## 第 2 部 CTD の概要

| | |
|---|---|
| | |
| **JAN あるいは販売名：** | ネランドミラスト |
| **剤形・含量：** | フィルムコート錠 ・ 9 mg，18 mg |
| **文書名：** | 2.6.1 緒言 |
| **文書作成日：** | 16 May 2025 |



**Proprietary confidential information**
**© 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.**
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

# 目　次

目　次 ..... 2
1.　緒　言 ..... 3

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

# 1. 緒 言

ネランドミラスト（Boehringer Ingelheim コード番号 : BI 1015550）は，経口投与可能なホスホジエステラーゼ（PDE）4B に対する優先的阻害剤である。PDE4B は細胞内セカンドメッセンジャーである環状アデノシン一リン酸（cAMP）を加水分解して不活性化する。ネランドミラストは，PDE4B を阻害することにより cAMP の細胞内濃度を増加させ，その結果，抗炎症作用及び抗線維化作用をもたらす。ネランドミラストは，PDE4A，C 及び D と比べて PDE4B を選択的に阻害し，PDE4D 阻害による副作用を低減させた肺線維症の新規作用機序を有する治療薬として開発された。

ネランドミラストの構造式を図 1: 1 に示す。

ネランドミラストの化学名は，(5*R*)-2-[4-(5-クロロピリミジン-2-イル)ピペリジン-1-イル]-4-{[1-(ヒドロキシメチル)シクロブチル]アミノ}-6,7-ジヒドロ-5*H*-5λ⁴-チエノ[3,2-*d*]ピリミジン-5-オンであり，分子式は $C_{20}H_{25}ClN_6O_2S$，分子量は 448.97 である。

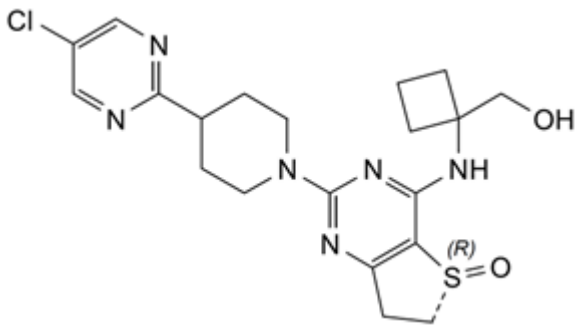



**図 1: 1 ネランドミラストの構造式**

本申請で予定している効能・効果及び用法・用量については［CTD 1.8］に記載する。

## 第 2 部 CTD の概要

| | |
|---|---|
| **JAN あるいは販売名：** | ネランドミラスト |
| **剤形・含量：** | フィルムコート錠 ・ 9 mg，18 mg |
| **文書名：** | 2.6.2 薬理試験の概要文 |
| **文書作成日：** | 7 April 2026 |



**Proprietary confidential information**
**© 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.**
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 ..... 2
略号一覧表 ..... 4
1. まとめ ..... 5
2. 効力を裏付ける試験 ..... 7
2.1 分子プロファイリング ..... 7
2.1.1 ヒト遺伝子組換え PDE に対する阻害活性 ..... 7
2.1.2 ヒト主要代謝物 BI 764333 の薬理活性 ..... 7
2.1.3 ヒト代謝物 CD 6352 及び PD 1420 の薬理活性 ..... 7
2.2 *In vitro* 抗炎症アッセイ ..... 8
2.2.1 ヒト PBMC における TNF-α 及び IL-2 産生阻害 ..... 8
2.3 *Ex vivo* 抗炎症アッセイ ..... 8
2.3.1 *Ex vivo* における LPS 刺激による TNF-α 産生に対する阻害 ..... 8
2.4 *In vivo* 抗炎症モデル ..... 9
2.4.1 ラット BALF における LPS 刺激好中球増加に対する阻害 ..... 9
2.4.2 スンクス BALF における LPS 刺激好中球数増加に対する阻害 ..... 10
2.5 *In vitro* 線維化モデル ..... 11
2.5.1 IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞における FMT に対するネランドミラストの作用 ..... 11
2.5.2 IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞における増殖に対するネランドミラストの作用 ..... 12
2.6 *In vivo* 肺線維症モデル ..... 13
2.6.1 ブレオマイシン誘発マウス肺線維症モデルにおける治療的投与による作用 ..... 14
2.6.2 ブレオマイシン誘発ラット肺線維症モデルにおける治療的投与による作用 ..... 14
3. 副次的薬理試験 ..... 16
3.1 雄スンクスにおける催吐作用 ..... 16
3.2 ネランドミラストの短期間投与による忍容性プロファイル ..... 16
3.3 ラット，ミニブタ及びヒト全血における TNF-α 産生の阻害及び IL-6 の産生誘導 ..... 17
3.4 70 種類の受容体，5 種類のチャネル，3 種類のトランスポーター及び 42 種類の酵素に対する作用 ..... 18
4. 安全性薬理試験 ..... 19
4.1 中枢神経系に及ぼす影響 ..... 19
4.1.1 ラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響 ..... 19
4.1.2 ラットを用いた中枢神経系コアバッテリー試験 ..... 19
4.2 心血管系に及ぼす影響 ..... 19
4.2.1 HEK293 細胞の hERG を介したカリウム電流及び摘出モルモット乳頭筋の活動電位波形に及ぼす影響 ..... 19
4.2.2 ラットを用いた心血管系テレメトリー試験 ..... 20

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.2.3 ミニブタを用いた心血管系テレメトリー試験 ..... 20
4.2.4 心血管系コアバッテリー試験 ..... 20
4.2.5 反復投与毒性試験における心血管系に及ぼす影響 ..... 21
4.3 呼吸系に及ぼす影響 ..... 21
4.3.1 ラット呼吸系に及ぼす影響 ..... 21
4.3.2 呼吸系コアバッテリー試験 ..... 21
4.4 他の器官系に及ぼす影響 ..... 21
4.4.1 腎/泌尿器・肝臓系に及ぼす影響 ..... 21
4.4.2 胃腸管系に及ぼす影響 ..... 22
5. 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 23
6. 考察及び結論 ..... 24
7. 図表 ..... 26
8. 参考文献 ..... 27

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 略号一覧表

| | | |
|---|---|---|
| α-SMA | alpha smooth muscle actin | α 平滑筋アクチン |
| APA | action potential amplitude | 活動電位振幅 |
| APD | action potential duration | 活動電位持続時間 |
| BALF | bronchoalveolar lavage fluid | 気管支肺胞洗浄液 |
| cAMP | cyclic adenosine monophosphate | 環状アデノシン一リン酸 |
| $C_{max,ss}$ | maximum concentration in steady state | 定常状態における最高血漿中濃度 |
| Col | collagen | コラーゲン |
| DAP | diastolic arterial pressure | 拡張期動脈圧 |
| dP/dt | rate of pressure change over time | 左室圧変化率（左室圧の時間による一次微分） |
| ECM | extracellular matrix | 細胞外マトリックス |
| $ED_{50}$ | half maximal effective dose | 50%有効量 |
| ELISA | enzyme linked immunosorbent assay | 酵素結合免疫吸着測定法 |
| FGF | fibroblast growth factor | 線維芽細胞増殖因子 |
| FMT | fibroblast-to-myofibroblast transition | 線維芽細胞から筋線維芽細胞への形質転換 |
| FN | fibronectin | フィブロネクチン |
| FOC | force of contraction | 収縮力 |
| FVC | forced vital capacity | 努力肺活量 |
| 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 |
| HEC | hdroxyethyl cellulose | ヒドロキシエチルセルロース |
| HEK | human embryonic kidney cells | ヒト胎児腎 |
| hERG | human-ether-à-go-go-related gene | ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子 |
| HR | heart rate | 心拍数 |
| $IC_{50}$ | half-maximal inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| IL | interleukin | インターロイキン |
| IPF | idiopathic pulmonary fibrosis | 特発性肺線維症 |
| LPS | lipopolysaccharide | リポ多糖 |
| LVdP/dt-max | left ventricular dp/dt maximum | 左室圧最大上昇速度 |
| μCT | micro-computed tomography | マイクロコンピュータ断層撮影 |
| MSD | Meso Scale Discovery | - |
| MRHD | maximum recommended human dose | 最大推奨臨床用量 |
| OS | overshoot | オーバーシュート |
| PBMC | peripheral blood mononuclear cells | 末梢血単核細胞 |
| PDE | phosphodiesterase | ホスホジエステラーゼ |
| PHA-P | phytohemagglutinin-P | フィトヘマグルチニン-P |
| p.o. | per os, orally | 経口 |
| PPF | progressive pulmonary fibrosis | 進行性肺線維症 |
| PV | pressure-volume | 圧容積 |
| QT | time between the start of the Q wave and the end of the T wave | Q 波の始まりから T 波の終わりまでの時間 |
| RMP | resting membrane potential | 静止膜電位 |
| SAP | systolic arterial pressure | 収縮期動脈圧 |
| SEM | standard error of the mean | 標準誤差 |
| TGF-β | transforming growth factor beta | 形質転換増殖因子 β |
| TNF-α | tumor necrosis factor alpha | 腫瘍壊死因子 α |
| V-max | maximum velocity | 位相 0 立ち上がりの最大速度 |

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 1. まとめ

ネランドミラスト（Boehringer Ingelheim コード番号：BI 1015550）は，経口投与可能なホスホジエステラーゼ（PDE）4B に対する優先的阻害剤である。PDE4B は細胞内セカンドメッセンジャーである環状アデノシン一リン酸（cAMP）を加水分解して不活性化する。ネランドミラストは，PDE4B を阻害することにより cAMP の細胞内濃度を増加させ，その結果として肺線維症において過剰発現される線維化促進増殖因子及び炎症性サイトカインの発現が減少するため，抗炎症作用及び抗線維化作用をもたらす。

PDE4 には A から D のサブタイプが存在する。PDE4B は肺で高発現しており，肺線維症の病態において中心的な役割を果たす［CTD 4.3-03_R13-0109，CTD 4.3-04_R23-0312］。一方で，サブタイプを区別しない pan-PDE4 阻害剤をヒトに投与したとき，PDE4 の阻害に関連する胃腸障害（嘔吐，悪心など）が副作用として報告されているが，これらの副作用は PDE4D の阻害が重要なドライバーになることが報告されている［CTD 4.3-05_P06-10894，CTD 4.3-06_R10-1413］。ネランドミラストは，PDE4A，C 及び D と比べて PDE4B を選択的に阻害し，PDE4D 阻害による副作用を低減させた［CTD 4.3-01_P22-02946，CTD 4.3-02_P23-04672］特発性肺線維症（IPF）及び進行性肺線維症（PPF）の治療薬として開発が進められている。

ネランドミラストの効力を裏付ける試験は，*in vitro*，*ex vivo* 及び *in vivo* で実施し，抗炎症作用及び抗線維化作用について検討した。

ヒト組換え PDE タンパク質を用いた *in vitro* 試験では，ネランドミラストの PDE4B 阻害活性は，PDE4 の他のサブタイプに対する阻害活性よりも高く，50%阻害濃度（$IC_{50}$）値は 10.3 nmol/L であり，PDE4D の $IC_{50}$ 値の約 1/9 倍であった。ネランドミラストは，ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いた *in vitro* 試験において炎症性サイトカイン産生（リポ多糖［LPS］刺激による腫瘍壊死因子-α［TNF-α］産生及びフィトヘマグルチニン-P［PHA-P］刺激によるインターロイキン［IL］-2 産生）を阻害した。また，IPF 患者由来初代培養肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 試験により，ネランドミラストの抗線維化活性を評価した。ネランドミラストは，α 平滑筋アクチン（α-SMA）及び細胞外マトリックス（ECM）のコラーゲン（Col）1A1，Col 3A1 及びフィブロネクチン（FN）の産生を抑制したことから，抗線維化作用を持つことが示唆された。*In vitro* における線維芽細胞から筋線維芽細胞への形質転換（FMT）の抑制作用は，肺線維症治療薬であるニンテダニブよりネランドミラストで強かった。また，ネランドミラストは線維芽細胞の増殖を抑制し，臨床的に効果が認められる濃度のニンテダニブと併用したとき，線維芽細胞増殖抑制に対する相乗効果を示した。ネランドミラストのヒトでの主な代謝物である BI 764333，CD 6352 及び PD 1420（ネランドミラストの *S*-エナンチオマー）の 13 種類の PDE に対する阻害活性はネランドミラストに比べて十分に低かったことから，これらの代謝物の薬理学的な寄与は低いことが示唆された。

