 100 μM)	90.7	NA
			E1245 (0.1 – 100 μM)	67.6	31.5
			E494 (0.1 – 100 μM)	70.3	33.3
			E1246 (0.1 – 100 μM)	50.6	76.6
			E506 (0.1 – 100 μM)	96.0	7.04
			E1247 (0.1 – 100 μM)	25.4	> 100
			SNAC (0.1 – 100 μM)	96.6	5.32
OAT3	HEK293	Estrone sulfate	Pooled metabolites (1 – 100 μM)	82.9	NA
			E1245 (0.1 – 100 μM)	49.8	92.9
			E494 (0.1 – 100 μM)	85.7	20.5
			E1246 (0.1 – 100 μM)	2.3	> 100
			E506 (0.1 – 100 μM)	87.5	9.97
			E1247 (0.1 – 100 μM)	11.7	> 100

2.6.5.16.12.F トランスポーター阻害 (XT168009)

Test Articles: E506, E1245, E1246 and E1247

Report title: *In Vitro* Evaluation to Further Investigate NNC0113-3705, NNC0113-3707, NNC0113-3708 and NNC0113-3709 as Inhibitors of Human P-gp, BCRP, BSEP, MRP2, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1 and OCT2 Transporters

Study ID: XT168009

NN Reference No.: 301430

Location in CTD: 4.2.2.4-B-15

Type of Study:	<i>In vitro</i> evaluation of transporter inhibition This study supplements the results of study XT128043/212524 by evaluating higher SNAC metabolite concentrations (up to 600 µM).																																																																								
Method:	Transporter activities for the evaluation of inhibition were measured by LC-MS/MS or LSC. Inhibition of P-gp in Caco-2 cells and BCRP in MDCKII cells was evaluated by assessing the bidirectional permeability of a probe substrate. Inhibition of BSEP and MRP2 in vesicles was evaluated by assessing accumulation of a probe substrate. Inhibition of OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1 and OAT3 in HEK-293 cells was evaluated by measuring probe substrate intra-cellular accumulation.																																																																								
Tabulated results:	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Test article</th> <th>Transporter</th> <th>Test system</th> <th>Substrate</th> <th>Concentration (µM)</th> <th>IC₅₀ (µM)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>E506, E1245, E1246 and E1247</td> <td>P-gp</td> <td>Caco-2 cells</td> <td>Digoxin (10 µM)</td> <td>2 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E506, E1245, E1246 and E1247</td> <td>BCRP</td> <td>MDCKII cells</td> <td>Prazosin (1 µM)</td> <td>2 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E506, E1245, E1246 and E1247</td> <td>BSEP</td> <td>Vesicles</td> <td>[³H]-Taurocholic acid (0.4 µM)</td> <td>0.6 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E1245</td> <td rowspan="2">MRP2</td> <td rowspan="2">Vesicles</td> <td rowspan="2">[³H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 µM)</td> <td rowspan="2">0.6 to 600</td> <td>188</td> </tr> <tr> <td>E506, E1246, E1247</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E506, E1245, E1246 and E1247</td> <td>OATP1B1</td> <td>HEK293 cells</td> <td>[³H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)</td> <td>0.6 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E506, E1245, E1246 and E1247</td> <td>OATP1B3</td> <td>HEK293 cells</td> <td>[³H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)</td> <td>0.6 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E1247</td> <td>OAT1</td> <td>HEK293 cells</td> <td>[³H]-p-Aminohippurate (1 µM)</td> <td>0.6 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E1246, E1247</td> <td>OAT3</td> <td>HEK293 cells</td> <td>[³H]-Estrone-3-sulfate (50 nM)</td> <td>0.6 