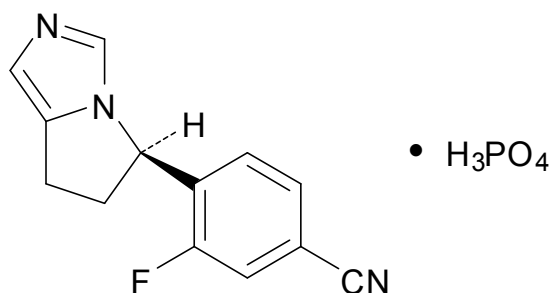


2.6.1 緒言

1 緒言

オシロドロスタット (LCI699, Figure 1-1) はコルチゾール生合成の最終段階を触媒する CYP11B1 (11β-水酸化酵素) の強力な阻害剤である。ヒト副腎皮質において、CYP11B1 は 11-デオキシコルチゾールからコルチゾールへの変換を触媒する。LCI699 は CYP11B1 の酵素活性を阻害することによりコルチゾール生合成を抑制すると考えられる。クッシング症候群はその原因から副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 依存性／非依存性に大別されるが、いずれの病型においても ACTH による刺激若しくは副腎皮質の機能亢進により、コルチゾールが過剰に分泌され、高コルチゾール血症をきたす。LCI699 は CYP11B1 阻害作用を介して、コルチゾール生合成を抑制し、高コルチゾール血症を是正することでクッシング症候群に対し治療効果を示すと期待される。

Figure 1-1 オシロドロスタット (LCI699) の構造式



化学名：4-[(5*R*)-6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*c*]imidazol-5-yl]-3-fluorobenzonitrile monophosphate

分子式：C₁₃H₁₀FN₃ • H₃PO₄

分子量：325.23 (リン酸塩)

本薬は一つの不斉中心を持ち、*R*-エナンチオマーの単一異性体である

本剤はフィルムコーティング錠であり、オシロドロスタットとして 1 mg 及び 5 mg を含有する 2 製剤を市販予定製剤として、以下の内容にて本承認申請を行う。

【申請品目】 イスツリサ錠 1 mg, 同 5 mg

【一般名】 オシロドロスタットリン酸塩

【効能又は効果】 クッシング症候群

【用法及び用量】 通常、成人にはオシロドロスタットとして 1 回 2 mg を 1 日 2 回経口投与から開始する。なお、患者の状態に応じて適宜増減するが、最高用量は 1 回 30 mg を 1 日 2 回までとする。

なお、【効能又は効果】及び【用法及び用量】は、承認審査過程における医薬品医療機器総合機構との協議を踏まえ、以下のとおりに変更した。

【効能又は効果】 クッシング症候群（外科的処置で効果が不十分又は施行が困難な場合）

【用法及び用量】通常，成人にはオシロドロスタットとして 1 回 1 mg を 1 日 2 回経口投与から開始するが，開始用量は患者の状態に応じて適宜減量する。その後は，患者の状態に応じて適宜増減するが，最高用量は 1 回 30 mg を 1 日 2 回とする。

2.6.2 薬理試験の概要文

目 次

目 次	2
表 一 覧	3
図 一 覧	3
略号一覧	4
1 ま と め	5
2 効力を裏付ける試験	5
2.1 CYP11B1 及び CYP11B2 に対する <i>in vitro</i> 阻害活性	5
2.2 <i>In vivo</i> 薬理活性	8
2.2.1 ラットを用いた Ang II 及び ATCH 負荷試験	8
2.2.2 サルを用いた ACTH 負荷試験	9
3 副次的薬理試験	11
3.1 CYP11B2 に対する作用	11
3.1.1 <i>In vitro</i> 薬理試験	11
3.1.2 <i>In vivo</i> 薬理試験	11
3.2 アロマターゼに対する作用	12
3.3 LCI699 主代謝物の <i>in vitro</i> 酵素阻害活性	13
4 安全性薬理試験	14
4.1 オフターゲットに関する安全性薬理試験	16
4.2 心血管系に関する安全性薬理試験	16
4.2.1 HEK293 細胞を用いた hERG 電流に及ぼす影響に関する試験	16
4.2.2 HEK293 細胞を用いた hERG チャネルの相対表面発現量に及ぼす影響 に関する試験	16
4.2.3 哺乳類細胞を用いた各種イオンチャネルの電流に及ぼす影響に関する 試験	17
4.2.4 ウサギ摘出心臓を用いた活動電位に関する試験	17
4.2.5 ウサギ摘出心室切片標本を用いた QRS 間隔, QT 間隔及び Tp-e 間隔 に関する試験	17
4.2.6 イヌを用いた心血管系に関する試験	18
4.2.7 イヌを用いた心血管系に関する試験	18
4.2.8 カニクイザルを用いた単回投与による心血管系に関する試験	18
4.2.9 カニクイザルを用いた反復投与による心血管系に関する試験	19
4.2.10 カニクイザルを用いた LCI699 及び SOM230 単独又は併用投与による 心血管系に関する試験	19
4.2.11 カニクイザルを用いた LCI699 及び SOM230 単独又は併用投与による 心血管系に関する試験	20
4.3 中枢神経系に関する安全性薬理試験	20

4.3.1	ラットを用いた中枢神経系に関する試験	20
4.4	呼吸系に関する安全性薬理試験	21
4.4.1	ラットを用いた呼吸系に関する試験	21
5	薬力学的薬物相互作用試験	21
6	考察及び結論	21
7	参考文献	23

表 一 覧

Table 2-1	LCI699 の CYP11B1 及び CYP11B2 に対する酵素阻害活性（ヒト，ラット及びサル）	7
Table 4-1	<i>In vitro</i> 安全性薬理試験の要約	15
Table 4-2	<i>In vivo</i> 安全性薬理試験の要約	15

図 一 覧

Figure 2-1	コルチゾール及びアルドステロンの生合成経路と LCI699 の作用部位	6
Figure 2-2	LCI699 のコルチゾール／コルチコステロン及びアルドステロン合成抑制作用（Ang II / ACTH 負荷試験，ラット及びサル）	10

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ACTH	adrenocorticotrophic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
Ang II	angiotensin II	アンジオテンシン II
APD60	action potential duration 60	60%再分極するまでの活動電位持続時間
AUC0-t	area under the drug plasma (serum/blood) concentration-time curve (time 0 to t)	血漿（血清/血液）中薬物濃度-時間曲線下面積（時間 0～t）
Cmax	maximal drug plasma (serum / blood) concentration	最高血漿（血清／血液）中薬物濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CHO cells	Chinese hamster ovary cells	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
dTG	double transgenic	ダブルトランスジェニック
EC50	half maximal (50%) effective concentration	50%有効濃度
ED50	half maximal (50%) effective dose	50%有効量
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
GPCR	G protein-coupled receptor	G 蛋白質共役受容体
hERG	human Ether-à-go-go related gene	ヒト Ether-à-go-go 関連遺伝子
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use	医薬品規制調和国際会議
IC50	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
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
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NSVT	Non-sustained ventricular tachycardia	非持続性心室頻拍
PAC	plasma aldosterone concentration	血漿中アルドステロン濃度
PD	pharmacodynamics	薬力学
PK	pharmacokinetics	薬物動態（学）
PR	PR interval	PR 間隔
PVC	premature ventricular complex	心室性期外収縮
QRS	QRS interval	QRS 間隔
QT	QT interval	QT 間隔
QTc	QTc interval corrected for heart rate	心拍数補正 QT 間隔
RIA	radioimmunoassay	ラジオイムノアッセイ
RR	RR interval	RR 間隔
RSE	relative surface expression	相対表面発現量
SPA	scintillation proximity assay	シンチレーション近接アッセイ
TdP	torsades de pointes	トルサード ド ポワント
Tp-e	Tp-e interval	Tp-e 間隔

1 まとめ

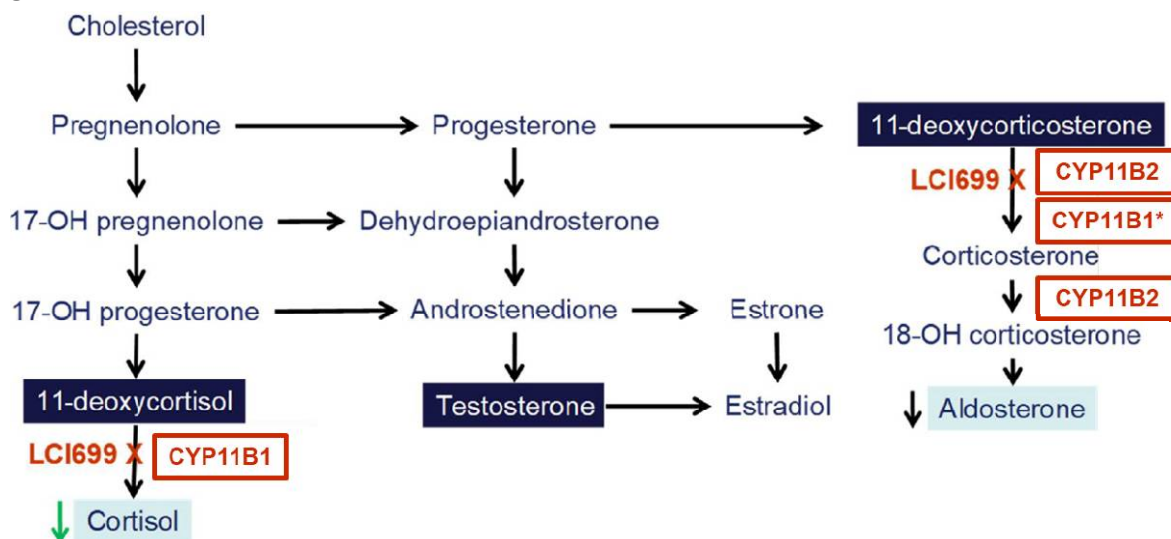
オシロドロスタット (LCI699) は、CYP11B1 (11 β -水酸化酵素) の阻害剤であり、クッシング症候群の適応取得を目的として開発が進められた。ヒト副腎皮質でのグルココルチコイド合成において、CYP11B1 は 11-デオキシコルチゾールからコルチゾールへの変換を触媒する。LCI699 は CYP11B1 と相同性の高い CYP11B2 (アルドステロン合成酵素) に対して阻害作用を有し、コルチコステロンからアルドステロンへの変換を阻害する。そのため、LCI699 はアルドステロン合成を抑制することが考えられ、当初、高血圧及び高アルドステロン症の治療薬として開発された。一連の非臨床薬理試験成績から、LCI699 の CYP11B1 阻害作用は動物種によって異なることが示唆され、その効力はヒトにおいて最も強く、ラット並びにサルに対しては弱いことが示唆された。このことから、本薬の非臨床薬理試験は限られたものしか実施していない。

