

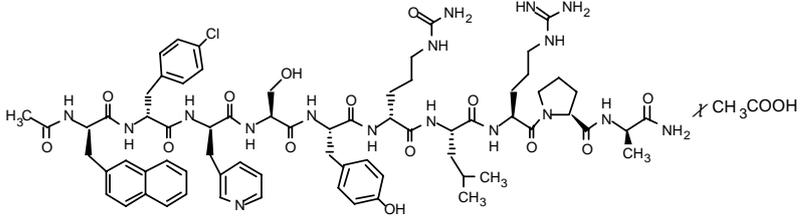
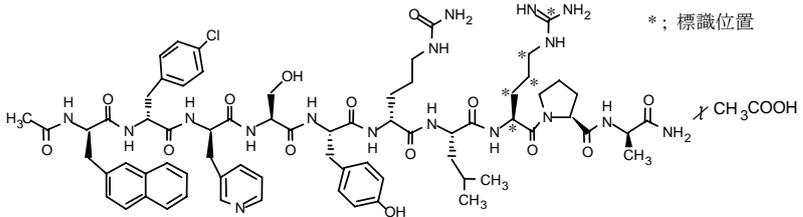
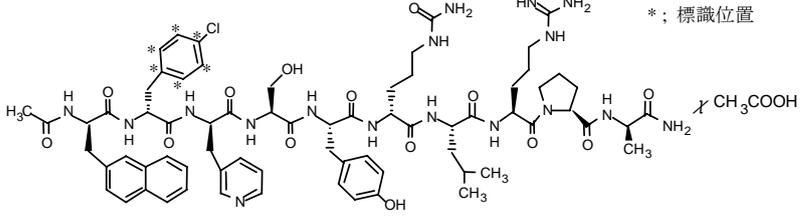
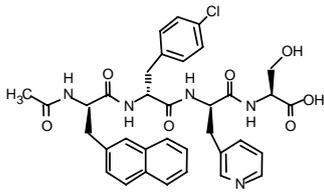
へ. 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する資料

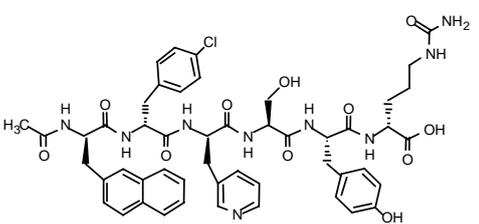
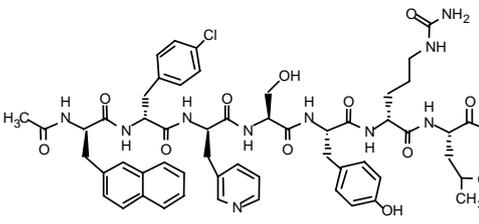
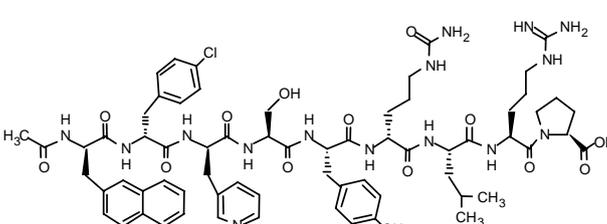
へ. 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する資料

総括	271
1. 被験物質及びその定量法	279
(1) 標識体	279
1) 被験物質	279
2) 定量法	280
(2) 非標識体	280
1) 被験物質	280
2) 定量分析法	280
2. 動物における成績	282
(1) 吸収	282
1) 単回投与時の血漿中濃度	282
2) 反復投与時の血漿中濃度	288
(2) 分布	289
1) 単回投与時の臓器・組織内濃度	289
2) 全身オートラジオグラフィー	292
3) 反復投与時の臓器・組織内濃度	293
4) 胎盤通過性	296
5) 血漿蛋白結合	297
6) 血球移行性	297
(3) 代謝	297
1) 代謝物の検索及び推定代謝経路	297
2) 血漿中代謝物	298
3) 尿糞中代謝物	298
4) 胆汁中代謝物	299
5) <i>In vitro</i> 代謝	300
6) ラット肝ミクロソームの薬物代謝酵素系に及ぼす影響	300
7) ヒトチトクローム P450 分子種活性に及ぼす影響	301

(4) 排泄.....	301
1) 尿及び糞中排泄.....	301
2) 胆汁中排泄及び腸肝循環.....	303
3) 乳汁への移行性.....	304
3. ヒトにおける成績.....	305
(1) 健康成人における薬物動態.....	305
1) 国内における成績.....	305
2) 海外における成績.....	309
3) 薬液濃度と吸収速度の関係.....	311
(2) 体外受精/胚移植施行時における薬物動態.....	313
1) 国内における成績.....	313
2) 海外における成績.....	315
(3) 代謝物の検索.....	318
(4) 薬物相互作用.....	318

概要へ. 略号一覧表

略号	化学名及び構造式	由来
CET	<p><i>N</i>-acetyl-3-(2-naphthyl)-D-alanyl-<i>p</i>-chloro-D-phenylalanyl-3-(3-pyridyl)-D-alanyl-L-seryl-L-tyrosyl-<i>N</i>⁵-carbamoyl-D-ornithyl-L-leucyl-L-arginyl-L-prolyl-D-alaninamide • X acetate</p>  <p>The structure shows a long peptide chain starting with an N-acetyl group, followed by D-alanine, 3-(2-naphthyl)-D-alanine, p-chloro-D-phenylalanine, 3-(3-pyridyl)-D-alanine, L-serine, L-tyrosine, N⁵-carbamoyl-D-ornithine, L-leucine, L-arginine, L-proline, and D-alanine. The chain ends with an amide group. A side chain of a proline residue is shown as a methyl group. A label 'X' indicates the acetate counterion.</p>	原薬
[Arg- ¹⁴ C]CET	<p><i>N</i>-acetyl-3-(2-naphthyl)-D-alanyl-<i>p</i>-chloro-D-phenylalanyl-3-(3-pyridyl)-D-alanyl-L-seryl-L-tyrosyl-<i>N</i>⁵-carbamoyl-D-ornithyl-L-leucyl-[U-¹⁴C]-L-arginyl-L-prolyl-D-alaninamide • X acetate</p>  <p>The structure is identical to CET, but the L-arginine residue is labeled with ¹⁴C. The label is placed on the alpha-carbon of the arginine side chain, and the text '* ; 標識位置' (labeling position) is present.</p>	標識体
[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	<p><i>N</i>-acetyl-3-(2-naphthyl)-D-alanyl-<i>p</i>-chloro-[ring-U-¹⁴C]-D-phenylalanyl-3-(3-pyridyl)-D-alanyl-L-seryl-L-tyrosyl-<i>N</i>⁵-carbamoyl-D-ornithyl-L-leucyl-L-arginyl-L-prolyl-D-alaninamide • X acetate</p>  <p>The structure is identical to CET, but the p-chloro-D-phenylalanine residue is labeled with ¹⁴C. The label is placed on the phenyl ring, and the text '* ; 標識位置' (labeling position) is present.</p>	標識体
テトラペプチド(1-4)	<p><i>N</i>-acetyl-3-(2-naphthyl)-D-alanyl-<i>p</i>-chloro-D-phenylalanyl-3-(3-pyridyl)-D-alanine</p>  <p>The structure shows the first four residues of the CET peptide: N-acetyl-D-alanine, 3-(2-naphthyl)-D-alanine, p-chloro-D-phenylalanine, and 3-(3-pyridyl)-D-alanine. The chain ends with a carboxylic acid group.</p>	代謝物

略号	化学名及び構造式	由来
ヘキサペプチド(1-6)	<p><i>N</i>-acetyl-3-(2-naphthyl)-D-alanyl-<i>p</i>-chloro-D-phenylalanyl-3-(3-pyridyl)-D-alanyl-L-seryl-L-tyrosyl-<i>N</i>⁵-carbamoyl-D-ornithine</p> 	代謝物
ヘプタペプチド(1-7)	<p><i>N</i>-acetyl-3-(2-naphthyl)-D-alanyl-<i>p</i>-chloro-D-phenylalanyl-3-(3-pyridyl)-D-alanyl-L-seryl-L-tyrosyl-<i>N</i>⁵-carbamoyl-D-ornithyl-L-leucine</p> 	代謝物
ノナペプチド(1-9)	<p><i>N</i>-acetyl-3-(2-naphthyl)-D-alanyl-<i>p</i>-chloro-D-phenylalanyl-3-(3-pyridyl)-D-alanyl-L-seryl-L-tyrosyl-<i>N</i>⁵-carbamoyl-D-ornithyl-L-leucyl-L-arginyl-L-proline</p> 	代謝物

略号	正式名
CET	酢酸セトロレリクス
CET - F	セトロレリクス遊離塩基
AUC _{0-∞}	投与後 0 から無限時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC _{0-24hr}	投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC _{ss}	定常状態における血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC _τ	反復投与時の投与間隔における血漿中濃度－時間曲線下面積
C _{max}	最高血漿中濃度
C _{ss, max}	定常状態における最高血漿中濃度
CL _{tot}	全身クリアランス
CL _{tot/F}	皮下投与後の全身クリアランス
E ₂	エストラジオール
hCG	ヒト絨毛性ゴナドトロピン
hMG	ヒト閉経期尿性ゴナドトロピン
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
LC/MS	液体クロマトグラフィー／質量分析
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LH	黄体化ホルモン
MAT	平均吸収時間
MRT	平均滞留時間
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
P450	チトクローム P450
RIA	放射免疫測定
T _{1/2}	半減期
T _{1/2 α}	α 相の半減期
T _{1/2 β}	β 相の半減期
T _{1/2ss}	定常状態における半減期
T _{max}	最高血漿中濃度到達時間
T _{ss, max}	定常状態における最高血漿中濃度到達時間
V _{dss}	定常状態における分布容積
V _{d/F}	終末相における分布容積

へ. 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する資料

添付資料へー1~28, トー2, 4~14, 18, 19, 23~26
参考資料へー1~3

総括

ラット, イヌ及びヒトにおける CET の体内動態を検討した. 表へー1 にその試験項目を示した.

表へー1(1) 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する試験一覧表 (動物)

試験項目		動物種	被験物質	投与経路	投与量	添付資料 番号
吸 収	血漿中濃度 単回投与	ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー3
			CET	静脈内, 皮下	0.1 mg/kg	へー11
			CET	皮下	0.02, 0.1, 0.25, 0.5 mg/kg	へー12
	反復投与	イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー13
			[Arg- ¹⁴ C]CET	静脈内, 皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー14, 15
ラット		CET	皮下	0.1 mg/kg	へー17	
			[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー16
分 布	臓器・組織中濃度 単回及び反復投与 全身オートラジオグラフィ 胎盤通過・胎児移行性 血漿蛋白結合	ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー3, 16
		ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー18
		ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー19
	<i>in vitro</i>	ラット, イヌ	[Arg- ¹⁴ C]CET	<i>in vitro</i>	40-2000ng/mL	へー20
		ヒト	[Arg- ¹⁴ C]CET	<i>in vitro</i>	40-500ng/mL	へー21
	<i>ex vivo</i>	イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー22
	血球移行性	ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー3
		イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー13
代 謝	血漿中代謝物	ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー24
	尿中代謝物	ラット, イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー6
	胆汁中代謝物	ラット, イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	1 mg/kg	へー6
	糞中代謝物	ラット, イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー6
	代謝物の構造決定	イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	1 mg/kg	へー6
	<i>In vitro</i> 代謝	ラット, イヌ, ヒト, ブタ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	<i>in vitro</i>	0.031 μmol/L	へー26
	薬物代謝酵素系へ及ぼす影響	ラット	CET	皮下	0.1, 0.5mg/kg	へー27
		ヒト	CET	<i>in vitro</i>	0.05-5 μmol/L	へー28

投与量は CET 換算値 (ただし, a) ; CET-F 換算値)

表へー1(1) 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する試験一覧表 (動物, 続き)

試験項目		動物種	被験物質	投与経路	投与量	添付資料 番号
排泄	尿及び糞中排泄 単回投与	ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー3
		イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー13
	反復投与	ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg	へー16
		ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー25
	胆汁中排泄	ラット	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	0.1 mg/kg ^{a)}	へー25
		イヌ	[Cl-Phe- ¹⁴ C]CET	皮下	1 mg/kg	へー23

投与量はCET換算値(ただし, a); CET-F換算値)

表へー1(2) 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する試験一覧表 (ヒト)

試験項目		実施国	被験物質	投与経路	投与量	添付資料番号	
健康 女性	吸 収	血漿中濃度 単回投与	日本	製剤	皮下	1, 3, 5 mg	トー6
			フランス	製剤	皮下	3, 5mg	トー2
			ドイツ	製剤	静脈内, 皮下	3 mg	トー4
		オランダ	製剤	皮下	0.25, 0.5, 1mg	トー5	
		反復投与	日本	製剤	皮下	0.25 mg	トー8
			日本	製剤	皮下	3 mg	トー7
	オランダ		製剤	皮下	0.25, 0.5, 1mg	トー5	
	代 謝	尿中代謝物	ドイツ	製剤	静脈内, 皮下	3 mg	トー23
		胆汁中代謝物	ドイツ	製剤	皮下	10 mg	トー24
	排 泄	尿中排泄	日本	製剤	皮下	1, 3, 5 mg	トー6
			ドイツ	製剤	静脈内, 皮下	3 mg	トー23
			日本	製剤	皮下	3 mg	トー7
体外 受精 ／ 胚 移植 施行 時	吸 収	血漿中濃度 単回投与	日本	製剤	皮下	3 mg	トー18,25,26
			フランス	製剤	皮下	3, 5 mg	トー10
			フランス	製剤	皮下	3 mg	トー12
		フランス	製剤	皮下	2, 3 mg	トー13	
		反復投与	日本	製剤	皮下	0.25 mg	トー19,25,26
			ドイツ	製剤	皮下	1, 3 mg	トー9
			ドイツ	製剤	皮下	0.5, 1 mg	トー11
		ベルギー	製剤	皮下	0.1, 0.25, 0.5 mg	トー14	