ネランドミラストを経口投与したマウスの全血を用いた *ex vivo* 試験では，LPS 刺激による TNF-α 産生増加が抑制され，抗炎症作用が示された。

*In vivo* 試験では，ラット及びスンクス（*Suncus murinus*）において，ネランドミラストは，LPS 刺激による気管支肺胞洗浄液（BALF）の好中球数増加を用量依存的に阻害した。また，マウス及

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

びラットのブレオマイシン誘発肺線維症モデルにおいて，ネランドミラストによる肺機能の改善及び肺線維化の抑制がみられた。

副次的薬理試験として，ラット及びスンクスを用いた *in vivo* 試験，ラット，ミニブタ及びヒト全血を用いた *in vitro* 試験，並びにオフターゲットプロファイリングのための *in vitro* 試験を実施した。スンクスの嘔吐モデルにおいて，ネランドミラストの投与による催吐作用は低用量ではほとんどみられず，高用量（スンクスの LPS 刺激炎症モデルで算出された 50%有効量［$ED_{50}$］値の約 10 倍）でもごくわずかであった。既存の pan-PDE4 阻害剤では，非臨床及び臨床のいずれにおいても毒性又は副作用が発現することから，短期間投与による忍容性プロファイルを評価するために，ラットにネランドミラストの高用量を 4 日間経口投与して体重，脾臓重量及び血中好中球数を測定し，病理組織学的検査を実施した。この試験の結果，ネランドミラストの良好な忍容性が示された。また，ラットでは高用量の pan-PDE4 阻害剤による腸間膜や消化管における炎症がみられるが，これは IL-6 発現の増加と関連があると考えられている［CTD 4.3-07_R09-0156］。そのため，ラット，ミニブタ及びヒト全血を用いたアッセイにより TNF-α 産生阻害及び IL-6 産生への影響を検討した。その結果，ラット全血では高濃度のネランドミラストによる IL-6 産生の増加がみられたが，ミニブタ及びヒト全血では IL-6 産生の増加はみられなかった。ネランドミラストは，*in vitro* のアッセイにおいて 70 種類の受容体，5 種類のチャネル，3 種類のトランスポーターに 10 μmol/L の濃度で結合を示さず，試験に用いた 42 種類の酵素のうち PDE4D 以外の 41 種類の酵素に対して，10 μmol/L の濃度で活性を示さなかった。

中枢神経系機能，心血管系機能，呼吸系機能，並びに胃腸管，腎/泌尿器及び肝臓の機能に関する安全性薬理評価において，ネランドミラストの投与に関連する影響は認められなかった。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

# 2. 効力を裏付ける試験

## 2.1 分子プロファイリング

### 2.1.1 ヒト遺伝子組換え PDE に対する阻害活性

ネランドミラストの cAMP 選択的 PDE アイソザイム内での選択性を，ヒト組換え PDE4B2，PDE4D2，PDE3A 及び PDE7A2 について評価した。ヒト組換え PDE タンパク質はバキュロウイルス-昆虫細胞発現系（BAC-TO-BAC® Baculovirus Expression System, Invitrogen）で発現させた。PDE 活性はシンチレーション近接アッセイ（Phosphodiesterase [$^3$H]cAMP SPA Enzyme Assay, GE Healthcare）を用いて測定した。PDE アイソザイムの酵素活性及びネランドミラストの阻害作用は，[$^3$H]cAMP から変換された[$^3$H]AMP を Wallac Microbeta カウンターで測定することにより評価した［CTD 4.2.1.1-01_n00200798，CTD 4.2.1.1-13_206993_11685483］。

ネランドミラストはヒト PDE4B2 を強力に阻害し，$IC_{50}$ の平均値は 10.3 nmol/L（2 回の試験の $IC_{50}$ 値はそれぞれ 7.2 nmol/L 及び 13.3 nmol/L）であった。PDE4D2 阻害の $IC_{50}$ の平均値は 91.4 nmol/L（2 回の試験の $IC_{50}$ 値はそれぞれ 100 nmol/L 及び 82.7 nmol/L）であり，PDE4D に比べて PDE4B に 9 倍の阻害活性を示した。PDE4A 及び PDE4C2 阻害の $IC_{50}$ の平均値はそれぞれ 248 nmol/L（3 回の試験の $IC_{50}$ 値は 325，233 及び 185 nmol/L）及び 8.7 µmol/L（3 回の試験の $IC_{50}$ 値は 10848，9709 及び 5540 nmol/L）であった。ネランドミラストの PDE3A 阻害活性は極めて弱く，$IC_{50}$ 値は 119.75 µmol/L（n=1），PDE7A 阻害の $IC_{50}$ 値は 13.83 µmol/L（n=1）であった。

### 2.1.2 ヒト主要代謝物 BI 764333 の薬理活性

BI 764333（M480(4)）は，ネランドミラストを投与した健康男性被験者の血漿中に総薬物関連物質量の 10%を超えて検出された主要代謝物である［CTD 2.6.4_5.2.5 項］。BI 764333 の薬理活性を調べるために，13 種類の PDE ファミリー分子を用いて酵素阻害活性を評価した［CTD 4.2.1.1-03_n00261809］。

BI 764333 は 10 µmol/L の濃度で PDE4A1A，PDE4B1 及び PDE4D2 をそれぞれ 51.9%，77.2%及び 60.4%阻害した。試験に用いたその他の PDE（PDE1B，PDE2A1，PDE3A，PDE3B，PDE5，PDE6，PDE7A1，PDE8A1，PDE10A2 及び PDE11A）に対する阻害率は 15.5%以下であった［CTD 4.2.1.1-03_n00261809］。臨床試験において，ネランドミラストを 12 及び 18 mg の用量で 1 日 2 回投与したときの BI 764333 の定常状態におけるヒト最高血漿中濃度（$C_{max,ss}$）の幾何平均はそれぞれ 38.7 及び 68.7 nmol/L であり，10 µmol/L よりも極めて低かった。したがって，臨床における BI 764333 の薬理学的な寄与は低いことが示唆される。

### 2.1.3 ヒト代謝物 CD 6352 及び PD 1420 の薬理活性

CD 6352 は，ネランドミラストを投与した健康男性被験者の血漿中に BI 764333 に次いで多く検出された代謝物であり，糞中では最も多く検出された［CTD 2.6.4_5.2.5 項］。また，PD 1420 はネランドミラストの *S*-エナンチオマーであり，ヒト及び非臨床動物種の生体内でキラル反転により生成される代謝物である［CTD 2.6.4_8.2 項］。CD 6352 及び PD 1420 の薬理活性を調べるために，13 種類の PDE ファミリー分子を用いて酵素阻害活性を評価した［CTD 4.2.1.1-04_n00300855］。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

CD 6352 は 10 µmol/L の濃度で PDE4B1 を 60.8%阻害し，PD 1420 は 10 µmol/L の濃度で PDE4A1A，PDE4B1 及び PDE4D2 をそれぞれ 77.1%，94.8%及び 89.9%阻害した。試験に用いたその他の PDE（PDE1B，PDE2A1，PDE3A，PDE3B，PDE5，PDE6，PDE7A1，PDE8A1，PDE10A2 及び PDE11A）の 10 µmol/L の PD 1420 による阻害率はいずれも 15.7%以下であった［CTD 4.2.1.1-04_n00300855］。CD 6352 は試験を実施した 10 µmol/L の高濃度においても，PDE4B1 に対して限られた阻害活性しか示さなかったことから，CD 6352 の薬理学的な寄与は低いことが示唆された。3 種類の PDE4 アイソザイム（PDE4A1A，PDE4B1 及び PDE4D2）に対する PD 1420 の $IC_{50}$ 値は，PDE4A1A，PDE4B1 及び PDE4D2 でそれぞれ 3.1 µmol/L，660 nmol/L 及び 1.6 µmol/L であった（すべて n=1）［CTD 4.2.1.1-05_n00296076］。主な標的である PDE4B に対する PD 1420 の阻害活性はネランドミラストの PDE4B2 阻害活性（$IC_{50}$ 値 10 nmol/L）の 66 分の 1 であったため，PD 1420 の薬理学的な寄与は低いことが示唆された。

## 2.2 *In vitro* 抗炎症アッセイ

### 2.2.1 ヒト PBMC における TNF-α 及び IL-2 産生阻害

ネランドミラストの細胞における活性を，ヒト PBMC を用いて確認した。単球を LPS で刺激したときに誘導される TNF-α の産生増加は，PDE4 阻害剤によって阻害されることが報告されている［CTD 4.3-21_R09-0263］。また，PBMC 中の T 細胞は，PHA 刺激により IL-2 を産生するが，この反応は PDE4 阻害剤による cAMP 上昇によって阻害される［CTD 4.3-22_R09-0322］。これらのことから，Ficoll-Paque 密度勾配遠心分離で精製したヒト PBMC（6 例のドナーより採取）を用いて，LPS 刺激による TNF-α 産生及び PHA-P 刺激による IL-2 産生に対するネランドミラストの阻害作用を評価した。PBMC を 1 nmol/L から 100 µmol/L のネランドミラスト存在下で培養し，TNF-α 産生試験では 100 ng/mL LPS で 4 時間，IL-2 産生試験では 10 µg/mL PHA-P で 20 時間刺激した。培養液上清中のサイトカインを酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）で測定した［CTD 4.2.1.1-06_n00201000］。

LPS 刺激による TNF-α 産生に対するネランドミラストの阻害作用の $IC_{50}$ 値は 35 nmol/L（n=1）であり，PHA-P 刺激による IL-2 産生に対するネランドミラストの阻害作用の $IC_{50}$ 値は 9 nmol/L（n=1）であった。

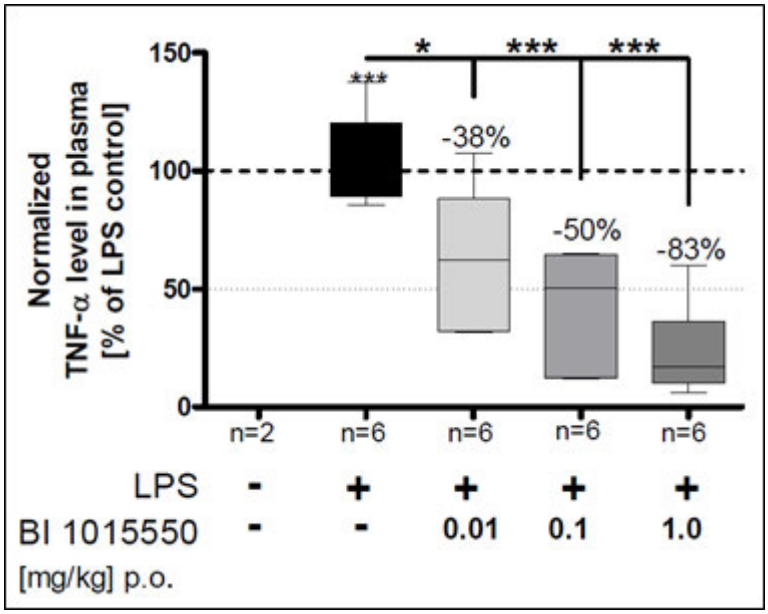
## 2.3 *Ex vivo* 抗炎症アッセイ

### 2.3.1 *Ex vivo* における LPS 刺激による TNF-α 産生に対する阻害

ネランドミラストの *in vivo* 有効性に関する情報を得るため，雌 NMRI マウスに 0.01，0.1 及び 1 mg/kg のネランドミラストを単回強制経口投与し，投与 2 時間後に採取した血液を用いた *ex vivo* 試験で TNF-α 産生阻害作用を評価した。採取した全血を LPS（900 ng/mL）で 4 時間刺激した後，血漿中の TNF-α を ELISA で測定した［CTD 4.2.1.1-07_n00073869］。

LPS 刺激による TNF-α 産生に対するネランドミラストの $ED_{50}$ は 0.04 mg/kg であった（図 2.3.1: 1）。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies




BI 1015550: nerandomilast, LPS: lipopolysaccharide, p.o.: per os, TNF-α: tumor necrosis factor alpha
Results are shown as means ± standard error of the mean from the number of animals indicated.
* p<0.05, *** p<0.001, Statistical analysis was performed using a one-way ANOVA and the Dunnett post hoc test comparing all groups of one single independent experiment with the positive control. In the same way, statistical analysis was performed comparing positive control group with negative control.
Source data: [CTD 4.2.1.1-07_n00073869]