LCI699 の効力を裏付ける試験として、ヒト CYP11B1 及びヒト CYP11B2 に対する LCI699 の *in vitro* 阻害活性、並びにラット及びサルでのコルチコステロン/コルチゾール合成及びアルドステロン合成に対する LCI699 の *in vivo* 抑制作用を検討した。副次的薬理試験として、LCI699 の CYP11B2 及びアルドステロン合成に対する抑制作用を検討し、高血圧モデルラットに対する治療効果を公表文献に基づいて評価した他、LCI699 のアロマターゼ酵素活性に対する影響並びに LCI699 主要代謝物の酵素活性阻害作用について検討した。安全性薬理試験として、オフターゲット、心血管系、呼吸系及び中枢神経系 (CNS) に関する試験を行った。以下に、それぞれの試験の詳細を示す。

2 効力を裏付ける試験

2.1 CYP11B1 及び CYP11B2 に対する *in vitro* 阻害活性

副腎において CYP11B1 はコルチゾール合成の最終段階を触媒する (Figure 2-1)。CYP11B1 と CYP11B2 の相同性は高く、ヒトではこれらの核酸配列の翻訳領域は 95%一致しており、蛋白質のアミノ酸配列は 93%一致している (Mornet et al. 1989)。LCI699 は CYP11B2 に対しても阻害作用を示すことから、実施した試験では CYP11B1 に加え CYP11B2 に対する阻害作用も併せて検討した。

Figure 2-1 コルチゾール及びアルドステロンの生合成経路と LCI699 の作用部位

CYP11B1 (11 β -水酸化酵素) 及び CYP11B2 (アルドステロン合成酵素) はミトコンドリア内に特異的に局在する酵素である。CYP11B1 は副腎皮質束状層に存在し、コルチゾールへの変換を触媒する。CYP11B2 は副腎皮質球状層に存在し、アルドステロンへの変換を触媒する。CYP11B1 並びに CYP11B2 は核酸配列及びアミノ酸配列の相同性が高い。

* げっ歯類 (ラット及びマウス等) の副腎ではコルチゾール前駆体 (17-OH プレグネノロン及び 17-OH プロゲステロン) 生合成を触媒する CYP17 α 活性が低い (Ahmed et al. 2019)。これらの動物種ではグルココルチコイドとしてコルチコステロンが最終生成物であり、CYP11B1 の触媒により 11-デオキシコルチコステロンからコルチコステロンが生成する。そのため、ヒトではコルチゾールが主なグルココルチコイドであるが、マウスやラットではコルチゾールは合成されないためコルチコステロンが唯一のグルココルチコイドである。

LCI699 は CYP11B1 及び CYP11B2 を阻害することで、コルチゾール (ラットにおいてはコルチコステロン) 及びアルドステロン生合成を抑制する。

遺伝子組換えヒト CYP11B1 及び CYP11B2 に対する酵素阻害活性

【方法】 遺伝子組換えヒト CYP11B1 を過剰発現するチャイニーズハムスター肺細胞株 V79-4 細胞を用いて、LCI699 のヒト CYP11B1 に対する阻害活性を検討した。超音波破碎法により得た上清に、基質として 11-デオキシコルチゾールを添加し、電子供与体である還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸 (NADPH) を共に加え、25°C で 4 時間インキュベーションした。上清を回収し、合成されたコルチゾールをシンチレーション近接アッセイ (SPA) により定量し、非線形最小二乗法により 50%阻害濃度 (IC₅₀) 値を算出した [Table 2.6.3.1-RD-2007-51927]。LCI699 の遺伝子組換えヒト CYP11B2 に対する阻害作用の検討も同様に行い、基質として 11-デオキシコルチコステロンを用い、合成されたアルドステロンを定量し IC₅₀ 値を算出した [Table 2.6.3.1-RD-2009-50223]。

【結果】 LCI699 は遺伝子組換えヒト CYP11B1 及び CYP11B2 の酵素活性を用量依存的に阻害し、IC₅₀ 値はそれぞれ 2.5 ± 0.1 nM [平均値 $\pm$ 標準誤差 (以下同様)] (n=4) 及び 0.7 ± 0.01 nM (n=6) であった (Table 2-1) (Menard et al. 2014)。

遺伝子組換えラット CYP11B1 及び CYP11B2, ラット及びサル副腎ホモジネートにおける酵素阻害活性

【方法】 遺伝子組換えヒト酵素の検討と同様に、V79-4 細胞から得た遺伝子組換えラット CYP11B1 並びに CYP11B2, 及びラット並びにサル副腎ホモジネートを用いて、LCI699 の酵素阻害活性を検討した。ラット／サル副腎ホモジネートの検討では、雄性 Sprague-Dawley ラット及び雌カニクイザルの副腎からホモジネートを調製し、基質として 11-デオキシコルチコステロンを用いた (Menard et al. 2014)。

【結果】 ラット CYP11B1 並びに CYP11B2 に対する LCI699 の阻害活性はヒトに比べ低く、その IC₅₀ 値は遺伝子組換え酵素ではそれぞれ 410 ± 5 nM (n = 3) 及び 160 ± 9 nM (n = 3), 並びに副腎ホモジネートではそれぞれ 3045 nM (n = 2) 及び 802 nM (n = 2) であった。サル副腎ホモジネートでの LCI699 の CYP11B1 及び CYP11B2 阻害活性の IC₅₀ 値はそれぞれ 62 ± 5 nM 及び 12 ± 1 nM (いずれも n = 6) であり、ラットと比較して、その阻害活性は高かった (Table 2-1)。

Table 2-1 LCI699 の CYP11B1 及び CYP11B2 に対する酵素阻害活性 (ヒト, ラット及びサル)

酵素種	CYP11B1 (11 β -水酸化酵素) IC ₅₀ 値 (nM)	CYP11B2 (アルドステロン合成酵素) IC ₅₀ 値 (nM)
遺伝子組換えヒト酵素	2.5 ± 0.1 (4)	0.7 ± 0.01 (6)
遺伝子組換えラット酵素	410 ± 5 (3)	160 ± 9 (3)
ラット副腎ホモジネート	3045 (2)	802 (2)
サル副腎ホモジネート	62 ± 5 (6)	12 ± 1 (6)

Source : Menard et al. 2014

平均値 $\pm$ 標準誤差 (n)。ラット副腎ホモジネートの検討は平均値のみを示した。

ヒト副腎皮質由来細胞におけるコルチゾール合成抑制作用

【方法】 ヒト副腎皮質癌由来細胞株 HAC15 細胞及び初代培養ヒト副腎皮質腺腫細胞における LCI699 のコルチゾール合成抑制作用を検討した (Creemers et al. 2019)。HAC15 細胞及び初代培養ヒト副腎皮質腺腫細胞に LCI699 (培養液中の最終濃度 0.01~5 μ M) を添加し 3 日間培養後、培養液中のコルチゾール濃度を免疫化学発光システム (Immulite 2000 Xpi, Siemens 社) を用いて免疫学的測定法により測定した。なお、HAC15 細胞の検討は 1 回あたり n = 4 の実験を少なくとも 2 回繰り返して行い、初代培養ヒト副腎皮質腺腫細胞の検討は n = 7 にて行い、結果を得た。

【結果】 HAC15 細胞及び初代培養ヒト副腎皮質腺腫細胞で、LCI699 はコルチゾール合成を用量依存的に抑制し、IC₅₀ 値はそれぞれ 34.7 nM (95%信頼区間, 29.4~41.0 nM) 及び 104 nM (95%信頼区間, 71.6~151 nM) であった。

以上より、LCI699 はヒト CYP11B1 及び CYP11B2 の酵素活性を強力に阻害した。遺伝子組換え CYP11B1 を用いた検討から、LCI699 の CYP11B1 阻害活性はラットに比べヒトにおいて顕著であり（ヒト CYP11B1 阻害活性はラットの 164 倍高い）、また、副腎ホモジネートを用いた検討から、ラットに比べサルにおいて高かった（サル CYP11B1 阻害作用はラットの 49 倍高い）。このことから、LCI699 の CYP11B1 阻害活性はヒトにおいて最も高く、次いでサル、ラットの順に効力を示すと考えられた。また、ヒト由来の副腎皮質癌由来細胞株並びに初代培養ヒト副腎皮質腺腫細胞において LCI699 はコルチゾール合成を抑制することが確認された。

2.2 *In vivo* 薬理活性

LCI699 はコルチゾール生合成の最終段階を触媒する CYP11B1 並びにアルドステロン生合成を触媒する CYP11B2 を阻害することから、コルチゾール（げっ歯類においてはコルチコステロン）及びアルドステロンの血中濃度を測定することにより、その阻害作用を評価できる。副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）並びにアンジオテンシン II（Ang II）は副腎刺激作用を有し、投与後速やかにコルチゾール及びアルドステロン生合成を誘導することから、これらの負荷試験が副腎機能の評価に用いられている。ラット及びサルを用いて ACTH 並びに Ang II 負荷試験を実施し、コルチコステロン／コルチゾール並びにアルドステロン生合成に対する LCI699 の阻害作用を検討し、用量-反応及び PK / PD の相関性を評価した。