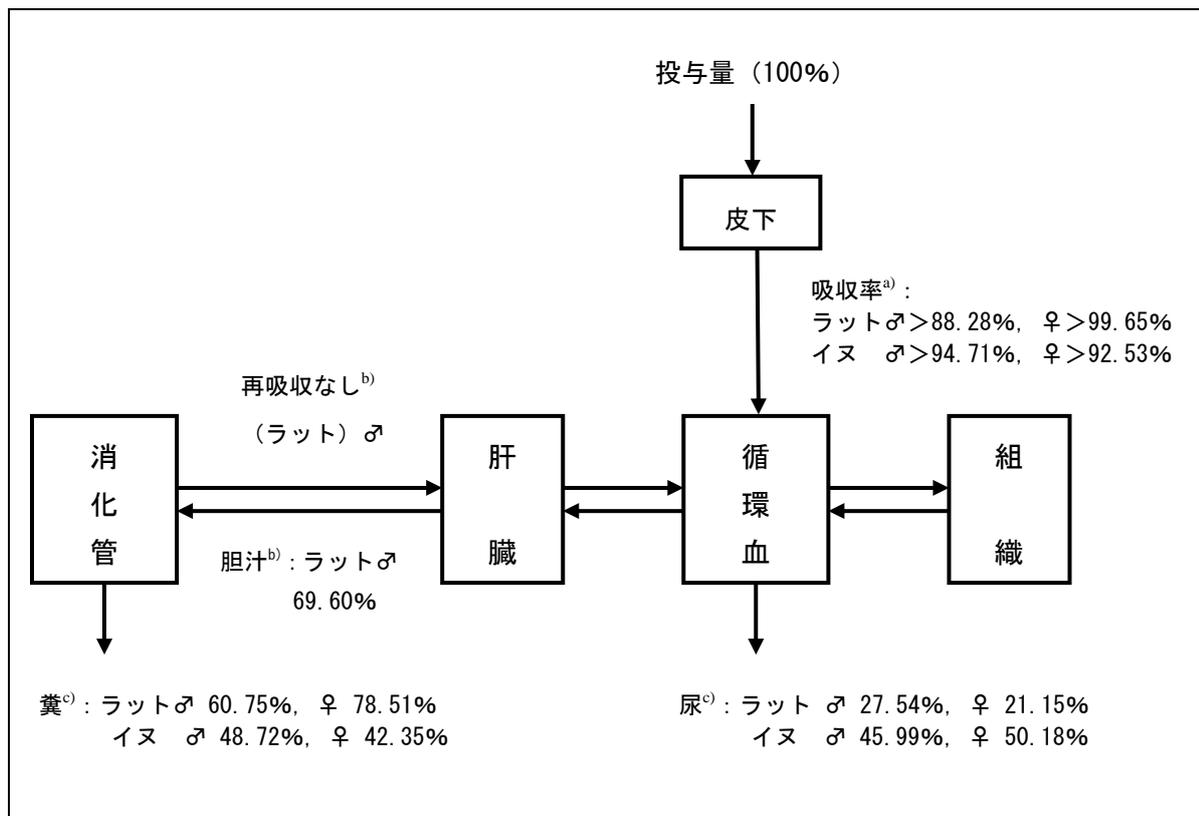
投与量はCET-F換算値

¹⁴C標識及び非標識CETを用いて、ラット、イヌ及びヒトにおけるCETの体内動態を検討した。

CETの¹⁴C標識体としては、[Arg-¹⁴C]CETと[Cl-Phe-¹⁴C]CETの2種類を用いた。当初、8番目のアミノ酸であるアルギニンを標識した[Arg-¹⁴C]CETを合成し試験に用いたが、本標識体は代謝されることによりアルギニンを遊離し、その一部は生体成分となって体内に取り込まれ、残存することが示唆された。そこで、薬物動態をさらに詳細に検討するため、2番目のアミノ酸を標識した [Cl-Phe-¹⁴C]CETを合成し、試験に使用した。代謝の影響を考慮する必要のない*in vitro*蛋白結合試験を除き、CETの体内動態を反映する[Cl-Phe-¹⁴C]CETの結果についてのみ記載した。

1. 動物における成績

CET の動物における生体内動態の概略を図へー1 に示した。



a) : [Cl-Phe-¹⁴C] CET を投与後 264 時間 (ラット) 又は 336 時間 (イヌ) までの尿及び糞中排泄率から推定

b) : [Cl-Phe-¹⁴C] CET を投与後 48 時間までの胆汁中排泄率及び再吸収率

c) : [Cl-Phe-¹⁴C] CET を投与後 264 時間 (ラット) 又は 336 時間 (イヌ) までの尿及び糞中排泄率

図へー1 CET の生体内動態

(1) 吸収

ラットに [Cl-Phe-¹⁴C] CET (0.1 mg/kg) を単回皮下投与したときの血漿中放射能濃度は、投与後 2 時間に C_{max} (雄 : 115.3 ng-eq./mL, 雌 : 80.1 ng-eq./mL) に達した。消失相の見かけの T_{1/2} は雄において 35.6 時間、雌において 39.6 時間であった。

ラットに CET を単回静脈内 (0.1 mg/kg) 及び皮下投与 (0.1 mg/kg) し、血漿中の未変化体濃度を測定した。静脈内投与後の終末相の T_{1/2} は雄において 2.13 時間、雌において 1.29 時間であった。皮下投与後の終末相の T_{1/2} は雄において 6.88 時間、雌において 14.31 時間と長く、投与部位からの吸収が律速となり flip-flop 現象を生じていることが示唆された。生物学的利用率は雄において 120%、雌において 97.1% と算出された。CET を単回皮下投与 (0.02, 0.1, 0.25 及び 0.5 mg/kg) したときの AUC は、投与量に比例して増加した。

イヌに [Cl-Phe-¹⁴C] CET (0.1 mg/kg) を単回皮下投与したときの血漿中放射能濃度は、雄において投与後 1.5 時間、雌において投与後 1.17 時間に C_{max} に達した。消失相の見かけの T_{1/2} は雄において 107.7 時間、雌において 104.8 時間であった。

イヌに CET を単回静脈内 (0.1 mg/kg) 及び皮下投与 (0.1 mg/kg) し、血漿中の未変化体濃度を測定した。静脈内投与後の終末相の T_{1/2} は雄において 7.86 時間、雌において 9.34 時間であった。

皮下投与後の終末相の T1/2 は雄において 9.06 時間、雌において 8.06 時間と静脈内投与時と同様であり、イヌにおいては flip-flop 現象は示唆されなかった。生物学的利用率は雄において 82%、雌において 108%と算出された。

雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを1日1回21日間反復投与(0.1 mg/kg)したときの投与後24時間の血漿中放射能濃度は、14回投与までにほぼ定常状態に達したと考えられた。一方、ラットにCETを1日1回14日間反復皮下投与(0.1 mg/kg)したときの血漿中未変化体濃度は、単回投与時の血漿中濃度推移とほぼ同様であり、反復投与によるCET未変化体の体内動態への影響はないものと考えられた。

(2) 分布

雌雄ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CET(0.1 mg/kg)を単回皮下投与した後、投与後2時間における組織内放射能濃度は、投与部位を除くと大動脈、腎臓、膀胱、小腸及び肝臓で高かった。標的組織である下垂体では、血漿より濃度は低いものの放射能の分布が確認された。その後組織内濃度は経時的に減少した。GnRH受容体を含む組織(下垂体及び卵巣)では、放射能の消失が血漿に比較して遅く、放射能の分布は投与後24時間では投与部位を除くと下垂体、卵巣、腎臓、大動脈、副腎及び雌ラットの大腸で高かった。投与後48時間までに大部分の放射能が組織から消失し、投与後264時間では雌雄ラットの肝臓、腎臓、脾臓、並びに雌の副腎、リンパ節、小腸及び卵巣を除く組織では定量下限未満となった。

雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CET(0.1 mg/kg)を1日1回、21回反復皮下投与した後、組織内放射能濃度はほとんどの組織で14回の投与でほぼ定常状態に達し、投与終了後には時間の経過に伴って減少した。

妊娠ラットに投与された放射能は胎盤を通過したが、胎児移行性は低かった。

ラット、イヌ及びヒトにおける*in vitro*での[Arg-¹⁴C]CET(ラット及びイヌ:40~2000 ng/mL, ヒト:40~500 ng/mL)の血漿蛋白結合率は濃度依存性は認められず、ラットで87.0~88.5%、イヌで86.1~86.5%、ヒトでは85.1~87.0%であった。

ラットにおいて、血液中放射能は投与直後にはほとんど血球に移行しなかったが、血球移行率は時間経過と共に上昇する傾向を示し、投与後96時間では雄で37.94%、雌で26.33%となった。一方、イヌにおいては血球移行率は投与後96時間まで10%未満であった。

(3) 代謝

代謝経路を明確にするため、[Cl-Phe-¹⁴C]CET投与時のイヌの胆汁より代謝物の構造決定を行った。イヌの胆汁からは、ヘプタペプチド(1-7)、ノナペプチド(1-9)、ヘキサペプチド(1-6)及びテトラペプチド(1-4)が同定された。

ラットの血漿中には未変化体が主として存在し、微量のヘキサペプチド(1-6)、ヘプタペプチド(1-7)及びテトラペプチド(1-4)も検出された。ラット及びイヌの尿中には、未変化体のみが検出された。ラットの胆汁では、未変化体が最も多く、次いでヘプタペプチド(1-7)が多く、その他にテトラペプチド(1-4)、ヘキサペプチド(1-6)及びノナペプチド(1-9)も検出された。

*In vitro*において、本化合物は代謝的に安定であり、ブタ膵臓パンクレアチンのみによって代謝され、テトラペプチド(1-4)を生成した。

(4) 排泄

ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CET (0.1 mg/kg) を単回皮下投与後、264 時間までに尿中へは雄において 27.54%、雌において 21.15%が、糞中へは雄において 60.75%、雌において 78.51%がそれぞれ排泄された。

雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CET (0.1 mg/kg) を 1 日 1 回、21 回反復皮下投与した後、投与終了後 264 時間までに尿中へは 30.19%、糞中へは 61.26%が排泄され、単回投与と同様の結果が得られた。

イヌに[Cl-Phe-¹⁴C]CET (0.1 mg/kg) を単回皮下投与後、336 時間までに、尿中へは雄において 45.99%、雌において 50.18%が、糞中へは雄において 48.72%、雌において 42.35%が排泄された。

雄ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CET (0.1 mg/kg) を単回皮下投与後、48 時間までに投与量の 69.60%が胆汁中に排泄された。残る 29.70%は尿に排泄された。腸管からの再吸収は認められなかった。

(5) 薬物代謝酵素系への影響

雌ラットに CET を反復皮下投与し、肝薬物代謝酵素系へ及ぼす影響を調べた結果、酵素誘導作用は認められなかった。

本化合物はヒト肝ミクロソーム中の各 P450 分子種 (CYP1A2, 2C8/9, 2C19, 2D6, 2E1 及び 3A4) の活性を阻害しなかった。

2. ヒトにおける成績

(1) 健康成人における薬物動態

1) 国内における試験

閉経前の健康女性 (31~45 歳) に CET (1, 3 及び 5 mg) を単回皮下投与したとき、未変化体の血漿中濃度は 1.1~1.3 時間で C_{max} に達した後、α相 1.9~7.3 時間、β相 28.6~82.9 時間の T_{1/2} で消失した。未変化体の尿中排泄率は 2.61~3.66%であった。

閉経前の健康女性 (33~44 歳) に CET (3mg) を 1 週間の間隔で 3 回反復皮下投与したとき、各投与後の未変化体の血漿中濃度はほぼ同様の推移を示し、蓄積性はほとんど認められなかった。各投与後 72 時間までの尿中排泄率はほぼ一定の値を示した。

閉経前の健康女性 (31~42 歳) に CET (0.25 mg) を 1 日 1 回 7 日間反復皮下投与したとき、初回投与後と最終投与後の未変化体の血漿中濃度はほぼ同様の推移を示し、0.25 mg 連日投与による蓄積性はほとんど認められなかった。また、初回投与後の AUC_{0-∞} と最終投与後の AUC_{0-24hr} がほぼ同じであることから、反復投与による体内動態の変化はないものと考えられた。

単回投与試験 (1, 3 及び 5 mg) 及び反復投与試験 (0.25 及び 3 mg) の初回投与時の結果をもとに、C_{max} 及び AUC_{0-∞} の用量との関係を検討した。各被験者のパラメータの個人差は大きいものの、C_{max} については薬液濃度の異なる 0.25 mg を除き 1, 3 及び 5 mg 投与群において用量に比例して増加した。なお、薬液濃度と MAT 及び MRT の関係を検討した結果より、本薬は薬液濃度を高くした場合に吸収時間が延長すると考えられたことから、薬液濃度が異なる場合には血漿中濃度推移が異なり、結果として用量-C_{max} 関係が異なる可能性があると考えられた。AUC_{0-∞} については、単回投与試験の結果からは 3 mg 以上の投与群において用量に比例した増加は確認できなかったが、単回投与試験と反復投与試験の初回投与時の結果を合わせて判断すると、未変化体の AUC_{0-∞} は 0.25 ~ 5 mg の投与量範囲において概ね用量に比例して増加することが確認され、特に申請用量である 0.25~3 mg の範囲では用量に比例した増加が示された。

また、単回投与試験並びに反復投与試験（3 mg、週 1 回、3 回投与）における各投与後の未変化体の尿中排泄率は、用量に依存せずほぼ一定であった。

2) 海外における成績

閉経前の健康女性（26～32 歳）及び健康男性（24～39 歳）に 3 mg の CET を静脈内及び皮下投与した。皮下投与後の生物学的利用率は 85.08%（女性）及び 85.21%（男性）と高く、また静脈内及び皮下投与後の T1/2 の違いから flip-flop 現象が示唆された。投与後 72 時間までの尿中排泄率は静脈内投与では 6.77%（女性）及び 7.07%（男性）、皮下投与では 4.17%（女性）及び 3.61%（男性）であった。

閉経前の健康女性（19～32 歳）に 0.25、0.5 及び 1 mg の CET を単回又は 14 日間連日反復皮下投与したとき、単回投与後の Cmax 及び AUC_{0-∞} は 0.25 mg から 1 mg まで用量に比例して増加した。また、単回投与後の AUC_{0-∞} と反復投与後の AUC_τ はほぼ同じ値を示し、反復投与による体内動態の変化が無いことが示された。各回投与前の血漿中濃度の推移から、遅くとも投与 11 日目には定常状態に到達したと考えられた。