図 2.3.1: 1　　ネランドミラスト経口投与後のマウスの全血を用いた *ex vivo* LPS 刺激による TNF-α 産生阻害

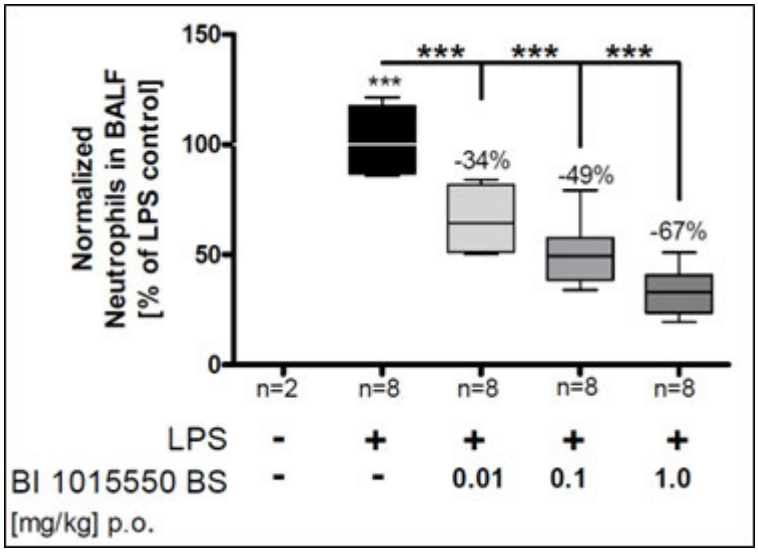
## 2.4　*In vivo* 抗炎症モデル

### 2.4.1　ラット BALF における LPS 刺激好中球増加に対する阻害

ネランドミラストのラット BALF における LPS 刺激による好中球数増加に対する阻害作用を評価した。雄 Wistar Han ラットに 0.01，0.1 及び 1 mg/kg のネランドミラストを強制経口投与し，投与 1 時間後に通常の空気又はネブライザーで気化した LPS（1 mg/mL）を含む空気を 30 分間吸入させた。LPS への曝露終了の 4 時間後に動物を安楽殺し，BALF 中の好中球数を血球計で測定した［CTD 4.2.1.1-08_n00202222］。

LPS を曝露していない無処置対照群の動物では，好中球数はごくわずかであった。LPS を曝露した動物では，好中球数が大きく増加した。ネランドミラストを投与した動物では，LPS 刺激による好中球数増加がネランドミラストの用量依存的に阻害され，$ED_{50}$ 値は 0.1 mg/kg であった（図 2.4.1: 1）。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies




BALF: bronchoalveolar lavage fluid, BI 1015550 BS: nerandomilast, LPS: lipopolysaccharide, p.o.: per os
Results are shown as means ± standard error of the mean from the number of animals indicated.
*** p<0.001, Statistical analysis was performed using a one-way ANOVA and the Dunnett post hoc test comparing all groups of one single independent experiment with the positive control. In the same way, statistical analysis was performed comparing positive control group with negative control.
Source data: [CTD 4.2.1.1-08_n00202222]

図 2.4.1: 1　　ラット BALF における LPS 刺激による好中球数増加に対する阻害

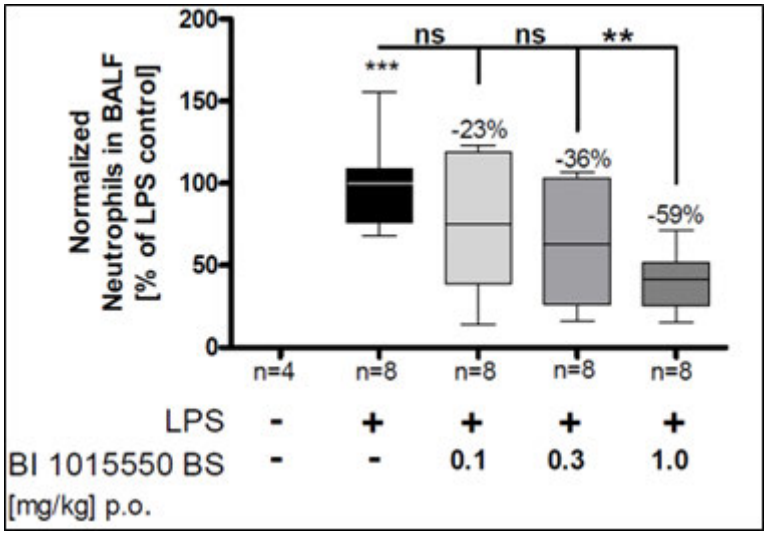
## 2.4.2　　スンクス BALF における LPS 刺激好中球数増加に対する阻害

ラットでは嘔吐反射がないため，効力と副作用を同一動物種で比較することができない。そこで，スンクスを用いてネランドミラストの LPS 刺激による好中球数増加に対する阻害作用と催吐作用を検討した。本項では LPS 刺激後の BALF 中の好中球数増加に対する阻害作用について記載し，催吐作用については 2.3.1 項に記載した。

雄スンクスに 0.1，0.3 及び 1 mg/kg のネランドミラストを強制経口投与した。投与 30 分後に，通常の空気又はネブライザーで気化した LPS（1 mg/mL）を含む空気を 30 分間吸入させた。LPS への曝露終了の 4 時間後に動物を安楽殺し，BALF 中の好中球数を血球計で測定した［CTD 4.2.1.1-09_n00074065］。

LPS を曝露していない無処置対照群の動物では，好中球数はごくわずかであった。LPS を曝露した動物では，好中球数が大きく増加した。0.1，0.3 及び 1 mg/kg のネランドミラストを投与した動物では，LPS 刺激による好中球数増加が用量依存的に阻害され，$ED_{50}$ 値は 0.6 mg/kg であった（図 2.4.2: 1）。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies




BALF: bronchoalveolar lavage fluid, BI 1015550 BS: nerandomilast, LPS: lipopolysaccharide, ns: not significant, p.o.: per os
Results are shown as means ± standard error of the mean from the number of animals indicated.
*** p<0.001, ** p<0.01, Statistical analysis was performed using a one-way ANOVA and the Dunnett post hoc test comparing all groups of one single independent experiment with the positive control. In the same way, statistical analysis was performed comparing positive control group with negative control.
Source data: [CTD 4.2.1.1-09_n00074065]

図 2.4.2: 1　　スンクス BALF における LPS 刺激による好中球数増加に対する阻害

## 2.5　　*In vitro* 線維化モデル

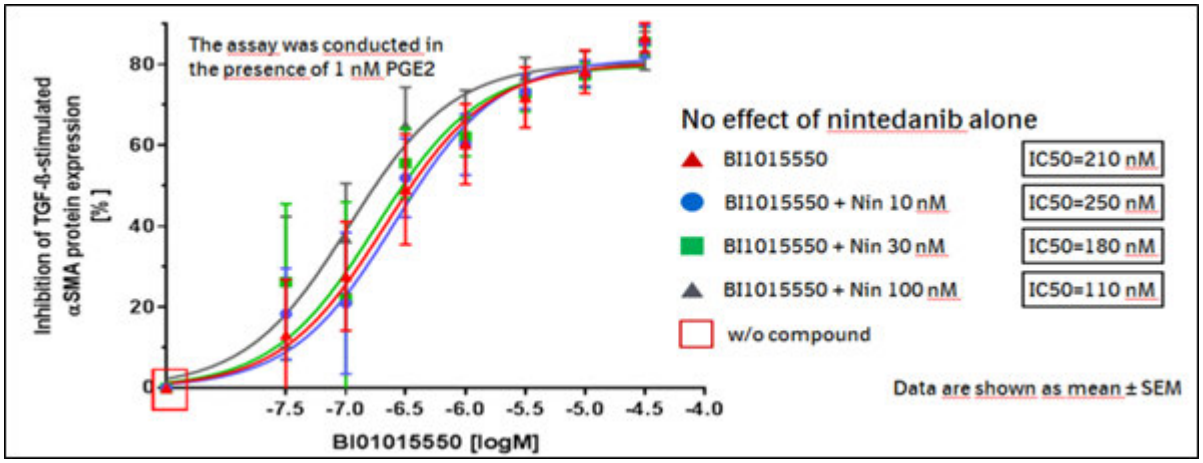
複数の *in vitro* アッセイ系（上皮間葉転換, ECM の沈着及び代謝, 線維芽細胞増殖/運動性, FMT, 並びにアポトーシス）において，PDE4 の阻害及び細胞内 cAMP の増加は，有益な抗線維化作用をもたらすことが報告されている［CTD 4.3-23_R12-5544］。そこで，IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞における FMT 及び増殖に対するネランドミラストの作用を評価する試験を実施した。これら試験の結果について以下に述べる。

### 2.5.1　　IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞における FMT に対するネランドミラストの作用

ヒト初代培養肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 線維化メカニズムに関するアッセイでネランドミラストの FMT に対する作用機序を評価し, 既存の肺線維症治療薬であるニンテダニブ及びピルフェニドンと比較した。FMT は α-SMA の発現及び ECM（Col 及び FN）の発現を指標とした。6 例の IPF 患者由来の肺線維芽細胞を飢餓培地で 24 時間培養後，ニンテダニブ（濃度：10，30 及び 100 nmol/L）又はピルフェニドン（濃度：100 µmol/L）存在又は非存在下で複数濃度のネランドミラストとともに 30 分間インキュベートし，その後 4 ng/mL の形質転換増殖因子 β（TGF-β）で 48 時間刺激した。α-SMA タンパク質を Western replacement アッセイ（Meso Scale Discovery［MSD］）で，Col 1A1，Col 3A1 及び FN のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）の発現をリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応で測定した［CTD 4.2.1.1-10_n00255600］。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ネランドミラストは IPF 患者由来肺線維芽細胞において TGF-β 刺激による α-SMA 発現を濃度依存的に阻害し，$IC_{50}$ 値は 210 nmol/L であった。このアッセイでは，ニンテダニブ単独では阻害活性が認められなかったことから，肺線維芽細胞から活性型のコラーゲン産生細胞への FMT に対するネランドミラストの阻害作用は，ニンテダニブの抗線維化作用を補完できるものであると考えられる（図 2.5.1: 1）。ピルフェニドンとネランドミラストを併用したときの $IC_{50}$ 値は 310 nmol/L であり，ネランドミラスト単独の阻害作用と有意な差は認められなかった。




αSMA: α smooth muscle actin, BI01015550, BI1015550: nerandomilast, IC50: half-maximal inhibitory concentration, Nin: nintedanib, nM: nmol/L, PGE2: Prostaglandin E2, SEM: standard error of the mean, TGF-β: transforming growth factor β, w/o: without
Source data: [CTD 4.2.1.1-10_n00255600]

**図 2.5.1: 1　IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞を TGF-β で刺激したときの α-SMA 発現に対するネランドミラストとニンテダニブの阻害作用**

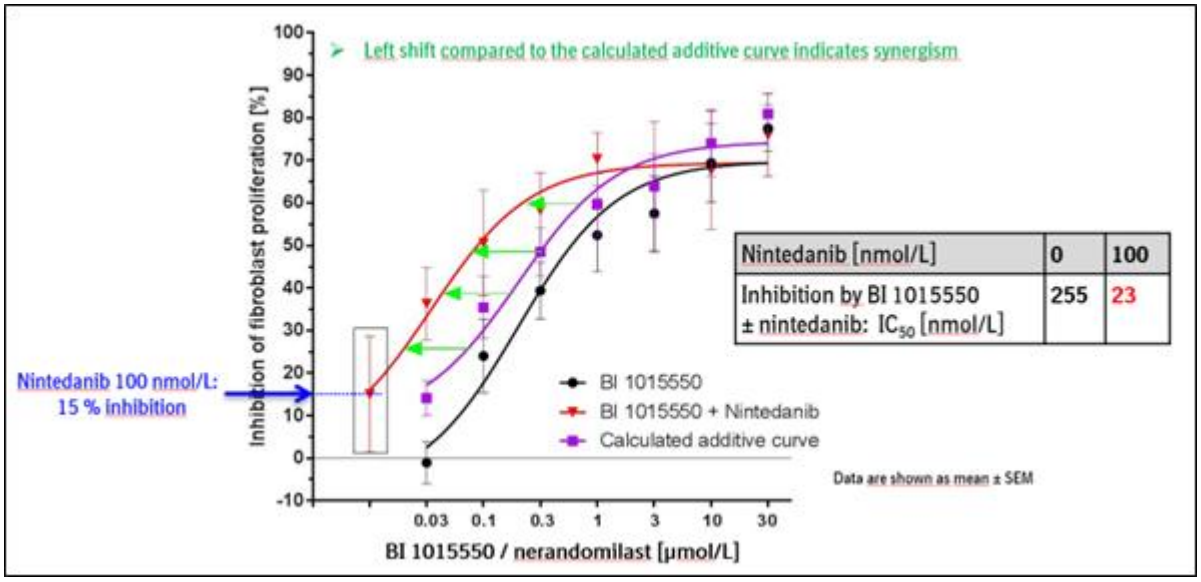
ネランドミラストは，IPF 患者由来初代培養肺線維芽細胞において TGF-β 刺激による Col 1A1, Col 3A1 及び FN の mRNA の発現を濃度依存的に阻害し，$IC_{50}$ 値はそれぞれ 269, 213 及び 246 nmol/L であった。ニンテダニブ（30 及び 100 nmol/L）を併用しても，ネランドミラストの Col 1A1 及び FN 発現阻害に上乗せ効果はみられなかった。Col 3A1 阻害の用量反応曲線はネランドミラスト単独で処置した場合に比べ，ニンテダニブとの併用では上方に約 2～3 倍シフトし（100 nmol/L のニンテダニブと併用時の $IC_{50}$ 値は 90 nmol/L），ネランドミラストのみでの処置と比べて上乗せ効果の傾向がみられた［CTD 4.2.1.1-10_n00255600］。この試験では，ピルフェニドンを用いた検討は実施していない。

