エナロデュスタット

第２部 CTD の概要（サマリー）
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.1 緒言

日本たばこ産業株式会社

目次

2.6.1 緒言 3

2.6.1 緒言

エナロデュスタット（化学名：*N*-[7-Hydroxy-5-(2-phenylethyl)[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridine-8-carbonyl]glycine）は，日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所において，ヒト HIF-PH に対する阻害活性を指標に見出された新規 HIF-PH 阻害剤である。

エナロデュスタットは HIF-PH を阻害することで腎臓や肝臓の HIF-α を安定化し，生理的な低酸素応答を利用した内因性 EPO 産生と鉄利用能の亢進の結果，赤血球産生能が是正し，貧血状態を改善する。したがって，保存期，透析期いずれの腎性貧血患者に対しても貧血治療が可能な新規経口薬となることが期待される。

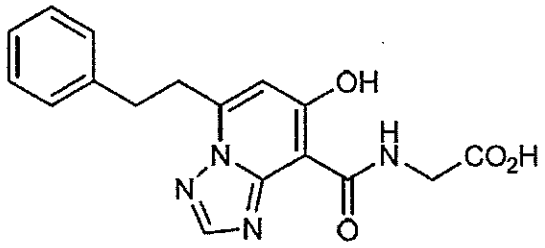


図 1　エナロデュスタットの化学構造式

表 1　エナロデュスタットの製造販売承認申請の概要

申請区分	医療用医薬品，（1）新有効成分含有医薬品
販売名	エナロイ錠 2 mg，エナロイ錠 4 mg
一般名	エナロデュスタット（英名：Enarodustat）
含量	1 錠中にエナロデュスタットを 2 mg 又は 4 mg 含有する
効能又は効果	腎性貧血
用法及び用量	＜保存期慢性腎臓病患者及び腹膜透析患者＞ 赤血球造血刺激因子製剤で未治療，赤血球造血刺激因子製剤から切り替えのいずれの場合も，通常，成人には，エナロデュスタットとして 1 回 2 mg を開始用量とし，1 日 1 回食前又は就寝前に経口投与する。以後は，貧血症状の程度等により投与量を適宜増減するが，最高用量は 1 回 8 mg とする。 ＜血液透析患者＞ 赤血球造血刺激因子製剤で未治療，赤血球造血刺激因子製剤から切り替えのいずれの場合も，通常，成人には，エナロデュスタットとして 1 回 4 mg を開始用量とし，1 日 1 回食前又は就寝前に経口投与する。以後は，貧血症状の程度等により投与量を適宜増減するが，最高用量は 1 回 8 mg とする。

エナロデュスタット

第 2 部 CTD の概要（サマリー）
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.2 薬理試験の概要文

日本たばこ産業株式会社

目次

略号及び用語の定義一覧 4
2.6.2 薬理試験の概要文 5
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1 *In vitro* 作用 7
2.6.2.2.1.1 HIF-PH に対する作用 7
2.6.2.2.1.2 EPO 産生に対する作用 8
2.6.2.2.2 *In vivo* 作用 10
2.6.2.2.2.1 EPO 産生に対する作用 10
2.6.2.2.2.2 赤血球造血に対する作用 12
2.6.2.2.2.3 鉄利用に対する作用 13
2.6.2.3 副次的薬理試験 16
2.6.2.3.1 非特異的作用 16
2.6.2.4 安全性薬理試験 17
2.6.2.4.1 中枢神経系 17
2.6.2.4.2 心血管系 17
2.6.2.4.3 呼吸系 18
2.6.2.4.4 その他の試験系 18
2.6.2.5 代謝物，光学異性体及び不純物の薬理作用 19
2.6.2.5.1 代謝物の *in vitro* 作用 19
2.6.2.5.1.1 HIF-PH に対する作用 19
2.6.2.5.1.2 EPO 産生に対する作用 20
2.6.2.6 薬力学的薬物相互作用 20
2.6.2.7 考察及び結論 21
2.6.2.8 図表 22
2.6.2.9 参考文献 22

表目次

表 1　ヒト HIF-PH に対する JTZ-951 の阻害作用 7
表 2　Hep3B 細胞における JTZ-951 添加時の EPO 産生経時変化 9
表 3　Hep3B 細胞における JTZ-951 の EPO 産生亢進作用 9
表 4　5/6 腎臓摘出ラットにおける JTZ-951 単回経口投与時の薬物動態パラメータ 11
表 5　各種受容体に対する JTZ-951 の作用 16
表 6　各種酵素に対する JTZ-951 の作用 16
表 7　ヒト HIF-PH に対する(R)-M2 及び JTZ-951 の阻害作用 19
表 8　Hep3B 細胞における(R)-M2 及び JTZ-951 の EPO 産生亢進作用 20

図目次

図 1　Hep3B 細胞における HIF-1α, HIF-2α 及び HIF-1β 発現に対する JTZ-951 の作用 8
図 2　正常ラットにおける JTZ-951 単回投与時の肝臓及び腎臓中 EPO mRNA 量の経時変化 10
図 3　5/6 腎臓摘出ラットにおける JTZ-951 単回投与時の血漿中 EPO 濃度の経時変化 11
図 4　5/6 腎臓摘出ラットにおける JTZ-951 反復投与時の Hb 濃度推移 12
図 5　正常ラットにおける JTZ-951 反復投与時の Hb 濃度及び鉄パラメータに対する作用 14
図 6　正常ラットにおける JTZ-951 単回投与時の肝臓中ヘプシジン mRNA 量に対する作用 15

略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
AUC_{inf}	Area under the concentration-time curve from the time of dosing to infinity，投与開始時から投与後無限大時間までの濃度－時間曲線下面積
CKD	Chronic kidney disease，慢性腎臓病
C_{max}	Maximum concentration，最高濃度
DMSO	Dimethyl sulfoxide，ジメチルスルホキシド
EC_{50}	Half maximal (50%) effective concentration，50%効果濃度
EPO	Erythropoietin，エリスロポエチン
ESA	Erythropoiesis stimulating agent，赤血球造血刺激因子製剤
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
Hb	Hemoglobin，ヘモグロビン
HD	Hemodialysis，血液透析
HEK293 細胞	Human embryonic kidney cells 293，ヒト胎児腎細胞 293
hERG	Human ether-a-go-go related gene，ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HIF	Hypoxia inducible factor，低酸素誘導因子
HIF-PH	Hypoxia inducible factor-prolyl hydroxylase, 低酸素誘導因子プロリン水酸化酵素（ドメイン含有タンパク）
hr	Hour(s)，時間
IC_{50}	Half maximal (50%) inhibitory concentration，50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use，医薬品規制調和国際会議
Ki	Inhibition constant，阻害定数
MC	Methylcellulose，メチルセルロース
mRNA	Messenger ribonucleic acid，伝令リボ核酸
PD	Peritoneal dialysis，腹膜透析
PO	Oral administration，経口投与
QTc	Corrected QT interval，補正 QT 間隔
rHuEPO	Recombinant human erythropoietin，ヒトエリスロポエチン製剤
rRNA	Ribosomal ribonucleic acid，リボソームリボ核酸
SC	Subcutaneous administration，皮下投与
SD 系ラット	Sprague-Dawley rats，Sprague-Dawley 系ラット
$t_{1/2}$	Elimination half-life，消失半減期
t_{max}	Time to reach peak or maximum concentration following drug administration，最高濃度到達時間
TSAT	Transferrin saturation，トランスフェリン飽和度
WBP	Whole body plethysmograph，全身プレチスモグラフ

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

すべての薬理試験は，特に記載しない限り JTZ-951 を用いて行った。媒体として，*in vitro* 試験においては DMSO を，*in vivo* 試験においては 0.5% MC 水溶液を用いた。*In vivo* 試験は，雄性のラット又はイヌを用い，臨床適用経路である経口投与により実施した。薬理試験成績の要約を以下に示す。

効力を裏付ける試験成績

(*In vitro* 作用)