(2) 体外受精/胚移植施行時における薬物動態

1) 国内における成績

体外受精/胚移植施行時における薬物動態の検討は、ブリッジング試験（3 mg 単回投与法及び 0.25 mg 反復投与法）で得られた血漿を用いて行った。

① 3 mg 単回投与法

不妊夫婦の女性配偶者（27～38 歳）に CET 3 mg を皮下投与した 37 例について、投与後 1 日毎の血漿中 CET-F 濃度を RIA 法により測定した。血漿中 CET-F 濃度は投与 1 日後 7.35 ng/mL であり、投与 2 日後には 3.12 ng/mL、投与 3 日後には 1.98 ng/mL に低下した。

② 0.25 mg 反復投与法

不妊夫婦の女性配偶者（24～39 歳）に CET 0.25 mg を連日皮下投与し、各回投与前における血漿中 CET-F トラフ濃度を RIA 法により測定した。CET が投与された 31 例のうち、治験薬投与前に採血が行われたことが確認できた 7 例について、各投与前の血漿中 CET-F 濃度は定量下限未満～0.86 ng/mL であった。

2) 海外における成績

体外受精/胚移植施行時における薬物動態の検討は、フランス（単回投与法）並びにドイツ及びベルギー（反復投与法）における第 II 相試験で得られた血漿を用いて行った。

① 単回投与法

不妊症カップルの女性パートナー（24～36 歳）に CET 5mg を 1 回投与したとき、採卵日の CET-F 濃度は 0.60±0.37 ng/mL、CET2 回（追加）投与時の採卵日の CET-F 濃度は 2.19±1.25 ng/mL（平均値±標準偏差）であった。

男性因子による不妊症カップルの女性パートナー 6 名（第 1 群、自発 LH サージによる子宮内受精）及び卵管機能不全による不妊症カップルの女性パートナー 12 名（第 2 群、排卵誘発及び体外受精）に CET 3 mg を皮下投与したとき、消失半減期は 31.7～74.2 時間（第 1 群）、21.8～52.0 時間（第 2 群 1 回投与）及び 40.8～64.4 時間（第 2 群 2 回投与）であった。

最小有効量探索試験において不妊症カップルの女性パートナー（32±3.7 歳，平均値±標準偏差）に CET 3 mg を皮下投与したとき，消失半減期は 34.7～133.0 時間であった。

② 反復投与方法

不妊症カップルの女性パートナー（32±2.8 歳，平均値±標準偏差）に CET 1 mg 又は 3 mg を 1 日 1 回連日皮下投与したとき，CET-F トラフ濃度は 1 mg 及び 3 mg 投与群ともに投与回数を経るにつれて上昇する傾向を示し，また 3 mg 投与群の方が 1 mg 投与群より高い血漿中濃度を示す傾向にあった。

不妊症カップルの女性パートナー（31±2.7 歳，平均値±標準偏差）に CET 1 mg 又は 0.5 mg を 1 日 1 回連日皮下投与したとき，CET-F トラフ濃度は 1mg 投与群では 0.5 mg 投与群に比較して高い傾向を示した。最終投与後の血漿中濃度推移から算出した消失半減期は 1mg 投与群で 21.6～70.7 時間，0.5 mg 投与群では 49.3 時間であった。

最小有効量探索試験において不妊症カップルの女性パートナー（31±3.9 歳，平均値±標準偏差）に CET 0.5, 0.25 又は 0.1 mg を 1 日 1 回連日皮下投与したとき，0.5 mg 投与群におけるトラフ濃度は投与につれて上昇し，約 7 日間の反復投与後においても完全には定常状態に至らなかった。

（3）代謝物の検索

ヒトの尿中には未変化体のみが検出され，代謝物は認められなかった。

治療上の理由で胆管ドレナージを受けている被験者に CET 10 mg を単回皮下投与後 24 時間までに得た胆汁中には，ヘプタペプチド(1-7)，ヘキサペプチド(1-6)，未変化体，テトラペプチド(1-4)及びノナペプチド(1-9)が HPLC 法により検出された。胆汁中の未変化体及び代謝物の合計は投与量の 7.2%に相当した。

（4）薬物相互作用

ヒト血漿を用いた *in vitro* 蛋白結合実験で，CET の蛋白結合率は 85.9%と中程度であり，血漿蛋白結合に起因する薬物相互作用が発現する可能性は低いと考えられた。

CET をラットに皮下投与したとき，血漿中には未変化体が主に存在した。また，尿中には未変化体のみが，胆汁中には未変化体が主に，次いでヘプタペプチド(1-7)，テトラペプチド(1-4)，ヘキサペプチド(1-6)及びノナペプチド(1-9)が排泄された。したがって，本化合物は主に加水分解酵素による代謝を受けることが示唆された。一方，ヒト肝臓の膜画分及び可溶性画分を用いた *in vitro* 代謝実験で，NADPH 生成系を添加しても本化合物の代謝が認められないことから，P450 などの単原子酸化酵素は本化合物の代謝に関与していないと考えられた。さらに，CET はラット肝ミクロソームの薬物代謝酵素を誘導せず，ヒト肝ミクロソームの各 P450 分子種（CYP1A2, 2C8/9, 2C19, 2D6, 2E1 及び 3A4）も阻害しなかった。これらの結果より，本剤においては，P450 を介した薬物相互作用が発現する可能性は低いと考えられた。

1. 被験物質及びその定量法

添付資料へー1～10, 参考資料へー1～3

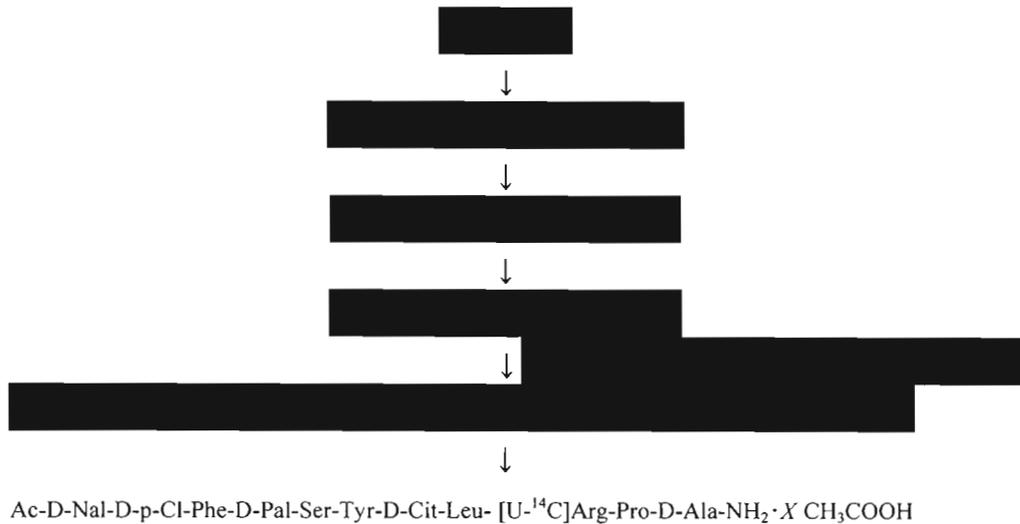
(1) 標識体

添付資料へー1～3, 参考資料へー1, 2

1) 被験物質

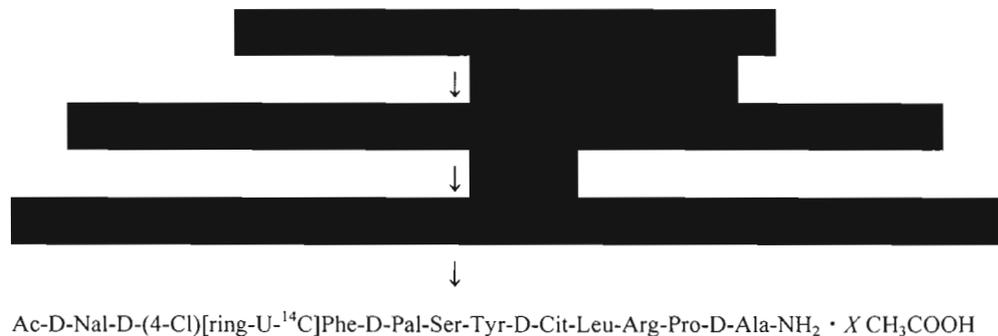
CETの標識体として[Arg-¹⁴C]CETと[Cl-Phe-¹⁴C]CETの2種類を用いた.

[Arg-¹⁴C]CETは図へー2に示す経路により [redacted] (英国) で合成された. HPLC法による放射化学的純度は97.6%, 放射活性は8.13MBq/mgであった.



図へー2 [Arg-¹⁴C]CETの合成経路 (添付資料へー1より作成)

[Cl-Phe-¹⁴C]CETは図へー3に示す経路により [redacted] (英国) で合成された. HPLC法による放射化学的純度は98.6%以上, 放射活性は7.51～7.62MBq/mgであった.



図へー3 [Cl-Phe-¹⁴C]CETの合成経路

当初、8番目のアミノ酸であるアルギニンを標識した[Arg-¹⁴C]CETを合成し、試験に用いたが、ラットを用いた吸収、臓器分布及び排泄試験において、放射能が投与264時間後においても筋肉及び皮膚にそれぞれ9~12%及び4~8%が残留し（参考資料へー1）、さらにラット尿中に¹⁴C標識された尿素が検出された（参考資料へー2）ことから、本標識体は、アルギニンを經由して代謝されることにより、一部は生体成分となり体内に残存し、さらに一部は尿素に代謝されるものと推定された。そこで、薬物動態をさらに詳細に検討するため、2番目のアミノ酸を標識した [Cl-Phe-¹⁴C]CETを合成し、試験に使用した。その結果、[Arg-¹⁴C]CETを使用したときに比較して速やかな組織からの消失が認められ、さらに非標識体を用いた場合とほぼ同様の血漿中濃度推移が得られたことから、[Cl-Phe-¹⁴C]CETはCETの体内動態をより正確に反映すると考えられた。そのため、[Cl-Phe-¹⁴C]CETを用いてCETの薬物動態を再検討した。ただし、代謝の影響を考慮する必要のない*in vitro*蛋白結合試験においては[Arg-¹⁴C]CETを用いたデータを採用した。

2) 定量法

放射能の測定は液体シンチレーションカウンターを用いた。定量下限はブランク値の2倍とした。放射能濃度はCET-Fに換算し、ng-eq./g又はmLと表記した。

(2) 非標識体

添付資料へー4~10, トー6~8, 参考資料へー3

1) 被験物質

CETはASTA Medica AG（ドイツ）で合成した。

2) 定量分析法

ラット及びイヌ血漿中未変化体は、ウサギのCET抗血清と[¹²⁵I]CETを用いたRIA法により定量した。ラット及びイヌ血漿における定量下限はいずれも■%B/B₀に設定され、0.156 ng/mLに相当した。また、代謝物の分析にはHPLC法を用いた。

ヒト血漿中未変化体はLC/MS法又はRIA法によって測定した。LC/MS法の定量下限は0.9 ng/mLであった。RIA法の定量下限は■%B/B₀に設定され、これは理想的な条件下では0.312 ng/mLに相当した。LC/MS法及びRIA法の感度及び特異性、並びにこれらの定量法が適用された試験の一覧、さらに同一試料を両分析法で測定したときの関係を表へー2に示す。

ヒト尿中未変化体の定量はLC/MS法又はHPLC法を用い、ヒト胆汁中未変化体及び代謝物の定量にはHPLC法を用いた。

表へー2 RIA 法及び LC/MS 法の定量下限, 特異性, 実施施設及び適用した基礎及び臨床試験

	RIA	LC/MS
定量下限 ^{a)}	定量下限は結合率 $\frac{B}{B_0}$ に設定され, 濃度換算では 0.312 ng/mL に相当 (血漿 20 μ L 使用).	血漿 1 mL で 0.9 ng/mL.
特異性	<p>交差反応性</p> <ul style="list-style-type: none"> ・内因性物質 GnRH: 0.014% 以下. ・CET の C 末端側断片 ペプチド[*](8-10): 0.03% 以下 ・CET の N 末端側断片 ペプチド[*](1-3): 7.6~39.2% ペプチド[*](1-7): 95.4~121.6% 	ブランク血漿で夾雑ピークは認められなかった.
測定施設	Asta Medica AG (独国)	日本化薬株式会社 (日本)
適用した基礎試験	<p>薬物動態試験</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ラット未変化体血漿中濃度 ・イヌ未変化体血漿中濃度 <p>トキシコキネティクス測定</p> <ul style="list-style-type: none"> ・26 週間反復投与毒性試験 (ラット, イヌ) 	<p>トキシコキネティクス測定</p> <ul style="list-style-type: none"> ・単回投与毒性試験 (ラット, イヌ) ・マウス骨髄細胞を用いる染色体異常試験
適用した臨床試験	<p>海外</p> <p>臨床第一相試験</p> <ul style="list-style-type: none"> ・3mg 及び 5mg 反復投与試験 ・3mg 静脈内及び皮下投与の比較試験 ・0.25~1mg 単回投与及び反復投与試験 <p>臨床第二相試験</p> <ul style="list-style-type: none"> ・5mg 単回及び 2 回投与試験 ・3mg 単回投与試験 ・3mg, 1mg 反復投与試験 ・0.5mg, 1mg 反復投与試験 ・0.5mg, 0.25mg および 0.1mg 反復投与試験 <p>国内</p> <p>臨床第一相試験及び薬物動態・薬力学検討臨床試験</p> <ul style="list-style-type: none"> ・0.25mg 7 日間投与による薬物動態・薬力学検討臨床試験 <p>体外受精/胚移植施行時における早発排卵防止作用を検討する臨床試験</p> <ul style="list-style-type: none"> ・3mg 単回投与試験 ・0.25mg 反復投与試験 	<p>国内</p> <p>臨床第一相試験及び薬物動態・薬力学検討臨床試験</p> <ul style="list-style-type: none"> ・単回投与試験 ・3mg 週 1 回 3 週間反復投与試験 ・0.25mg 7 日間投与による薬物動態・薬力学検討臨床試験 (クロスバリデーション)
両測定法の関係	LC/MS 法による測定値を X, RIA 法による測定値を Y に配したときの線形式は $Y = \text{ } X$ であった (添付資料トー8, 図 12-7-2) .	

a)CET-F 換算.

2. 動物における成績

添付資料へー3, 6, 11~28

ラット (Wistar系) 及びイヌ (ビーグル犬) に[Cl-Phe-¹⁴C]CET又はCETを静脈内及び皮下投与し, 吸収, 分布, 代謝及び排泄について検討した. 投与薬液は, 静脈内投与及び皮下投与とも, CETを 5.2% マンニトール水溶液としたものを用いた. ラットにおける静脈内投与は尾静脈から行い, 皮下投与は反復投与の組織内分布試験及び排泄試験, 薬物代謝酵素系に及ぼす影響並びに血漿中代謝物の検索では背部皮下に, その他の試験では下腹部皮下に行った. イヌにおける静脈内投与は前肢橈側皮静脈から行い, 皮下投与は頸背部皮下に行った.