## 2.5.2　IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞における増殖に対するネランドミラストの作用

次に，ネランドミラストの肺線維芽細胞増殖に対する作用を検討した。5 例の IPF 患者由来初代培養肺線維芽細胞を飢餓培地で 24 時間培養後，100 nmol/L のニンテダニブ又は 100 µmol/L のピルフェニドン存在又は非存在下で複数濃度のネランドミラストとともに 30 分間インキュベート

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

し，その後 20 ng/mL の線維芽細胞増殖因子（FGF）及び 30 pg/mL の IL-1β で 92 時間刺激した。ネランドミラストは FGF 及び IL-1β の刺激による IPF 患者由来肺線維芽細胞の増殖を濃度依存的に阻害し，$IC_{50}$ 値はニンテダニブ存在下及び非存在下でそれぞれ 23 nmol/L 及び 255 nmol/L であった。この試験系におけるニンテダニブ単独（100 nmol/L）での増殖阻害率は 15%であった。ニンテダニブ存在下でのネランドミラストの増殖阻害率の濃度反応曲線（図 2.5.2: 1，赤色曲線）は，ネランドミラスト及びニンテダニブそれぞれの単独での阻害率を足し合わせた濃度反応曲線（図 2.5.2: 1，紫色曲線）よりも低濃度側にシフトしており，ネランドミラスト単独の増殖阻害率の濃度反応曲線（図 2.5.2: 1, 黒色曲線）から約 10 倍低濃度側にシフトした［CTD 4.2.1.1-10_n00255600］。この試験系において，ネランドミラストとピルフェニドンを併用したときの $IC_{50}$ 値は 100 nmol/L であったが，ネランドミラスト単独の $IC_{50}$ 値と有意な差はなく，追加的な増殖抑制作用は認められなかった。




$IC_{50}$: half-maximal inhibitory concentration, SEM: standard error of the mean
Source data: [CTD 4.2.1.1-10_n00255600]

図 2.5.2: 1　IL-1β 及び線維芽細胞増殖因子刺激による IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞の増殖に対するネランドミラスト及びニンテダニブの阻害作用

## 2.6　*In vivo* 肺線維症モデル

ブレオマイシンは，ヒトで様々ながん種の治療に用いられているが，治療を受けた患者の 3%～5%で間質性肺線維症が発現する。現在，ブレオマイシンは，線維化に関与するメカニズムの研究及び治療法の評価のため，げっ歯類の肺線維症のモデル作製に広く使用されている。ブレオマイシン誘発肺線維症モデルはヒト肺線維症の多くの特徴を有するが，異なる点もある。例えば，げっ歯類のブレオマイシン誘発肺線維症は休薬により治癒するが，ヒトでは一般的に線維化は不可逆的である［CTD 4.3-24_R17-0773］。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

マウス及びラットのブレオマイシン誘発肺線維症モデルに，ネランドミラストを治療的に投与（ブレオマイシン気管内投与による初期炎症期の後にネランドミラストの投与開始）する試験を実施し，肺機能測定や高分解能マイクロコンピュータ断層撮影（μCT）でネランドミラストの作用を評価した。

### 2.6.1 ブレオマイシン誘発マウス肺線維症モデルにおける治療的投与による作用

雄 C57BL/6J マウスにブレオマイシン（1 mg/kg in 0.9% NaCl）を気管内投与し（Day 0），肺線維症を誘発させた。その後，Day 8 から Day 13 までネランドミラスト（2.5 及び 12.5 mg/kg，1 日 2 回）又は BIBF 1000（ニンテダニブに構造的に類似したツール化合物，60 mg/kg，1 日 1 回）を強制経口投与した。Day 12 に μCT 解析により肺線維化容積を測定した。Day 14 に肺機能（圧・容積［PV］ループ，努力肺活量［FVC］，肺コンプライアンス）を測定した。BALF を採取後，左肺葉を固定し線維化の指標として Ashcroft スコアを評価した［CTD 4.2.1.1-11_n00255482］。

結果を表 2.6.1: 1 に示す。ネランドミラストの投与による体重の減少はみられなかった。また，BALF 中の単球数及びタンパク質濃度に影響はみられなかった。ネランドミラストの 12.5 mg/kg，1 日 2 回投与群では，PV-ループ及び FVC が有意に改善し，μCT 解析で評価した肺線維化容積率は有意ではないが 39%の改善を示した。Ashcroft スコアの有意な改善はみられなかった。BIBF 1000 の投与による体重の減少は認められず，BALF 中の単球数及びタンパク質濃度にも影響はみられなかった。μCT 解析で評価した肺線維化容積率は 42%の有意な改善を示し，PV-ループ及び FVC は有意ではないが改善が認められた。Ashcroft スコアの有意な改善はみられなかった。

表 2.6.1: 1 ブレオマイシン誘発マウス肺線維症モデルにおけるネランドミラスト及び BIBF 1000 の作用

| | PV-Loops [% improvement] | FVC [% improvement] | Fibrosis Score (Ashcroft score) [% improvement] | μCT (lung fibrotic volume / total lung volume) [% improvement] |
|---|---|---|---|---|
| Nerandomilast 2.5 mg/kg, b.i.d. | 21 | 18 | 2 | 4 |
| Nerandomilast 12.5 mg/kg, b.i.d. | 40** | 41* | 11 | 39 |
| BIBF 1000 60 mg/kg, q.d. | 22 | 29 | 12 | 42* |

b.i.d.: twice daily, FVC: forced vital capacity, μCT: micro-computed tomography, PV: pressure-volume, q.d.: once daily
* p<0.05, **<0.01, For BIBF 1000, statistical statement based on adjusted co-variant analysis. For nerandomilast, statistical analysis was performed using the Dunnett's test.
Data are shown as mean value.
Source data: [CTD 4.2.1.1-11_n00255482]

### 2.6.2 ブレオマイシン誘発ラット肺線維症モデルにおける治療的投与による作用

雄 Wistar Han ラットに，ブレオマイシン（1 mg/kg，リン酸緩衝生理食塩水溶液）を気管内投与（Day 0）し，肺線維症を誘発させた。その後，Day 10 から Day 20 までネランドミラスト（2.5 mg/kg，

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1 日 2 回）又は BIBF 1000（50 mg/kg，1 日 1 回）を強制経口投与した。Day 18 に μCT により肺線維化容積を測定し，Day 21 に肺機能を測定した。その後，肺を固定して線維化の指標として Ashcroft スコアを評価した［CTD 4.2.1.1-12_n00255483，CTD 4.2.1.1-14_206893_11961531］。

結果を表 2.6.2: 1 に示す。ネランドミラストの投与による体重の減少はみられなかった。ネランドミラストの 2.5 mg/kg，1 日 2 回投与群では，μCT 解析で評価した肺線維化容積率及び PV-ループが有意に改善した。Ashcroft スコアの有意な改善はみられなかった。BIBF 1000 の投与による体重の減少は認められなかった。肺線維化容積率は 81%の有意な改善を示し，PV-ループは有意ではないが改善が認められた。Ashcroft スコアの有意な改善はみられなかった。

表 2.6.2: 1 **ブレオマイシン誘発ラット肺線維症モデルにおけるネランドミラスト及び BIBF 1000 の作用**

| | PV-Loops [% improvement] | FVC [% improvement] | Fibrosis Score (Ashcroft score) [% improvement] | μCT (lung fibrotic volume / total lung volume) [% improvement] |
|---|---|---|---|---|
| Nerandomilast 2.5 mg/kg, b.i.d. | 28* | Cannot be measured in rat | 8 | 64* |
| BIBF 1000 50 mg/kg, q.d. | 22 | | 6 | 81*** |

b.i.d.: twice daily, FVC: forced vital capacity, μCT: micro-computed tomography, PV: Pressure-volume, q.d.: once daily
* p<0.05, *** p<0.001, For BIBF 1000, statistical statement based on adjusted co-variant analysis. For nerandomilast group, statistical analysis was performed using the Dunnett test.
Data are shown as mean value.
Source data: [CTD 4.2.1.1-12_n00255483, CTD 4.2.1.1-14_206893_11961531]

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 3. 副次的薬理試験

### 3.1 雄スンクスにおける催吐作用

嘔吐は PDE4 阻害剤の既知のクラスエフェクトである。PDE4D アイソタイプに対する阻害活性が催吐作用に関与し，PDE4D 阻害活性が低い場合には催吐作用も弱いという仮説［CTD 4.3-06_R10-1413］を裏付けるため，ネランドミラストによる催吐作用の評価を行った。スンクスは，催吐作用に非常に感受性が高いことが知られており，催吐作用評価のモデル動物として用いられている。

雄スンクスに 0.5 又は 6 mg/kg のネランドミラストを強制経口投与し，嘔吐事象を評価するため，各動物をプレチスモグラフィーボックスに入れて 3 時間観察した。社内で開発したソフトウェア・アプリケーションを用いて，異常な呼吸パターンの有無を分析した上で，その妥当性を検査担当者が判断し，嘔吐事象を決定した。動物ごとに嘔吐事象を計数し，嘔吐を示した動物数及び平均嘔吐事象数を示した［CTD 4.2.1.2-01_U[redacted]-2242］。

0.5 mg/kg のネランドミラスト（スンクスの LPS 誘導炎症モデルで算出された $ED_{50}$ 値の 0.8 倍，2.4.2 項）を投与したとき，検討した動物 24 例中 3 例で嘔吐が認められ，平均嘔吐事象数は 0.1 であった。6.0 mg/kg のネランドミラスト（スンクスの LPS 誘導炎症モデルで算出された $ED_{50}$ 値の約 10 倍，2.4.2 項）を投与したとき，検討した動物 24 例中 5 例で嘔吐が認められ，平均嘔吐事象数は 0.3 であった。以前に実施した無処置動物（検討した動物 24 例中 2 例で嘔吐が認められ，平均嘔吐事象数は 0.1）及び溶媒（0.5% HEC 水溶液）投与動物を用いた試験（検討した動物 24 例中 3 例で嘔吐が認められ，平均嘔吐事象数は 0.1）との比較から，スンクスにネランドミラストの 0.5 mg/kg を投与しても明らかな催吐作用はみられず，6 mg/kg 投与によりわずかな催吐作用がみられたのみであった。したがって，ネランドミラストの催吐作用は非常に弱いと考えられた。

### 3.2 ネランドミラストの短期間投与による忍容性プロファイル

PDE4 阻害作用については，既知の有益な効果に加えて非臨床（特にラット）及び臨床において多くの毒性又は副作用が報告されているため［CTD 4.3-07_R09-0156］，忍容性を確認する試験を実施した。

Wister Han ラットにネランドミラストを 6 mg/kg（LPS 誘導炎症モデルでの $ED_{50}$ 値の 60 倍）の用量で 4 日間強制経口投与したときの忍容性プロファイルを，溶媒（0.5% HEC 水溶液）投与群と比較して評価した［CTD 4.2.1.2-02_U[redacted]-2049］。体重，脾臓重量及び血中好中球数を忍容性のパラメータとした。さらに，胸腺，脾臓，腸間膜，腸間膜リンパ節，肺及び膵臓の病理組織学的検査を実施した。