2.2.1 ラットを用いた Ang II 及び ACTH 負荷試験

Ang II 負荷試験

【方法】大腿動脈及び静脈にカテーテルを留置した雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、Ang II 負荷試験を行った[Table 2.6.3.1-RD-2006-50315]、（Menard et al. 2014）。LCI699 を単回投与（経口：0.1, 0.3, 1, 又は 3 mg/kg, 動脈内：0.3 mg/kg, 各群 n=3）し、Ang II は LCI699 投与 1 時間前より投与後 8 時間まで静脈内持続投与した（300 ng/kg を投与後、100 ng/kg/分で持続投与）。ベースライン（LCI699 投与直前）及び投与後 5 分（動脈内投与群のみ）、15 分、30 分、1 時間より 8 時間まで 1 時間毎、及び 24 時間（薬物動態のみ）に採血を行い、血漿中アルドステロン濃度（PAC）をラジオイムノアッセイ（RIA）法で、血漿中 LCI699 濃度を液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析（LC-MS/MS）法で測定した。PAC について時間加重平均値（8 時間値）を求め、その変化についてベースラインと比較し、用量-反応及び PK / PD 相関を評価した。

【結果】PAC は Ang II 負荷開始後から LCI699 投与直前まで上昇した。LCI699 の PAC 低下作用は投与開始 5 分後から認められ、作用は概ね 8 時間まで持続していた。作用は用量依存的であり、高用量を経口投与した群（1 mg/kg 及び 3 mg/kg）において最大効果（ベースラインから 80% 低下）が投与開始 2 時間以降に認められた。用量-反応（Figure 2-2, A）及び PK / PD（Figure 2-2, B）相関の解析から、PAC 低下作用に対する LCI699 の 50%有効量（ED50）値は 0.6 mg/kg で

50%有効濃度 (EC50) 値は 127 nM であった。なお、この EC50 値は、*in vitro* における遺伝子組換えラット CYP11B2 阻害作用の IC50 値 (160 nM) と同程度であった (Table 2-1)。

ACTH 負荷試験

【方法】 上述と同様の方法にて ACTH 負荷試験を行った。ラットに LCI699 を単回経口投与 (1, 3, 10, 30, 又は 100 mg/kg, 各群 n=3) し、ACTH は LCI699 投与 1 時間前より投与後 8 時間まで静脈内持続投与し (100 ng/kg を投与後、30 ng/kg/分で持続投与)、PAC 及び血漿中コルチコステロン濃度の上昇に対する LCI699 の作用を検討した (Menard et al. 2014)。

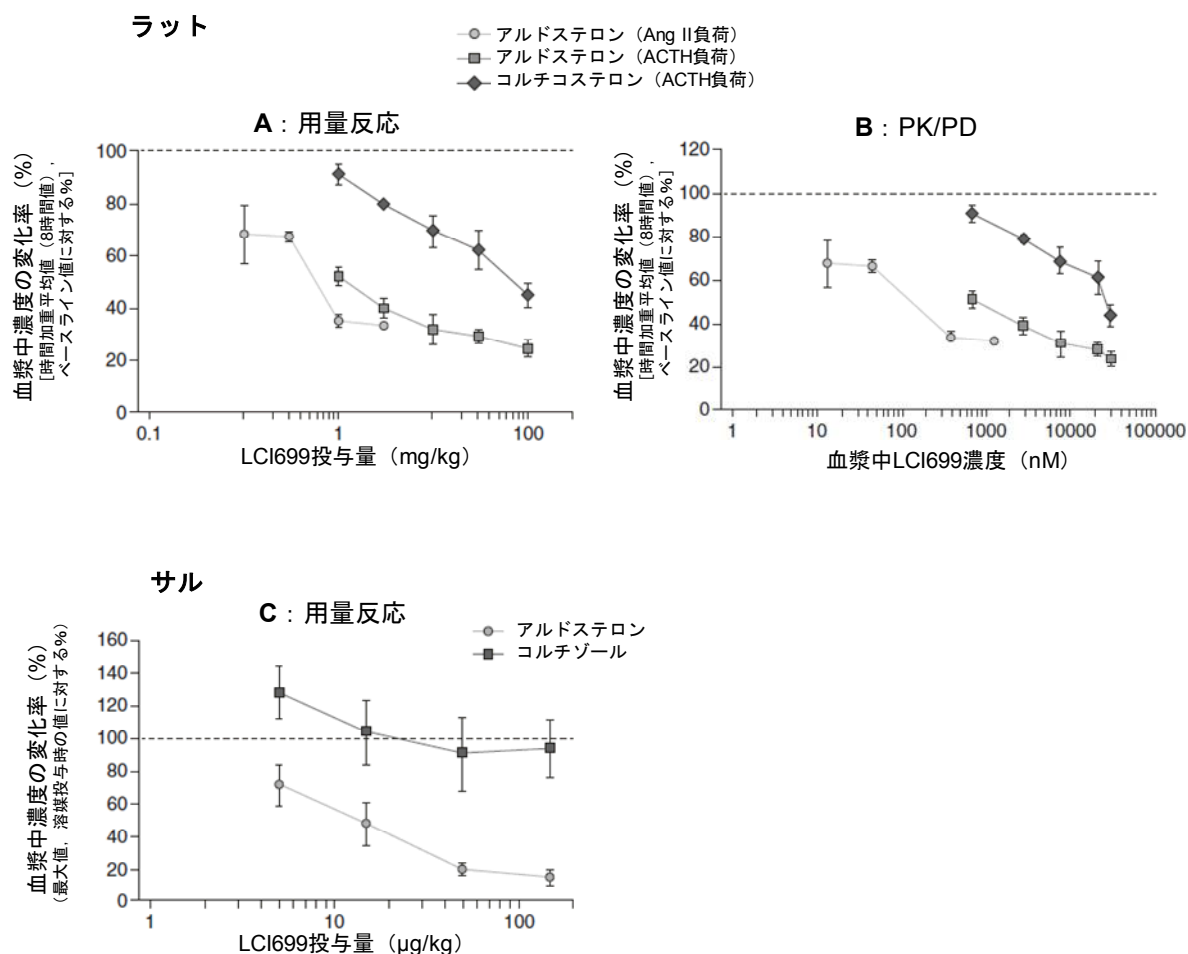
【結果】 LCI699 は ACTH 負荷により上昇した PAC 並びに血漿中コルチコステロン濃度を低下させ、LCI699 のアルドステロン及びコルチコステロンに対する合成抑制作用の ED50 値 (EC50 値) は、それぞれ 1.1 mg/kg (771 nM) 及び 73 mg/kg (36 µM) であった (Figure 2-2, A 及び B)。

2.2.2 サルを用いた ACTH 負荷試験

【方法】 大腿静脈カテーテルと接続させた皮下埋め込み型ポートを留置した雄性カニクイザル (n=6) にクロスオーバー法にて ACTH 負荷試験を行った [Table 2.6.3.1-RD-2010-50210] (Menard et al. 2014)。LCI699 (5, 15, 50, 及び 150 µg/kg, 各群 n=5) 又は溶媒 (水, n=6) を経口又は経鼻胃内投与し、投与 3 時間後に ACTH 3000 ng/kg をポートを介して約 2 分間かけて注入した。採血も同様にポートを介して行い、既定の測定ポイント [LCI699 投与の 30 分及び 15 分前、投与直前 (ベースライン)、投与後 15 分、30 分から 3 時間まで 30 分毎、並びに ACTH 注入後 7.5 分、15 分から 1 時間後まで 15 分毎、及び 1.5, 2, 3, 4, 5, 20.5, 並びに 21 時間] にて実施し、PAC 及び血漿中コルチゾール濃度を RIA 法で測定した。血漿中 LCI699 濃度は規定の測定ポイント [投与直前 (ベースライン)、LCI699 投与後 15 分、30 分、1, 2, 3, 4, 6, 8, 及び 24 時間] にて LC-MS/MS 法を用いて測定した。LCI699 を投与したときの PAC 及び血漿中コルチゾール濃度最大値について溶媒投与時と比較し、用量-反応の相関性を評価した。

【結果】 血漿中 LCI699 濃度は経口投与後 1 時間までに最大値に達し、その後緩やかに減衰した。なお、5 µg/kg 群の血漿中 LCI699 濃度は検出限界以下であった。溶媒を投与したとき PAC 及び血漿中コルチゾール濃度は ACTH 負荷により速やかに上昇した。LCI699 は PAC の上昇を用量依存的に抑制し、最大抑制効果 (溶媒投与時と比較して PAC 最大値を 90%抑制) が 150 µg/kg 群で認められ、ED50 値は 13 µg/kg と推定された (Figure 2-2, C)。しかしながら、LCI699 は血漿中コルチゾール濃度に対してはいずれの用量 (5~150 µg/kg) においても抑制作用を示さなかった (Figure 2-2, C)。

Figure 2-2 LCI699 のコルチゾール／コルチコステロン及びアルドステロン合成抑制作用 (Ang II / ACTH 負荷試験, ラット及びサル)



Source : [Table 2.6.3.1-RD-2007-51901], [Table 2.6.3.1-RD-2010-50210], Menard et al. 2014

ACTH 並びに Ang II 負荷により誘導されるコルチコステロン (ラット) /コルチゾール (サル) 及びアルドステロン合成に対する LCI699 の抑制作用を検討した。LCI699 を経口, 経鼻胃内, 又は動脈内投与したときの血漿中 LCI699 濃度及び各ステロイドの血漿中濃度を測定し, 用量-反応又は PK / PD の相関性を評価した。

(A, B) ラット Ang II / ACTH 負荷試験 : (A) 用量反応, (B) PK / PD の相関性。縦軸は LCI699 を投与したときの血漿中アルドステロン又はコルチコステロン濃度時間加重平均値 (8 時間値) のベースライン値に対する百分率, 横軸は (A) LCI699 投与量, (B) 血漿中 LCI699 濃度を示す。

(C) サル ACTH 負荷試験 : 用量反応の相関性。縦軸は LCI699 を投与したときの血漿中アルドステロン又はコルチゾール濃度最大値の溶媒投与時に得られた最大値に対する百分率, 横軸は LCI699 投与量を示す。