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E506, E1245, E1246 and E1247</td> <td>OCT1</td> <td>HEK293 cells</td> <td>[¹⁴C]-Tetraethylammonium bromide (5 µM)</td> <td>0.6 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> <tr> <td>E506, E1245, E1246 and E1247</td> <td>OCT2</td> <td>HEK293 cells</td> <td>[¹⁴C]-Metformin (10 µM)</td> <td>0.6 to 600</td> <td>> 600</td> </tr> </tbody> </table>					Test article	Transporter	Test system	Substrate	Concentration (µM)	IC ₅₀ (µM)	E506, E1245, E1246 and E1247	P-gp	Caco-2 cells	Digoxin (10 µM)	2 to 600	> 600	E506, E1245, E1246 and E1247	BCRP	MDCKII cells	Prazosin (1 µM)	2 to 600	> 600	E506, E1245, E1246 and E1247	BSEP	Vesicles	[³ H]-Taurocholic acid (0.4 µM)	0.6 to 600	> 600	E1245	MRP2	Vesicles	[³ H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 µM)	0.6 to 600	188	E506, E1246, E1247	> 600	E506, E1245, E1246 and E1247	OATP1B1	HEK293 cells	[³ H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	0.6 to 600	> 600	E506, E1245, E1246 and E1247	OATP1B3	HEK293 cells	[³ H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	0.6 to 600	> 600	E1247	OAT1	HEK293 cells	[³ H]-p-Aminohippurate (1 µM)	0.6 to 600	> 600	E1246, E1247	OAT3	HEK293 cells	[³ H]-Estrone-3-sulfate (50 nM)	0.6 to 600	> 600	E506, E1245, E1246 and E1247	OCT1	HEK293 cells	[¹⁴ C]-Tetraethylammonium bromide (5 µM)	0.6 to 600	> 600	E506, E1245, E1246 and E1247	OCT2	HEK293 cells	[¹⁴ C]-Metformin (10 µM)	0.6 to 600	> 600
Test article	Transporter	Test system	Substrate	Concentration (µM)	IC ₅₀ (µM)																																																																				
E506, E1245, E1246 and E1247	P-gp	Caco-2 cells	Digoxin (10 µM)	2 to 600	> 600																																																																				
E506, E1245, E1246 and E1247	BCRP	MDCKII cells	Prazosin (1 µM)	2 to 600	> 600																																																																				
E506, E1245, E1246 and E1247	BSEP	Vesicles	[³ H]-Taurocholic acid (0.4 µM)	0.6 to 600	> 600																																																																				
E1245	MRP2	Vesicles	[³ H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 µM)	0.6 to 600	188																																																																				
E506, E1246, E1247					> 600																																																																				
E506, E1245, E1246 and E1247	OATP1B1	HEK293 cells	[³ H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	0.6 to 600	> 600																																																																				
E506, E1245, E1246 and E1247	OATP1B3	HEK293 cells	[³ H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	0.6 to 600	> 600																																																																				
E1247	OAT1	HEK293 cells	[³ H]-p-Aminohippurate (1 µM)	0.6 to 600	> 600																																																																				
E1246, E1247	OAT3	HEK293 cells	[³ H]-Estrone-3-sulfate (50 nM)	0.6 to 600	> 600																																																																				
E506, E1245, E1246 and E1247	OCT1	HEK293 cells	[¹⁴ C]-Tetraethylammonium bromide (5 µM)	0.6 to 600	> 600																																																																				
E506, E1245, E1246 and E1247	OCT2	HEK293 cells	[¹⁴ C]-Metformin (10 µM)	0.6 to 600	> 600																																																																				

2.6.5.16.12.G

トランスポーター基質の評価 (XT168030)