6 mg/kg のネランドミラストを 4 日間投与したとき，体重，脾臓重量及び好中球数に顕著な影響はみられなかった。ネランドミラスト投与群では，6 例中 1 例の腸間膜に軽微な限局性単核細胞浸潤が認められた。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

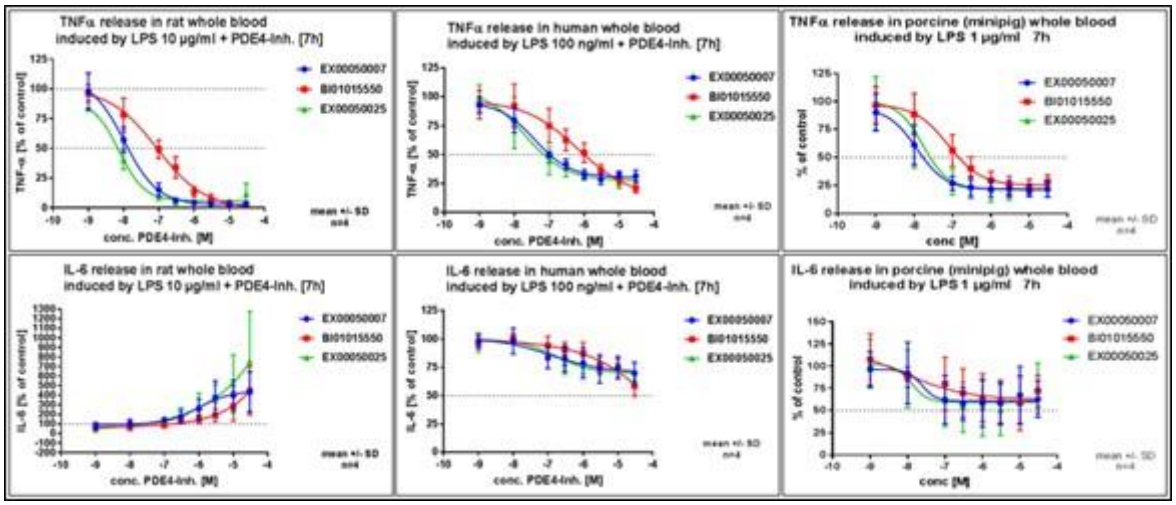
## 3.3 ラット，ミニブタ及びヒト全血における TNF-α 産生の阻害及び IL-6 の産生誘導

ラットは高用量の PDE4 阻害剤による毒性に最も感受性の高い動物種であることが知られている。また，様々な組織での PDE4 の mRNA の発現は，ラットとヒトで大きく異なることが報告されている［CTD 4.3-10_R18-1245］。

ラットにおいては，高用量の pan-PDE4 阻害剤により IL-6 の発現（mRNA 及びタンパク質）が増加することが腸間膜や消化管の炎症の発現に関連していると考えられている［CTD 4.3-07_R09-0156］が，この毒性は，ヒトでは市販されている PDE4 阻害剤でこれまで報告されていない。

ネランドミラスト，ロフルミラスト及びロフルミラスト-N-オキシド（ロフルミラストの活性代謝物）を用いて，ラット，ミニブタ及びヒト全血での TNF-α 産生阻害及び IL-6 産生への影響を検討した。このアッセイでは，雄 Wistar Han ラット（4 例），Göttingen ミニブタ（雌雄各 2 例）及び 4 例の男性ドナーから採血したヘパリン添加全血を用いた。全血をそれぞれの化合物と 30 分間インキュベートした後，LPS（ラット：10 µg/mL，ミニブタ：1 µg/mL，ヒト：100 ng/mL）で 7 時間刺激した。血漿中に放出された TNF-α 及び IL-6 をラット pro-inflammatory panel 2（MSD），IL-6 及び TNF-α に対するブタ Quantikine ELISA（R&D system）及びヒト pro-inflammatory panel 1（MSD）を用いて測定した［CTD 4.2.1.2-03_n00269057］。

ラットでは 3 種類の PDE4 阻害剤による最大 TNF-α 阻害率が 100%であり，IL-6 産生が最大 7 倍になったのに対し，ヒトでは TNF-α の最大阻害率は約 80%で，IL-6 産生の増加は認められず，公表されている結果［CTD 4.3-07_R09-0156］と同様であった。ミニブタでは，TNF-α 阻害の程度と IL-6 の産生について，ヒトでの結果と同様であることが示された（図 3.3: 1）。




BI01015550: nerandomilast, EX00050007: roflumilast, EX00050025: roflumilastN-oxide, IL-6: interleukin 6, LPS: lipopolysaccharide, h: hour, conc.: concentration, PDE4-inh.: phosphodiesterase 4 inhibitor, TNF-α: tumor necrosis factor α
Source data: [CTD 4.2.1.2-03_n00269057]

図 3.3: 1 ラット，ミニブタ及びヒト全血での LPS 誘導 TNF-α の産生阻害及び IL-6 の産生への影響

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

### 3.4 70 種類の受容体，5 種類のチャネル，3 種類のトランスポーター及び 42 種類の酵素に対する作用

オフターゲットプロファイリングのために，70 種類の受容体，5 種類のチャネル，3 種類のトランスポーター及び 42 種類の酵素に対する結合及び酵素アッセイを行い（[redacted]），ネランドミラストの作用を確認した［CTD 4.2.1.2-04_U[redacted]-1565］。

試験を行った 10 μmol/L において，ネランドミラストはこれらの受容体，チャネル及びトランスポーター対する結合を示さなかった。酵素アッセイにおいて，ネランドミラストは 10 μmol/L で，PDE4D に対して 102%の阻害作用を示したが，PDE2A，PDE3A，PDE5 及び PDE6 を含むその他の酵素に対する阻害作用を示さなかった。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 4. 安全性薬理試験

医薬品規制調和国際会議（ICH）M3(R2)ガイダンスに従い，安全性薬理試験を実施した。明記しない限り，*in vivo* 安全性薬理試験では，0.5%ヒドロキシエチルセルロース水溶液（w/v）を溶媒として用いた。

### 4.1 中枢神経系に及ぼす影響

#### 4.1.1 ラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響

Wistar Han ラット（1 群雄 6 例）にネランドミラストを 0（溶媒），0.3，1 及び 3 mg/kg の用量で単回強制経口投与し，Irwin 変法による評価に加え，一般状態，体温，摂餌量及び摂水量，並びに 14 時間にわたる夜間の自発運動量を評価した［CTD 4.2.1.3-07_U[redacted]-2026］（GLP 非適用）。

一般状態観察では，1 及び 3 mg/kg 群の一部の動物で，ケージ内で，常同行動（床敷などをかじる，被毛を引っ掻く，ケージ壁を舐めるなど）が観察されたが，その他に，いずれの観察時点及び用量においても，ネランドミラスト投与に関連する影響は認められなかった。体温及び摂餌量に影響は認められなかったが，摂水量にわずかな減少が認められた（3 mg/kg 群で最大 25%減少）。また，3 mg/kg 群では糞便数が著しく減少した。3 mg/kg 群において，投与後 1 時間の観察で活動性の増加傾向が認められたが，夜間の自発運動量に溶媒投与動物と比較して有意な影響は認められなかった。

#### 4.1.2 ラットを用いた中枢神経系コアバッテリー試験

Wistar Han ラット（1 群雄 8 例）にネランドミラストを 0（溶媒），3，6 及び 12 mg/kg の用量で単回強制経口投与し，投与前，並びに投与後 2，4 及び 24 時間に機能観察総合評価及び自発運動の評価を実施した［CTD 4.2.1.3-01_n00201167］（GLP 適用）。

ラットにおいて，ネランドミラストの 12 mg/kg までの単回投与により，CNS に及ぼす影響はみられなかった。

### 4.2 心血管系に及ぼす影響

#### 4.2.1 HEK293 細胞の hERG を介したカリウム電流及び摘出モルモット乳頭筋の活動電位波形に及ぼす影響

ヒト ether - à-go - go 関連遺伝子（hERG）を発現させたヒト胎児腎（HEK）293 細胞を用いてカリウム電流への影響を評価するとともに，摘出モルモット乳頭筋を用いて活動電位波形に及ぼす影響を評価した［CTD 4.2.1.3-05_U[redacted]-2027］（GLP 非適用）。

<u>カリウム電流に及ぼす影響</u>

hERG を介したカリウム電流に及ぼす影響はホールセルパッチクランプ法を用いて，ネランドミラストの濃度を 0.3，1，3 及び 10 µmol/L（n=3）として評価したところ，ネランドミラストは hERG カリウム電流に対して弱い阻害作用を示した（$IC_{50}$ 値>10 µmol/L ; 10 µmol/L で 24%阻害）。

<u>活動電位波形に及ぼす影響</u>

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

活動電位波形に及ぼす影響は，ネランドミラストの濃度を 0（溶媒），0.1，0.3，1，3 及び 10 µmol/L（n=5）として，0.33 Hz（20 サイクル/分）の刺激頻度で測定し，30%及び 90%再分極時の活動電位持続時間（それぞれ $APD_{30}$ 及び $APD_{90}$），静止膜電位（RMP），位相 0 立ち上がりの最大速度（V-max），活動電位（AP），オーバーシュート（OS），AP 振幅（APA）並びに収縮力（FOC）を評価した。

活動電位波形及び収縮力において，10 µmol/L における $APD_{90}$ のわずかではあるが有意な延長（$p<0.05$）を除いて，10 µmol/L まで変化は認められなかった。

これらの試験結果から，ネランドミラストは，少なくとも非結合型が 10 µmol/L となる血漿レベルまで，催不整脈リスクを示唆する *in vitro* シグナルである心室再分極の延長を示さなかった。10 µmol/L の濃度は，最大推奨臨床用量（MRHD）としてヒトにネランドミラスト 18 mg を 1 日 2 回投与したときの定常状態における総ネランドミラスト及び非結合型ネランドミラストの $C_{max,ss}$（キラル分離ができない分析法により測定）のそれぞれ約 22 及び 94 倍であることから，臨床的には問題にならないと考えた。

### 4.2.2 ラットを用いた心血管系テレメトリー試験

テレメトリー装置を装着した Wistar Han ラット（1 群雄 8 例）に，ネランドミラストを 0（溶媒），0.3，1 及び 3 mg/kg の用量で単回強制経口投与し，投与後 7 時間にわたり収縮期動脈圧（SAP），拡張期動脈圧（DAP），心拍数（HR），体温，呼吸数及び 1 回換気量を測定した［CTD 4.2.1.3-04_U[redacted]-2031］（GLP 非適用）。

ラットにおいて，ネランドミラストは，試験したすべての用量で，SAP 及び DAP，HR，呼吸数及び 1 回換気量，体温及び運動性に影響を及ぼさなかった。

### 4.2.3 ミニブタを用いた心血管系テレメトリー試験

テレメトリー装置を装着した Göttingen ミニブタ（雌 4 例）にネランドミラストを 0（溶媒），0.3，1 及び 3 mg/kg の用量でクロスオーバーデザインにて単回強制経口投与し，投与後 7 時間にわたり，SAP，DAP，最大左室圧（LVP），収縮期左室 dP/dt（LVdP/dt-max）及び HR を測定し，得られた心電図から QRS，PR 及び QT 間隔を測定した［CTD 4.2.1.3-09_U[redacted]-2032］（GLP 非適用）。

ミニブタにおいて，ネランドミラストは試験したすべての用量で，検査した心血管機能及び心電図パラメータに影響を及ぼさなかった。

### 4.2.4 心血管系コアバッテリー試験

テレメトリー装置を装着した Göttingen ミニブタ（雄 4 例）に，ネランドミラストを 0（溶媒），3，10 及び 30 mg/kg の用量でクロスオーバーデザインにて単回強制経口投与し，動脈血圧（平均動脈圧，SAP 及び DAP，脈圧），HR 及び心電図パラメータ（PR，RR，QRS，QT 及び QTc 間隔）を測定し，心電図波形を評価した［CTD 4.2.1.3-03_n00201598］（GLP 適用）。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ミニブタにおいて, 試験したすべての用量で, 生物学的意義のある血行動態パラメータの異常, 並びに心電図パラメータ及び波形の異常は認められなかった。