試験項目	添加濃度		結果	
HIF-PH に対する作用				
ヒト酵素に対する阻害作用	HIF-PH1	0.006, 0.012, 0.024 μmol/L	Lineweaver-Burk プロット解析 Ki (μmol/L)	競合阻害 0.016 ± 0.003
	HIF-PH2	0.035, 0.07, 0.14 μmol/L		競合阻害 0.061 ± 0.004
	HIF-PH3	0.08, 0.16, 0.32 μmol/L		競合阻害 0.101 ± 0.004
EPO 産生に対する作用				
Hep3B 細胞における HIF 発現に対する作用	10 μmol/L		添加 1 時間後より発現上昇	
Hep3B 細胞における EPO 産生に対する作用	10 μmol/L		添加 8 時間後より産生亢進	
	0.1, 0.3, 1, 3, 10 μmol/L		EC_{50} (μmol/L)	4.7 ± 0.4

平均値±標準誤差

(*In vivo* 作用)

試験項目	動物	投与量／投与経路	結果
EPO 産生に対する作用			
肝臓・腎臓 EPO mRNA 量に対する作用	ラット (SD)	0.3, 1, 3 mg/kg 経口／単回	肝臓，腎臓共に 1 mg/kg から用量に応じて有意に増加 投与 4 時間後まで増加 投与 24 時間後までに減少
血漿中 EPO 濃度に対する作用	ラット (SD, 5/6 腎臓摘出処置)	0.3, 1, 3 mg/kg 経口／単回	3 mg/kg で有意に上昇 投与 8 時間後まで上昇 投与 24 時間後までに低下
赤血球造血に対する作用			
反復投与による赤血球パラメータに対する作用	ラット (SD, 5/6 腎臓摘出処置)	0.3, 1, 3 mg/kg 経口／42 日間	1 mg/kg から用量に応じて有意に Hb 濃度上昇
鉄利用に対する作用			
反復投与による Hb 濃度及び鉄パラメータに対する作用	ラット (SD)	3 mg/kg 経口／42 日間	Hb 濃度：rHuEPO と同程度に上昇 TSAT：JTZ-951 では低下せず，rHuEPO で有意に低下
肝臓中ヘプシジン mRNA 量に対する作用	ラット (SD)	3 mg/kg 経口／単回	JTZ-951 で有意に減少 rHuEPO では減少せず

副次的薬理試験成績

(非特異的作用)

試験項目	添加濃度		結果	
各種受容体及び酵素に対する作用	10 μmol/L	IC_{50} (μmol/L)	各種受容体結合 (23 種)	>10
			各種酵素活性 (5 種)	>10

安全性薬理試験成績

試験項目	投与量／添加濃度／投与経路	GLP	結果
中枢神経系			
一般症状，行動 (Irwin 変法) ラット (雄)	3, 10, 30 mg/kg 経口／単回	適用	作用なし
心血管系			
hERG 電流 (ホールセルクランプ法) hERG 導入 HEK293 細胞	10, 30, 100 μmol/L *in vitro*	適用	作用なし
血圧，心拍数，心電図 (テレメトリー法) イヌ (雄)	1, 3, 10 mg/kg 経口／単回	適用	作用なし
血圧，心拍数 (非観血法) ラット (雄)	3, 10, 30 mg/kg 経口／単回	非適用	3, 10 mg/kg : 作用なし 30 mg/kg : 収縮期血圧低下及び心拍数増加 (投与 4 及び 8 時間後)
呼吸系			
呼吸数，換気量 (WBP 法) イヌ (雄)	1, 3, 10 mg/kg 経口／単回	適用	作用なし

代謝物 (R)-M2 の *in vitro* 薬理作用

試験項目	添加濃度		結果
HIF-PH に対する作用			
ヒト酵素に対する阻害作用	(R)-M2 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 μmol/L	IC_{50} (μmol/L)	HIF-PH1 : 0.027 ± 0.003 HIF-PH2 : 0.142 ± 0.017 HIF-PH3 : 0.350 ± 0.044
EPO 産生に対する作用			
Hep3B 細胞における EPO 産生に対する作用	(R)-M2 1, 3, 10, 30, 100, 300 μmol/L	EC_{50} (μmol/L)	>100

平均値±標準誤差

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 作用

2.6.2.2.1.1 HIF-PH に対する作用

(1) ヒト HIF-PH に対する阻害作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-001/[redacted]B951EN01]

（評価資料：CTD4.2.1.1-1）

ヒト HIF-PH に対する JTZ-951 の阻害作用及び阻害様式について検討した。

酵素源として組換えヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 精製酵素を，基質として HIF ペプチド及び α-ケトグルタル酸（酸素とともに水酸基供与体として働く）を用いて，JTZ-951 存在下で酵素反応を行った。

JTZ-951 のヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 に対する Ki 値は，それぞれ 0.016，0.061 及び 0.101 μmol/L であった（表 1）。また，Lineweaver-Burk プロットから，これら 3 種の酵素に対する JTZ-951 の阻害様式は，いずれも α-ケトグルタル酸競合阻害型であった。

以上より，JTZ-951 はヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 をいずれも阻害し，その阻害様式は α-ケトグルタル酸競合的であることが確認された。

表 1　ヒト HIF-PH に対する JTZ-951 の阻害作用

酵素	Ki 値（μmol/L）
HIF-PH1	0.016 ± 0.003
HIF-PH2	0.061 ± 0.004
HIF-PH3	0.101 ± 0.004

平均値±標準誤差（n＝3）

2.6.2.2.1.2 EPO 産生に対する作用

(1) ヒト肝臓由来 Hep3B 細胞における HIF 発現に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-003/[redacted]B951CH01]

(評価資料：CTD4.2.1.1-2)

ヒト肝臓由来 Hep3B 細胞における HIF 発現に対する JTZ-951 の作用を検討した。

Hep3B 細胞に JTZ-951 (10 μmol/L) を添加し，添加 1, 2, 4 及び 8 時間後における HIF-1α, HIF-2α 及び HIF-1β の発現に対する作用を 21% O_2 条件下で評価した。

JTZ-951 は，添加 1 時間後から HIF-1α 及び HIF-2α の発現量を増加させた。HIF-1β の発現量に変化は認められなかった（図 1）。

以上より，JTZ-951 は，HIF-1α 及び HIF-2α を安定化させることが確認された。

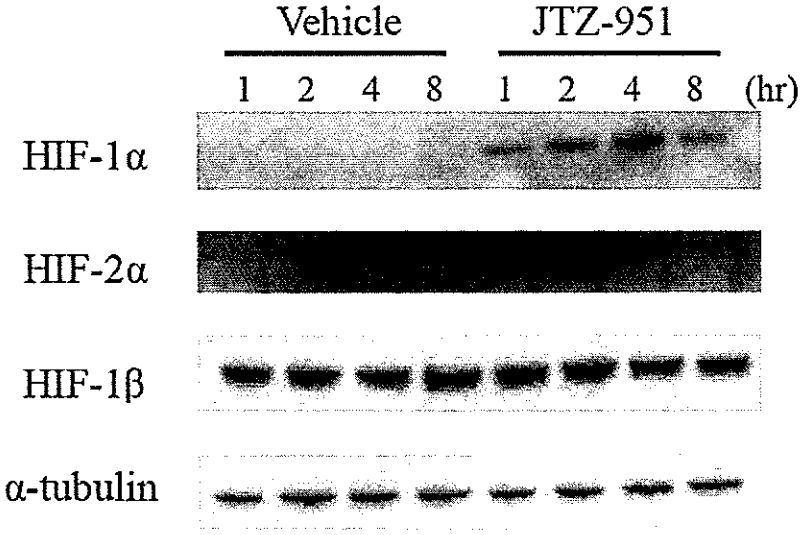


図 1　Hep3B 細胞における HIF-1α，HIF-2α 及び HIF-1β 発現に対する JTZ-951 の作用

n = 1

(2) ヒト肝臓由来 Hep3B 細胞における EPO 産生に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-005/[redacted]B951CE01]

(評価資料：CTD4.2.1.1-3)