(1) 吸収

添付資料へー3, 11~17

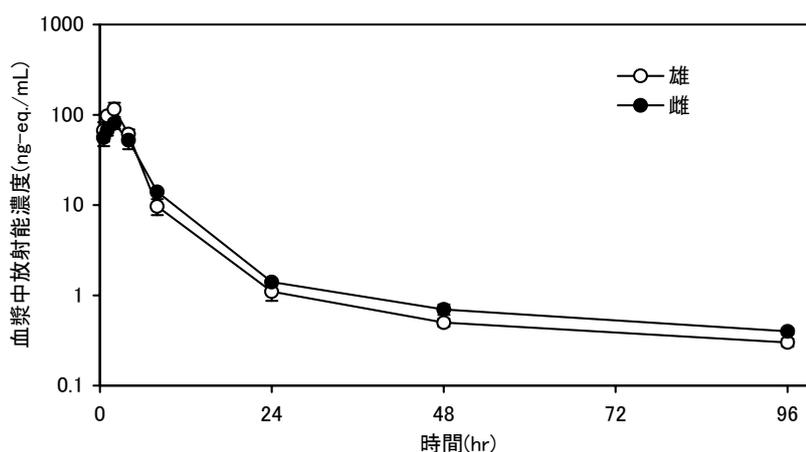
1) 単回投与時の血漿中濃度

添付資料へー3, 11~15

① ラット血漿中放射能濃度

添付資料へー3

雌雄ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの血漿中放射能濃度の推移を図へー4に, 薬物動態パラメータを表へー3に示した. 雌雄ともに血漿中放射能濃度は投与後2時間にCmax (雄: 115.3 ng-eq./mL, 雌: 80.1 ng-eq./mL)に達し, 雄雌それぞれ 35.6 hr及び 39.6 hrのT1/2で消失した.



図へー4 雌雄ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの血漿中放射能濃度推移 (平均値±標準偏差, n=4)
(添付資料へー3の Figure 1 及び 2 より作成)

表へー3 雌雄ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの血漿中放射能の薬物動態パラメータ

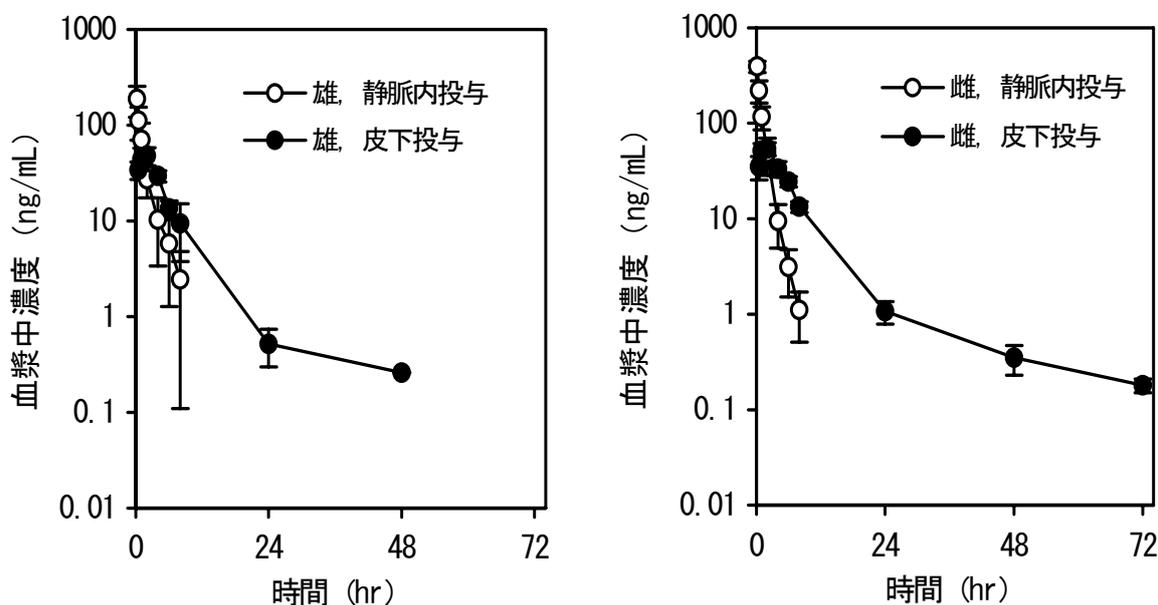
パラメータ (単位)	雄	雌
Cmax (ng-eq./mL)	115.3	80.1
Tmax (hr)	2	2
T1/2 (終末相) (hr)	35.6	39.6
AUC _{0-∞} (ng-eq.・hr /mL)	618.1	578.1
CL/F (mL/min/kg)	2.70	2.88
Vd/F (L/kg)	8.31	9.87

n=4 の平均血漿中濃度から得られたパラメータを示す。
(添付資料へー3 の Table 1 より作成)

② ラット血漿中未変化体濃度

添付資料へー11, 12

雌雄ラットにCETを0.1 mg/kgで皮下又は静脈内投与したときの血漿中未変化体の濃度推移を図へー5に、薬物動態パラメータを表へー4に示した。皮下投与時の血漿中未変化体濃度は雌雄ともに投与後約2時間にCmax(雄:50.22 ng/mL,雌:55.74 ng/mL)に達し、雄6.88 hr,雌14.31 hrのT1/2で消失した。皮下投与時の生物学的利用率は97.1~120%と高かった。皮下投与時の終末相のT1/2は、静脈内投与時に比較して長くなっていることから、皮下投与部位からの吸収が律速となり、flip-flop現象を生じていることが示唆された。



図へー5 雌雄ラットにCETを0.1 mg/kgで単回皮下又は静脈内投与したときの血漿中未変化体濃度推移(平均値±標準偏差, n=4)
(添付資料へー11のFigure 3及び4より作成)

表へー4 雌雄ラットにCETを0.1 mg/kgで単回皮下又は静脈内投与したときの
血漿中未変化体の薬物動態パラメータ

パラメータ (単位)	皮下投与		静脈内投与	
	雄	雌 ^{a)}	雄	雌
Cmax (ng/mL)	50.22±12.18	55.74±10.76	187.98±67.34	394.6±53.77
Tmax (hr)	1.75±0.50	1.80±0.45	0.17±0.00	0.17±0.00
T1/2 (終末相) (hr)	6.88±2.58	14.31±6.86	2.13±1.14	1.29±0.09
AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)	307.89±47.25	408.05±36.18	256.31±61.35	420.17±106.18
MRT (hr)	5.58±1.22	7.52±1.34	1.93±1.46	1.02±0.14
MAT (hr)	3.66	6.50	—	—
CL _{tot} (mL/min/kg)	4.85±0.72	3.62±0.31	6.03±1.66	3.67±0.91
生物学的利用率 (%)	120	97.1		

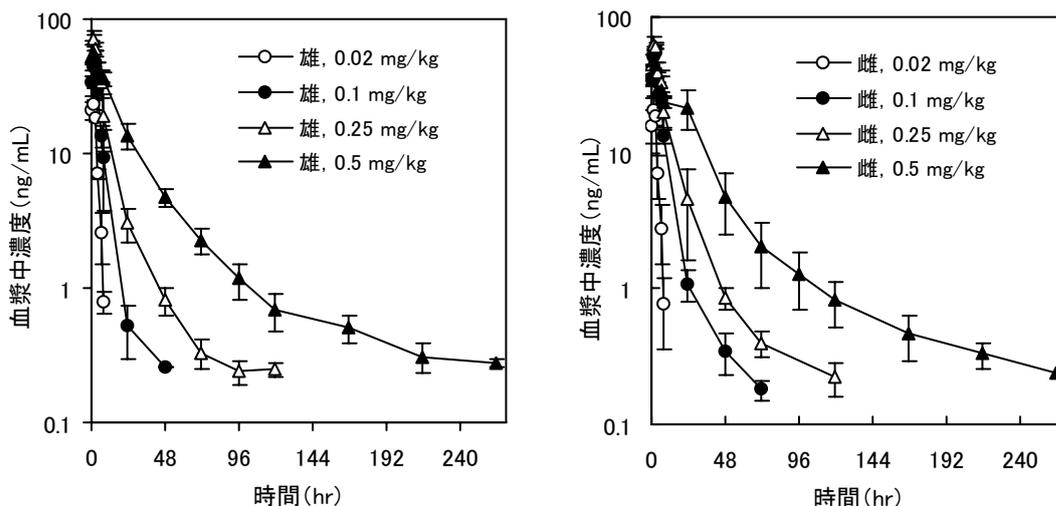
平均値±標準偏差, n=4, a); n=5

皮下投与後のCL_{tot}は生物学的利用率で補正して求めた。

(添付資料へー11のTable 1より作成)

雌雄ラットにCETを0.02, 0.1, 0.25及び0.5 mg/kg (薬液濃度0.02, 0.1, 0.25及び0.5 mg/mL)で皮下投与したときの血漿中未変化体濃度の測定を行った。血漿中濃度推移を図へー6に、薬物動態パラメータを表へー5に示した。全ての投与量におけるTmaxはほぼ一定であり、0.88~1.80時間であった。投与量の増加に伴い、T1/2の延長が認められた。投与量とCmax及びAUC_{0-∞}の相関を図へー7に示した。この投与量範囲においてAUC_{0-∞}と投与量は比例したが、Cmaxについては用量に比例した増加は認められなかった。この理由としては、ラットにおいてflip-flop現象が示唆されていること及び用量の増加に伴ってT1/2が延長していることから、薬液濃度の上昇に伴う吸収速度の低下によってCmaxの上昇が抑制された可能性が考えられた。なお、薬液濃度の大小と吸収速度の関係については、吸収速度を表わすパラメータであるMATを用いて検討した。その結果、表へー5に示すとおり、雌雄ラットに本薬を単回皮下投与したときのMATは投与量の増加(薬液濃度の上昇)に依存して延長することが確認された。

また、表へー4において、CETを0.1 mg/kgで皮下投与したときのAUC_{0-∞}は雌ラットで大きく、同投与量で静脈内投与したときのCmax及びAUC_{0-∞}も雌ラットの方が高かった。しかし、個体差が大きく、皮下投与での用量と薬物動態パラメータの関係を検討した結果(図へー7)、0.1 mg/kg以外の投与量において各種パラメータの平均値は雌雄ではほぼ同じであったことから、CETのラット血漿中濃度推移において雌雄差は少ないものと考えられた。



図へー6 雌雄ラットに CET を単回皮下投与したときの血漿中未変化体濃度推移
 (平均値±標準偏差, n=4, 0.1 mg/kg (雌) は n=5)
 (添付資料へー12 の Figure 1~8 より作成)

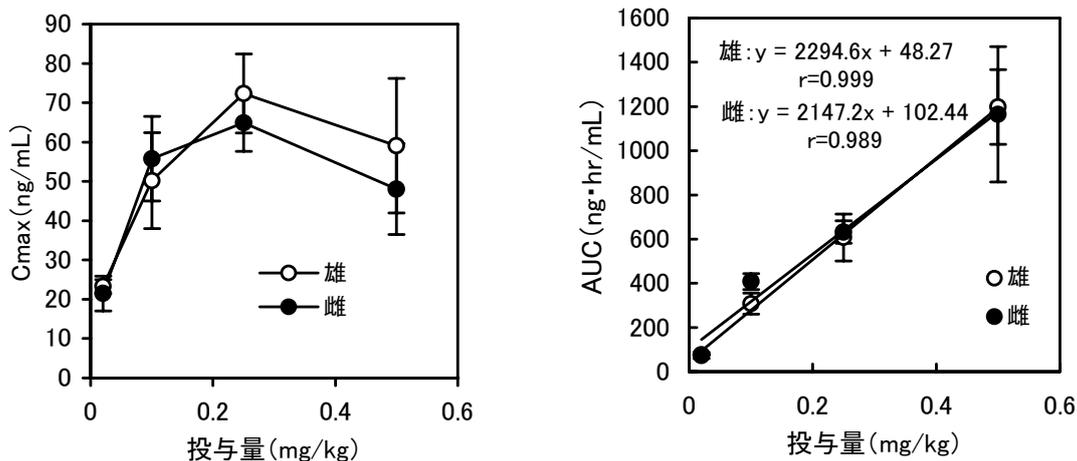
表へー5 雌雄ラットに CET を単回皮下投与したときの血漿中未変化体の薬物動態
 パラメータ

投与量	0.02 mg/kg		0.1 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌 ^{a)}
Cmax (ng/mL)	23.30±1.75	21.48±4.43	50.22±12.18	55.74±10.76
Tmax (hr)	0.88±0.25	1.50±0.58	1.75±0.50	1.80±0.45
T1/2 (終末相) (hr)	1.32±0.09	1.31±0.16	6.88±2.58	14.31±6.86
AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)	76.72±1.18	73.66±14.04	307.89±47.25	408.05±36.18
MRT (hr)	2.43±0.17	2.52±0.37	5.58±1.22	7.52±1.34
MAT (hr)	0.50	1.50	3.66*	6.50*
投与量	0.25 mg/kg		0.5 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
Cmax (ng/mL)	72.37±10.05	64.89±7.21	59.07±17.16	48.03±11.59
Tmax (hr)	1.00±0.00	1.50±0.58	1.25±0.50	1.25±0.50
T1/2 (終末相) (hr)	40.81±18.98	39.34±9.25	99.59±39.62	69.43±6.89
AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)	607.13±106.31	631.52±50.99	1197.60±169.29	1164.59±306.62
MRT (hr)	14.74±4.85	15.40±2.23	41.00±7.58	36.74±3.19
MAT (hr)	12.81	14.38	39.07	35.72

データは n=4 の平均値 (a) ; n=5)

投与量は CET 換算値で表示し, 濃度は CET-F 換算値で表示した.

(添付資料へー12 の Table 1~9 より作成し, MAT は 0.1 mg/kg 静脈内投与時 (添付資料へー11) 及び各投与量の皮下投与時の MRT から計算した値を表示した. *: 0.1 mg/kg 群の MAT は資料へー11 に記載された値を表示した.)