### 4.2.5 反復投与毒性試験における心血管系に及ぼす影響

ミニブタ及びサルを用いた反復投与毒性試験［CTD 2.6.6_3 項］の一部として，心血管系の検査を実施した。ミニブタを用いた 2 週間毒性試験では，10 及び 30 mg/kg/日の用量を投与した動物で，投与約 4 時間後に実施した心電図検査において，可逆的で軽微の用量依存的な陽性変時作用が認められた［CTD 4.2.3.2-05_U[redacted]-1580］（GLP 適用）が，発現が少数の動物に限られていたことから，毒性ではないと判断した。ミニブタ及びサルを用いたその他の反復投与毒性試験（最長 39 週間）において，心電図検査で計測した心血管系パラメータにネランドミラスト投与に関連した変化は認められなかった。

## 4.3 呼吸系に及ぼす影響

### 4.3.1 ラット呼吸系に及ぼす影響

テレメトリー装置を装着した Wistar Han ラットにネランドミラストを単回強制経口投与し，呼吸数及び 1 回換気量を評価した［CTD 4.2.1.3-04_U[redacted]-2031］（GLP 非適用）。この試験の中で実施した心血管系評価については，4.2.2 項に要約した。

### 4.3.2 呼吸系コアバッテリー試験

Wistar Han ラット（1 群雄 6 例）にネランドミラストを 0（溶媒），3，6 及び 12 mg/kg の用量で単回強制経口投与し，ヘッドアウト式プレチスモグラフィー法により，換気パラメータ（1 回換気量，呼吸数及び分時換気量）を投与前，並びに投与後 2，4 及び 24 時間に 15 分間測定した［CTD 4.2.1.3-02_n00201168］（GLP 適用）。

死亡例はなく，いずれの動物においてもネランドミラスト投与に関連する臨床徴候は認められなかった。ネランドミラストの 6 mg/kg までの用量では，投与に関連した呼吸系に及ぼす影響は認められなかった。ネランドミラストの 12 mg/kg を投与したところ，投与 2 及び 4 時間後に軽度で一過性の呼吸数及び全体的な分時換気量の減少が認められた。しかし，一過性かつ全体的に反応は小さかったことから，これらは生物学的に意義のある変化ではないと考えた。

## 4.4 他の器官系に及ぼす影響

### 4.4.1 腎/泌尿器・肝臓系に及ぼす影響

Wistar Han ラット（1 群雄 8 例）にネランドミラストを 0（溶媒），0.3，1 及び 3 mg/kg の用量で単回強制経口投与し，投与 4，8 及び 24 時間後に採尿して尿量，浸透圧，pH，電解質及び代謝物の濃度，各種酵素の活性，並びに赤血球/白血球の存在を検査するとともに，投与 24 時間後に採血して血清の浸透圧，電解質及び代謝物濃度，並びに各種酵素活性を測定した［CTD 4.2.1.3-08_U[redacted]-2033］（GLP 非適用）。測定した尿パラメータ，並びに血清中の電解質，代謝物及び酵素に，ネランドミラスト投与に関連した変化は認められなかった。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

### 4.4.2 胃腸管系に及ぼす影響

Wistar Han ラット（1 群雄 8 例）にネランドミラストを 0（溶媒），0.3，1 及び 3 mg/kg の用量で単回強制経口投与し，投与 120 分後に硫酸バリウム試験食を摂取させて胃腸運動を評価した［CTD 4.2.1.3-06_U[redacted]-2028］（GLP 非適用）。いずれの用量においても，胃内容排出速度，腸管輸送能及び腸管内容物の稠度に影響は認められなかった。投与後 2.5 時間における血漿中ネランドミラスト濃度（キラル分離ができない分析法により測定）は，0.3，1 及び 3 mg/kg 群でそれぞれ，189，669 及び 2343 nmol/L であった。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 5. 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 6. 考察及び結論

*In vitro* 試験において，ネランドミラストは PDE4B を強力に阻害し，PDE4D と比べて 9 倍の選択性を示した。ネランドミラストは，*in vitro* のアッセイにおいて 70 種類の受容体，5 種類のチャネル，3 種類のトランスポーターに対して，10 μmol/L の濃度で結合しなかった。42 種類の酵素を用いた酵素アッセイにおいて，ネランドミラストは 10 μmol/L で，PDE4D に対して 102%の阻害作用を示したが，PDE2A，PDE3A，PDE5 及び PDE6 を含むその他の酵素に対する阻害作用を示さなかった。

ネランドミラストのヒトでの主な代謝物である BI 764333，CD 6352 及び PD 1420 の 13 種類の PDE に対する阻害活性はネランドミラストに比べて十分に低く，これらの代謝物の薬理学的な寄与は低いことが示唆された。

ネランドミラストの抗炎症作用についてヒト PBMC を用いた *in vitro* 試験により評価したところ，ネランドミラストは炎症性サイトカイン産生（LPS 刺激による TNF-α 産生及び PHA-P 刺激による IL-2 産生）を阻害した。マウスを用いた *ex vivo* の LPS 刺激による TNF-α 産生アッセイでは，ネランドミラストの経口投与により，全血における LPS 刺激による血漿中の TNF-α 産生が阻害された。さらに，ネランドミラストは，ラット及びスンクスを用いた *in vivo* 炎症モデル（LPS 刺激による BALF 中の好中球数増加）において，好中球数増加に対する阻害作用を示した。これらの *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果から，ネランドミラストは抗炎症作用を持つことが確認された。

ネランドミラストの抗線維化作用について検討した。IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 試験で，ネランドミラストは TGF-β 刺激による α-SMA 発現を阻害した。同様に，TGF-β 刺激による ECM（Col 1A1，Col 3A1 及び FN）の産生も阻害し，FMT を阻害することが示された。また，IPF 患者由来の初代培養肺線維芽細胞を用いた線維芽細胞増殖試験で，ネランドミラストはニンテダニブとの併用で，相乗的な増殖阻害作用を示した。一連の *in vitro* 試験から，ネランドミラストは FMT の阻害，ECM 産生阻害及び線維芽細胞の増殖阻害など，幅広い抗線維化作用を示すことが確認された。マウス及びラットのブレオマイシン誘発肺線維症モデルを用いた，ブレオマイシン投与後初期の炎症期後にネランドミラストの投与を開始する治療的投与の試験で，ネランドミラストは肺機能の改善及び μCT による肺線維化容積の減少で示される抗線維化活性を示した。

嘔吐は PDE4 阻害剤で共通にみられる副作用である。スンクス嘔吐モデルに 6 mg/kg（スンクスの LPS 刺激炎症モデルで算出された $ED_{50}$ 値の約 10 倍）のネランドミラストを経口投与したところ，催吐作用は非常に弱かった。PDE4 阻害剤による催吐作用は PDE4D の阻害に関連していることが報告されているが［CTD 4.3-06_R10-1413］，ネランドミラストは PDE4D より PDE4B を 9 倍選択的に阻害するため，催吐作用が弱いと考えられる。

PDE4 阻害剤を用いた非臨床試験で，特にラットにおいては多くの毒性がみられているため，ラットに高用量のネランドミラストを 4 日間強制経口投与したときの忍容性を評価した。この試験において，ネランドミラスト投与による影響はわずかであり，良好な忍容性が認められた。また，高濃度の PDE4 阻害剤による IL-6 産生の誘導は，ラットにおける炎症性の毒性発現に関連していると考えられていることから，ラット，ミニブタ及びヒト全血を用いて，LPS 刺激による IL-6 及

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

び TNF-α 産生に及ぼすネランドミラストの作用を評価した。この試験で，高濃度の PDE4 阻害剤存在下において，ラット全血では IL-6 産生の増加がみられたが，ミニブタ及びヒトの全血では IL-6 産生の増加はみられなかった。

中枢神経系機能，心血管系機能，呼吸系機能，並びに胃腸管，腎泌尿器及び肝臓の機能に関する安全性薬理評価において，ネランドミラストの投与に関連する影響は認められなかった。

PDE4B 優先的阻害剤であるネランドミラストは，非臨床薬理試験において抗炎症活性及び抗線維化活性を示し，肺線維症治療薬であるニンテダニブとの併用で，相補的かつ相乗的な効果をもたらすことが示された。また，PDE4D に対する阻害が PDE4B と比べて低いため，pan-PDE4 阻害剤と比較して忍容性の改善が期待される。以上のように，ネランドミラストは肺線維症において PDE4B を優先的に阻害する新規作用機序の化合物であり，肺線維症に対する効果的な治療薬となることが期待される。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 7. 図表

図表は本文中の適切な場所に示した。

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 8. 参考文献

P06-10894 Bender AT, Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. Pharmacol Rev.2006. 58(3), 488-520.（CTD 4.3-05）

P22-02946 Herrmann FE, Hesslinger C, Wollin L, Nickolaus P. BI 1015550 is a PDE4B inhibitor and a clinical drug candidate for the oral treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. Front Pharmacol. 2022. 13, 838449.（CTD 4.3-01）

P23-04672 Herrmann FE, Hesslinger C, Wollin L, Nickolaus P. Corrigendum: BI 1015550 is a PDE4B inhibitor and a clinical drug candidate for the oral treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. Front Pharmacol. 2023. 14, 1219760.（CTD 4.3-02）

R09-0156 Dietsch GN, DiPalma CR, Eyre RJ, Pham TQ, Poole KM, Pefaur NB, et al. Characterization of the inflammatory response to a highly selective PDE4 inhibitor in the rat and the identification of biomarkers that correlate with toxicity. Toxicol Pathol. 2006. 34(1), 39-51.（CTD 4.3-07）

R09-0263 Souness JE, Griffin M, Maslen C, Ebsworth K, Scott LC, Pollock K, et al. Evidence that cyclic AMP phosphodiesterase inhibitors suppress TNFα generation from human monocytes by interacting with a 'low-affinity' phosphodiesterase 4 conformer. Br J Pharmacol. 1996. 118, 649-658.（CTD 4.3-21）

R09-0322 Giembycz MA, Corrigan CJ, Seybold J, Newton R, Barnes PJ. Identification of cyclic AMP phosphodiestrerase 3, 4 and 7 in human CD4+ and CD8+ T-lymphocytes: role in regulating proliferation and the biosynthesis of interleukin-2. Br J Pharmacol. 1996. 118, 1945-1958.（CTD 4.3-22）

R10-1413 Robichaud A, Stamatiou PB, Jin SLC, Lachance N, MacDonald D, Laliberte F, et al. Deletion of phosphodiesterase 4D in mice shortens α2-adrenoceptor-mediated anesthesia, a behavioral correlate of emesis. J Clin Invest. 2002. 110(7), 1045-1052.（CTD 4.3-06）

R12-5544 Insel PA, Murray F, Yokoyama U, Romano S, Yun H, Brown L, et al. cAMP and Epac in the regulation of tissue fibrosis. Br J Pharmacol. 2012. 166, 447-456.（CTD 4.3-23）

R13-0109 Selige J, Hatzelmann A, Dunkern T. The differential impact of PDE4 subtypes in human lung fibroblasts on cytokine-Induced proliferation and myofibroblast conversion. J Cell Physiol. 2011. 226, 1970-1980.（CTD 4.3-03）

R17-0773 Walters DM, Kleeberger SR. Mouse Models of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. Curr Protoc Pharmacol. 2008(Suppl 40). 5.46.1-5.46.17.（CTD 4.3-24）

R18-1245 Bian H, Zhang J, Wu P, Varty LA, Jia Y, Mayhood T, et al. Differential type 4 cAMP-specific phosphodiesterase (PDE4) expression and functional sensitivity to PDE4 inhibitors among rats, monkeys and humans. Biochem Pharmacol. 2004. 68, 2229-2236.（CTD 4.3-10）

R23-0312 Azevedo MF, Faucz FR, Bimpaki E, Horvath A, Levy I, de Alexandre RB, et al. Clinical and molecular genetics of the phosphodiesterases (PDEs). Endocr Rev. 2014. 35, 195-233.（CTD 4.3-04）

## 第 2 部 CTD の概要

| | |
|---|---|
| **JAN あるいは販売名：** | ネランドミラスト |
| **剤形・含量：** | フィルムコート錠 ・ 9 mg，18 mg |
| **文書名：** | 2.6.3 薬理試験概要表 |
| **文書作成日：** | 7 April 2026 |