ヒト肝臓由来 Hep3B 細胞における EPO 産生に対する JTZ-951 の作用を検討した。

Hep3B 細胞に JTZ-951（10 μmol/L）を添加し，添加 1，2，4，8 及び 24 時間後における EPO 産生の経時変化を評価した。また，Hep3B 細胞に JTZ-951（0.1～10 μmol/L）を添加し，添加 24 時間後における EPO 産生作用を評価した。上記は 21% O_2 条件下で培養し，低酸素培養群は 2% O_2 条件下で 24 時間培養した。

JTZ-951 は，添加 8 時間後から時間経過に応じて EPO 産生を亢進させた（表 2）。また，JTZ-951 の添加 24 時間後には，添加濃度に応じた EPO 産生亢進作用が認められ，低酸素培養群の EPO 産生を 100%とした場合の EC_{50} 値は，4.7 μmol/L であった（表 3）。

以上より，JTZ-951 は，時間経過及び添加濃度に応じて EPO 産生を亢進させることが確認された。

表 2　Hep3B 細胞における JTZ-951 添加時の EPO 産生経時変化

群名	EPO 濃度（mIU/mL）				
	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	24 hr
媒体	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
JTZ-951 10 μmol/L	0.000	0.000	0.000	2.959	38.208

n＝1
定量限界未満を 0 とした。

表 3　Hep3B 細胞における JTZ-951 の EPO 産生亢進作用

	EC_{50} 値（μmol/L）
JTZ-951	4.7 ± 0.4

平均値±標準誤差（n＝3）
低酸素培養群の EPO 産生を 100%とした。

2.6.2.2.2 *In vivo* 作用

2.6.2.2.2.1 EPO 産生に対する作用

(1) 肝臓及び腎臓中 EPO mRNA 量に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-006/[redacted]B951NM01]

（評価資料：CTD4.2.1.1-4）

正常ラットを用いて，肝臓及び腎臓中 EPO mRNA 量に対する JTZ-951 の作用を検討した。

雄性 SD 系ラットに JTZ-951（0.3，1 及び 3 mg/kg）又は媒体を単回経口投与し，投与 1，2，4，8 及び 24 時間後における肝臓及び腎臓中の EPO mRNA 量を評価した。

JTZ-951 は，1 mg/kg から用量に応じて肝臓及び腎臓中の EPO mRNA 量を有意に増加させた。その際の EPO mRNA 量は，投与 4 時間後まで増加した後，投与 24 時間後までに媒体群と同程度まで減少した（図 2）。

以上より，JTZ-951 は，正常ラットにおいて 1 mg/kg の用量から肝臓及び腎臓中の EPO mRNA 量を一過性に増加させることが確認された。

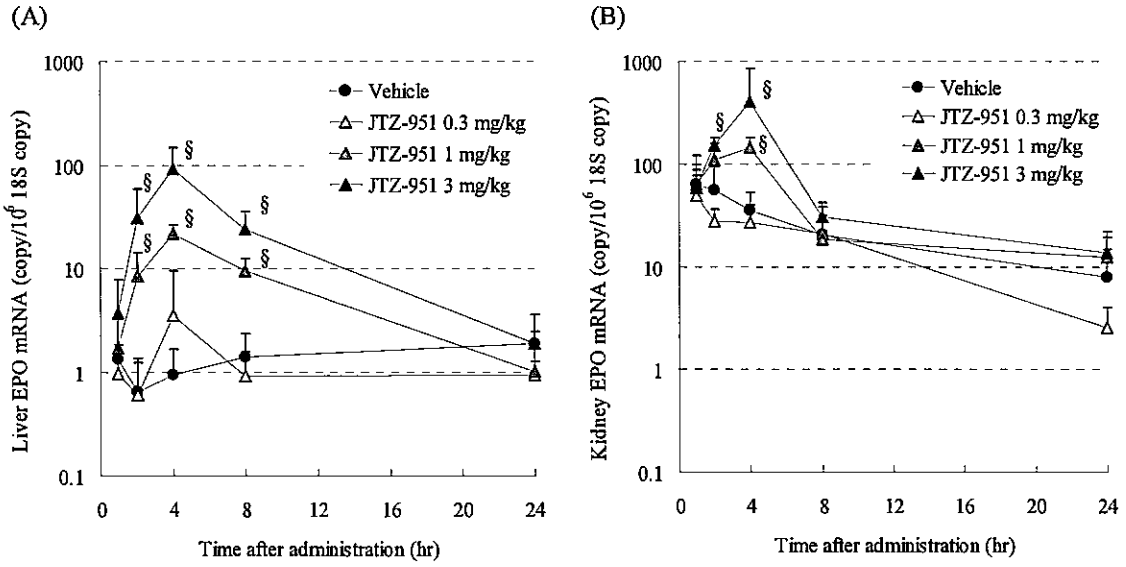


図 2　正常ラットにおける JTZ-951 単回投与時の肝臓及び腎臓中 EPO mRNA 量の経時変化

（A）肝臓，（B）腎臓
平均値＋標準偏差（n = 6）
§: $p < 0.05$ vs. 媒体群（Steel test）
EPO mRNA 量を 18S rRNA 量で補正して算出した。

(2) 血漿中 EPO 濃度に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-013/[redacted]B951XE01, JTZ951-AD-020/[redacted]-4581-G]

(JTZ951-PH-013/[redacted]B951XE01：評価資料：CTD4.2.1.1-5)

(JTZ951-AD-020/[redacted]-4581-G：参考資料：CTD4.2.1.1-6)

腎性貧血モデルである 5/6 腎臓摘出ラットを用いて，血漿中 EPO 濃度に対する JTZ-951 の作用を検討した。

5/6 腎臓摘出処置を施した雄性 SD 系ラットに，JTZ-951（0.3，1 及び 3 mg/kg）又は媒体を単回経口投与し，投与前，投与 2，4，8 及び 24 時間後における血漿中 EPO 濃度を評価した。また，1 及び 3 mg/kg 投与群については，投与 0.25，0.5，1，2，4，6，8，24 及び 48 時間後における JTZ-951 の血漿中濃度を測定し，薬物動態パラメータを算出した（表 4）。

JTZ-951 は，3 mg/kg の用量で血漿中 EPO 濃度を有意に上昇させた。その際の血漿中 EPO 濃度は，投与 8 時間後まで上昇した後，投与 24 時間後までに，媒体群と同程度まで低下した（図 3）。

以上より，JTZ-951 は，5/6 腎臓摘出ラットにおいて 3 mg/kg の用量で血漿中 EPO 濃度を上昇させることが確認された。

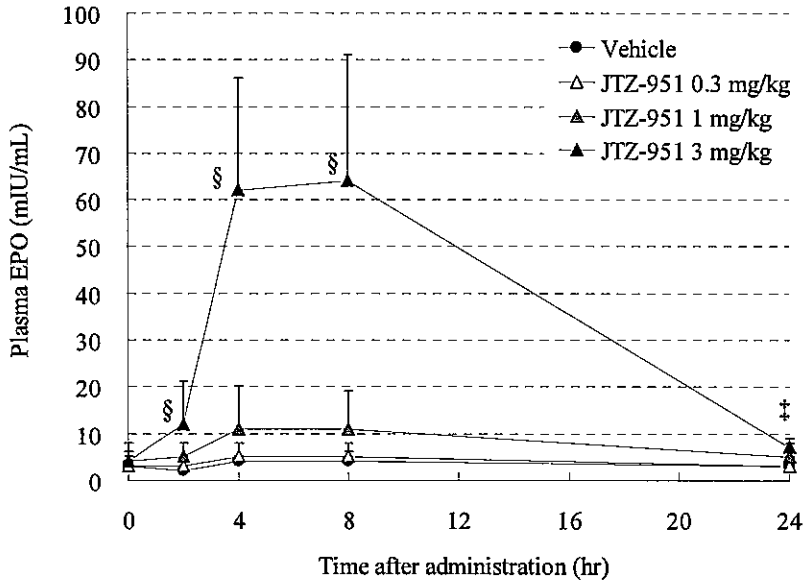


図 3　5/6 腎臓摘出ラットにおける JTZ-951 単回投与時の血漿中 EPO 濃度の経時変化

平均値＋標準偏差（n＝6）
§: $p < 0.05$ vs. 媒体群（Steel test）
‡: $p < 0.01$ vs. 媒体群（Dunnett's test）
ヒト EPO を標準品として算出した。

