

カンサイダス点滴静注用50mg

カンサイダス点滴静注用70mg

第2部(モジュール2)

CTDの概要(サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

- 薬物動態 -

MSD株式会社

目次

	頁
表一覧.....	2
図一覧.....	3
略号及び用語の定義.....	4
2.6.4.1 まとめ.....	5
2.6.4.2 分析法.....	7
2.6.4.3 吸収.....	7
2.6.4.3.1 ラット.....	7
2.6.4.3.2 サル.....	8
2.6.4.3.3 マウス及びチンパンジー.....	9
2.6.4.4 分布.....	10
2.6.4.4.1 <i>In vitro</i> 蛋白結合.....	10
2.6.4.4.2 <i>In vitro</i> 血球移行.....	10
2.6.4.4.3 組織分布.....	10
2.6.4.4.4 ラットにおける肝取り込み.....	13
2.6.4.4.5 P-gp の基質及び阻害剤としての可能性.....	14
2.6.4.4.6 カスポファンギンの肝取り込みにおけるトランスポーターの役割.....	14
2.6.4.4.7 ウサギ及びラットにおける胎盤通過.....	15
2.6.4.4.8 ラットにおける乳汁移行.....	15
2.6.4.5 代謝.....	16
2.6.4.5.1 <i>In vivo</i> ヒト代謝経路.....	16
2.6.4.5.2 代謝の種間比較.....	17
2.6.4.5.3 <i>In vitro</i> 代謝.....	21
2.6.4.5.4 ヒト及びラット肝ミクロソームを用いたカスポファンギンの CYP 分子 種阻害能評価.....	22
2.6.4.5.5 酵素誘導.....	23
2.6.4.5.6 血漿蛋白への不可逆的結合.....	23
2.6.4.6 排泄.....	27
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用.....	28
2.6.4.7.1 ラットにおける薬物間相互作用.....	28
2.6.4.8 その他の薬物動態試験.....	30
2.6.4.8.1 急性腎不全ラットにおける薬物動態.....	30
2.6.4.9 考察及び結論.....	31
2.6.4.10 図表.....	32
2.6.4.11 参考文献.....	32

表一覧

	頁
表 2.6.4: 1	8
表 2.6.4: 2	10
表 2.6.4: 3	12
表 2.6.4: 4	13
表 2.6.4: 5	22
表 2.6.4: 6	23
表 2.6.4: 7	27
表 2.6.4: 8	30

図一覧

	頁
図 2.6.4: 1	[³ H]カスポファンギン酢酸塩の化学構造..... 6
図 2.6.4: 2	ラットにカスポファンギン 0.5、2.0 及び 5.0 mg/kg を静脈内投与したときの血漿中濃度..... 8
図 2.6.4: 3	サルにカスポファンギン 0.5、2.0 及び 5.0 mg/kg を静脈内投与したときの血漿中濃度..... 9
図 2.6.4: 4	ラットに[³ H]カスポファンギン 2 mg/kg を単回静脈内投与したときの肝臓中放射能濃度..... 11
図 2.6.4: 5	ヒト、サル、ウサギ、ラット及びマウスにおけるカスポファンギンの推定代謝経路..... 16
図 2.6.4: 6	ラット (5 mg/kg)、サル (5 mg/kg) 及びヒト (70 mg) に[³ H]カスポファンギンを静脈内投与したときの血漿試料の代表的ラジオクロマトグラム..... 18
図 2.6.4: 7	マウス (5 mg/kg) 及びウサギ (5 mg/kg) に[³ H]カスポファンギンを静脈内投与したときの血漿試料の代表的ラジオクロマトグラム..... 19
図 2.6.4: 8	ラット (5 mg/kg)、サル (5 mg/kg) 及びヒト (70 mg) に[³ H]カスポファンギンを静脈内投与したときの尿試料の代表的ラジオクロマトグラム..... 20
図 2.6.4: 9	マウス (5 mg/kg) 及びウサギ (5 mg/kg) に[³ H]カスポファンギンを静脈内投与したときの尿試料の代表的ラジオクロマトグラム..... 21
図 2.6.4: 10	ヒト (70 mg) 及びサル (5 mg/kg) に[³ H]カスポファンギンを静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移..... 25
図 2.6.4: 11	カスポファンギンから L-000747969 への推定分解経路..... 26
図 2.6.4: 12	ラットにカスポファンギン (2 mg/kg 静脈内) を単独投与、若しくはインジナビル又はケトコナゾールと併用投与したときの血漿中カスポファンギン濃度..... 28

略号及び用語の定義

略号	定義	
カスポファンギン	Caspofungin	開発番号：MK-0991、L-743872又はL-000743872
AmB	Amphotericin B	アムホテリシン B
AUC	Area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
CL _p	Plasma clearance	血漿クリアランス
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
EFCOD	7-ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin O-deethylation	7-エトキシ-4-トリフルオロメチルクマリン O-脱エチル化
FACO	Fatty acid acyl-CoA oxidation	脂肪酸アシル CoA 酸化
GSH	Glutathione	グルタチオン
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
MFC	Minimum fungicidal concentration	最小殺真菌濃度
NTCP	Na ⁺ -taurocholate cotransporting polypeptide	Na ⁺ -依存性胆汁酸共輸送ポリペプチド
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PAH	Para-aminohippurate	パラアミノ馬尿酸
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
RIA	Radioimmunoassay	ラジオイムノアッセイ
S.D.	Standard deviation	標準偏差
Terminal t _{1/2}	Terminal elimination half-life	終末相消失半減期
V _{dss}	Steady-state volume of distribution	定常状態分布容積