Test Articles: SNAC, E494, E506, E1245, E1246 and E1247

Report title: SNAC: <i>In Vitro</i> Evaluation of SNAC and its Metabolites as Substrates of Human P-gp, BCRP, MRP2, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 and MATE2-K Transporters	Study ID: XT168030 NN Reference No.: 216350 Location in CTD: 4.2.2.4-B-16				
Method:	The following was evaluated using LC-MS/MS: bidirectional permeability of test article across MDCKII cells expressing either P-gp or BCRP, accumulation of test article in transporter-expressing vesicles (+/- ATP), and accumulation of test article in transporter-expressing HEK293 cells. Identified efflux or uptake was further investigated using inhibitors appropriate for each expressed transporter.				
Test article	Transporter	Test system	Test article concentrations (μ M)	Inhibitor	Potential substrate (Yes/No) ^a
SNAC, E494, E1245, E1246, E1247	P-gp	MDCKII cells	1, 3, 10 and 100	NA	No
E506				NA	No ^b
SNAC, E494	BCRP	MDCKII cells	1, 3, 10 and 100	NA	Yes
E1245, E1246, E1247			10	Ko143 (1 μ M)	
E506			1, 3, 10 and 100	NA	No
E1245, E1246, E1247			10	NA	Yes ^c
SNAC, E494, E506	MRP2	Vesicles	1, 3, 10 and 100	Benzbromarone (100 μ M)	
SNAC			10	NA	Yes
E494, E506			10	NA	
SNAC, E494, E506	OATP1B1	HEK293 cells	1, 3, 10 and 100	NA	No
SNAC			100	Rifampin (10 μ M)	
E494, E506			10	Rifampin (10 μ M)	
SNAC, E494, E506	OATP1B3	HEK293 cells	1, 3, 10 and 100	NA	No
SNAC			100	Rifampin (10 μ M)	
E494, E506			10	Rifampin (10 μ M)	
SNAC, E494, E1245, E1246, E1247	OAT1	HEK293 cells	1, 3, 10 and 100	NA	No
E494, E1247			10	Probenecid (100 μ M)	
E506			1, 3, 10 and 100	NA	Yes
E494, E506, E1245, E1246, E1247			10	Probenecid (100 μ M)	
SNAC	OAT3	HEK293 cells	1, 30, 10 and 100	NA	No
E494, E506, E1245, E1246, E1247			10	Probenecid (100 μ M)	Yes
E494, E506, E1245			100	Probenecid (100 μ M)	

SNAC, E494, E506, E1245, E1246, E1247 E506, E1246	OCT2	HEK293 cells	1, 30, 10 and 100	NA	No
			100	Quinidine (300 µM)	No
SNAC, E494, E506, E1245, E1246, E1247	MATE1	HEK293 cells	1, 30, 10 and 100	NA	No
SNAC, E494, E506, E1245, E1246, E1247	MATE2-K	HEK293 cells	1, 30, 10 and 100	NA	No

a: Considered a substrate if uptake or efflux ratio ≥ 2 and reduced in presence of inhibitor.

b: At 10 µM, the efflux ratio of E506 was < 1 (0.225) in control MDCKII cells, indicating active apical to basolateral transport. In MDCKII-MDR1 cells (P-gp-transfected), the efflux ratio was less than control cells at all E506 concentrations evaluated, suggesting E506 is not a substrate for P-gp.

c: At 10 µM, the efflux ratio of E506 was <1 (0.246) in control MDCKII cells, indicating active apical to basolateral transport. In MDCKII-BCRP cells (BCRP-transfected), efflux ratios (although <2) were 4.8 to 6.6 times greater than control cells, suggesting E506 is a substrate for BCRP.

NA: Not applicable

2.6.5.16.13 排泄

Test Article: SNAC

2.6.5.16.13.A	マウスにおける排泄 (768-95)				Test Article: SNAC
Report title: A Study of the Urinary and Faecal Excretion of Radioactivity following a Single Oral Administration of ¹⁴ C-labelled E414 to Mice				Study ID: 768-95 NN Reference No.: 209237 Location in CTD: 4.2.2.5-B-1	
Species:	CD-1 Mouse				
Gender (M/F) / Number of animals:	M/3 and F/3				
Feeding condition:	Fed				
Vehicle/Formulation:	25% v/v aqueous propylene glycol				
Method of Administration:	Oral gavage				
Dose:	300 mg/kg (11.1 MBq/kg)				
Analyte:	¹⁴ C-SNAC				
Assay:	LSC				
Time	Sex	Recovered Radioactivity (% of Administered ¹⁴C-SNAC Dose)			
		Urine	Faeces	Carcass	Total
0 – 24 h	Male	74.24	6.41	NA	80.65
24 – 48 h		8.37	0.44	NA	8.81
48 – 72 h		2.66	0.23	NA	2.89
72 – 96 h		1.12	0.12	NA	1.24
96 – 120 h		0.68	0.07	NA	0.75
Cumulative excretion (0-120 h)		87.07	7.27	0.06 (at 120 h)	94.40
0 – 24 h	Female	79.61	6.62	NA	86.23
24 – 48 h		4.16	0.38	NA	4.54
48 – 72 h		1.45	0.19	NA	1.64
72 – 96 h		0.92	0.14	NA	1.06
96 – 120 h		0.61	0.05	NA	0.66
Cumulative excretion (0-120 h)		86.75	7.38	0.06 (at 120 h)	94.19