表 4　5/6 腎臓摘出ラットにおける JTZ-951 単回経口投与時の薬物動態パラメータ

群名	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	$t_{1/2\alpha}$ (hr)	$t_{1/2\beta}$ (hr)	AUC_{inf} (μg·hr/mL)
JTZ-951 1 mg/kg	0.50	1.01	1.4	5.1	3.02
JTZ-951 3 mg/kg	0.29	5.25	1.1	4.3	12.07

平均値（n＝6）

2.6.2.2.2.2 赤血球造血に対する作用

(1) 反復投与時の赤血球造血に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-014/[redacted]B951XZ01]

(評価資料：CTD4.2.1.1-7)

腎性貧血モデルである 5/6 腎臓摘出ラットを用いて，JTZ-951 を反復投与した際の赤血球造血に対する作用について検討した。

5/6 腎臓摘出処置を施した雄性 SD 系ラットに JTZ-951（0.3，1 及び 3 mg/kg）又は媒体を，Sham 処置ラットには媒体を，Day 1 から 1 日 1 回，42 日間反復経口投与した。Day 1（反復投与開始前），8，15，22，29，36 及び 43 に血液を採取し，赤血球パラメータとして Hb 濃度を測定した。

Day 1 において，媒体群（5/6 腎臓摘出ラット）の Hb 濃度は，Sham 処置ラットと比較して有意に低値を示した。反復投与により，JTZ-951 は，1 mg/kg から用量に応じて Hb 濃度を有意に上昇させた（図 4）。

以上より，JTZ-951 は，5/6 腎臓摘出ラットにおいて 1 mg/kg の用量から赤血球造血亢進作用を示すことが確認された。

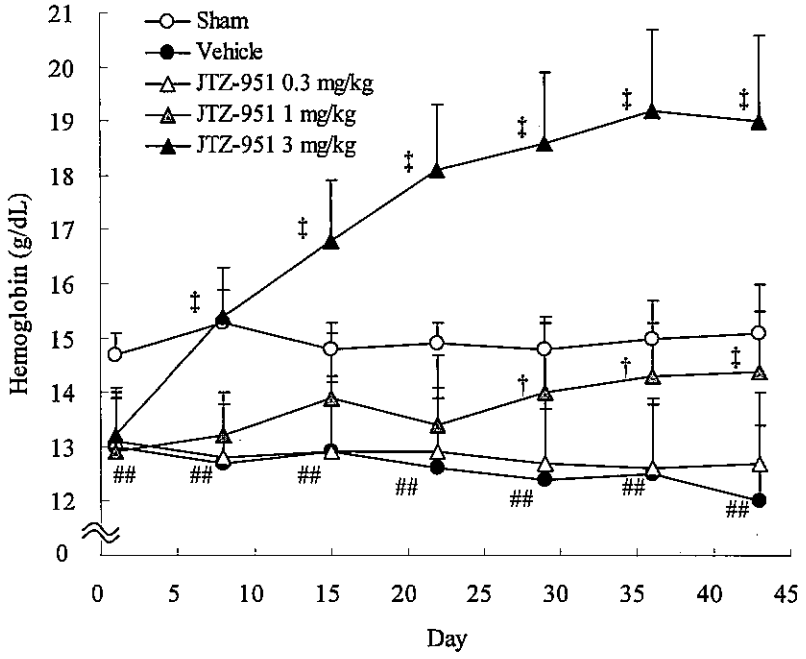


図 4　5/6 腎臓摘出ラットにおける JTZ-951 反復投与時の Hb 濃度推移

平均値＋標準偏差（n = 10-12）
##: $p < 0.01$ 媒体群 vs. Sham 群（Welch's test）
†, ‡: $p < 0.05$, $p < 0.01$ JTZ-951 群 vs. 媒体群（Dunnett's test）

2.6.2.2.2.3 鉄利用に対する作用

(1) 反復投与時の鉄パラメータに対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-024/[redacted]B951RF01]

（評価資料：CTD4.2.1.1-8）

正常ラットを用いて，JTZ-951 を反復投与した際の鉄パラメータに対する作用について rHuEPO と比較検討した。

雄性 SD 系ラットに JTZ-951（3 mg/kg，経口投与），rHuEPO（50 IU/kg，皮下投与）又は媒体（0.5% MC：経口投与，生理食塩水：皮下投与）を Day 1 から 1 日 1 回，42 日間反復投与した。Day 1（反復投与開始前），8，15，22，29，36 及び 43 における Hb 濃度，血清鉄濃度，TSAT 並びに Day 43 における肝臓中非ヘム鉄量を評価した。

JTZ-951 は，rHuEPO と同程度に Hb 濃度を上昇させた（図 5（A））。この時，rHuEPO は鉄利用の指標として用いられる TSAT 及び血清鉄濃度を有意に低下させたが，JTZ-951 は低下させなかった（図 5（B），（C））。また，rHuEPO は Day 43 における肝臓中非ヘム鉄量を有意に減少させたが，JTZ-951 は減少させなかった（図 5（D））。