平均値 ± 標準誤差, グラフは n = 3 の結果を示す。

ACTH : 副腎皮質刺激ホルモン ; Ang II : アンジオテンシン II

カニクイザルを用いた同様の検討結果が報告されており (Weldon et al. 2016) , LCI699 (0.003 ~10 mg/kg, 経口又は静脈内投与) を投与し, 血漿中における LCI699 濃度とアルドステロン及びコルチゾール濃度との相関を評価した結果, LCI699 のアルドステロン合成抑制作用はコルチゾール合成抑制作用に比べ約 300 倍強かった (アルドステロン合成抑制作用の EC50 値 : 4.9 nM, コルチゾール合成抑制作用の EC50 値 : 1500 nM) 。また, LCI699 のコルチゾール合成抑制作用は, アルドステロン合成抑制作用に対し最大効果を示す用量を投与しても認められなかった。

以上, LCI699 はラット又はサルにおいて Ang II 負荷又は ACTH 負荷による血漿中アルドステロン濃度の上昇を用量依存的に抑制した。一方, 血漿中コルチコステロン/コルチゾール濃度に対しては LCI699 の抑制作用は弱い, 若しくは全く認められなかった。このことから, LCI699 のコルチコステロン/コルチゾール生合成に対する抑制作用は動物種によって異なることが示唆された。

3 副次的薬理試験

3.1 CYP11B2 に対する作用

LCI699 の CYP11B2 に対する阻害活性及びアルドステロン生合成に対する抑制作用を検討した。

3.1.1 *In vitro* 薬理試験

V79-4 細胞より得た遺伝子組換えヒト CYP11B2 に対し LCI699 は酵素活性を用量依存的に阻害し, IC50 値は 0.7 ± 0.01 nM (n = 6) であった[Table 2.6.3.1-RD-2009-50223] (Table 2-1) 。

LCI699 はヒト副腎皮質癌由来細胞株 (NCI-H295R) において Ang II 負荷 (培地濃度 1 μ M) により誘導されたアルドステロン合成を用量依存的に抑制し, IC50 値は 17 ± 2 nM (n = 6) であった[Table 2.6.3.1-RD-2005-51167]。

3.1.2 *In vivo* 薬理試験

ヒトレニン又はヒトアンジオテンシノーゲンを遺伝子導入したラットから作製した高血圧モデルラット (レニン-アンジオテンシノーゲンダブルトランスジェニックラット, 以下 dTG ラット) (Bohlender et al. 1997) を用いて LCI699 のアルドステロン合成抑制作用, 生存期間並びに心腎保護作用に対する影響を検討した (Menard et al. 2014) 。本 dTG ラットはレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系の亢進によりアルドステロンが過剰分泌され重症高血圧を発症する。左心室肥大を伴う心機能障害及び腎機能障害が急速に進行し, 生後早期 (平均で 2 ヶ月以内) に死亡に至ることが知られている。

高血圧モデルラットにおける LCI699 の生存期間延長作用

【方法】 LCI699 の生存期間延長作用について、心腎障害発症前の若齢 dTG ラットを用いて検討した。LCI699 を 3, 10, 30, 及び 100 mg/kg/日の用量で 3 週齢から 8 週齢まで飲水投与し、 Kaplan-Meier 法により生存期間の解析を行った。

【結果】 LCI699 非投与の対照群では 8.4 週齢までに 9 割の dTG ラットが死亡した。LCI699 投与群では用量依存的に生存期間が延長し、10 mg/kg/日以上用量群で有意な延長が認められた。なお、LCI699 投与群では投与終了後も生存期間延長作用が維持されており、これは LCI699 投与期間中に心腎機能障害の発症及び進行が抑制されたためと考えられた。また、LCI699 の生存期間延長作用は血圧変化との相関は見られず、血圧変化とは独立した作用であることが示唆された。

高血圧モデルラットにおける LCI699 の心腎保護作用

【方法】 3 週齢から 7 週齢まで LCI699 を 3, 10, 30, 及び 100 mg/kg/日の用量で飲水投与し（各群 n=6）、投与終了時点での LCI699 投与群の血漿中アルドステロン濃度及び尿中アルドステロン量並びに心腎機能を対照群と比較し評価した。試験の最終日に、24 時間蓄尿、麻酔下での心エコー検査、血圧測定、及び大動脈穿刺による採血を行った。

【結果】 LCI699 非投与の dTG ラット対照群では、健常ラットと比較してアルドステロンの血漿中濃度及び尿中排泄量が顕著に上昇していたのに対し、LCI699 投与群では用量依存的に低下していた。対照群で認められた左心室肥大及び左心室拡張/収縮機能の障害が LCI699 投与により有意に軽減した。なお、生存期間延長作用と同様にこれらの低下又は抑制作用は血圧の変化とは無関係であった。また、尿中アルブミン及び尿素窒素を指標とした腎機能評価においても改善が認められた。以上の心腎機能障害に対する抑制作用は LCI699 高用量群（10～100 mg/kg/日）で顕著であった。

3.2 アロマターゼに対する作用

ノバルティス社で合成されたアロマターゼ阻害薬であるファドロゾール並びにファドロゾールの構造変換により得られた化合物は、チトクローム P450 (CYP) 酵素の一種であるアロマターゼに対する阻害作用を有し、卵巣ホルモンであるエストロン及びエストラジオール生合成に影響を与える (Meredith et al. 2013)。LCI699 も同様にファドロゾールの構造変換から得られた化合物であり、アロマターゼに対し阻害作用を示す可能性が考えられることから、LCI699 のアロマターゼ酵素活性に対する影響を検討した。なお、LCI699 の鏡像異性体 (S-エナンチオマー) である LCI698 についても同様の検討を行った。

【方法】 LCI699 及び LCI698 のヒトアロマターゼに対する阻害活性を蛍光アッセイ系 (Human aromatase supersomes[®], Corning 社) を用いて検討した。LCI699 又は LCI698 と NADPH 生成系を混合し、ヒトアロマターゼ及び蛍光標識基質であるジベンジルフルオレセインを添加しインキュベーションした。反応生成物であるフルオレセインを蛍光光度計により測定し、非線形最小二乗法により IC₅₀ 値を算出した。

【結果】 LCI699 のアロマターゼ阻害活性における IC₅₀ 値は $1.7 \pm 0.1 \mu\text{M}$ であり [Table 2.6.3.1-RD-2007-51924], LCI699 のヒト CYP11B1 阻害活性 (IC₅₀ 値 : $2.5 \pm 0.1 \text{ nM}$) [Table 2.6.3.1-RD-2007-51927]と比較すると、アロマターゼに対する阻害活性は低かった。一方、LCI698 はアロマターゼに対し強い阻害活性を示した (IC₅₀ 値 : $9 \pm 2 \text{ nM}$) [Table 2.6.3.1-RD-2006-50293]。また、HAC15 細胞株を用いた *in vitro* の検討において、主たる精巣ホルモンであるテストステロンの生合成に対する LCI699 の影響を評価した。CYP に対し広汎な阻害活性を示す代表的な薬物であるケトコナゾールと比較した結果、LCI699 のテストステロン合成抑制作用はケトコナゾールより弱かった (Creemers et al. 2019)。

3.3 LCI699 主代謝物の *in vitro* 酵素阻害活性

ヒトにおける LCI699 の主要な代謝物として LXB168 (M34.5), LWP114 (M16.5), 及び LFD085 (M24.9) が確認されている。これらの代謝物の遺伝子組換えヒト CYP11B1 及び CYP11B2 並びにヒトアロマターゼの酵素活性に対する影響を検討し、LCI699 の阻害活性と比較した [Table 2.6.3.1-RD-2014-00299, Table 2.6.3.1-RD-2014-00365, Table 2.6.3.1-RD-2014-00354]。

【方法】 LCI699 の検討と同様の方法にて酵素阻害活性を評価した。試験方法は、遺伝子組換えヒト CYP11B1 及び CYP11B2 については 2.1 項、ヒトアロマターゼについては 3.2 項を参照。

【結果】 CYP11B1 阻害活性について、LWP114 は弱い活性を示したが (IC₅₀ 値 $10.7 \pm 2.8 \mu\text{M}$) , LXB168 は $16 \mu\text{M}$ までの濃度で活性は認められなかった。LFD085 が代謝物のうち比較的強い活性を示し、その IC₅₀ 値は $40 \pm 4 \text{ nM}$ であり、阻害活性は LCI699 の約 1/12 であった [Table 2.6.3.1-RD-2014-00299]。

CYP11B2 阻害活性について、LWP114 は弱い活性を示したが (IC₅₀ 値 : $2.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$) , LXB168 は $16 \mu\text{M}$ までの濃度で活性は認められなかった。CYP11B1 阻害活性と同様に、LFD085 が代謝物のうち強い阻害活性を示し、その IC₅₀ 値は $7.0 \pm 0.4 \text{ nM}$ であり、阻害活性は LCI699 の約 1/4 であった [Table 2.6.3.1-RD-2014-00354]。

アロマターゼ阻害活性について、LWP114 及び LXB168 は $16 \mu\text{M}$ まで活性は認められなかった。LFD085 はアロマターゼに対して弱い活性を示した (IC₅₀ 値 : $1.8 \pm 0.1 \mu\text{M}$) [Table 2.6.3.1-RD-2014-00365]。

以上、各酵素に対し、LXB168 では阻害活性は認められず、LWP114 において弱い阻害活性が認められた。LFD085 では比較的強い阻害活性が認められたが、阻害活性は LCI699 に比べ弱かった。ヒトに ¹⁴C 標識 LCI699 を経口投与したときの LWP114 及び LFD085 の血漿中総放射能の 0 時間から 48 時間までの曲線下面積 (AUC_{0-48h}) に対する平均寄与率は低かったことから ($\leq 9.4\%$,