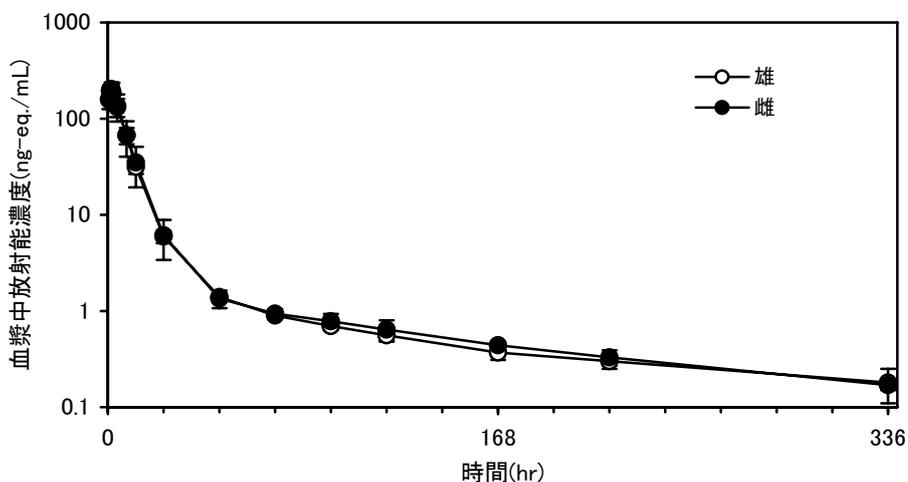


図へー7 雌雄ラットにCETを単回皮下投与したときの血漿中未変化体の薬物動態パラメータ(Cmax及びAUC)と投与量(CET換算)との関係
 平均値±標準偏差, n=4 (0.1 mg/kg (雌) は n=5)
 (添付資料へー12のTable 2~9より作成)

③ イヌ血漿中放射能濃度

添付資料へー13

ビーグル犬に [Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの血漿中放射能濃度を測定し, その経時変化を図へー8に, 薬物動態パラメータを表へー6に示した. 雄では投与後 1.5 時間, 雌では 1.17 時間にCmax (雄: 196.07 ng-eq./mL, 雌: 208.65 ng-eq./mL) に到達し, 雄 107.7 時間及び雌 104.8 時間のT1/2で消失した.



図へー8 雌雄ビーグル犬に[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの血漿中放射能濃度 (平均値±標準偏差, n=3)
 (添付資料へー13のFigure 1及び2より作成)

表へー6 雌雄ビーグル犬に[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの血漿中放射能の薬物動態パラメータ

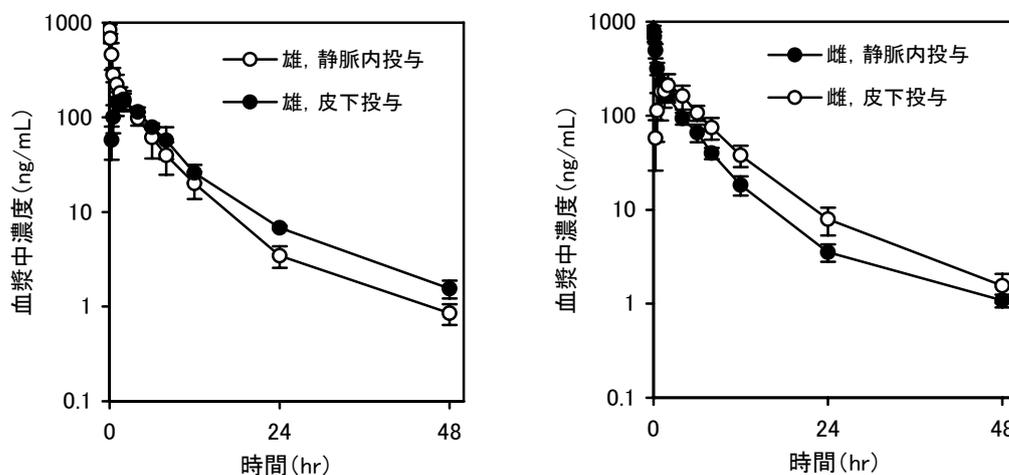
パラメータ (単位)	雄	雌
Cmax (ng-eq./mL)	196.07±29.96	208.65±35.06
Tmax (hr)	1.5±0.5	1.17±0.29
T1/2(終末相) (hr)	107.7±22.8	104.8±3.1
AUC _{0-∞} (ng-eq.・hr/mL)	1692.4±270.2	1764.1±507.0

平均値±標準偏差, n=3 (添付資料へー13のTable 3及び4より作成)

④ イヌ血漿中未変化体濃度

添付資料へー14, 15

雌雄ビーグル犬に CET を 0.1 mg/kg で静脈内又は皮下投与したときの血漿中未変化体濃度推移を図へー9に, 薬物動態パラメータを表へー7に示した.



図へー9 雌雄ビーグル犬に CET を単回皮下又は静脈内投与したときの血漿中未変化体濃度推移 (平均値±標準偏差, n=4) (添付資料へー15のFigure 1及び2より作成)

表へー7 雌雄ビーグル犬に CET を単回皮下又は静脈内投与したときの未変化体の薬物動態パラメータ

パラメータ (単位)	皮下投与		静脈内投与	
	雄	雌	雄	雌
Cmax (ng/mL)	162.30±27.32	229.25±77.85	685.65±76.67	690.70±85.93
Tmax (hr)	1.63±0.48	1.63±0.48	0.08	0.08
T1/2(終末相) (hr)	9.06±0.37	8.06±0.75	7.86±0.44	9.34±0.50
AUC _{0-∞} (ng・hr/mL)	1304.62±137.47	1748.73±452.52	1394.61±285.56	1429.20±229.30
MRT (hr)	8.73±0.86	8.14±0.34	5.47±0.20	5.62±0.19
CLtot (mL/min/kg)	1.06±0.10	1.10±0.29	1.08±0.23	1.06±0.15
Vdss (L/kg)	0.35±0.08	0.37±0.10	0.35±0.06	0.36±0.05
生物学的利用率 (%)	82	108		

平均値±標準偏差, n=4. 皮下投与後のCLtotは生物学的利用率で補正して求めた。
(添付資料へー15のTable 1より作成)

皮下投与後の血漿中濃度は雌雄ともに投与後 1.63 時間に Cmax (雄：162.30 ng/mL, 雌：229.25 ng/mL) に到達し, 雄 9.06 時間, 雌 8.06 時間の T1/2 で消失した. 生物学的利用率は雄で 82%, 雌で 108% と高かった.

2) 反復投与時の血漿中濃度

添付資料へー16, 17

① ラット血漿中放射能濃度

添付資料へー16

雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CET を 0.1 mg/kg で反復皮下投与したとき, 投与後 24 時間の血漿中放射能濃度は 1 回投与後の 0.53 ng-eq./mL に対し, 7, 14 及び 21 回投与後にはそれぞれ 1.58, 2.16 及び 1.78 ng-eq./mL であり, 14 回投与までにはほぼ定常状態に達したと考えられた.

② ラット血漿中未変化体濃度

添付資料へー17

雌雄ラットに CET を 0.1 mg/kg で反復皮下投与したときの 14 日目の血漿中未変化体濃度を測定し, 薬物動態パラメータを算出した. 結果を表へー8 に示した. Cmax 及び AUC において性差は見られなかった. 単回投与時 (表へー4) に比較して反復投与した際の薬物動態パラメータに大きな差は認められず, 蓄積性は小さいと考えられた.

表へー8 雌雄ラットに CET を 0.1 mg/kg で反復皮下投与したときの投与 14 日目の血漿中未変化体濃度の薬物動態パラメータ

パラメータ (単位)	雄	雌
Css, max (ng/mL)	62.87 ± 15.64 ^{a)}	72.91 ± 28.27
Tss, max (hr)	1 ± 0	1 ± 0
T1/2ss (hr)	12.08 ± 4.50 ^{b)}	6.17 ± 0.98 ^{c)}
AUC _t (ng·hr/mL)	293.90 ± 20.89	272.57 ± 69.20
AUC _{ss} (ng·hr/mL)	334.27 ± 45.45	274.80 ± 75.13
蓄積率	1.13 ± 0.10	1.00 ± 0.05

平均値 ± 標準偏差, n=5 (雄), n=7 (雌), a); n=7, b); n=4, c); n=6
(添付資料へー17 の Table 3 より作成)

(2) 分布

添付資料へー3, 13, 16, 18～22

1) 単回投与時の臓器・組織内濃度

添付資料へー3

雌雄ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの組織内放射能濃度を表へー9及び10に示した。雄ラットにおいて血漿中放射能がCmaxに達した投与後2時間における臓器・組織内放射能濃度は、投与部位を除くと代謝排泄臓器（肝臓、腎臓、小腸及び膀胱）及び大動脈で高かった。標的組織である下垂体では、血漿よりやや低めの放射能の分布が確認された。精巣、精巣上体及び前立腺には中等度の放射能の分布が認められた。一方、雌ラットの投与後2時間における臓器・組織内の放射能の分布は雄ラットと類似していた。子宮及び卵巣には中等度の放射能の分布が認められた。2時間以降は、雌雄ラット共各臓器・組織内濃度は経時的に減少したが、GnRH受容体を含む組織（雄ラットでは下垂体、雌ラットでは下垂体及び卵巣）では、放射能の消失が血漿に比較して遅かった。この理由として、本薬物がGnRH受容体に高い親和性を示すことが考えられた。

投与後24時間における放射能の分布は、雌雄ラット何れも投与部位を除くと、雄ラットでは下垂体、腎臓、大動脈及び副腎において、また雌ラットでは、下垂体、腎臓、大動脈、卵巣及び大腸で高かった。

投与後48時間までに大部分の放射能が組織から消失し、投与後264時間では雌雄ラットの肝臓、腎臓及び脾臓、並びに雌ラットの副腎、リンパ節、小腸及び卵巣を除く組織では定量下限未満となった。投与後264時間の投与部位には投与量の2～3%の放射能が残存していた。分布について雌雄で顕著な違いは認められなかった。

表へー9 雄ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの組織内放射能濃度

組織	組織内放射能濃度 (ng-eq./g or mL)								
	時間 (hr)								
	0.5	1	2	4	8	24	48	96	264
血漿	66.8	97.0	115.3	61.2	9.7	1.1	0.5	0.3	NA
血液	38.6	57.8	66.5	35.0	6.1	0.7	0.3	0.2	NA
小脳	1.2	1.6	2.2	1.4	NA	NA	NA	NA	NA
大脳	0.8	1.2	1.7	1.0	NA	NA	NA	NA	NA
視床下部	NA	NA	3.7	2.2	NA	NA	NA	NA	NA
下垂体	31.9	43.8	50.2	57.2	35.7	47.1	46.3	22.0	NA
眼球	5.9	7.4	11.7	8.4	2.3	NA	NA	NA	NA
心臓	13.8	21.3	24.8	17.9	4.4	0.6	NA	NA	NA
肺	36.9	64.6	79.2	59.4	16.1	3.9	1.6	0.7	NA
肝臓	71.6	89.0	150.4	118.9	55.1	5.6	2.6	1.5	1.0
腎臓	113.5	153.9	249.2	204.7	83.5	9.9	5.8	5.8	3.8
副腎	23.3	31.5	57.0	34.0	19.2	9.4	7.2	3.9	NA
脾臓	15.4	26.1	42.3	31.7	24.4	6.7	3.5	2.7	1.9
甲状腺	13.3	26.0	31.9	18.6	8.0	NA	NA	NA	NA
リンパ節	19.1	29.3	63.0	45.0	33.4	6.5	2.9	0.9	NA
膵臓	12.5	20.8	39.1	15.3	11.5	0.7	NA	NA	NA
皮膚	17.7	28.0	37.4	25.4	7.4	3.1	NA	NA	NA
筋肉	10.0	14.1	11.8	5.9	1.5	NA	NA	NA	NA
骨	3.4	11.7	13.8	14.0	4.1	0.9	NA	NA	NA
骨髄	11.6	16.1	28.2	22.8	16.8	3.7	NA	NA	NA
脂肪	9.3	13.5	36.4	5.8	5.0	NA	NA	NA	NA
大動脈	53.7	116.4	313.5	431.4	160.8	9.7	2.2	NA	NA
胃	18.5	28.9	57.3	22.6	10.1	1.7	NA	NA	NA
小腸	40.6	48.6	172.7	99.8	43.5	3.7	1.3	0.5	NA
大腸	19.2	27.4	70.2	60.7	122.2	8.3	1.4	NA	NA
膀胱	42.2	126.0	228.3	144.0	16.9	1.2	NA	NA	NA
精巣	7.1	10.2	24.6	15.0	7.7	2.9	3.0	1.6	NA
精巣上体	19.8	19.0	52.9	19.0	6.5	0.7	NA	NA	NA
前立腺	20.5	26.2	65.2	16.6	5.6	NA	NA	NA	NA
投与部位	3983.9	3181.1	1466.0	993.9	863.3	660.4	613.4	421.0	139.3

平均値, n=4

2匹以上の測定値が定量下限未満である場合はNA (not applicable) と表示した.