以上より，JTZ-951 は，rHuEPO と比較して，鉄利用能を低下させることなく赤血球造血亢進作用を示すことが示唆された。

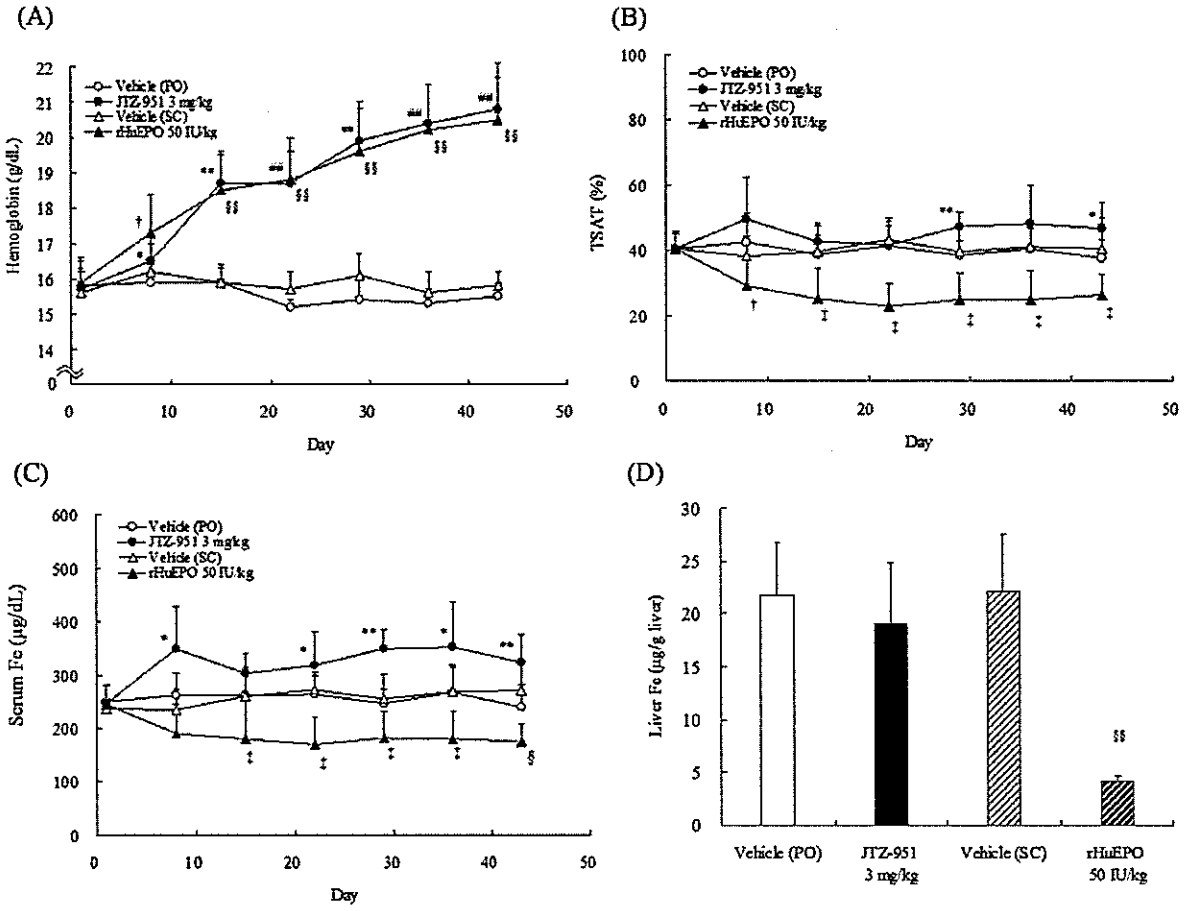


図 5　正常ラットにおける JTZ-951 反復投与時の Hb 濃度及び鉄パラメータに対する作用

（A）Hb 濃度，（B）TSAT，（C）血清鉄濃度，（D）肝臓中非ヘム鉄量（Day 43）
平均値＋標準偏差（n = 9）
*, **: $p < 0.05$, $p < 0.01$　JTZ-951 群 vs. 媒体（PO）群（Student's *t* test）
##: $p < 0.01$　JTZ-951 群 vs. 媒体（PO）群（Welch's test）
†, ‡: $p < 0.05$, $p < 0.01$　rHuEPO 群 vs. 媒体（SC）群（Student's *t* test）
§, §§: $p < 0.05$, $p < 0.01$　rHuEPO 群 vs. 媒体（SC）群（Welch's test）

(2) 単回投与時の肝臓中ヘプシジン mRNA 量に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-023/[redacted]B951SF01]

(評価資料：CTD4.2.1.1-9)

正常ラットを用いて，肝臓中ヘプシジン mRNA 量に対する JTZ-951 の作用を検討した。

雄性 SD 系ラットに JTZ-951（3 mg/kg，経口投与），rHuEPO（50 IU/kg，皮下投与）又は媒体（0.5% MC：経口投与，生理食塩水：皮下投与）を単回投与した。投与 8 時間後に肝臓を摘出し，鉄利用を負に制御するヘプシジンの mRNA 量を評価した。

JTZ-951 は，肝臓中ヘプシジン mRNA 量を有意に減少させた。一方，rHuEPO は，肝臓中ヘプシジン mRNA 量を減少させなかった（図 6）。

以上より，JTZ-951 は，肝臓中のヘプシジン mRNA 量を減少させることが確認された。

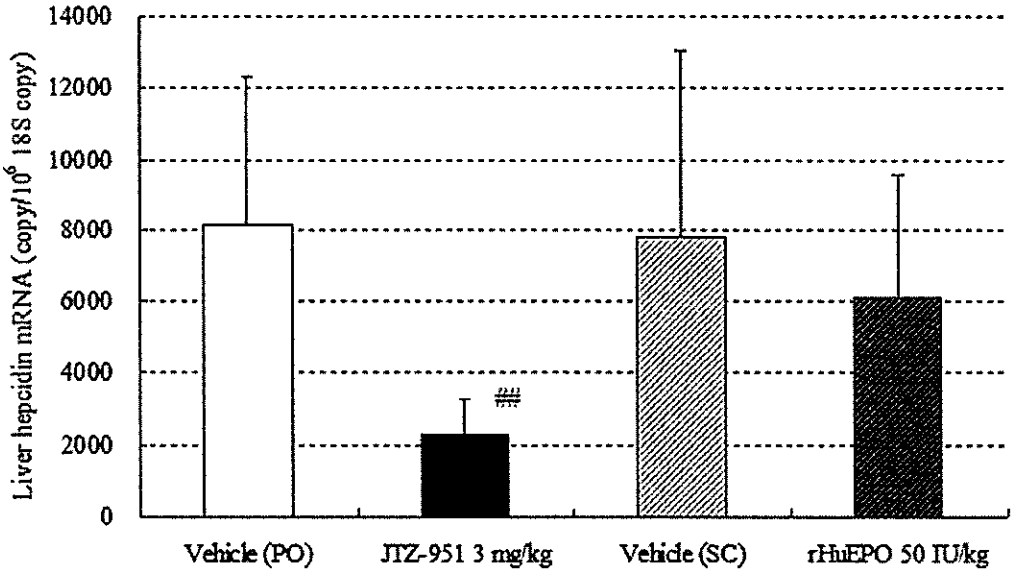


図 6　正常ラットにおける JTZ-951 単回投与時の肝臓中ヘプシジン mRNA 量に対する作用

平均値＋標準偏差（n = 9）
##: $p < 0.01$ JTZ-951 群 vs. 媒体（PO）群（Welch's test）
ヘプシジン mRNA 量を 18S rRNA 量で補正して算出した。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 非特異的作用

(1) 各種受容体及び酵素に対する作用 [Report/Study Number JTZ951-PH-017/[redacted]-4646-G]

（評価資料：CTD4.2.1.2-1）

JTZ-951 の非特異的作用を把握するため，23 種類の受容体及び 5 種類の酵素に対する JTZ-951 の作用を検討した。

評価した受容体及び酵素に対する JTZ-951 の IC_{50} 値は，いずれも 10 μmol/L より大きかった（表 5，表 6）。

表 5　各種受容体に対する JTZ-951 の作用

受容体	IC_{50} 値 (μmol/L)	受容体	IC_{50} 値 (μmol/L)
アデノシン（A_1）	>10	ヒスタミン（H_1）	>10
アドレナリン（α_1，非選択的）	>10	ヒスタミン（H_2）	>10
アドレナリン（α_2，非選択的）	>10	ヒスタミン（H_3）	>10
アドレナリン（β_1）	>10	ムスカリン（非選択的）	>10
アドレナリン（β_2）	>10	ニコチン	>10
アドレナリン（β_3）	>10	オピオイド（非選択的）	>10
カンナビノイド（CB_1）	>10	セロトニン（$5HT_{1A}$）	>10
ドパミン（D_1）	>10	セロトニン（$5HT_{2A}$）	>10
γ-アミノ酪酸（$GABA_A$；アゴニスト部位）	>10	セロトニン（$5HT_3$）	>10
γ-アミノ酪酸（$GABA_A$；中枢型ベンゾジアゼピン結合部位）	>10	Ca^{2+}チャネル（L 型，ジヒドロピリジン）	>10
γ-アミノ酪酸（$GABA_B$）	>10	K^+ ATP チャネル（K_{ATP}）	>10
グルタミン酸（非選択的）	>10		

n = 1

表 6　各種酵素に対する JTZ-951 の作用

酵素	IC_{50} 値 (μmol/L)	酵素	IC_{50} 値 (μmol/L)
アセチルコリンエステラーゼ（ACE）	>10	モノアミンオキシダーゼ（MAO-A）	>10
シクロオキシゲナーゼ（COX-1）	>10	モノアミンオキシダーゼ（MAO-B）	>10
一酸化窒素合成酵素（NOS）	>10		

n = 1

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験では，コアバッテリーとして中枢神経系，心血管系及び呼吸系に及ぼすJTZ-951の影響を検討した。いずれもGLP適用試験として，ICHガイドラインに準拠して実施した。なお，心血管系については，フォローアップ試験も実施した（GLP非適用試験）。

2.6.2.4.1 中枢神経系

(1) ラット一般症状及び行動に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-SP-001/[redacted]0521]

（評価資料：CTD4.2.1.3-1）

雄性SD系ラット（1群6匹）を用いて，JTZ-951の一般症状及び行動に及ぼす影響をIrwin変法により評価した。媒体又はJTZ-951（3，10及び30 mg/kg）を単回経口投与し，各個体の一般症状及び行動を観察した。観察ポイントは投与前並びに投与1，2，4，8及び24時間後とした。各観察項目について，対照群とJTZ-951各用量群での発現程度を比較することにより，JTZ-951による影響の有無を評価した。なお，観察は盲検下にて実施した。

JTZ-951はいずれの用量においても，一般症状及び行動に対して影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.2 心血管系

(1) hERG電流（遅延整流性カリウム電流）に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-SP-003/[redacted]0523]