C2101 試験) (2.7.2-3.1.4 項), これら代謝物が LCI699 の薬理効果に与える影響は小さいと考えられる。

4 安全性薬理試験

In vitro 安全性薬理試験として, LCI699 の各種受容体, トランスポーター, イオンチャネル, 及び酵素に対するオフターゲット活性に関する試験, ヒト Ether-à-go-go 関連遺伝子 (hERG) 電流及びチャネルの相対表面発現量 (RSE) に関する試験, 活動電位 (ウサギ摘出心臓), 並びに QRS 間隔 (QRS), QT 間隔 (QT) 及び Tp-e 間隔 (Tp-e) に関する試験 (ウサギ摘出心室切片) を実施した。*In vivo* 安全性薬理試験として, ラット, イヌ, 及びサル用いた心血管系に関する試験, ラットを用いた呼吸系及び中枢神経系に関する試験を実施した (Table 4-1, Table 4-2)。コアバッテリー試験は, 医薬品規制調和国際会議 (ICH) ガイドライン S7A 及び S7B に従い, 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP) ガイドライン又は GLP ガイドラインと一貫した自主基準を準拠して実施した。*In vivo* 試験における LCI699 の用量は, 遊離塩基として表記した。

Table 4-1 *In vitro* 安全性薬理試験の要約

試験の種類	試験系	用量／濃度	評価項目	試験番号
オフターゲット活性 (GLP 非適用)	<i>In vitro</i>	10 μ M まで	GPCR, イオンチャネル, トランスポーター及び酵素	RD-2013-50304
hERG チャネル (GLP 適用)	HEK293 細胞	1, 10, 30, 100, 330 μ M	hERG テール電流	0616814
hERG チャネル (GLP 非適用)	HEK293 細胞	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 μ M	hERG チャネルの相対表面発現量	1370701
哺乳類細胞におけるクローン化イオンチャネル (GLP 非適用)	哺乳類細胞 (HEK293 又は CHO 細胞)	10, 100 μ M (Kir6.2/SUR2A 及び hKvLQT1/hminK は 30 及び 300 μ M を追加)	以下のイオンチャネルの電流： hCav3.2, hHCN2, hHCN4, hKir2.1, hKir3.1/hKir3.4, Kir6.2/SUR2A, hKvLQT1/hminK, hKv1.5, hKv4.3, hCav1.2, hNav1.5 TP1, hNav1.5 TP2, Late hNav1.5	1370651
ウサギ摘出心臓 (GLP 非適用)	<i>In vitro</i>	0.1, 0.3, 1, 3, 10 μ M	APD60, 三角形化, 逆頻度依存性, 不安定性, 伝導速度	0518535
ウサギ摘出心室切片 (GLP 非適用)	<i>In vitro</i>	0.4, 1.4, 4.3, 14.3, 42.9 μ M SOM230 : 0.1, 0.3, 1, 3, 10 μ M 種々の濃度の LCI699 と 0.1 及び 0.3 μ M の SOM230 又は 0.1 μ M の SOM230 並びに 60, 200 及び 400 mg/dL のグルコースとの併用	QT 及び Tp-e 間隔, TdP の可能性及び QRS 幅	1570263-01

APD60 : 60%再分極するまでの活動電位持続時間, CHO : チャイニーズハムスター卵巣, GLP : 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準, GPCR : G 蛋白質共役受容体, hERG : ヒト Ether-à-go-go 関連遺伝子, QRS : QRS 間隔, QT : QT 間隔, SOM230 : ソマトスタチンアナログ, TdP : トルサード ポワント, Tp-e : Tp-e 間隔

Table 4-2 *In vivo* 安全性薬理試験の要約

試験の種類／器官系	試験系	用量 (特に記載しない限り単回投与)	評価項目	試験番号
心血管系 (GLP 非適用)	ビーグル犬	0, 7.5 mg/kg	心電図, HR, BP, 又は体温	0570242
心血管系 (GLP 適用)	ビーグル犬	0, 0.5, 1.5, 5 mg/kg	BP, HR, 心電図	0680192
心血管系	カニクイザル	0, 10, 30 mg/kg 及	BP, 心電図, 体	1270713

試験の種類／器官系	試験系	用量（特に記載しない限り単回投与）	評価項目	試験番号
(GLP 適用)		び／又は SOM230 (0, 1.6 mg/kg)	温, HR	
心血管系 (GLP 適用)	カニクイザル	0, 30 mg/kg 及び／又は SOM230 (0, 0.129, 0.517, 2.07 mg/kg)	BP, 心電図, 体温, HR	1570261
心血管系 (GLP 非適用)	カニクイザル	0, 10, 30 mg/kg/日を 2 週間	HR, 心電図	1270612
心血管系 (GLP 非適用)	カニクイザル	10, 30, 100 mg/kg	HR, 心電図	1270320
CNS (GLP 適用)	Wistar 系ラット	0, 0.5, 1, 5 mg/kg	行動	0680190
呼吸系 (GLP 適用)	Wistar 系ラット	0, 1.5, 5 mg/kg	呼吸機能	0680191

BP：血圧，CNS：中枢神経系，ECG：心電図，GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，HR：心拍数

4.1 オフターゲットに関する安全性薬理試験

LCI699 の受容体，トランスポーター，イオンチャネル，及び酵素に対するオフターゲット活性を，66 種類 [51 種類の G 蛋白質共役受容体 (GPCR)，8 種類のイオンチャネル，4 種類のトランスポーター及び 3 種類の酵素] の結合アッセイパネルで評価した (GLP 非適用，[Table 2.6.3.4-RD-2013-50304])。

LCI699 はヒスタミン-1 受容体結合を阻害した (64%阻害， $IC_{50} = 10 \mu M$ ， $K_i = 7.1 \mu M$)。検討したその他の標的に対してはいずれも明らかな活性 ($10 \mu M$ で 50%を上回る阻害)を示さなかった。LCI699 は，乱用又は依存性に関連する中枢の受容体に対して親和性を示さなかった。

4.2 心血管系に関する安全性薬理試験

4.2.1 HEK293 細胞を用いた hERG 電流に及ぼす影響に関する試験

hERG 発現 HEK293 細胞を用いたホールセルパッチクランプ法により，hERG 電流に対する LCI699 の作用を検討した (GLP 適用，[Table 2.6.3.4-0616814])。LCI699 の処理濃度は 1, 10, 30, 100, 及び $330 \mu M$ とした。

試験の結果，LCI699 は $10 \mu M$ 以上の濃度で hERG 電流を阻害した ($IC_{50} = 54 \mu M$)。

4.2.2 HEK293 細胞を用いた hERG チャネルの相対表面発現量に及ぼす影響に関する試験

hERG チャネル発現 HEK293 細胞を用いた HERG-Lite アッセイ法により，hERG チャネルのトラフィックキングに対する LCI699 の作用を検討した (GLP 非適用，[Table 2.6.3.4-1370701])。

試験の結果、LCI699 は 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 及び 100 μM の濃度範囲で hERG チャンネルの RSE を減少させなかったことから、LCI699 は hERG チャンネルのトラフィックを阻害しないことが示唆された。

4.2.3 哺乳類細胞を用いた各種イオンチャネルの電流に及ぼす影響に関する試験

各種イオンチャネル (hCav3.2, hHCN2, hHCN4, hKir2.1, hKir3.1/hKir3.4, Kir6.2/SUR2A, hKvLQT1/hminK, hKv1.5, hKv4.3, hCav1.2, hNav1.5 TP1, hNav1.5 TP2, 及び Late hNav1.5) を発現させた哺乳類細胞 [HEK293 細胞又はチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞] を用いたホールセルパッチクランプ法により、各種イオンチャネルの電流に対する LCI699 の作用を検討した (GLP 非適用, [Table 2.6.3.4-1370651])。LCI699 の処理濃度は、10 及び 100 μM (Kir6.2/SUR2A 及び hKvLQT1/hminK は 30 及び 300 μM を追加) とした。

試験の結果、Kir6.2/SUR2A 及び hKvLQT1/hminK に対する IC₅₀ はそれぞれ 103.6 及び 95.0 μM であり、その他のイオンチャネルに対してはいずれも 100 μM で明らかな阻害作用を示さなかった。

4.2.4 ウサギ摘出心臓を用いた活動電位に関する試験

ランゲンドルフ法により灌流したウサギ摘出心臓を用いて、LCI699 の活動電位に対する影響及び不整脈誘発作用の有無を検討することを目的として、GLP 非適用で実施した (GLP 非適用, [Table 2.6.3.4-0518535])。LCI699 の処置濃度は 0.1, 0.3, 1, 3, 及び 10 μM とした。

LCI699 は 1 μM 以上の濃度で 60%再分極するまでの活動電位持続時間 (APD₆₀) を延長した。最高濃度の 10 μM では、APD₆₀ 延長に伴って不整脈誘発作用の指標である「逆頻度依存性」及び「三角形化」が認められた。

不整脈誘発作用が認められた 10 μM は予定最大臨床用量 (30 mg 1 日 2 回の用量) における非結合形最高血漿中薬物濃度 (C_{max}) の 15 倍であった。

4.2.5 ウサギ摘出心室切片標本を用いた QRS 間隔, QT 間隔及び Tp-e 間隔に関する試験

動脈灌流したウサギ摘出心室切片標本を用いて、標本を電気刺激した際の経壁心電図を記録し、LCI699 の単独並びに SOM230 (ソマトスタチンアナログ) 及び種々の濃度のグルコースとの併用の QRS, QT, 及び Tp-e (貫壁性再分極分散及び不整脈誘発作用の指標) に対する作用を評価した (GLP 非適用, [Table 2.6.3.4-1570263-01])。LCI699 の処理濃度は 0.4, 1.4, 4.3, 14.3, 及び 42.9 μM , SOM230 の処理濃度は 0.1, 0.3, 1, 3, 及び 10 μM とした。

LCI699 は 0.4 μM 以上の濃度において、催不整脈作用を伴わない QT 延長を用量依存的に増加させた (IC₅₀ は算出せず)。SOM230 (0.1 及び 0.3 μM) 及び漸増濃度のグルコース (60, 99, 200, 及び 400 mg/dL) と併用したとき、QT 延長作用の増強は認められなかった。催不整脈作用は 42.9 μM の LCI699 と 0.3 μM の SOM230 との併用で認められた。

4.2.6 イヌを用いた心血管系に関する試験

ビーグル犬を用いて、テレメトリー法により LCI699 単回投与の心血管系に対する影響を検討した（GLP 非適用，[Table 2.6.3.4-0570242]）。1 群 2 例のテレメトリー装着雄ビーグル犬に LCI699 を 0 及び 7.5 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与前、投与後 5 及び 24 時間に一般状態を観察し、体重及び摂餌量を測定した。平均血圧、収縮期／拡張期血圧、心拍数、心電図、及び体温に対する影響を投与後 1, 2, 3, 4, 6, 8, 及び 10 時間に評価した。