NA – Not applicable

2.6.5.16.14 胆汁中排泄

Test Article: SNAC

2.6.5.16.14.A	ラットにおける胆汁中排泄 (8264643)	Test Article: SNAC
Report title: Salcaprozate sodium (SNAC): A study of disposition in urine, faeces and bile following oral administration to the rat		Study ID: 8264643 NN Reference No.: 212180 Location in CTD: 4.2.2.5-B-2
Species:	Sprague Dawley Rat	
Gender (M/F) / Number of animals:	Intact animals: M/3 and F/3 Bile cannulated animals: M/6 and F/6	
Feeding condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:	100 mg/mL (1.63 MBq/mL)	
Method of Administration:	Oral gavage	
Dose:	500 mg/kg (7.4 MBq/kg)	
Analyte:	¹⁴ C-SNAC	
Assay	LSC	
Recovered Radioactivity (% of Administered ¹⁴C-SNAC Dose)		
Intact Rats (Group A)	Mean Male	SD
Urine (0-24h)	56.0	17.2
Cage wash (0-24h)	28.9	13.9
Estimated Total Urine (0-24h) ^a	84.9	-
Urine (0-96h)	57.1	17.1
Cage wash (0-96h)	29.5	14.2
Estimated Total Urine (0-96h) ^a	86.6	-
Faeces (0-96h)	12.1	3.16
Cage debris (0-96h)	0.074	0.061
Carcass (96h)	0.349	0.088
Mean total radioactivity (0-96h)	99.2	0.717
Recovered Radioactivity (% of Administered ¹⁴C-SNAC Dose)		
Bile Cannulated Rats (Group B)	Mean Male	SD
Urine (0-96h)	38.8	8.23
Cage wash (0-96h)	27.0	5.57
Estimated Total Urine (0-96h) ^a	65.9	-
Faeces (0-96h)	1.92	0.591
Bile (0-96h)	32.1	5.22
Cage debris (0-96h)	0.107	0.158
Carcass (96h)	0.502	0.159
Mean total radioactivity (0-96h)	101	4.02

a: Metabolite profiling showed cage wash radioactivity derived from urine, therefore total urinary excretion is sum of urine and cage wash recoveries.

2.6.5.16.15 薬物相互作用

Test Article: SNAC

No studies performed.

2.6.5.16.16 その他の薬物動態試験

Test Article: SNAC

2.6.5.16.16.A 総 ^{14}C -SNAC 由来放射能曝露量の割合を指標としたヒト血漿中代謝物曝露量の算出 (ERP23)

Test Article: SNAC, E494, E506, E1245, E1246, E1247

Report title: N/A	Study ID: ERP23 NN Reference No.: ERP23 Location in CTD: 5.3.3.1
--------------------------	---

Type of study:	Human AME trial characterizing the metabolic profile of SNAC following administration of 2.25 g ^{14}C -SNAC (3.7 MBq) co-formulated with [REDACTED] ([REDACTED] USP units) as a single dose to nine healthy volunteers.
Method:	Exposures for the five principle circulating plasma metabolites were assessed using reference standards and LC-MS/MS, and the reported AUC values were expressed in terms of nanogram amount of each analyte ($\text{h} \times \text{ng}/\text{mL}$). The total amount of ^{14}C -SNAC derived radioactive exposure was determined using scintillation counting (LSC). To express metabolite exposures as a percentage of total plasma radioactive exposure, the nanogram amount of each metabolite was converted to nanogram equivalents of SNAC (normalized using the ratio of the metabolite molecular weight relative to SNAC).

Analyte	Analytical Method	Molecular Weight	Avg. AUC_{inf} ($\text{h} \times \text{ng}/\text{mL}$)	Avg. AUC_{inf} ($\text{h} \times \text{ng equiv SNAC}/\text{mL}$)	% of Total Radioactivity
	Method	Weight			
SNAC	LC-MS/MS	279.3	14107	14107	5.1%
E494	LC-MS/MS	251.3	3463	3849	1.4%
E506	LC-MS/MS	223.2	17622	22048	7.9%
E1245	LC-MS/MS	455.5	63639	39024	14%
E1246	LC-MS/MS	427.4	56961	37222	13%
E1247	LC-MS/MS	399.4	218637	152908	55%
Sum of Analytes	LC-MS/MS	-	-	269159	96%
Total ^{14}C -SNAC derived Radioactivity	LSC	-	-	279140	-