（評価資料：CTD4.2.1.3-2）

hERG導入HEK293細胞（1群5細胞）を用いて，JTZ-951のhERG電流に及ぼす影響をホールセルクランプ法により評価した。JTZ-951の適用濃度は100 μmol/Lを最高濃度とし，以下公比約3として30及び10 μmol/Lを設定した。細胞外液における媒体（DMSO）の最終濃度は0.1%とした。陽性対照であるE-4031は，hERG電流の阻害が認められる0.1 μmol/Lを適用濃度とした。各群における適用前及び適用後のテール電流（ピーク値）を解析し，適用前値に対する相対値を算出した。これらの相対値について，阻害率を対照群の平均相対値をもとに算出した。

E-4031は0.1 μmol/Lの濃度で対照群と比較してhERG電流を92.2%阻害した。一方，JTZ-951はいずれの濃度においても，hERG電流に対して影響を及ぼさなかった。

(2) 無麻酔イヌにおける血圧，心拍数及び心電図に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-SP-002/[redacted]0522]

（評価資料：CTD4.2.1.3-3）

雄性ビーグル犬（4匹）を用いて，無麻酔下におけるJTZ-951の血圧（拡張期血圧，収縮期血圧及び平均血圧），心拍数及び心電図（PQ間隔，QRS群持続時間，QT間隔及びQTc）に及ぼす影響をテレメトリー法により評価した。媒体又はJTZ-951（1，3及び10 mg/kg）を漸増法により6日間の間隔をあけて単回経口投与した。血圧，心拍数及び心電図の解析ポイントは投与前並びに投与1，2，4，8，24及び48時間後とした。血圧，心拍数及び心電図の各パラメータについて，媒体投与時との比較によりJTZ-951による影響の有無を評価した。

JTZ-951 はいずれの用量においても，血圧，心拍数及び心電図に対して影響を及ぼさなかった。

(3) 無麻酔ラットにおける血圧及び心拍数に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-SP-006/[redacted]B951SP04]

（評価資料：CTD4.2.1.3-4）

雄性 SD 系ラット（1 群 6 匹）を用いて，無麻酔下における JTZ-951 の血圧及び心拍数に及ぼす影響を非観血法により評価した。媒体又は JTZ-951（3，10 及び 30 mg/kg）を単回経口投与し，収縮期血圧及び心拍数を測定した。測定ポイントは投与前並びに投与 1，2，4，8 及び 24 時間後とした。収縮期血圧及び心拍数について，対照群と JTZ-951 各用量群とを比較することにより，JTZ-951 による影響の有無を評価した。

JTZ-951 は 3 及び 10 mg/kg の用量では収縮期血圧及び心拍数に対して影響を及ぼさなかった。一方，30 mg/kg の用量では投与 4 及び 8 時間後の収縮期血圧を低下させ，心拍数を増加させた。これらの作用は投与 24 時間後には消失した。

2.6.2.4.3 呼吸系

(1) 無麻酔イヌにおける呼吸数及び換気量に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-SP-002/[redacted]0522]

（評価資料：CTD4.2.1.3-3）

雄性ビーグル犬（4 匹）を用いて，無麻酔下における JTZ-951 の呼吸数，1 回換気量及び分時換気量に及ぼす影響を WBP 法により評価した。媒体又は JTZ-951（1，3 及び 10 mg/kg）を漸増法により 6 日間の間隔をあけて単回経口投与した。呼吸数，1 回換気量及び分時換気量の解析ポイントは投与前並びに投与 1，2，4，8，24 及び 48 時間後とし，媒体投与時との比較により JTZ-951 による影響の有無を評価した。

JTZ-951 はいずれの用量においても呼吸数，1 回換気量及び分時換気量に対して影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.4 その他の試験系

実施せず。

2.6.2.5 代謝物，光学異性体及び不純物の薬理作用

2.6.2.5.1 代謝物の *in vitro* 作用

2.6.2.5.1.1 HIF-PH に対する作用

(1) (R)-M2 のヒト HIF-PH に対する阻害作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-029/[redacted]BHIFVT01-01]

（参考資料：CTD4.2.1.3-5）

ヒトにおける主代謝物である(R)-M2 のヒト HIF-PH に対する阻害作用について検討した。

酵素源として組換えヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 精製酵素を，基質として HIF ペプチド及び α-ケトグルタル酸（酸素とともに水酸基供与体として働く）を用いて，(R)-M2 又は JTZ-951 存在下で酵素反応を行った。

(R)-M2 のヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 に対する IC_{50} 値は，それぞれ 0.027，0.142 及び 0.350 μmol/L であった。また，JTZ-951 のヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 に対する IC_{50} 値は，それぞれ 0.027，0.142 及び 0.279 μmol/L であった（表 7）。

以上より，(R)-M2 はヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 を阻害し，その IC_{50} 値は JTZ-951 とほぼ同等であることが確認された。

表 7　ヒト **HIF-PH** に対する**(R)-M2** 及び **JTZ-951** の阻害作用

酵素	IC_{50} 値（μmol/L）	
	(R)-M2	**JTZ-951**
HIF-PH1	0.027 ± 0.003	0.027 ± 0.002
HIF-PH2	0.142 ± 0.017	0.142 ± 0.020
HIF-PH3	0.350 ± 0.044	0.279 ± 0.020

平均値±標準誤差（n = 3）

2.6.2.5.1.2 EPO 産生に対する作用

(1) ヒト肝臓由来 Hep3B 細胞における EPO 産生に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-030/[redacted]BHIFVT01-02]

（参考資料：CTD4.2.1.3-6）

ヒト肝臓由来 Hep3B 細胞における EPO 産生に対する(R)-M2 の作用を検討した。

Hep3B 細胞に(R)-M2 又は JTZ-951 を添加し，24 時間後における EPO 産生作用を評価した。上記は 21% O_2 条件下で培養し，低酸素培養群は 2% O_2 条件下で 24 時間培養した。

(R)-M2 は，添加濃度に応じた EPO 産生亢進作用を示し，低酸素培養群の EPO 産生を 100%としたときの EC_{50} 値は，100 μmol/L より大きかった。また，JTZ-951 の EC_{50} 値は，5.3 μmol/L であった（表 8）。

以上より，(R)-M2 は EPO 産生を亢進させたが，その作用は JTZ-951 と比較して弱いことが確認された。

表 8　Hep3B 細胞における(R)-M2 及び JTZ-951 の EPO 産生亢進作用

	EC_{50} 値（μmol/L）
(R)-M2	>100
JTZ-951	5.3 ± 0.4

平均値±標準誤差（n＝3）
低酸素培養群の EPO 産生を 100%とした。

2.6.2.6 薬力学的薬物相互作用

実施せず。

2.6.2.7 考察及び結論

JTZ-951 は，ヒト HIF-PH1，HIF-PH2 及び HIF-PH3 に対して阻害作用を示したことから，HIF-PH 阻害剤であることが確認された。

ヒト肝臓由来 Hep3B 細胞において，JTZ-951 は，HIF-1α 及び HIF-2α の発現を添加 1 時間後から，EPO 産生を添加 8 時間後から亢進させた。したがって，Hep3B 細胞において，JTZ-951 は HIF を安定化させることにより EPO 産生を亢進させることが示唆された。

正常ラットに JTZ-951 を単回投与した際の肝臓及び腎臓中 EPO mRNA 量は，1 mg/kg から用量に応じて増加し，投与 4 時間後まで増加した後，投与 24 時間後までに媒体群と同程度まで減少した。また，5/6 腎臓摘出ラットに JTZ-951 を単回投与した際の血漿中 EPO 濃度は，3 mg/kg の用量で有意に上昇し，投与 8 時間後まで上昇した後，投与 24 時間後までに媒体群と同程度まで低下した。これらの結果より，ラットにおいて，JTZ-951 は腎臓のみならず肝臓においても EPO 産生を一過性に亢進させることが示唆された。