(添付資料へー3のTable 2より作成)

表へー10 雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの組織内放射能濃度

組織	組織内放射能濃度 (ng-eq./g or mL)								
	時間 (hr)								
	0.5	1	2	4	8	24	48	96	264
血漿	55.9	66.6	80.1	52.2	14.0	1.4	0.7	0.4	NA
血液	32.8	41.1	50.9	30.2	8.0	0.9	0.4	0.3	NA
小脳	0.9	1.1	2.2	1.0	NA	NA	NA	NA	NA
大脳	0.7	0.8	1.5	0.8	NA	NA	NA	NA	NA
視床下部	NA	NA	2.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA
下垂体	24.1	34.5	41.5	32.0	45.6	22.5	23.1	10.2	NA
眼球	3.4	7.1	7.6	6.0	2.9	NA	NA	NA	NA
心臓	13.5	13.9	20.3	12.3	5.3	0.7	NA	NA	NA
肺	36.6	48.7	72.7	53.1	20.3	3.9	1.6	0.6	NA
肝臓	62.5	88.4	88.3	110.8	68.4	8.8	4.0	2.3	1.5
腎臓	74.7	102.9	125.1	119.5	63.9	9.5	5.7	5.0	6.7
副腎	15.7	28.9	34.3	38.2	23.8	11.6	8.7	4.5	2.7
脾臓	12.7	16.6	22.1	21.4	18.9	8.2	4.6	2.4	1.5
甲状腺	15.1	17.7	22.1	17.8	9.7	NA	NA	NA	NA
リンパ節	14.4	25.7	32.1	44.3	35.7	8.1	3.5	1.6	1.0
膵臓	8.3	12.4	14.0	10.4	5.2	0.8	NA	NA	NA
皮膚	27.8	21.8	30.6	33.7	9.6	2.9	1.1	0.8	NA
筋肉	7.3	5.4	14.1	6.2	1.8	NA	NA	NA	NA
骨	4.9	7.3	9.9	7.6	7.0	1.0	NA	NA	NA
骨髄	10.4	14.0	17.1	19.1	16.0	5.6	NA	NA	NA
脂肪	1.7	3.9	5.1	3.4	1.2	NA	NA	NA	NA
大動脈	53.2	126.6	169.6	217.9	205.9	18.9	NA	NA	NA
胃	17.2	25.0	38.2	23.8	9.6	2.0	1.3	NA	NA
小腸	33.8	63.1	123.4	173.2	71.8	6.5	1.9	0.9	0.6
大腸	12.2	22.6	25.0	68.8	104.7	22.4	1.6	NA	NA
膀胱	27.9	69.9	57.2	29.3	13.4	2.1	NA	NA	NA
子宮	17.0	22.6	34.0	23.5	10.9	2.2	0.9	NA	NA
卵巣	29.5	39.7	50.2	45.1	35.0	40.6	25.9	25.9	7.1
投与部位	4061.3	2558.1	2909.7	2175.7	307.6	649.5	363.5	296.5	209.0

平均値, n=4

1匹の測定値が定量下限未満である場合は中央値を表示し, 2匹以上の測定値が定量下限未満である場合はNAと表示した.

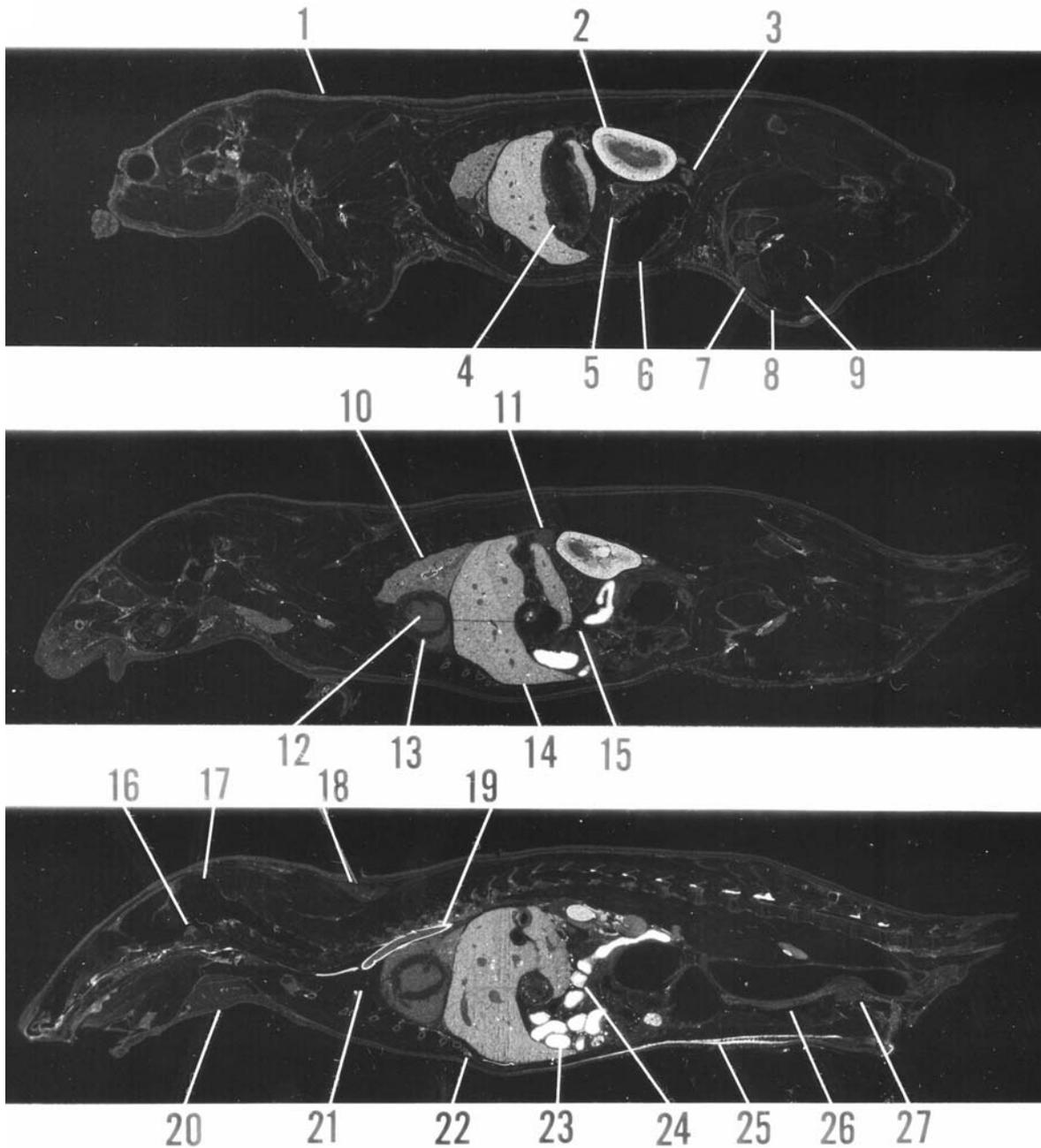
(添付資料へー3のTable 3より作成)

2) 全身オートラジオグラフィー

添付資料へー18

雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの投与後2及び24時間における全身オートラジオグラムを図へー10及び11に示した。投与後2時間では放射能の分布は小腸内容物に最も高く、次いで投与部位、腎臓、肝臓及び大動脈で高く、下垂体にも放射能が認められた。投与後24時間では投与部位、下垂体、盲腸内容物及び腎臓に弱い放射能が認められた。これらの結果は、臓器・組織内濃度を検討した結果と同様であった。

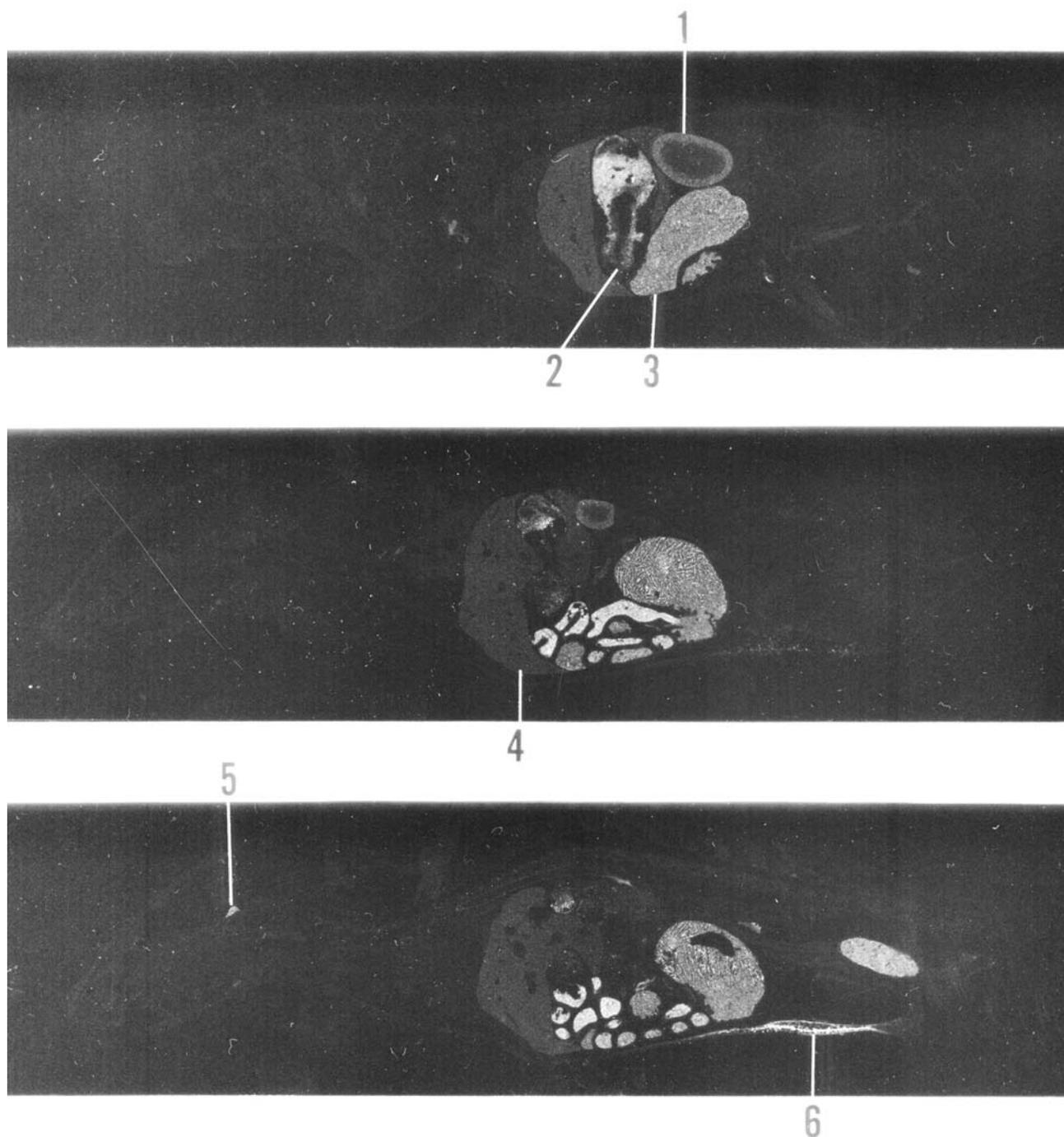
2hr



- 1: 皮膚 2: 腎臓 3: 卵巣 4: 胃 5: 脾臓 6: 盲腸 7: 骨髄 8: 骨
 9: 筋肉 10: 肺 11: 脾臓 12: 血液 13: 心臓 14: 肝臓 15: 脾臓
 16: 下垂体 17: 大脳 18: 褐色脂肪 19: 大動脈 20: 下顎腺 21: 胸腺
 22: 軟骨 23: 小腸内容物 24: 小腸 25: 投与部位 26: 子宮 27: 膀胱

図へー10 雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの全身オートラジオグラム (投与後2時間)
 (添付資料へー18の図2)

24hr



1: 腎臓 2: 胃 3: 盲腸内容物 4: 肝臓 5: 下垂体 6: 投与部位

図へー11 雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの全身オートラジオグラム (投与後24時間)
(添付資料へー18の図4)

3) 反復投与時の臓器・組織内濃度

添付資料へー16

雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを0.1 mg/kgで1日1回、21回反復皮下投与したときの初回、7及び14回投与後24時間、並びに21回投与後の1, 2, 4, 8, 24, 96及び264時間の組織内放射能濃度推移を表へー11に示した。投与後24時間における組織内放射能濃度は投与回数に依存して増加し、ほとんどの組織において14回の投与でほぼ定常状態に達した。21回投与後24時間の濃度は、最大

で初回投与後 24 時間の濃度の 5 倍に達したが、著しい蓄積を示す組織はなかった。GnRH受容体を含む組織（下垂体及び卵巣）では、単回投与時に放射能の消失が遅かったが、反復投与時に他の組織に比べて顕著な蓄積は認められなかった。多くの組織の放射能は時間の経過に伴って減少し、21 回投与後 264 時間では卵巣、下垂体、骨、脾臓及び副腎の放射能濃度は最高濃度の 24~11%、他の組織内放射能濃度は最高濃度の 8%以下に減少した。

表へー11(1) 雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで反復皮下投与したときの組織内放射能濃度

組織	組織内放射能濃度 (ng-eq./g or mL)					
	1 回投与後 24 時間	7 回投与後 24 時間	14 回投与後 24 時間	21 回投与後 1 時間	21 回投与後 2 時間	21 回投与後 4 時間
血漿	0.53±0.48	1.58±0.23	2.16±0.06	123.92±22.52	120.85±19.47	54.26±10.31
血液	N.D.	1.08±0.09	1.20±0.11	71.48±11.97	69.34±8.59	31.21±6.66
小脳	N.D.	N.D.	0.69±0.03	1.98±0.25	1.81±0.19	1.31±0.13
大脳	N.D.	N.D.	N.D.	2.11±0.15	1.85±0.55	1.09±0.05
視床下部	N.D.	N.D.	N.D.	2.61±0.32	2.67±1.02	1.56±0.10
下垂体	46.18±3.94	44.80±13.87	56.39±10.05	48.57±10.52	67.98±9.76	45.97±11.13
眼球	0.30±0.04	0.65±0.03	0.88±0.17	8.28±1.66	9.72±0.38	7.10±1.14
甲状腺	N.D.	7.24±0.98	11.10±6.18	34.53±8.22	41.42±7.57	29.81±1.63
心臓	0.57±0.09	1.43±0.29	2.01±0.31	24.78±5.55	26.21±3.71	14.51±2.15
肺	3.83±0.38	7.02±0.35	10.40±2.29	110.90±16.53	126.41±17.30	78.34±13.93
肝臓	4.67±0.45	11.14±1.49	14.98±3.21	147.97±24.29	158.41±13.77	110.37±5.43
腎臓	7.06±2.03	20.80±3.05	33.03±4.04	219.05±43.93	261.91±38.62	193.81±5.44
副腎	10.58±1.84	36.08±8.93	48.51±11.41	84.00±15.74	98.38±20.20	80.21±9.80
脾臓	7.79±1.32	24.54±2.85	33.90±3.04	74.31±12.19	78.24±7.17	81.20±0.60
膵臓	0.66±0.16	1.41±0.40	2.18±0.60	16.02±4.70	18.14±2.47	10.85±1.72
脂肪	N.D.	0.73±0.12	0.92±0.19	3.99±0.64	4.59±0.44	3.20±0.57
褐色脂肪	1.55±0.01	5.17±1.12	6.85±0.83	20.26±5.01	26.51±1.48	15.76±0.61
リンパ節	8.26±1.15	16.43±2.37	22.65±5.55	56.79±2.12	75.22±2.70	67.15±9.70
筋肉	N.D.	0.66±0.19	0.67±0.09	8.71±1.18	8.86±2.64	5.10±0.61
皮膚	1.41±0.35	3.10±1.00	3.42±0.74	33.24±7.25	42.50±6.02	22.85±2.59
骨	0.71±0.02	1.46±0.47	2.13±0.34	7.66±0.34	8.43±0.83	6.34±2.60
骨髄	5.93±0.92	12.87±1.09	16.97±3.41	41.14±6.25	49.84±5.86	44.37±4.98
大動脈	8.39±3.47	12.06±2.45	18.90±5.33	363.96±260.96	374.82±89.71	382.33±7.39
子宮	3.13±0.33	5.95±1.53	9.50±3.02	58.20±9.78	66.12±7.89	43.34±3.72
卵巣	36.64±8.96	101.37±20.70	126.63±27.05	186.21±19.31	179.33±36.15	151.89±20.45
膀胱	1.63±0.30	2.95±1.06	4.52±2.81	60.57±43.81	62.07±16.31	40.64±7.92
胃	1.58±0.39	3.01±0.63	4.71±1.11	39.38±6.77	43.39±5.31	25.51±1.62
小腸	3.24±1.26	6.99±1.40	7.93±0.51	42.82±5.29	55.09±11.00	42.80±13.24
大腸	2.35±0.44	4.22±0.67	5.27±0.79	30.89±7.15	34.49±6.24	21.59±1.25