LCI699 投与に関連した一般状態及び摂餌量の変化はみられなかった。また、血圧、心拍数、心電図、及び体温に対する影響もみられなかった。

4.2.7 イヌを用いた心血管系に関する試験

ビーグル犬を用いて、テレメトリー法により LCI699 単回投与の心血管系に対する影響を検討した（GLP 適用，[Table 2.6.3.4-0680192]）。1 群雄 4 例のテレメトリー装着のビーグル犬に精製水中の LCI699 を 0（媒体）、0.5, 1.5, 及び 5 mg/kg の用量でクロスオーバー法（ウォッシュアウト：2 日間以上）により単回経口投与し、一般状態観察を実施した。また、各投与 24 時間後までの血圧（平均血圧、収縮期／拡張期血圧、脈圧）、心拍数、及び心電図パラメータ [PR 間隔（PR）、RR 間隔（RR）、QRS、QT、及び心拍数補正 QT 間隔（QTc）] を評価した。

すべての投薬群において、死亡は認められず、一般状態において LCI699 投与に関連した変化はみられなかった。また、心血管系への明らかな影響を示さなかった。

4.2.8 カニクイザルを用いた単回投与による心血管系に関する試験

カニクイザルを用いて、テレメトリー法により LCI699 単回投与の心血管系に対する影響を用量漸増により検討した（GLP 非適用，[Table 2.6.3.4-1270320]）。1 群雌雄各 3 例のカニクイザルに LCI699 を 1 日目に 10 mg/kg、4 日目に 30 mg/kg、及び 8 日目に 100 mg/kg の用量でそれぞれ単回経口投与した（ウォッシュアウト：3～4 日）。一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、及び心電図パラメータ（ジャケット式テレメトリー）を評価した。

すべての投薬群において、死亡は認められなかった。10 又は 30 mg/kg 投与後の一般状態に LCI699 投与に関連した変化はみられなかった。100 mg/kg を投与した雄 2 例に筋攣縮、振戦、嘔吐等の重度な一般状態の変化がみられたが、雌では 2 例の嘔吐のみ認められた。雄の体重への影響はみられなかったが、雌では 7 日目まで体重の減少がみられた（8 日目の LCI699 投与以降、変化はみられなかった）。摂餌量は雌雄いずれも LCI699 投与後 24 時間まで減少した。血液学的検査に LCI699 投与に関連した変化は認められなかった。血液生化学的検査では、雌全例で 10 mg/kg 以上の用量でビリルビンの軽度な増加、100 mg/kg の用量で尿素（雄 1 例）及びクレアチニン（雄全例）の軽度な増加が認められた。30 mg/kg 以上の用量で用量依存的に QTc を延長した。QTc 延長が認められた 30 mg/kg 投与時の曝露量（単回投与後の C_{max}：雄で 5740 ng/mL、雌で 4540 ng/mL [Table 2.6.7.3]）及びサルでの蛋白結合率 26.6% から、非結合形 C_{max} は雄で

4213 ng/mL, 雌で 3332 ng/mL) は, 予定最大臨床用量の推定曝露量 [C_{max} 232.26 ng/mL (定常状態における全身曝露量の中央値) 及びヒトでの蛋白結合率 36.4%から, 非結合形 C_{max} は 147.72 ng/mL] の 23~29 倍であった。また, 100 mg/kg の用量では, 雄 1 例に PR 及び QRS の延長, 並びに非伝導性 P 波及び異常な心室伝導を含む伝導異常が, 別の雄 1 例に心室性期外収縮 (PVC), 非持続性心室頻拍 (NSVT), 及びトルサード ド ポワント (TdP) が認められた。100 mg/kg 投与時の曝露量 (単回投与後の C_{max} : 雄で 30600 ng/mL, 雌で 7870 ng/mL [Table 2.6.7.3]) から, 非結合形 C_{max} は雄で 22460 ng/mL, 雌で 5777 ng/mL) は, 予定最大臨床用量の推定曝露量 (非結合形 C_{max} : 147.72 ng/mL) の 39~152 倍であった。

以上のことから, QTc 延長に関する無毒性量 (NOAEL) は 10 mg/kg と考えられた。NOAEL における曝露量 (C_{max} : 雄で 1710 ng/mL, 雌で 2300 ng/mL [Table 2.6.7.3]) から, 非結合形 C_{max} は雄で 1255 ng/mL, 雌で 1688 ng/mL) は, 予定最大臨床用量の推定曝露量 (非結合形 C_{max} : 147.72 ng/mL) の 8~11 倍であった。

4.2.9 カニクイザルを用いた反復投与による心血管系に関する試験

カニクイザルを用いて, テレメトリー法により LCI699 反復投与の心血管系に対する影響を検討した (GLP 非適用, [Table 2.6.3.4-1270612])。1 群雄 3 例のカニクイザルに精製水中の LCI699 を 0 (媒体), 10, 及び 30 mg/kg/日の用量で 2 週間反復経口投与して, 一般状態観察, 体重測定, 摂餌量測定, 及び心電図パラメータ (ジャケット式テレメトリー) を評価した。

すべての投薬群において, 死亡は認められなかった。一般状態, 体重, 及び摂餌量に LCI699 投与に関連した変化はみられなかった。LCI699 は投与後 1~8 時間において用量依存的に QTc を延長し, 投与 2 週において, ベースラインで補正した QTc は 10 mg/kg/日群で 28 ms (11%), 30 mg/kg/日群で 71 ms (29%) 延長した。また, QTc の変動は, 血漿中 LCI699 濃度推移と一致していた。

したがって, 10 mg/kg 以上の群において用量依存的な QTc 延長が認められた。10 mg/kg 投与時の曝露量 (2 週間投与後の C_{max} : 2220 ng/mL [Table 2.6.7.3]) から, 非結合形 C_{max} は 1629 ng/mL) は, 予定最大臨床用量の推定曝露量 (非結合形 C_{max} : 147.72 ng/mL) の 11 倍であった。

4.2.10 カニクイザルを用いた LCI699 及び SOM230 単独又は併用投与による心血管系に関する試験

カニクイザルを用いて, テレメトリー法により LCI699 及び SOM230 単独又は併用投与の心血管系に対する影響を検討した (GLP 適用, [Table 2.6.3.4-1270713])。雄カニクイザル 8 例を 2 群 (4 例/群) に分け, 群 1 は LCI699 10 mg/kg, SOM230 1.6 mg/kg, LCI699/SOM230 10/1.6 mg/kg 及び投与溶媒 (精製水) を, 群 2 には LCI699 30 mg/kg, SOM230 1.6 mg/kg, LCI699/SOM230 30/1.6 mg/kg, 及び投与溶媒をクロスオーバー法 (ウォッシュアウト: 4 日間以上) により, LCI699 は単回経口, SOM230 は単回皮下投与した。

一般状態観察、体重測定、血液学的検査、及び血液生化学的検査を実施した。また、各投与後 30 分、1～24 時間までの血圧（平均血圧、収縮期／拡張期血圧、脈圧）、心拍数、体温、及び心電図パラメータ（PR, RR, QRS, QT, 及び QTc）を測定した。

すべての投薬群において、死亡は認められなかった。一般状態の変化は、嘔吐又は下痢に限定されていた。LCI699 は 10 mg/kg の用量（単独投与又は SOM230 との併用投与）で血圧、心拍数、体温及び心電図パラメータに有害な影響を示さなかったが、30 mg/kg の用量（単独投与又は SOM230 との併用投与）では血圧（収縮期血圧、平均血圧、及び脈圧）の軽微な一過性の上昇がみられ QTc を延長した。QTc 延長の程度は単剤投与に比べ併用投与時の方が大きく、延長作用の持続時間は長かった。

4.2.11 カニクイザルを用いた LCI699 及び SOM230 単独又は併用投与による心血管系に関する試験

カニクイザルを用いて、テレメトリー法により LCI699 及び SOM230 単独又は併用投与の心血管系に対する影響を検討した（GLP 適用、[\[Table 2.6.3.4-1570261\]](#)）。6 例の雄カニクイザルに、試験 1 日、4 日、8 日、15 日、22 日、及び 25 日に媒体、LCI699 30 mg/kg、SOM230 2.07 mg/kg、又は LCI699/SOM230 30/0.129、30/0.517、若しくは 30/2.07 mg/kg の用量で LCI699 は経口投与及び SOM230 は皮下投与した。一般状態観察、血圧、心拍数、及び心電図測定を実施した。

すべての投薬群において、LCI699 に関連した死亡、体重変化、及び体温変化は認められなかった。LCI699 30 mg/kg の投与（単剤投与又は SOM230 との併用投与）により、QT 及び QTc の延長がみられた。QTc 延長の程度は、用量群間で不均一であったものの、SOM230 の用量に依存せず、LCI699 投与例で概して同程度（23～26%）であった。前述のサルを用いたテレメトリー試験では QTc 延長の程度は単剤投与に比べ併用投与時の方が大きかったが（[4.2.10 項](#)）、本試験では QTc 延長作用での併用効果は再現されなかった。LCI699 に関連した血圧、心拍数、及び心電図パラメータの変化はみられなかったが、LCI699 30 mg/kg の投与（単独投与又は SOM230 0.129 mg/kg との併用投与）により、投与後約 1 時間から 4 時間にかけて動脈圧の増加（最大 26%）が認められた。

4.3 中枢神経系に関する安全性薬理試験

4.3.1 ラットを用いた中枢神経系に関する試験

ラットを用いて LCI699 の CNS に対する影響を検討した（GLP 適用、[\[Table 2.6.3.4-0680190\]](#)）。1 群雄 10 例の Wistar 系ラットに精製水中の LCI699 を 0（媒体）、0.5、1、及び 5 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与後 15、30、45 分、1、2、4、及び 24 時間に一般行動観察を行い、投与 1 時間後に体温を測定した。高用量（5 mg/kg）における C_{max} は、予定最大臨床用量における推定推定曝露量の約 10 倍であった（ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の 5 mg/kg 群の雄における投与 1 日の曝露量[\[Table 2.6.7.7B-0670141\]](#)から算出）。