腎性貧血モデルである 5/6 腎臓摘出ラットにおいて，JTZ-951 は，1 日 1 回の反復経口投与により，1 mg/kg から用量に応じて Hb 濃度を上昇させた。したがって，ラット腎性貧血モデルにおいて，JTZ-951 は 1 mg/kg の用量から赤血球造血亢進作用を示すことが確認された。

正常ラットにおいて，JTZ-951 は，1 日 1 回の反復経口投与により rHuEPO と同程度に Hb 濃度を上昇させたが，鉄利用の指標である TSAT 及び血清鉄濃度に対して，rHuEPO で認められた低下作用を示さなかった。また，正常ラットにおいて，JTZ-951 は単回経口投与により肝臓中ヘプシジン mRNA 量を有意に減少させたが，rHuEPO は減少させなかった。これらの結果より，JTZ-951 は鉄利用能を低下させることなく赤血球造血亢進作用を示し，その要因として JTZ-951 のヘプシジン産生抑制作用の関与が示唆された。

以上より，JTZ-951 はラット腎性貧血モデルにおいて，1 日 1 回の反復経口投与により，用量に応じた赤血球造血亢進作用を示すことが確認された。JTZ-951 は，HIF-PH 阻害により HIF を安定化させることで，明らかな血中 EPO 濃度の上昇が認められない用量においても腎臓のみならず肝臓からの EPO 産生を亢進させ，肝臓でのヘプシジン産生抑制作用に基づく鉄利用能の亢進と併せて赤血球造血亢進作用を示すと考えられた。

安全性薬理試験において，JTZ-951 は中枢神経系（ラット：3，10 及び 30 mg/kg）及び呼吸系（イヌ：1，3 及び 10 mg/kg）に対して影響を及ぼさなかった。心血管系に対する検討では，JTZ-951 は hERG 電流（10，30 及び 100 μmol/L）及びイヌ（1，3 及び 10 mg/kg）の心電図に対して影響を及ぼさなかった。したがって，JTZ-951 が心室再分極に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。一方，血圧及び心拍数（イヌ：1，3 及び 10 mg/kg，ラット：3，10 及び 30 mg/kg）に対して，JTZ-951 はイヌでは影響を及ぼさなかったが，ラットでは 30 mg/kg の用量で一過性に収縮期血圧を低下させ，心拍数を増加させた。これらの変化はラットを低酸素状態に曝露した際の急性反応と類似しており[1, 2]，JTZ-951 の薬理作用に関連した所見と考えられた。なお，本所見は赤血球造血亢進作用よりも明らかに高い用量で認められた。

腎性貧血は，保存期 CKD，HD，PD いずれの CKD 患者においても，Hb 濃度の低下に見合った量の EPO が産生されないことに起因した貧血であり，貧血の主因が腎障害以外に求められないも

のと定義されている[3]。また，腎性貧血患者における EPO 産生低下以外の要因の一つとして鉄利用障害の関与が想定されており，血中ヘプシジン濃度の上昇が示唆されている[3]。臨床においては，各種 ESA を外因的に補充する治療が行われている。それに対して，JTZ-951 は経口投与により内因的な EPO 産生を腎臓のみならず肝臓でも亢進させ，鉄利用能の亢進も合わせて赤血球造血を促すことで腎性貧血を改善すると考えられる。

したがって，JTZ-951 は EPO を生理的変動内で産生し、既存の ESA と比較して体内の鉄を効率的に利用する，経口投与可能な新規の腎性貧血治療薬となることが期待される。

2.6.2.8 図表

文章中に記載した。

2.6.2.9 参考文献

1. Lopez-Barneo J, Pardal R, Ortega-Sáenz P. Cellular mechanism of oxygen sensing. Annu Rev Physiol. 2001; 63: 259-87.（CTD4.3-14）

2. Marcus NJ, Olson EB Jr, Bird CE, Philippi NR, Morgan BJ. Time-dependent adaptation in the hemodynamic response to hypoxia. Respir Physiol Neurobiol. 2009 Jan 1; 165(1): 90-6.（CTD4.3-15）

3. 社団法人 日本透析医学会. 2015 年版日本透析医学会「慢性腎臓病患者における腎性貧血治療のガイドライン」. 日本透析医学会雑誌. 2016; 49(2): 89-158.（CTD5.4-6）

エナロデュスタット

第 2 部 CTD の概要（サマリー）
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.3 薬理試験の概要表

日本たばこ産業株式会社

目次

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary 3
2.6.3.1 Pharmacology Overview 3
2.6.3.1.1 Pharmacology Overview: JTZ-951 3
2.6.3.1.2 Pharmacology Overview: Metabolite 5
2.6.3.2 Primary Pharmacodynamics 6
2.6.3.3 Secondary Pharmacodynamics 7
2.6.3.4 Safety Pharmacology 8
2.6.3.5 Pharmacological Profiles of Metabolite 9
2.6.3.6 Pharmacodynamic Drug Interactions 9

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary

2.6.3.1 Pharmacology Overview

2.6.3.1.1 Pharmacology Overview: JTZ-951

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Description	GLP [a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics						
In vitro Pharmacodynamics						
Effect on HIF-PH						
Inhibitory Effect on Human HIF-PH	No	Recombinant Human HIF-PH1, HIF-PH2, HIF-PH3	*In Vitro*	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-001/ [redacted]B951EN01	4.2.1.1-1
Effect on EPO Production						
Effect on HIF Protein Levels in Hep3B Cells	No	Human, Hep3B Cells	*In Vitro*	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-003/ [redacted]B951CH01	4.2.1.1-2
Effect on EPO Production in Hep3B Cells	No	Human, Hep3B Cells	*In Vitro*	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-005/ [redacted]B951CE01	4.2.1.1-3
In vivo Pharmacodynamics						
Effect on EPO Production						
Effect on EPO mRNA Levels in Liver and Kidney	No	Rat (M), Crl:CD (SD)	Oral, Single	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-006/ [redacted]B951NM01	4.2.1.1-4
Effect on Plasma EPO	No	Rat (M), Crl:CD (SD), 5/6-Nephrectomized	Oral, Single	Japan Tobacco Inc. [redacted]	JTZ951-PH-013/ [redacted]B951XE01 JTZ951-AD-020/ [redacted]-4581-G	4.2.1.1-5 4.2.1.1-6
Effect on Erythropoiesis						
Effect on Hematopoietic Parameters by Repeated Administration	No	Rat (M), Crl:CD (SD), 5/6-Nephrectomized	Oral, Repeated, 42 Days	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-014/ [redacted]B951XZ01	4.2.1.1-7

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Description	GLP [a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Effect on Iron Utilization						
Effect on Hb Concentration and Iron Parameters by Repeated Administration	No	Rat (M), Crl:CD (SD)	JTZ-951: Oral rHuEPO: Subcutaneous Repeated, 42 Days	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-024/ [redacted]B951RF01	4.2.1.1-8
Effect on Hepcidin mRNA Levels in Liver	No	Rat (M), Crl:CD (SD)	JTZ-951: Oral rHuEPO: Subcutaneous Single	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-023/ [redacted]B951SF01	4.2.1.1-9
Secondary Pharmacodynamics						
Non-Specific Actions to Receptors and Enzymes						
Effect on Various Receptors and Enzymes	No	23 Receptors 5 Enzymes	*In Vitro*	[redacted]	JTZ951-PH-017/ [redacted]-4646-G	4.2.1.2-1
Safety Pharmacology						
Central Nervous System						
General Condition and Behavior	Yes	Rat (M) Crl:CD (SD)	Oral, Single	[redacted]	JTZ951-SP-001/ [redacted]0521	4.2.1.3-1
Cardiovascular System						
hERG Current	Yes	HEK293 Cell Stably Expressing hERG Potassium Channel	*In Vitro*	[redacted]	JTZ951-SP-003/ [redacted]0523	4.2.1.3-2
Blood Pressure, Heart Rate and Electrocardiogram	Yes	Dog (M) Beagle	Oral, Single	[redacted]	JTZ951-SP-002/ [redacted]0522	4.2.1.3-3
Blood Pressure and Heart Rate	No	Rat (M) Crl:CD (SD)	Oral, Single	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-SP-006/ [redacted]B951SP04	4.2.1.3-4