**Proprietary confidential information**
**© 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.**
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 ..... 2
1. 薬理試験：一覧表 ..... 3
2. 効力を裏付ける試験 ..... 5
2.1 分子プロファイリング ..... 5
2.2 *In vitro* 抗炎症アッセイ ..... 6
2.3 *Ex vivo* 抗炎症アッセイ ..... 7
2.4 *In vivo* 抗炎症モデル ..... 7
2.5 *In vitro* 線維化モデル ..... 8
2.6 *In vivo* 肺線維症モデル ..... 9
3. 副次的薬理試験 ..... 10
4. 安全性薬理試験 ..... 12
5. 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 14

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 1. 薬理試験：一覧表

被験物質： ネランドミラスト

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 社内報告書番号 | 資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| 効力を裏付ける試験 | | | | | |
| Inhibition of human recombinant PDEs | PDE enzyme assay | *In vitro* | BI | n00200798 | CTD 4.2.1.1-01 |
| Inhibition of human recombinant PDEs by the major human metabolite BI 764333 | Enzyme assays | *In vitro* | [redacted] | n00261809 | CTD 4.2.1.1-03 |
| Inhibition of human recombinant PDEs by the human metabolite CD 6352 and PD 1420 | Enzyme assays | *In vitro* | [redacted] | n00300855 | CTD 4.2.1.1-04 |
| Inhibition of human recombinant PDE4A, PDE4B and PDE4D by the human metabolite PD 1420 | Enzyme assays | *In vitro* | [redacted] | n00296076 | CTD 4.2.1.1-05 |
| Inhibition of TNF-α and IL-2 release from purified human peripheral blood mononuclear cells | Human TNF-α and IL-2 ELISA | *In vitro* | BI | n00201000 | CTD 4.2.1.1-06 |
| Inhibition of LPS-induced TNF-α release from mice whole blood | Mouse TNF-α ELISA | Oral (Assay: *ex vivo*) | BI | n00073869 | CTD 4.2.1.1-07 |
| Inhibition of LPS-induced neutrophil influx into the BALF of rats | Cell counting in BALF | Oral | BI | n00202222 | CTD 4.2.1.1-08 |
| Inhibition of LPS-induced neutrophil influx into the BALF of Suncus murinus | Cell counting in BALF | Oral | BI | n00074065 | CTD 4.2.1.1-09 |
| Fibrosis related assays using human primary lung IPF fibroblasts | Measurement of α-smooth muscle actin protein production, proliferation, extracellular matrix gene expression | *In vitro* | BI | n00255600 | CTD 4.2.1.1-10 |
| Effects in bleomycin induced mouse lung fibrosis model | Lung function, fibrotic score and μCT scan | Oral | BI | n00255482 | CTD 4.2.1.1-11 |
| Effects in bleomycin induced rat lung fibrosis model | Lung function, fibrotic score and μCT scan | Oral | BI | n00255483 | CTD 4.2.1.1-12 |
| Inhibition of human recombinant PDEs | PDE enzyme assay | *In vitro* | BI | 206893_11685483 | CTD 4.2.1.1-13 |
| Correction of Percent Improvement values (n00255483) | - | - | BI | 206893_11961531 | CTD 4.2.1.1-14 |

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 1. 薬理試験：一覧表 （続き）

被験物質： ネランドミラスト

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 社内報告書番号 | 資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| 副次的薬理試験 | | | | | |
| Determination of the emetic potential | Emesis testing | Oral | BI | U[redacted]-2242 | CTD 4.2.1.2-01 |
| Short term tolerability profile in rats | Measurement of body weight, spleen weight, neutrophil count, and microscopic examination | Oral | BI | U[redacted]-2049 | CTD 4.2.1.2-02 |
| Reduction of TNF-α production and increase of IL-6 release in whole blood of different species | ELISA | Oral | BI | n00269057 | CTD 4.2.1.2-03 |
| Receptor binding and enzyme assays for 70 receptors, 5 channels, 3 transporters and 42 enzymes | Radioligand binding and enzymatic assays | *In vitro* | [redacted] | U[redacted]-1565 | CTD 4.2.1.2-04 |
| 安全性薬理試験 | | | | | |
| Central nervous system (Modified Irwin test) | Rat/Wistar Han | Oral | BI | U[redacted]-2026 | CTD 4.2.1.3-07 |
| Central nervous system (FOB) | Rat/Wistar Han | Oral | [redacted] | n00201167 | CTD 4.2.1.3-01 |
| Cardiovascular (hERG assay and action potential configuration) | HEK293 cells<br>Guinea pig papillary muscles | *In vitro* | BI | U[redacted]-2027 | CTD 4.2.1.3-05 |
| Cardiovascular and respiratory system | Rat/Wistar Han | Oral | BI | U[redacted]-2031 | CTD 4.2.1.3-04 |
| Cardiovascular system | Minipig / Göttingen | Oral | [redacted] | U[redacted]-2032 | CTD 4.2.1.3-09 |
| Cardiovascular system | Minipig / Göttingen | Oral | [redacted] | n00201598 | CTD 4.2.1.3-03 |
| Respiratory | Rat/Wistar Han | Oral | [redacted] | n00201168 | CTD 4.2.1.3-02 |
| Renal and Liver function | Rat/Wistar Han | Oral | BI | U[redacted]-2033 | CTD 4.2.1.3-08 |
| Gastrointestinal tract | Rat/Wistar Han | Oral | BI | U[redacted]-2028 | CTD 4.2.1.3-06 |
| 薬力学的薬物相互作用試験 | | | | | |
| NA | | | | | |

BALF: bronchoalveolar lavage fluid, BI: Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co.KG. Germany, [redacted] ELISA: enzyme linked immunosorbent assay, IL: interleukin, IPF: idiopathic pulmonary fibrosis, LPS: lipopolysaccharide, µCT: micro-computed tomography, NA: not applicable, PDE: phosphodiesterase, TNF: tumor necrosis factor

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 2. 効力を裏付ける試験

### 2.1 分子プロファイリング

| Type of Study | Test System | Method | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Inhibition of human recombinant PDEs | PDE enzymatic assays (Scintillation proximity assay) | Human recombinant PDE4B2, PDE4D2 (active site fragments), PDE3A and PDE7A2 were expressed in Sf9 cells by BAC-TO-BAC® baculovirus expression system (Invitrogen). Cells extracts incubated with [$^3$H]cAMP with 0.0128 nmol/L ~ 125 µmol/L nerandomilast for 1 hour at 30°C. The amount of produced [$^3$H]AMP was determined using a Wallac Microbeta counter. | Inhibitory concentration 50% ($IC_{50}$):<br>Mean $IC_{50}$ PDE4B: 10.3 nmol/L<br>Mean $IC_{50}$ PDE4D: 91.4 nmol/L<br>$IC_{50}$ PDE3A: 119.75 µmol/L<br>$IC_{50}$ PDE7A: 13.83 µmol/L | CTD 4.2.1.1-01 _n00200798 |
| Inhibition of human recombinant PDEs by the major human metabolite BI 764333 | Enzyme assays | Enzyme assays were performed with human PDE1B, PDE2A1, PDE3A, PDE3B, PDE4A1A, PDE4B1, PDE4D2, PDE5, PDE7A1, PDE8A1, PDE10A2, PDE11A and PDE6 isolated from bovine retina. BI 764333 was tested at 10 µmol/L. | Inhibition by BI 764333<br>PDE4A1A: 51.9%,<br>PDE4B1: 77.2%<br>PDE4D2: 60.4%,<br>inhibition values ≤15.5% for the other tested enzymes. | CTD 4.2.1.1-03_n00261809 |
| Inhibition of human recombinant PDEs by the human metabolite CD 6352 and PD 1420 | Enzyme assays | Enzyme assays were performed with human PDE1B, PDE2A1, PDE3A, PDE3B, PDE4A1A, PDE4B1, PDE4D2, PDE5, PDE7A1, PDE8A1, PDE10A2, PDE11A and PDE6 isolated from bovine retina. CD 6352 and PD 1420 were tested at 10 µmol/L. | Inhibition by CD 6352<br>PDE4B1: 60.8%<br>inhibition values ≤26% for the other tested enzymes.<br>Inhibition by PD 1420<br>PDE4A1A: 77.1%,<br>PDE4B1: 94.8%<br>PDE4D2: 89.9%<br>inhibition values ≤15.7% for the other tested enzymes. | CTD 4.2.1.1-04_n00300855 |

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 2.1 分子プロファイリング（続き）

| Type of Study | Test System | Method | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Inhibition of human recombinant PDEs by the human metabolite PD 1420 | Enzyme assays | $IC_{50}$ values of the PD1420 for PDE4A1A, PDE4B1, PDE4D2 were determined with enzyme assays. | $IC_{50}$ values determined for<br>PDE4A1A: 3.1 µmol/L<br>PDE4B1: 660 nmol/L<br>PDE4D2 1.6 µmol/L<br>Pharmacological contribution of PD1420 is considered to be low. | CTD 4.2.1.1-05_n00296076 |
| Inhibition of human recombinant PDEs | PDE enzymatic assays (Scintillation proximity assay) | Human recombinant PDE4A, PDE4C2 were expressed in Sf9 cells by BAC-TO-BAC® baculovirus expression system (Invitrogen). Cells extracts incubated with [$^3$H]cAMP with 0.0128 nmol/L ~ 125 µmol/L nerandomilast for 1 hour at 30°C. The amount of produced [3H]AMP was determined using a Wallac Microbeta counter. | $IC_{50}$:<br>Mean $IC_{50}$ PDE4A: 248 nmol/L<br>Mean $IC_{50}$ PDE4C2: 8.7 µmol/L | CTD 4.2.1.1-13_206893_11685483 |

cAMP: cyclic adenosine monophosphate, $IC_{50}$: half maximal inhibitory concentration, PDE: phosphodiesterase

## 2.2 *In vitro* 抗炎症アッセイ

| Type of Study | Test System | Method | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Inhibition of TNF-α and IL-2 release of purified human PBMC | Anti human TNF-α and IL-2 ELISA | Purified human PBMCs from 6 donors were cultured with/without nerandomilast (0.001 ~100 µmol/L) and stimulated with 100 ng/mL LPS for 4 hour (for TNF-α induction) or with 10 µg/mL PHA-P for 20 hours (for IL-2 induction). After incubation, cytokines were measured in the supernatants using human TNF-α ELISA (Pharmingen) or human IL-2 ELISA (BD Bioscience). | Nerandomilast effectively inhibited TNF-α and IL-2 release from human PBMC in a concentration-dependent fashion.<br>Inhibitory concentration 50% ($IC_{50}$):<br>Mean $IC_{50}$ TNF-α: 35 nmol/L<br>Mean $IC_{50}$ IL-2: 9 nmol/L | CTD 4.2.1.1-06_n00201000 |

ELISA: enzyme linked immunosorbent assay, $IC_{50}$: half maximal inhibitory concentration, IL: interleukin, LPS: lipopolysaccharide, PBMC: peripheral blood mononuclear cells, PHA-P: phytohemagglutinin-P, TNF: tumor necrosis factor

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 2.3 *Ex vivo* 抗炎症アッセイ

| Type of Study | Test System | Method | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Inhibition of LPS-induced TNF-α release from mice whole blood | *Ex-vivo* LPS-induced TNF-α release, assessed in whole blood of mice treated with nerandomilast.<br>TNF-α detection: Mouse TNF-α ELISA | Female NMRI-mice (6/treatment group, 2/negative control) were treated with 0.01, 0.1 and 1 mg/kg nerandomilast via oral gavage. Whole blood collected 2 hours after application was stimulated for 4 hours with LPS followed by preparation of plasma and subsequent measurement of TNF-α using a mouse TNF-α ELISA assay (OptEIA Mouse TNF ELISA set, Becton Dickinson). | Nerandomilast effectively inhibited LPS-induced TNF-α release in a dose-dependent fashion.<br>$ED_{50}$: 0.04 mg/kg | CTD 4.2.1.1-07_n0007386 9 |

BW: body weight, $ED_{50}$: half maximal effective concentration, ELISA: enzyme linked immunosorbent assay, LPS: lipopolysaccharide, TNF: tumor necrosis factor