平均値±標準偏差, n=3. 定量下限未満の個体は濃度 0 として平均値及び標準偏差を計算した。
(添付資料へー16 の Table Exp.3A 及び 3C より作成)

表へー11(2) 雌ラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで反復皮下投与したときの組織内放射能濃度 (続)

組織	組織内放射能濃度 (ng-eq./g or mL)			
	21 回投与後 8 時間	21 回投与後 24 時間	21 回投与後 96 時間	21 回投与後 264 時間
血漿	9.53±3.24	1.78±0.33	0.69±0.07	N.D.
血液	5.73±1.69	1.27±0.22	N.D.	N.D.
小脳	0.75±0.12	0.62±0.09	N.D.	N.D.
大脳	0.26±0.22	0.29±0.25	N.D.	N.D.
視床下部	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
下垂体	40.64±2.74	48.98±2.71	26.00±2.20	11.95±4.42
眼球	2.44±0.46	0.80±0.07	0.36±0.06	0.15±0.13
甲状腺	18.09±3.07	9.75±0.83	7.37±0.69	1.86±1.63
心臓	4.96±0.92	1.87±0.19	0.82±0.17	0.38±0.05
肺	26.62±0.52	9.49±1.96	3.57±0.41	1.38±0.21
肝臓	55.37±3.49	15.89±1.53	10.52±1.95	4.24±0.68
腎臓	85.56±3.41	37.54±1.24	28.40±4.42	19.11±2.36
副腎	70.11±9.55	50.20±12.83	31.04±9.72	10.82±6.12
脾臓	56.30±0.45	41.04±3.10	19.83±1.65	10.53±0.83
膵臓	4.94±0.66	1.95±0.40	1.02±0.27	0.33±0.30
脂肪	1.69±0.15	0.77±0.15	0.42±0.04	N.D.
褐色脂肪	10.61±1.34	7.10±0.58	3.98±1.35	1.16±0.53
リンパ節	49.78±4.19	22.97±9.33	9.38±0.96	3.88±0.64
筋肉	1.94±0.09	0.79±0.14	N.D.	N.D.
皮膚	8.40±1.34	3.37±0.43	1.30±0.05	0.45±0.15
骨	5.34±1.33	3.12±0.28	1.76±0.48	1.27±0.15
骨髄	33.30±2.38	19.17±1.67	7.58±0.62	3.84±0.91
大動脈	142.43±62.58	13.36±5.70	6.20±1.08	4.22±0.26
子宮	16.57±2.14	7.23±1.69	3.26±0.53	2.09±0.47
卵巣	142.96±31.61	99.79±8.56	66.72±37.85	43.88±18.68
膀胱	12.44±1.56	4.43±1.73	2.24±1.87	0.67±0.62
胃	9.48±0.82	4.16±0.66	1.81±0.30	0.87±0.08
小腸	18.46±3.29	10.21±1.10	3.89±1.01	2.70±0.57
大腸	16.16±0.71	5.08±0.66	1.60±0.30	0.84±0.08

平均値±標準偏差, n=3. 定量下限未満の個体は濃度 0 として平均値及び標準偏差を計算した.
(添付資料へー16 の Table Exp.3A 及び 3C より作成)

4) 胎盤通過性

添付資料へー19

妊娠 19 日目のラットに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与した後，母動物及び胎児の組織内放射能濃度を表へー12 に示した．胎盤通過性が認められたが，腸管を除いては胎児組織中への濃縮的な移行は認められなかった．胎児腸管で放射能濃度が高かったのは，胆汁中に排泄された[Cl-Phe-¹⁴C]CET又はその代謝物の付着によるものと考えられた．胎児に移行した放射能は，投与量の 0.13 %であり少量であった．

表へー12 [Cl-Phe-¹⁴C]CETを妊娠 19 日目のラットに 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの投与後 24 時間における母動物及び胎児の組織内放射能濃度

	組織	放射能濃度(ng-eq./g or mL)
母動物	血液	1.4±0.3
	血漿	2.2±0.5
	脳	NA
	心臓	2.0±0.5
	肺	4.9±0.5
	肝臓	21.5±4.5
	腎臓	27.7±2.0
	脾臓	10.9±0.9
	卵巣	24.4±7.8
	胎盤	10.1±1.8
	子宮	4.8±0.7
	胃	3.0±1.0
	小腸	5.1±3.2
	大腸	12.0±11.8
	羊水	0.5±0.1
胎児	血液	NA
	脳	NA
	心臓	3.6±2.4
	肺	0.4±0.0
	肝臓	1.0±0.3
	腎臓	0.6±0.1
	脾臓	0.6±NA
	胃	0.8±0.3
	腸管	13.6±2.3
		カーカス

平均値±標準偏差，n=4

平均値について 3 匹以上の測定値が定量下限未満の場合，及び標準偏差について 2 匹以上の測定値が定量下限未満の場合は NA と表示した．

(添付資料へー19 の Table 1 より作成)

5) 血漿蛋白結合

添付資料へー20～22

① *In vitro*

添付資料へー20, 21

[Arg-¹⁴C] CETを用いて, ラット又はイヌ血漿とCETを 37°C, 15 分インキュベート後, 超遠心法を用いて血漿中蛋白結合率を測定した. ラット及びイヌにおける血漿蛋白結合率は 40～2000 ng/mLの濃度範囲において濃度に依存せず, それぞれ 87.0～88.5 %及び 86.1～86.5 %であった.

[Arg-¹⁴C] CETを用いて, ヒト血漿又は4%ヒト血清アルブミンのリン酸緩衝溶液とCETを 37°C, 15 分インキュベート後, 超遠心法を用いて血漿中蛋白結合率を測定した. ヒト血漿蛋白及び血清アルブミンへの結合率は 40～500 ng/mLの濃度範囲において濃度に依存せず, それぞれ 85.1～87.0%及び 82.3～83.7 %であった.

② *Ex vivo*

添付資料へー22

雌雄ビーグル犬に[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与した後, 投与後 1.5, 4 及び 8 時間に採血し血漿を得た. 超遠心法にて蛋白非結合画分の放射能を測定した. 雄及び雌における蛋白結合率は, 時間によらずそれぞれ 90.4～93.4%及び 88.7～92.7%であり, 性差は見られなかった.

6) 血球移行性

添付資料へー3, 13

ラットにおいて, 血液中放射能は投与直後にはほとんど血球に移行しなかったが, 血球移行率は時間経過と共に上昇する傾向を示し, 投与後 96 時間では雄で 37.94%, 雌で 26.33%となった. 一方, イヌにおいては血球移行率は投与後 96 時間まで 10%未満であった.

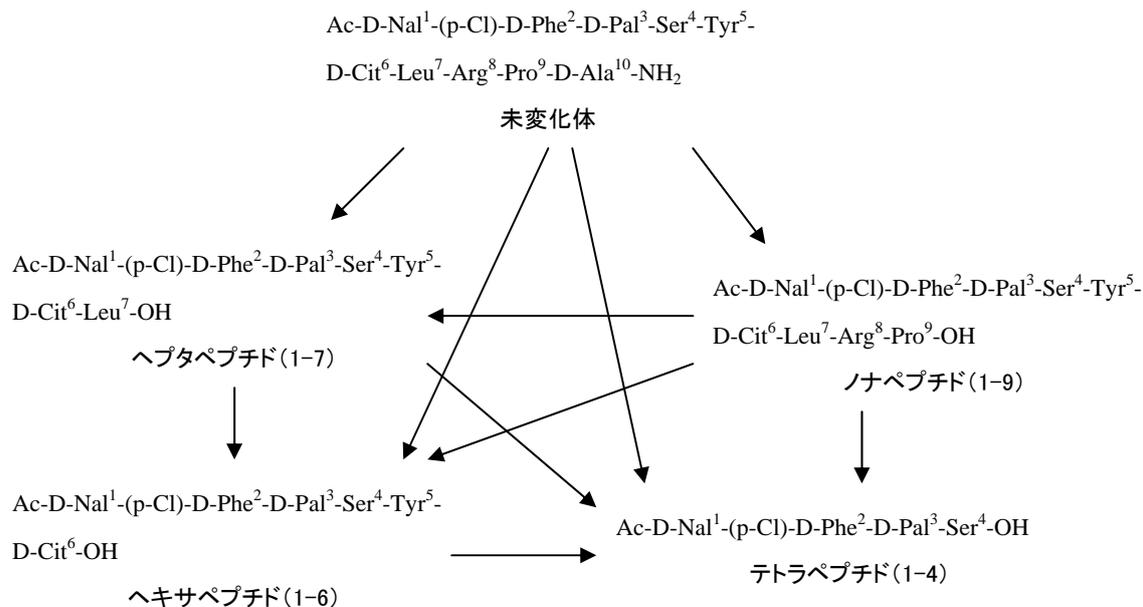
(3) 代謝

添付資料へー6, 24, 26～28

1) 代謝物の検索及び推定代謝経路

添付資料へー6

イヌに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 1 mg/kgで単回皮下投与した後の胆汁中の代謝物を検索し, セミ分取 HPLCで単離した後にLC/MS/MS法で構造解析した. 代謝物の推定構造及び推定代謝経路を図へー12 に示した. 得られた代謝物はすべて本化合物のペプチド結合が切断されたペプチドであり, 本化合物は生体内で主に加水分解を受けることが示唆された.



図へー12 CETのラット、イヌ及びヒトにおける推定代謝経路

2) 血漿中代謝物

添付資料へー24

雌ラットに $[\text{Cl-Phe-}^{14}\text{C}]\text{CET}$ を 0.1 mg/kg で単回皮下投与した後の血漿中未変化体及び代謝物濃度を表へー13に示す。ラットの血漿中には未変化体が主として存在した。

表へー13 雌ラットに $[\text{Cl-Phe-}^{14}\text{C}]\text{CET}$ を 0.1 mg/kg で単回皮下投与したときの血漿中未変化体及び代謝物濃度

未変化体又は代謝物	血漿中濃度 (ng-eq./mL)	
	投与後 2 時間	投与後 8 時間
未変化体	113.6±29.9	9.1±3.4
テトラペプチド(1-4)	0.6±0.3	0.1±0.1
ヘキサペプチド(1-6)	7.1±8.5	0.1±0.1
ヘプタペプチド(1-7)	3.5±0.9	0.1±0.1
未知代謝物	1.3±0.5	4.8±4.2

データは n=3 の平均値±標準偏差を示す。
(添付資料へー24 の表 2 より作成)

3) 尿糞中代謝物

添付資料へー6

ラット及びイヌに $[\text{Cl-Phe-}^{14}\text{C}]\text{CET}$ を 0.1 mg/kg で単回皮下投与した後の尿及び糞中に排泄された代謝物の排泄率を表へー14に示す。ラット及びイヌの尿には、未変化体のみが検出された。ラットの糞中にはテトラペプチド(1-4)が最も多く、イヌの糞中にはヘプタペプチド(1-7)が最も多かった。ラット及びイヌにおける尿及び糞中の未変化体及び代謝物の放射能の合計はそれぞれ 94%、88%であった。

表へー14 ラット及びイヌに[Cl-Phe-¹⁴C]CETを 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの
投与後 48 時間までの尿及び糞中への未変化体及び代謝物の排泄率

ラット		イヌ	
未変化体又は代謝物	排泄率(%)	未変化体又は代謝物	排泄率(%)
未変化体	3	未変化体	10
テトラペプチド(1-4)	47	ヘプタペプチド(1-7)	18
糞 ヘキサペプチド(1-6), ヘプタペプチド(1-7) ノナペプチド(1-9) 及び未知代謝物	19	糞 テトラペプチド(1-4) 及びヘキサペプチド (1-6)	13
尿 未変化体	25	尿 未変化体	47

データは雌雄各 n=4 (ラット) 又は雌雄各 n=3 (イヌ) の平均値を示す。
(添付資料へー6 の Scheme 12 より作成)

4) 胆汁中代謝物

添付資料へー6

胆管カニューレションしたラット (雌雄各n=3) に[Cl-Phe-¹⁴C] CETを 1 mg/kgで皮下投与した。投与後 48 時間までの尿及び胆汁中に排泄された代謝物を表へー15 に示す。胆汁中には未変化体が主として認められた。CET 0.1 mg/kgをラットに皮下投与したときの糞中に未変化体は少なく、テトラペプチド(1-4)が主に認められたが、これは主に胆汁排泄後腸内のペプチダーゼ又は腸内細菌によって生成されたと考えられた。

表へー15 胆管カニューレションしたラットに[Cl-Phe-¹⁴C] CETを 1 mg/kgで単回皮下投与したときの投与後 48 時間までの尿及び胆汁中への未変化体及び代謝物の排泄率

	未変化体又は代謝物	排泄率(%)
	未変化体	23
	ヘプタペプチド(1-7)	6
胆汁	テトラペプチド(1-4)	4
	ヘキサペプチド(1-6), ノナ ペプチド(1-9)及び未知代謝 物	5
尿	未変化体	15
糞	総放射能	1

データは雌雄各 n=3 の平均値を示す
(添付資料へー6 の Scheme 12 より作成)

5) *In vitro* 代謝

添付資料へー26

*In vitro*において、肝膜画分及び可溶性画分(ラット, イヌ, ヒト), 肝スライス(ラット, イヌ), イヌ腎の膜画分及び可溶性画分, ヒト血漿, イヌ胃液, ブタ膵臓のパンクレアチンによる[Cl-Phe-¹⁴C] CETの代謝を検討した. 補酵素非添加又は熱失活させた反応系をコントロールとして検討したが, ブタ膵臓のパンクレアチン以外では, ほとんど代謝されなかった.