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Description	GLP [a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Respiratory System						
Respiratory Rate, Tidal Volume and Minute Volume	Yes	Dog (M) Beagle	Oral, Single	[redacted]	JTZ951-SP-002/ [redacted]0522	4.2.1.3-3
Pharmacodynamic Drug Interactions						
NA	NA	NA	NA	NA	NA	

[a] An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.
M: Male
NA: Not applicable

2.6.3.1.2 Pharmacology Overview: Metabolite

Test Article: Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2]

Type of Study/Description	GLP [a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics						
In vitro Pharmacodynamics						
Effect on HIF-PH						
Inhibitory Effect on Human HIF-PH	No	Recombinant Human HIF-PH1, HIF-PH2, HIF-PH3	*In Vitro*	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-029/ [redacted]BHIFVT01-01	4.2.1.3-5
Effect on EPO Production						
Effect on EPO Production in Hep3B Cells	No	Human, Hep3B Cells	*In Vitro*	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-030/ [redacted]BHIFVT01-02	4.2.1.3-6

[a] An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

2.6.3.2 Primary Pharmacodynamics

Test Article: JTZ-951

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Dose or Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Finding	Report/Study Number	Location in CTD
In vitro Pharmacodynamics							
Effect on HIF-PH							
Inhibitory Effect on Human HIF-PH	Recombinant Human HIF-PH1, HIF-PH2, HIF-PH3	*In Vitro*	HIF-PH1: 0.006, 0.012,0.024 μmol/L HIF-PH2: 0.035, 0.07, 0.14 μmol/L HIF-PH3: 0.08, 0.16, 0.32 μmol/L	-- (3 trials)	Competitive Inhibition to 2-Oxoglutarate (Ki; μmol/L) HIF-PH1: 0.016 ± 0.003 HIF-PH2: 0.061 ± 0.004 HIF-PH3: 0.101 ± 0.004	JTZ951-PH-001/ [redacted]B951EN01	4.2.1.1-1
Effect on EPO Production							
Effect on HIF Protein Levels in Hep3B Cells	Human, Hep3B Cells	*In Vitro*	10 μmol/L	-- (1 trial)	Increasing Effect on HIF-1α and HIF-2α	JTZ951-PH-003/ [redacted]B951CH01	4.2.1.1-2
Effect on EPO Production in Hep3B Cells	Human, Hep3B Cells	*In Vitro*	10 μmol/L 0.1, 0.3, 1, 3, 10 μmol/L	-- (1 trial) -- (3 trials)	Time Proportional Increase Concentration Proportional Increase (EC_{50}, μmol/L) 4.7 ± 0.4	JTZ951-PH-005/ [redacted]B951CE01	4.2.1.1-3
In vivo Pharmacodynamics							
Effect on EPO Production							
Effect on EPO mRNA Levels in Liver and Kidney	Rat, Crl:CD (SD)	Oral, Single	0.3, 1, 3 mg/kg	M: 6	Significant Increase at 1 and 3 mg/kg	JTZ951-PH-006/ [redacted]B951NM01	4.2.1.1-4
Effect on Plasma EPO	Rat, Crl:CD (SD), 5/6-Nephrectomy	Oral, Single	0.3, 1, 3 mg/kg	M: 6	Significant Increase at 3 mg/kg	JTZ951-PH-013/ [redacted]B951XE01 JTZ951-AD-020/ [redacted]-4581-G	4.2.1.1-5 4.2.1.1-6

Test Article: JTZ-951

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Dose or Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Finding	Report/Study Number	Location in CTD
Effect on Erythropoiesis							
Effect on Hematopoietic Parameters by Repeated Administration	Rat, Crl:CD (SD), 5/6-Nephrectomy	Oral, Repeated, 42 Days	0.3, 1, 3 mg/kg	M: 10-12	Significant Increasing Effect on Hb Concentration at 1 and 3 mg/kg	JTZ951-PH-014/ [redacted]B951XZ01	4.2.1.1-7
Effect on Iron Utilization							
Effect on Hb Concentration and Iron Parameters by Repeated Administration	Rat, Crl:CD (SD)	JTZ-951: Oral rHuEPO: Subcutaneous Repeated, 42 Days	JTZ-951: 3 mg/kg rHuEPO: 50 IU/kg	M: 9	JTZ-951: Increasing Effect on Hb Concentration without Decrease in TSAT rHuEPO: Increasing Effect on Hb Concentration with Decrease in TSAT	JTZ951-PH-024/ [redacted]B951RF01	4.2.1.1-8
Effect on Hepcidin mRNA Levels in Liver	Rat, Crl:CD (SD)	JTZ-951: Oral rHuEPO: Subcutaneous Single	JTZ-951: 3 mg/kg rHuEPO: 50 IU/kg	M: 9	JTZ-951: Significant Decreasing Effect on Liver Hepcidin mRNA rHuEPO: No Decreasing Effect	JTZ951-PH-023/ [redacted]B951SF01	4.2.1.1-9

M: Male

2.6.3.3 Secondary Pharmacodynamics

Test Article: JTZ-951

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Dose or Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Finding	Report/Study Number	Location in CTD
Non-Specific Actions to Receptors and Enzymes							
Effect on Various Receptors and Enzymes	23 Receptors 5 Enzymes	*In Vitro*	10 µmol/L	-- (1 trial)	No Effect	JTZ951-PH-017/ [redacted]-4646-G	4.2.1.2-1

2.6.3.4 Safety Pharmacology

Test Article: JTZ-951

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations [a]	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [a]	Report/Study Number	Location in CTD
Central Nervous System								
General Condition and Behavior	Rat Crl:CD (SD)	Oral, Single	3, 10, 30 mg/kg	M: 6	No Effect	Yes	JTZ951-SP-001/ [redacted]0521	4.2.1.3-1
Cardiovascular System								
hERG Current	HEK293 Cell Stably Expressing hERG Potassium Channel	*In Vitro*	10, 30, 100 µmol/L	NA 5 cells/group	No Effect	Yes	JTZ951-SP-003/ [redacted]0523	4.2.1.3-2
Blood Pressure, Heart Rate and Electrocardiogram	Dog Beagle	Oral, Single	1, 3, 10 mg/kg	M: 4	No Effect	Yes	JTZ951-SP-002/ [redacted]0522	4.2.1.3-3
Blood Pressure and Heart Rate	Rat Crl:CD (SD)	Oral, Single	3, 10, 30 mg/kg	M: 6	3, 10 mg/kg: No Effect 30 mg/kg: Transient Decrease in Systolic Blood Pressure and Transient Increase in Heart Rate	No	JTZ951-SP-006/ [redacted]B951SP04	4.2.1.3-4
Respiratory System								
Respiratory Rate, Tidal Volume and Minute Volume	Dog Beagle	Oral, Single	1, 3, 10 mg/kg	M: 4	No Effect	Yes	JTZ951-SP-002/ [redacted]0522	4.2.1.3-3

[a] An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.
M: Male
NA: Not applicable

2.6.3.5 Pharmacological Profiles of Metabolite

Test Article: Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2]

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Dose or Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Finding	Report/Study Number	Location in CTD
In vitro Pharmacodynamics							
Effect on HIF-PH							
Inhibitory Effect on Human HIF-PH	Recombinant Human HIF-PH1, HIF-PH2, HIF-PH3	*In Vitro*	0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 μmol/L ((R)-M2)	-- (3 trials)	(IC_{50}, μmol/L) HIF-PH1: 0.027 ± 0.003 HIF-PH2: 0.142 ± 0.017 HIF-PH3: 0.350 ± 0.044	JTZ951-PH-029/ [redacted]BHIFVT01-01	4.2.1.3-5
Effect on EPO Production							
Effect on EPO Production in Hep3B Cells	Human, Hep3B Cells	*In Vitro*	1, 3, 10, 30, 100, 300 μmol/L ((R)-M2)	-- (3 trials)	(EC_{50}, μmol/L) >100	JTZ951-PH-030/ [redacted]BHIFVT01-02	4.2.1.3-6

2.6.3.6 Pharmacodynamic Drug Interactions

Not applicable.