すべての投薬群において、死亡は認められず、一般行動観察において LCI699 投与に関連した変化はみられなかった。また、CNS への影響又は体温の変化は認められなかった。

4.4 呼吸系に関する安全性薬理試験

4.4.1 ラットを用いた呼吸系に関する試験

ラットを用いて LCI699 の呼吸系に対する影響を検討した（GLP 適用，[Table 2.6.3.4-0680191]）。1 群雄 6 例の Wistar 系ラットに精製水中の LCI699 を 0（媒体），1.5，及び 5 mg/kg の用量で単回経口投与した。プレチスモグラフを用いて、投与前、投与後 1，2，4，及び 24 時間に呼吸パラメータ（1 回換気量，呼吸数及び分時換気量）を測定し、一般状態は 1 日 2 回観察した。高用量（5 mg/kg）における Cmax は、予定最大臨床用量における推定曝露量の約 10 倍であった（[Table 2.6.7.7B-0670141]から算出）。

すべての投薬群において、死亡は認められず、LCI699 投与に関連した一般状態、及び呼吸パラメータの変化はみられなかった。

5 薬力学的薬物相互作用試験

4.2.10 項及び4.2.11 項を参照。

6 考察及び結論

LCI699 は *in vitro* の検討において遺伝子組換えヒト CYP11B1（11β-水酸化酵素）に対して強い阻害活性を示し、その IC50 値は 2.5 nM であった。一方、遺伝子組換えラット酵素及びラット副腎ホモジネートにおける CYP11B1 阻害活性の IC50 値はそれぞれ 410 nM 及び 3045 nM であり、ヒト酵素と比較してそれぞれ 164 倍及び 1218 倍低かった。ラット及びサルを用いた *in vivo* ACTH 負荷試験の検討から、LCI699 はラットにおいてコルチコステロン合成を用量依存的に抑制し、その ED50 値は 73 mg/kg，EC50 値は 36 μM であった。サルに LCI699 150 μg/kg を投与したとき、アルドステロン合成を対照群と比べ最大 90%抑制した。一方、コルチゾール合成への影響は認められなかった。なお、一連の臨床試験成績では、LCI699 の優れたコルチゾール合成抑制作用が認められている。これらのことから、LCI699 の CYP11B1 阻害を介したコルチゾール／コルチコステロン合成抑制作用は動物種によって異なることが示唆され、その効力はヒトにおいて最も高く、サル及びラットでは低いと考えられた。

LCI699 の安全性薬理試験において、*in vitro* において hERG チャンネルを阻害し、不整脈を誘発する可能性が示された。また、サル及びイヌを用いた心血管系に関する試験では QTc 間隔延長がみられ、サルの高用量群では PR 及び QRS 間隔の延長、PVC，並びに TdP が認められた。心血管系への影響が認められた曝露量は、非結合形 Cmax に基づくと、予定最大臨床用量における推定曝露量の 11 倍以上であった。LCI699 に関連した QTc 間隔延長並びにそれに続く PVC 及び TdP

の正確なメカニズムは現時点で不明であるが、高い曝露量でみられた心臓電気生理学的変化及び不安定化は、心臓イオンチャネルへの複合的な作用を示唆するものと考えられた。

ラットを用いた中枢神経系又は呼吸系に関する安全性薬理試験では、LCI699 投与に関連した CNS 及び呼吸機能への明らかな影響は認められなかった。一方、マウスを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg 群で CNS 関連の主な変化（攻撃的行動、接触過敏反応、及び自発運動の亢進）が認められた。30 mg/kg 投与時の C_{max}（雄で 10400 ng/mL，雌で 12000 ng/mL[2.6.7.7A-0770695]）は、予定最大臨床用量（30 mg 1 日 2 回）における推定曝露量（C_{max}: 232.26 ng/mL[2.4-5.8 項]）の 48 倍であった。また、イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 10 mg/kg 群で CNS に対する影響（攻撃的行動）が認められた。10 mg/kg 投与時の C_{max}（雄で 6220 ng/mL[2.6.7.7H-0770714]）は、予定最大臨床用量における推定曝露量の 27 倍であった[2.4-5.8 項]。マウス及びイヌにおける CNS 関連の変化のメカニズムは現時点で不明であるが、LCI699 は脳でわずかに産生されるアルドステロンの合成を阻害し、ヒスタミン-1 受容体活性が CNS への作用に関与している可能性がある（Gomez-Sanchez et al. 2005）。オフターゲット活性に関する安全性薬理試験における LCI699 のヒスタミン-1 受容体阻害作用の IC₅₀ は 10 µM であり、予定最大臨床用量における非結合形 C_{max}（0.65 µM）の 15 倍であった[Table 2.6.3.4-RD-2013-50304]。なお、弱い結合能のアゴニスティック又はアンタゴニスティック作用の有無は不明であった。

以上の非臨床試験成績から、クッシング症候群患者の治療において、添付文書案に規定した用法及び用量で本薬を使用することは支持されるものであると判断した。

7 参考文献

- [Ahmed A, Schmidt C, Brunner T (2019)] Extra-Adrenal Glucocorticoid Synthesis in the Intestinal Mucosa: Between Immune Homeostasis and Immune Escape. *Front Immunol*; 10:1438.
- [Bohlender J, Fukamizu A, Lippoldt A, et al. (1997)] High human renin hypertension in transgenic rats. *Hypertension*; 29:428-34.
- [Creemers SG, Feelders RA, de Jong FH, et al. (2019)] Osilodrostat is a potential novel steroidogenesis inhibitor for the treatment of Cushing's syndrome: an *in vitro* study. *J Clin Endocrinol Metab*; 104:3437-49
- [Gomez-Sanchez EP, Ahmad N, Romero DG, et al. (2005)] Is aldosterone synthesized within the rat brain? *Am J Physiol Endocrinol Metabol*; 28:E342-6.
- [Menard J, Rigel DF, Watson C, et al. (2014)] Aldosterone synthase inhibition: cardiorenal protection in animal disease models and translation of hormonal effects to human subjects. *J Transl Med*; 12:340.
- [Meredith EL, Ksander G, Monovich LG, et al. (2013)] Discovery and in vivo evaluation of potent dual CYP11B2 (aldosterone synthase) and CYP11B1 inhibitors. *ACS Med Chem. Lett* 4: 1203-7.
- [Mornet E, Dupont J, Vitek A, et al. (1989)] Characterization of two genes encoding human steroid 11 beta-hydroxylase (P-450(11) beta). *J Biol Chem*; 264(35):20961-7.
- [Weldon SM, Cerny MA, Gueneva-Boucheva K, et al. (2016)] Selectivity of BI 689648, a novel, highly selective aldosterone synthase inhibitor: comparison with FAD286 and LCI699 in nonhuman primates. *J Pharmacol Exp Ther*; 359:142-50.

2.6.3 藥理試驗概要表

目 次

目 次	2
略号一覧	3
2.6.3.1 薬理試験一覧表.....	4
2.6.3.2 薬効を裏付ける試験.....	6
2.6.3.3 副次的薬理試験.....	6
2.6.3.4 安全性薬理試験	7

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ACTH	adrenocorticotrophic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
Ang II	angiotensin II	アンジオテンシン II
APD60	action potential duration 60	60%再分極するまでの活動電位持続時間
BP	blood pressure	血圧
BT	body temperature	体温
CNS	central nervous system	中枢神経系
ECG	electrocardiogram	心電図
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
GPCR	G protein-coupled receptor	G 蛋白質共役受容体
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎
hERG	human Ether-à-go-go related gene	ヒト Ether-à-go-go 関連遺伝子
HR	heart rate	心拍数
IC50	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
IGS	insulin-like growth factor	インスリン様成長因子
Ki	inhibition constant	阻害定数
NA	not applicable	該当なし
NSVT	non-sustained ventricular tachycardia	非持続性心室頻拍
PR	PR interval	PR 間隔
PVC	premature ventricular complex	心室性期外収縮
QRS	QRS interval	QRS 間隔
QT	QT interval	QT 間隔
QTc	QTc interval corrected for heart rate	心拍数補正 QT 間隔
TdP	torsade de pointes	トルサード ド ポワント
Tp-e	Tp-e interval	Tp-e 間隔

2.6.3.1 薬理試験一覧表

試験の種類	試験系／プロトコール	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
効力を裏付ける試験					
> <i>In vitro</i> 薬理試験					
Enzyme activity study	Activity of recombinant human 11 β -hydroxylase	<i>In vitro</i>	Novartis Pharma AG	[RD-2007-51927]	4.2.1.1-1
Enzyme activity study	Activity of recombinant human aldosterone synthase	<i>In vitro</i>	Novartis Pharma AG	[RD-2009-50223]	4.2.1.1-2
> <i>In vivo</i> 薬理試験					
Hormone measurement in plasma	Reduction of plasma aldosterone in a Ang II stimulated rat model	Single oral (0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg), single intra-arterially (0.3 mg/kg)	Novartis Pharma AG	[RD-2006-50315]	4.2.1.1-3
Hormone measurement in plasma	Effect of LCI699 on Ang II stimulated plasma aldosterone in rats	Single oral (0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg), single intra-arterially (0.3 mg/kg)	Novartis Pharma AG	[RD-2007-51901]	4.2.1.1-4
Hormone measurement in plasma	Effect of LCI699 on ACTH-stimulated plasma aldosterone and cortisol concentrations in monkeys	Single oral (5, 15, 50, 150 μ g/kg)	Novartis Pharma AG	[RD-2010-50210]	4.2.1.1-5