ブタ膵臓のパンクレアチンによって得られた代謝物は, テトラペプチド(1-4)であった. *In vitro*試験においても酸化反応を受けた代謝物が得られなかったことから, ラット, イヌ及びヒトにおける本化合物の代謝は, 酸化反応ではなくエンド又はエキソペプチダーゼによる加水分解反応であることが示唆された.

6) ラット肝ミクロソームの薬物代謝酵素系に及ぼす影響

添付資料へー27

雌ラットに CET (0.1 及び 0.5 mg/kg, 皮下投与), フェノバルビタールナトリウム (80 mg/kg, 陽性対照) 及び CET の投与基剤 (0.01mol/L 酢酸 : 5.2% D-マンニトール溶液(1:9), 対照) を 1 日 1 回, 7 日間反復投与した時の投与後 24 時間における肝重量比, 肝ミクロソーム蛋白量, チトクローム P450 含量, アニリン水酸化酵素活性及びアミノピリン N-脱メチル化酵素活性を表へー16 に示した. 陽性対照のフェノバルビタール投与群ではすべての測定項目について, 対照群に比べて有意な上昇が認められた. しかし, CET は 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg いずれの投与群においてすべての測定項目について対照群に比べて有意な変化は認められなかった. この結果より, CET はラットにおいて, 反復投与することによる肝薬物代謝酵素系への誘導作用を示さないことが明らかとなった.

表へー16 雌ラットに CET を 1 日 1 回 7 日間反復皮下投与したときの肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響 (最終投与後 24 時間)

測定項目	CET投与基剤 ^{a)} (1mL/kg/日 : 対照)	CET 投与量		フェノバルビタール ^{b)} (陽性対照)
		0.1mg/kg/日	0.5mg/kg/日	
肝重量 (対体重%)	3.00±0.15	2.94±0.10	3.03±0.20	3.61±0.10**
肝ミクロソーム 蛋白量 (mg/g 肝)	23.95±6.75	26.08±7.18	29.45±3.20	34.76±5.05 *
チトクローム P450 含量 ^{c)}	0.640±0.155	0.599±0.105	0.512±0.056	1.053±0.104**
アニリン水酸化 酵素活性 ^{d)}	0.543±0.131	0.479±0.101	0.459±0.070	0.726±0.080 *
アミノピリン N-脱 メチル化酵素活性 ^{d)}	1.627±0.170	1.613±0.437	1.487±0.401	2.924±0.936 *

数値は n=6 の平均値±標準偏差で表示.

a) 0.01mol/L 酢酸 : 5.2% D-マンニトール溶液 (1:9)

b) 肝臓重量比を除き, 数値は n=5 の平均値±標準偏差で表示.

c) 単位は nmol/mg protein

d) 単位は nmol/mg protein/min

* : P<0.05, ** : P<0.01 (対照群に対する等分散を仮定した t 検定又は分散が等しくないと仮定した t 検定)
(添付資料へー27 の表 1 より作成)

7) ヒトチトクローム P450 分子種活性に及ぼす影響

添付資料へー28

ヒトの各 P450 分子種 (CYP1A2, 2C8/9, 2C19, 2D6, 2E1 及び 3A4) の特異的基質の代謝に CET 及び特異的阻害剤 (陽性対照群) が及ぼす影響を肝ミクロソームによる *in vitro* の系で検討した. 対照群の反応速度を 100%としたときの CET 及び陽性対照群の反応速度を表へー17 に示した. 検討した各分子種の特異的阻害剤により、特異的基質の反応速度は対照群の 37.2%以下まで阻害された. しかし、CET 添加群の反応速度は、CET の濃度に依存せず、対照群の 81.2~118.2%であった. CET の添加濃度は最大 5 $\mu\text{mol/L}$ であり、これは単回投与での申請用量の 3 mg における C_{max} (28.3 ng/mL) より 250 倍高い濃度である. したがって、CET は臨床用量での血漿中濃度レベルにおいて P450 分子種の代謝活性に影響しないものと考えられた.

表へー17 ヒト肝ミクロソーム中の P450 分子種の活性に対する CET 及び特異的阻害剤の影響 (反応速度の対照群に対する%)

P450 分子種	CET 添加濃度 ($\mu\text{mol/L}$)			特異的阻害剤 (陽性対照群)
	0.05	0.5	5	
CYP1A2	95.5 ± 15.5	91.3 ± 14.2	81.2 ± 5.7	29.3 ± 25.4
CYP2C8/9	91.4 ± 16.2	108.4 ± 2.7	118.2 ± 22.7	37.2 ± 11.1
CYP2C19	100.7 ± 3.5	107.2 ± 5.5	107.3 ± 13.5	31.0 ± 8.7
CYP2D6	97.6 ± 4.9	94.3 ± 3.8	97.1 ± 4.1	0.0 ± 0.0
CYP2E1	98.9 ± 8.6	102.1 ± 5.9	93.7 ± 13.1	28.7 ± 12.0
CYP3A4 ^{a)}	99.1 ± 3.6	100.2 ± 7.1	95.0 ± 5.5	3.7 ± 1.8
CYP3A4 ^{b)}	98.4 ± 12.4	92.6 ± 9.2	91.6 ± 6.5	7.1 ± 0.9

数値は n=3 の平均値 ± 標準偏差で表示.

各 P450 分子種に対する代謝反応 (基質濃度: 特異的阻害剤(阻害剤濃度))

CYP1A2: 7-エトキシレゾルフィン 脱エチル化 (10 $\mu\text{mol/L}$: α -ナフトフラボン(1 $\mu\text{mol/L}$))

CYP2C8/9: トルブタミド 水酸化 (800 $\mu\text{mol/L}$: スルファフェナゾール(6 $\mu\text{mol/L}$))

CYP2C19: S(+)-メフェニトイン 4'-水酸化 (60 $\mu\text{mol/L}$: トラニルシプロミン(20 $\mu\text{mol/L}$))

CYP2D6: (±)-ブフラロール 1'-水酸化 (10 $\mu\text{mol/L}$: キニジン(4 $\mu\text{mol/L}$))

CYP2E1: クロルゾキサゾン 6-水酸化 (100 $\mu\text{mol/L}$: ジエチルジチオカルバメート(100 $\mu\text{mol/L}$))

CYP3A4: テストステロン 6 β -水酸化 (30 $\mu\text{mol/L}$ ^{a)}, 120 $\mu\text{mol/L}$ ^{b)}: ケトコナゾール(1 $\mu\text{mol/L}$))

(添付資料へー28 の表 5 より作成)

これらの結果から、CET を反復投与しても肝薬物代謝酵素を誘導することはない、また P450 を阻害することもないと考えられた.

(4) 排泄

添付資料へー3, 13, 16, 23, 25

1) 尿及び糞中排泄

添付資料へー3, 13, 16

① ラット単回投与

添付資料へー3

[Cl-Phe-¹⁴C]CETを雌雄ラットに 0.1 mg/kgで単回皮下投与した後、尿及び糞中に排泄された放射能を測定した. 結果を表へー18 に示した. 投与後 24 時間までの尿中には、雄、雌それぞれ 26.32% 及び 18.87%が、投与後 264 時間までに 27.54%及び 21.15%が排泄された. 糞中へは、投与後 24 時間までに雄、雌それぞれ 51.87%及び 48.48%が、投与後 264 時間までに 60.75%及び 78.51%が排泄され、主排泄経路は糞であった. 排泄率の合計は投与後 264 時間までに雄が 88.28%, 雌が

99.65%であった。

表へー18 [Cl-Phe-¹⁴C]CETを雌雄ラットに0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの尿及び糞中への放射能の累積排泄率

性	投与後の時間 (hr)	放射能の累積排泄率 (投与量に対する%)		
		尿 ^{a)}	糞	合計
雄	0-24	26.32±3.210	51.87±5.443	78.19±7.391
	0-264	27.54±3.178	60.75±6.562	88.28±7.892
雌	0-24	18.87±2.769	48.48±32.483	67.35±30.184
	0-264	21.15±2.725	78.51±4.980	99.65±5.113

平均値±標準偏差, n=4

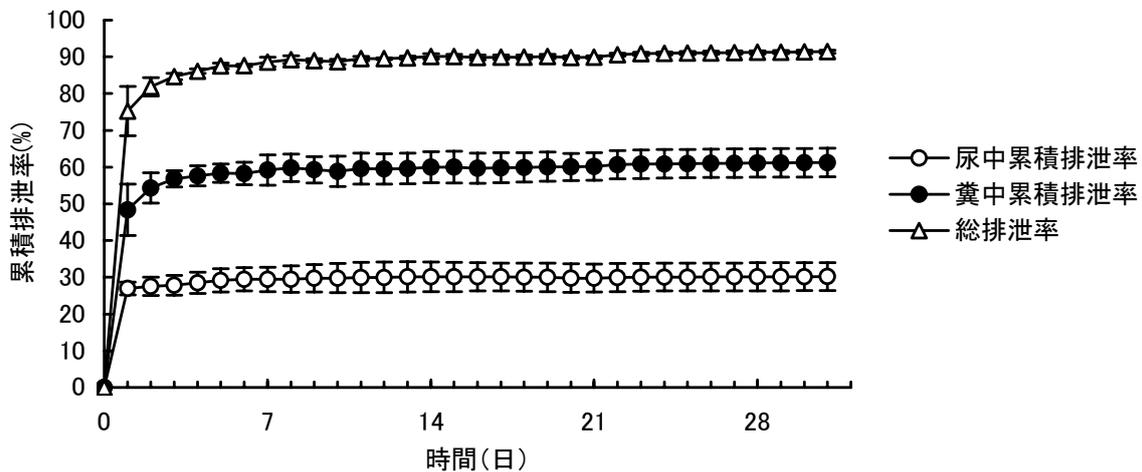
a) 尿にはケージ洗液を含む

(添付資料へー3のTable 7より作成)

② ラット反復投与

添付資料へー16

[Cl-Phe-¹⁴C]CETを雌ラットに0.1 mg/kgで1日1回, 21日間反復皮下投与した後, 尿及び糞中に排泄された放射能を測定した。結果を図へー13に示した。21回投与後24時間までの尿及び糞中への放射能の累積排泄率はそれぞれ29.79%及び60.15%であった。また, 投与終了後264時間までの尿及び糞中への放射能の総排泄率はそれぞれ30.19%及び61.26%であり, 単回投与時の排泄パターンと同じであった。排泄率の合計は21回投与後264時間までで91.44%であった。ケージ洗液は0.02%, 屍体残存は3.41%であり, 総回収率は94.87%であった。



図へー13 [Cl-Phe-¹⁴C]CETを雌ラットに0.1 mg/kgで1日1回21日間反復皮下投与したときの尿及び糞中への放射能の累積排泄率の推移 (平均値±標準偏差, n=4)
(添付資料へー16のFig. Exp. 2より作成)

③ イヌ単回投与

添付資料へー13

[Cl-Phe-¹⁴C]CETを雌雄ビーグル犬に0.1 mg/kgで単回皮下投与後24時間までの尿中に, 雄及び

雌それぞれ 43.38%及び 45.73%が、糞中にそれぞれ 33.04%及び 28.55%が排泄された。投与後 336 時間までの尿中に 45.99%及び 50.18%、糞中へは 48.72%及び 42.35%が排泄された（表へー19）。

表へー19 [Cl-Phe-¹⁴C]CETを雌雄イヌに 0.1 mg/kgで単回皮下投与したときの尿及び糞中への放射能の累積排泄率

性	投与後の 時間 (hr)	放射能の累積排泄率 (投与量に対する%)	
		尿	糞
雄	0-24	43.38	33.04
	0-336	45.99	48.72
雌	0-24	45.73	28.55
	0-336	50.18	42.35

平均値, n=3 (添付資料へー13 の Table 5 より作成)

2) 胆汁中排泄及び腸肝循環

添付資料へー23, 25

[Cl-Phe-¹⁴C]CETを雄ラットに 0.1 mg/kgで単回皮下投与した後、尿、糞並びに胆汁中に排泄された放射能を測定した。投与後 48 時間までの尿、糞及び胆汁中に、それぞれ、29.70%、0.87%及び 69.60%が排泄された（表へー20）。

また、[Cl-Phe-¹⁴C]CETを雄ラットに 0.1 mg/kgで単回皮下投与した後、得られた胆汁を別の雄ラットの十二指腸内へ投与し、尿、糞及び胆汁に排泄された放射能を測定した。投与後 48 時間の尿、糞及び胆汁中に排泄された放射能は、それぞれ 2.23%、100.83%及び 0.68%であった（表へー21）。この結果より、胆汁中に排泄された放射能の腸管での再吸収がないことが示された。

[Cl-Phe-¹⁴C]CETを雌ビーグル犬に 1 mg/kgで単回皮下投与した後 48 時間の尿、糞及び胆汁中に排泄された放射能は、それぞれ 34.37%、0.91%及び 10.59%であった。

表へー20 [Cl-Phe-¹⁴C]CETを雄ラットに 0.1mg/kgで単回皮下投与したときの尿及び胆汁中への放射能の累積排泄率

投与後の 時間 (hr)	排泄率 (%)		
	尿	胆汁	糞
0-2	4.99	10.31	—
-4	14.07	31.29	—
-6	17.51	45.74	—
-8	21.24	54.54	—
-24	28.39	67.42	0.72
-48 ^{a)}	29.70	69.60	0.87

平均値, n=4

—は測定しなかったことを示す.

a) 投与後 48 時間の尿はケージ洗液を含む.

(添付資料へー25 の Table 2 より作成)

表へー21 [Cl-Phe-¹⁴C]CETのラットにおける腸肝循環

投与後の 時間 (hr)	排泄率 (%)		
	胆汁	尿	糞
0-2	0.37	BLQ	—
-4	0.54	0.01	—
-6	0.61	0.14	—
-8	0.66	0.54	—
-24	0.68	2.02	90.49
-48 ^{a)}	0.68	2.23	100.83

平均値, n=3

—は測定しなかったことを, BLQ は定量下限未満を示す.

a) 投与後 48 時間の尿はケージ洗液を含む.

(添付資料へー25 の Table 3 より作成)

3) 乳汁への移行性

本剤の本申請適応症において、授乳中の婦人に対する使用は想定しておらず、禁忌である。したがって乳汁への移行性は検討しなかった。