## 2.4 *In vivo* 抗炎症モデル

| Type of Study | Species/Strain | Method of administration | Doses – Schedule | Gender and No. per group | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Inhibition of LPS-induced neutrophil influx into the bronchoalveolar lavage fluid of rats | Rat/Wistar Han | Nerandomilast: Oral (gavage), LPS: inhaled | 0.01, 0.01 and 1 mg/kg of nerandomilast treatment once, 1 hour before LPS inhalation (30 min). | Male, 8/treatment group and positive control, 2/negative control | Nerandomilast effectively reduced LPS-induced neutrophil count in BALF in a dose-dependent fashion.<br>$ED_{50}$: 0.1 mg/kg | CTD 4.2.1.1-08_n0020222 2 |
| Inhibition of LPS-induced neutrophil influx into the bronchoalveolar lavage fluid of Suncus murinus | Suncus murinus | Nerandomilast: Oral (gavage), LPS: inhaled | 0.1, 0.3 and 1 mg/kg of nerandomilast treatment once, 30 min before LPS inhalation (30 min). | Male, 8/treatment group and positive control, 4/negative control | Nerandomilast effectively reduced LPS-induced neutrophil count in BALF in a dose-dependent fashion.<br>$ED_{50}$: 0.6 mg/kg | CTD 4.2.1.1-09_n0007406 5 |

BALF: bronchoalveolar lavage fluid, LPS: lipopolysaccharide, $ED_{50}$: half maximal effective concentration

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 2.5 *In vitro* 線維化モデル

| Type of Study | Test System | Method | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Fibrosis related assays using human primary lung IPF fibroblasts | α-SMA protein expression: Western-replacement assay, Collagen and fibronectin expression: RT-PCR, Cell proliferation: BrdU incorporated in the DNA was detected by ELISA. | After a 24 hours culture in starvation medium, lung fibroblast from IPF donors (Asterand) were incubated 30 min with different concentration of nerandomilast, with/without nintedanib (10, 30 and 100 nmol/L) in the presence of 1 nmol/L PGE2. After the 30 min pre-incubation with compounds, cells were stimulated with 4 ng/ml of TGF-β for 48 hours. α-SMA protein was determined by a Western-replacement assay (MSD). Collagen 1, collagen 3 and fibronectin were determined RT-PCR.24 hours starved human IPF lung fibroblast cells were incubated for 30 min with different concentration of nerandomilast, with/without 100 nmol/L nintedanib. Cells were stimulated with 20 ng/mL FGF and 30 pg/mL IL-1β for 92 hours. Cell proliferation was detected by ELISA using incorporated BrdU in the DNA. | α-SMA protein production<br>Nerandomilast $IC_{50}$: 210 nmol/L<br>Nerandomilast + 100 nmol/L nintedanib $IC_{50}$: 110 nmol/L<br>ECM expression<br>Nerandomilast (without nintedanib)<br>Collagen 1A1: $IC_{50}$: 269 nmol/L<br>Collagen 3A1: $IC_{50}$: 213 nmol/L<br>Fibronectin: $IC_{50}$: 246 nmol/L<br>Cell proliferation<br>Nerandomilast $IC_{50}$: 255 nmol/L<br>Nerandomilast + 100 nmol/L nintedanib $IC_{50}$: 23 nmol/L | CTD 4.2.1.1-10_n00255600 |

α-SMA: alpha smooth muscle actin, BrdU: bromodeoxyuridine, DNA: deoxiribonucleic acid, ECM: extracellular matrix, ELISA: enzyme linked immunosorbent assay, FGF: fibroblast growth factor, $IC_{50}$: half maximal inhibitory concentration, IL: interleukin, IPF: idiophatic pulmonary fibrosis, MSD: Meso Scale Discovery, PGE2: prostaglandin E2, RT-PCR: real time polymerase chain reaction, TGF-β: transforming growth factor-β, TNF: tumor necrosis factor

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 2.6 *In vivo* 肺線維症モデル

| Type of Study | Species/Strain | Method of administration | Doses – Schedule | Gender and No. per group | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Effects in mouse bleomycin induced lung fibrosis model (therapeutic application) | Mouse/ C57BL/6J | Bleomycin: Intratracheal<br>Nerandomilast, BIBF 1000: Oral (gavage) | Bleomycin: 1 mg/kg, Day 0<br>Nerandomilast: 2.5 and 12.5 mg/kg, twice daily (From day 8 to 13)<br>BIBF1000: 60 mg/kg, once daily (From day 8 to 13),<br>µCT measurement on day 12, other factors measured on day 14 | Male, 12/treatment group for nerandomilast, 10/ treatment group for BIBF 1000, 6/control group | Improvements of nerandomilast 12.5 mg/kg:<br>Lung function: PV loops 40% and FVC 41%,<br>fibrotic score (Ashcroft score) 11% and µCT scan (fibrotic/total lung volume) 39%<br>Improvements of BIBF 1000 60 mg/kg:<br>Lung function: PV loops 22% and FVC 29%,<br>fibrotic score (Ashcroft score) 12% and µCT scan (fibrotic/total lung volume) 42% | CTD 4.2.1.1-11_n00255482 |
| Effects in rat bleomycin induced lung fibrosis model (therapeutic application) | Rat/Wistar Han | Bleomycin: Intratracheal<br>Nerandomilast, BIBF 1000: Oral (gavage) | Bleomycin: 1 mg/kg, Day 0<br>Nerandomilast: 2.5 mg/kg, twice daily (From day 10 to 20)<br>BIBF1000: 50 mg/kg, once daily (From day 10 to 20),<br>µCT measurement on day 18, other factors measured on day 21 | Male, 8~12/treatment group 6/control group | Improvements (nerandomilast 2.5 mg/kg):<br>Lung function: PV loops 31%,<br>fibrotic score (Ashcroft score) 8% and µCT scan (fibrotic/total lung volume) 64%<br>Improvements of BIBF 1000 50 mg/kg:<br>Lung function: PV loops 25%,<br>fibrotic score (Ashcroft score) 6% and µCT scan (fibrotic/total lung volume) 81% | CTD 4.2.1.1-12_n00255483 |
| Correction of calculation of percent improvement values, PV-Loops at 30 cm $H_2O$ from report n00255483 | - | - | - | - | Improvements (nerandomilast 2.5 mg/kg):<br>Lung function: PV loops 28%<br>Improvements of BIBF 1000 50 mg/kg:<br>Lung function: PV loops 22% | CTD 4.2.1.1-14_206893_11961531 |

FVC: forced vital capacity, µCT: micro-computed tomography, PV: pressure volume

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 3. 副次的薬理試験

| Type of Study | Species/Strain | Method of administration | Doses – Schedule | Gender and No. per group | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Determination of the emetic potential | Suncus murinus | Oral (gavage) | 0.5 mg/kg or 6 mg/kg, once | Male, 24/each study | Emetic events after nerandomilast administration were monitored for 3 hours using plethysmography box.<br>0.5 mg/kg nerandomilast<br>3 out of 24 animals tested showed emesis with 0.1 mean emetic events<br>6 mg/kg nerandomilast<br>5 out of 24 animals showed emesis with 0.3 mean emetic events | CTD 4.2.1.2-01_U[redacted]-2242 |
| Short term tolerability profile | Rat/Wistar Han | Oral (gavage) | 6 mg/kg, once daily, for 4 days | 6/group | No relevant effects on body weight, splenic weight, or absolute neutrophil count. Minimal focal mononuclear cell infiltration observed in the mesentery of 1 out of 6 rats | CTD 4.2.1.2-02_U[redacted]-2049 |
| Reduction of TNF-α production and increase of IL-6 release in whole blood of different species by PDE4 inhibitors | Rat/Wistar Han<br>Minipig/Göttingen<br>Human | *In vitro* (whole blood assay) | Nerandomilast, Roflumilast (EX00050007), Roflumilast-N-oxide (EX00050025): 1 nmol/L ~ 30 µmol/L,<br>LPS: 10 µg/mL for rat, 1 µg/mL for minipig, 100 ng/mL for human<br>After preincubation with compounds (30 min), cells were stimulated with LPS for 7 hours. | Rat: 4 males<br>Minipigs: 2 males and 2 females<br>Human: 4 male doners | Results of all three compounds:<br>Maximum TNF-α inhibition<br>Rat: up to 100%<br>Human, minipig: ~ 80%,<br>IL-6 induction<br>Rat: starting above 1 µmol/L,<br>Human, minipig: no induction | CTD 4.2.1.2-03_n0026905 7 |

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Type of Study | Test System | Method | Noteworthy Findings | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Receptor, channel and transporter binding and enzyme assays | Radioligand binding and enzymatic assays | 10 µmol/L of nerandomilast was tested for binding assay of 70 receptors, 5 channels, 3 transporters and enzyme assay of 42 enzymes including PDE2A, PDE3A, PDE4D, PDE5 and PDE6 | No relevant binding inhibition for 70 receptors, 5 channels and 3 transporters. PDE4D inhibition by 10 µmol/L of nerandomilast was 102%. No enzymatic inhibition of the other 41 enzymes were detected. | CTD 4.2.1.2-04_U[redacted]-1565 |

IL: interleukin, LPS: lipopolysaccharide, PDE: phosphodiesterase, TNF: tumor necrosis factor

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 4. 安全性薬理試験

被験物質： ネランドミラスト

| Organ Systems Evaluated | Species / Strain | Method of Administration | Doses [a] (mg/kg) | Gender and No. per Group | Noteworthy Finding | GLP Compliance | Doc. Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Central nervous system (Modified Irwin test) | Rat/Wistar Han | Oral gavage | 0, 0.3, 1 and 3 | 6M/group | Behaviors (gnawing, fur scratching, licking the cage wall) were noted starting with 1 mg/kg and becoming more pronounced after administration of 3 mg/kg of nerandomilast.. | No | CTD 4.2.1.3-07_U[redacted]-2026 |
| Central nervous system (FOB) | Rat/Wistar Han | Oral gavage | 0, 3, 6 and 12 | 8M/group | No noteworthy effects. | Yes | CTD 4.2.1.3-01_n00201167 |
| Cardiovascular (hERG assay and action potential configuration) | HEK293 cells<br><br>Guinea pig papillary muscles | *In vitro* | 0, 0.3, 1, 3, and 10 µmol/L | N=3/group<br><br>N=5/group | Nerandomilast showed a weak inhibitory effect on hERG-mediated potassium current ($IC_{50}$ > 10 µmol/L; 24% inhibition at 10 µmol/L).<br>The action potential configuration and force of contraction were unchanged up to 10 µmol/L, except for a slight but significant ($p<0.05$) prolongation of APD90. | No | CTD 4.2.1.3-05_U[redacted]-2027 |
| Cardiovascular and respiratory system | Rat/Wistar Han | Oral gavage | 0, 0.3, 1 and 3 | 8/group | Nerandomilast had no effect on systolic and diastolic arterial pressure, heart rate, respiration rate and tidal volume, temperature and motility in conscious rats with all doses tested. | No | CTD 4.2.1.3-04_U[redacted]-2031 |
| Cardiovascular system | Minipig / Göttingen | Oral gavage | 0, 0.3, 1 and 3 | 4M/group | Nerandomilast showed no relevant effect on cardiovascular function nor electrocardiographic parameters. | No | CTD 4.2.1.3-09_U[redacted]-2032 |
| Cardiovascular system | Minipig / Göttingen | Oral gavage | 0, 3, 10 and 30 | 4M/group | There were no hemodynamic or electrocardiographic abnormalities attributed to the administration of nerandomilast. | Yes | CTD 4.2.1.3-03_n00201598 |

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Organ Systems Evaluated | Species/ Strain | Method of Administration | Doses [a] (mg/kg) | Gender and No. per Group | Noteworthy Finding | GLP Compliance | Doc. Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Respiratory | Rat/Wistar Han | Oral gavage | 0, 3, 6 and 12 | 6M/group | 3 and 6 mg/kg: no nerandomilast -related effects on the respiratory system.<br>12 mg/kg: Mild, transient decrease in respiratory rate and overall minute volume at 2 and 4 hours post-dose. However, given the transient nature and overall low magnitude of the response, this was not deemed biologically significant. | Yes | CTD 4.2.1.3-02_n00201168 |
| Renal and Liver function | Rat/Wistar Han | Oral gavage | 0, 0.3, 1 and 3 | 8M/group | No relevant effect on urine and serum parameters for renal and liver function. | No | CTD 4.2.1.3-08_U[redacted]-2033 |
| Gastro-intestinal tract | Rat/Wistar Han | Oral gavage | 0, 0.3, 1 and 3 | 8M/group | Nerandomilast did not affect gastrointestinal motility in conscious rats. | No | CTD 4.2.1.3-06_U[redacted]-2028 |

APD90: action potential duration to 90% repolarization; F: Female; FOB: Functional Observation Battery; GLP: Good Laboratory Practice; hERG: human Ether-à-go-go related gene, $IC_{50}$: half maximal inhibitory concentration; M: Male.

[a] Single dose.

Proprietary confidential information © 2026 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 5. 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は，実施していない。