CTD 2.6.3 薬理試験概要表

LCI699/オシロドロスタットリン酸塩

試験の種類	試験系 又はプロトコール	投与方法	試験番号	CTDに おける記載箇所
副次的薬理試験				
> <i>In vitro</i> 薬理試験				
Enzyme activity study	Activity of LCI699 on recombinant human aldosterone synthase	<i>In vitro</i>	[RD-2009-50223]	4.2.1.1-2
Enzyme activity study	Effect of NVP-LCI699-NX-1 on aldosterone production in human adrenocortical carcinoma NCI-H295R cells	<i>In vitro</i>	[RD-2005-51167]	4.2.1.2-1
Enzyme activity study	Effect of NVP-LCI698-NX-1 on human aromatase activity <i>in vitro</i>	<i>In vitro</i>	[RD-2006-50293]	4.2.1.2-2
Enzyme activity study	Effect of LCI699 on human aromatase activity <i>in vitro</i>	<i>In vitro</i>	[RD-2007-51924]	4.2.1.2-3
Enzyme activity study	Effect of LCI699 metabolites on human 11 β -hydroxylase activity <i>in vitro</i>	<i>In vitro</i>	[RD-2014-00299]	4.2.1.2-4
Enzyme activity study	Effect of LCI699 metabolites on human aromatase activity <i>in vitro</i>	<i>In vitro</i>	[RD-2014-00365]	4.2.1.2-5
Enzyme activity study	Effect of LCI699 metabolites on human aldosterone synthase activity <i>in vitro</i>	<i>In vitro</i>	[RD-2014-00354]	4.2.1.2-6
> <i>In vivo</i> 薬理試験				
	実施していない			
安全性薬理試験	2.6.3.4 項参照			
薬力学的薬物相互作用試験	実施していない			

2.6.3.2 薬効を裏付ける試験

2.6.3.1 に記載

2.6.3.3 副次的薬理試験

2.6.3.1 に記載

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ systems evaluated	Species / strain	Method of admin.	Doses (mg/kg) ^a	Gender and no. per group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
Safety Pharmacology Profile	51 GPCRs, 8 ion channels, 4 transporters and 3 enzymes	<i>In vitro</i>	Up to 10 µM	NA	An activity of >50% inhibition at 10 µM was found only on the histamine H1 receptor (64%; IC ₅₀ = 10 µM, K _i = 7.1 µM). No significant binding to any of the remaining targets was found.	No	[RD-2013-50304]	4.2.1.3-1
Cardio-vascular	hERG HEK293 cells	<i>In vitro</i>	1, 10, 30, 100, 330 µM	4	≥10 µM: inhibition. IC ₅₀ = 54 µM	Yes	[0616814]	4.2.1.3-2
Cardio-vascular	hERG HEK293 cells	<i>In vitro</i>	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 µM	3	LCI699 did not result in significant hERG trafficking inhibition	No	[1370701]	4.2.1.3-3
Cardio-vascular	Ion channels expressed in mammalian cells ^b	<i>In vitro</i>	10, 30, 100, 300 µM ^c	3-6	The IC ₅₀ for the inhibition: 103.6 µM on Kir6.2/SUR2A and 95.0 µM on hKvLQT1/hminK In all other channels, the highest concentration of 100 µM did not inhibit more than 50% and IC ₅₀ was not determined	No	[1370651]	4.2.1.3-4

2.6.3.4 安全性薬理試験 (cont.)

Organ systems evaluated	Species / strain	Method of admin.	Doses (mg/kg) ^a	Gender and no. per group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
Cardio-vascular	Isolated rabbit heart	<i>In vitro</i>	0.1, 0.3, 1, 3, 10 µM	2-3	≥ 1 µM: APD60 prolongation 10 µM: APD60 prolongation was accompanied by reverse use dependence and triangulation	No	[0518535]	4.2.1.3-5
Cardio-vascular	Isolated rabbit ventricular wedge	<i>In vitro</i>	LCI699 alone, SOM230 alone, LCI699 with SOM230, LCI699 with SOM230 and glucose ^{d,e}	4	≥ 0.4 µM LCI699: Increase in QT prolongation with no change in TdP 42.9 µM LCI699: Increase in contractile force at lower stimulation frequencies ≥ 14.3 µM LCI699 with 0.3 µM SOM230: prolonged Tp-e (did not result in QT prolongation) 42.9 µM LCI699 with 0.3 µM SOM230: increased TdP scores	No	[1570263-01]	4.2.1.3-6
CNS	Rat/HsdRcc Han:WIST	Oral gavage	0, 0.5, 1.0, 5 ^e	10 M	No neuropharmacological signs were observed. No mortality or no changes in clinical signs, body weight and BT	Yes	[0680190]	4.2.1.3-7
Respiratory	Rat/IGS Wistar Hannover; WI(Glx/BR: Han)GS BR	Oral gavage	0, 1.5, 5 ^e	6 M	No mortality or no changes in clinical signs, body weight and respiratory function measurements	Yes	[0680191]	4.2.1.3-8

2.6.3.4 安全性薬理試験 (cont.)

Organ systems evaluated	Species / strain	Method of admin.	Doses (mg/kg) ^a	Gender and no. per group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
Cardio-vascular	Dog/Beagle (Implantable telemetry)	Oral gavage	0, 7.5 ^e	Control: 1 M LCI699: 2 M ^f	No effects were observed in clinical signs, food consumption, ECG, HR, BP or BT	No	[0570242]	4.2.1.3-9
Cardio-vascular	Dog/Beagle (Implantable telemetry)	Oral gavage	0, 0.5, 1.5, 5 ^e (2 days of washout period)	4 M ^g	No effect in clinical signs, body weight, arterial BP, HR or ECG intervals. No arrhythmias or ECG waveform abnormalities were observed	Yes	[0680192]	4.2.1.3-10
Cardio-vascular	Monkey/Cynomolgus (Noninvasive telemetry)	Oral gavage	10→30→100 ^e (single ascending doses with 3-4 days of washout period)	3 M/3F	≥ 10 mg/kg: ↑ Bilirubin ≥ 30 mg/kg: Dose-dependent QTc interval prolongation 100 mg/kg: Severe clinical signs (a pale appearance, head shaking, dilated pupils, disorientation, ataxia, decreased motor activity, muscle twitches, muscle tremors, emesis with apparent food, chomping/chewing, salivation) (2 M), emesis (2F), decreased food consumption, ↑ Creatinine, ↑ Urea, PR and QRS interval prolongation, conduction abnormalities including non-conducted P wave and aberrant ventricular conduction in one male; PVC, NSVT and TdP with recovery in an another male Maximum tolerated dose: 30 mg/kg	No	[1270320]	4.2.1.3-11

2.6.3.4 安全性薬理試験 (cont.)

Organ systems evaluated	Species / strain	Method of admin.	Doses (mg/kg) ^a	Gender and no. per group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
Cardio-vascular	Monkey/ Cynomolgus (Noninvasive telemetry)	Oral gavage (2-week)	0, 10, 30 ^e (2-week)	3 M	No changes in clinical signs, body weight, food consumption, hematology and clinical biochemistry ≥10 mg/kg: Dose-dependent QTc interval prolongation between 1 to 8 hours post dose At week 2, QTc interval were increased approximately 11% and 29% over vehicle control at 10 mg/kg and 30 mg/kg, respectively	No	[1270612]	4.2.1.3-12
Cardio-vascular	Monkey/ Cynomolgus (Implantable telemetry)	LCI699: Oral gavage, SOM230: subcutaneous	LCI699: 0, 10, 30 and/or SOM230: 0, 1.6 ^e (4 days of washout period)	4 M ^s	10 mg/kg LCI699, 1.6 mg/kg SOM230 and 10/1.6 mg/kg LCI699/SOM230: No changes in BP, HR, ECG intervals and BT 30 mg/kg LCI699 and 30/1.6 mg/kg LCI699/SOM230: A slight transient increase in systolic and pulse pressure, and increases in QT and QTc interval. QT and QTc interval was higher in magnitude or duration in SOM230/LCI699 compared to LCI699 alone	Yes	[1270713]	4.2.1.3-13

2.6.3.4 安全性薬理試験 (cont.)

Organ systems evaluated	Species / strain	Method of admin.	Doses (mg/kg) ^a	Gender and no. per group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
Cardio-vascular	Monkey/ Cynomolgus (Noninvasive telemetry)	LCI699: Oral gavage, SOM230: subcutaneous	LCI699: 30 SOM230: 2.07 LCI699/SOM230: 0, 30/0.129, 30/0.517, 30/2.07 ^e (At least 2 days of washout period)	6 M ^g	LCI699 or SOM230 at all doses: No mortality or no changes in body weight, BT. No changes in QRS duration 30 mg/kg LCI699: Increased QT and QTc interval, Increased pulse pressure 30/0.129 mg/kg LCI699/SOM230: Increased pulse pressure 2.07 mg/kg SOM230, 30/2.07 mg/kg LCI699/SOM230: Clinical signs (hypoactivity, recumbency), shortened PR interval, hypotension, decreased arterial pressures 2.07 mg/kg SOM230: No effect on QT or QTc intervals	Yes	[1570261]	4.2.1.3-14

F = female, M = male

a = Single dose unless specified otherwise.

b = hCav3.2, hHCN2, hHCN4, hKir2.1, hKir3.1/hKir3.4, Kir6.2/SUR2A, hKvLQT1/hminK, hKv1.5, hKv4.3, hCav1.2, hNav1.5 and Late hNav1.5.

c = In Kir6.2/SUR2A and hKvLQT1/hminK, inhibition greater than 50% was observed so additional nominal concentrations of 10, 30 and 300 µM were evaluated.

d = LCI699: 0.4, 1.4, 4.3, 14.3 and 42.9 µM, SOM230: 0.1, 0.3, 1, 3 and 10 µM, LCI699: 0.4, 1.4, 4.3, 14.3 and 42.9 µM in the presence of 0.1 or 0.3 µM SOM230. LCI699: 0.4, 1.4, 4.3, 14.3 and 42.9 µM in the presence of 0.1 µM SOM230 at glucose of 60, 99, 200 and 400 mg/dL

e = LCI699: Shown as free base. Salt/base ratio is 1.431. SOM230: Shown as free base. Salt/base ratio is 1.254.

f = Vehicle was administered orally by gavage on day 1. LCI699 was administered orally by gavage on day 2 to the same dogs.

g = Each animal received control and/or test item using a crossover paradigm.