2.6.4.1 まとめ

カスポファンギンはカンジダ属及びアスペルギルス属など、臨床的に重要な多くの真菌に対して幅広い抗真菌活性を示すキャンディン系抗真菌薬である。その作用機序は、病原性真菌の細胞壁の強度を維持するために不可欠な β -(1,3)-D-グルカンの合成阻害であり、本薬は全身性真菌感染症を治療するための非経口抗真菌薬として開発された。

本項では、毒性試験に使用した動物種であるラット及びサルを主に用いて、実験動物におけるカスポファンギンの薬物動態、組織分布、代謝及び排泄について記載し、必要に応じヒトと実験動物の間での比較も行った。実施した非臨床薬物動態試験の一覧を[2.6.5.1 項]の薬物動態試験一覧表に示す。

カスポファンギンの体内動態において、肝臓は重要な役割を果たしており、主として非常に遅い代謝（血漿クリアランスは試験に用いた全動物種で0.5 mL/min/kg 以下）により消失する。そこで、カスポファンギンの肝取り込みや代謝の機序を理解するために広範な試験を実施した。また、カスポファンギンによる薬物相互作用の有無を検討するために、ラットを用いた *in vivo* 試験を実施した。カスポファンギンが P-糖蛋白 (P-gp) 介在性輸送の基質又は阻害剤であるか否かについて、及びカスポファンギンの肝取り込みに対するトランスポーターの役割についても検討した。カスポファンギンに関する代謝、排泄及び組織分布試験は、一部の試験を除きすべてカスポファンギンの [3 H]標識体[図2.6.4: 1]を用いて行った。

実験動物及びヒトにおけるカスポファンギンの消失は非常に緩徐であり、血漿クリアランスはラットの0.5 mL/min/kg からヒトの0.15 mL/min/kg の範囲であった。カスポファンギンの血漿蛋白結合率は高く、非結合型分率はラットで4.1%、サルで1.3%、ヒトで3.5%であった。腎機能不全患者における血漿蛋白結合率は対照群との比較において有意な差はなかった。ラットに [3 H]カスポファンギンを静脈内投与したとき、放射能は全身に広く分布し、肝臓内に高濃度の放射能が検出された。また、本薬の肝への取り込みは非常に緩徐であり、血液-肝臓組織間でカスポファンギンは投与後速やかに平衡状態に到達することはなかった。肝臓に加えて、有意な放射能濃度が検出された組織は腎臓、肺及び脾臓であった。本薬は血液-脳関門をほとんど透過しなかった。ラット及びサルにカスポファンギンを反復静脈内投与したときの肝臓中放射能濃度は投与量に比例して増加しており、肝臓中カスポファンギン濃度に性差は認められなかった。カスポファンギンは臨床濃度 (10 μ M) ではトランスポーターを阻害しなかった。カスポファンギンは P-gp の基質ではなく、強力な阻害剤でもなかった。カスポファンギンはウサギ及びラットの胎盤を通過するとともに、ラットの乳汁中に移行した。ラット、ウサギ、サル及びヒトに [3 H]カスポファンギンを静脈内投与したとき、放射能は尿及び糞中にほぼ均等に排泄された。試験に用いたいずれの動物種において、尿中に排泄された未変化体は投与量の6%未満であった。 [3 H]カスポファンギンの代謝は概して実験動物とヒトで質的に同様であった。いずれの動物種においても、未変化体のペプチド加水分解物である L-000747969が血漿中主要代謝物であるのに対し、尿中主要代謝物は、極性加水分解代謝物である M2及びその脱アセチル前駆体 (M1) であった。また、ヒト尿中において、未変化体は尿中放射能の9%を占め、カスポファンギンの環開裂分解物である L-000747969は約1%を占めていた。健康被験者に [3 H]カスポファンギン70 mg を静脈内投与したとき、低レベ

ル (<7 pmol/mg 蛋白) のカスポファンギン由来放射能が血漿蛋白に対して不可逆的に結合し、不可逆的結合レベルは経時的に低下した。マウス、ラット、ウサギ及びサルでも同様の不可逆的結合が認められ、サルに5 mg/kg を投与したときの不可逆的血漿蛋白結合は、ヒトに比べて約3~5倍高かった。カスポファンギンから L-000747969への化学的分解には、2種類の反応性中間体の生成が関与し、この中間体がイミン又は求核性付加メカニズムを介して血漿蛋白に不可逆的に結合することが *in vitro* 試験から示唆された。カスポファンギンは CYP 分子種の基質にはなりにくく、臨床効果のみられる血漿中濃度においては、カスポファンギン及び L-000747969はいずれも主要なヒト CYP 分子種を阻害しなかった。このことから、CYP 介在性の代謝を介した薬物間相互作用は起こらないと考えられた。ラットにインジナビル、ケトコナゾール又はアムホテリシン B をカスポファンギンと併用投与しても薬物間相互作用は認められなかった。ラットにシクロスポリンとカスポファンギンを併用投与すると、カスポファンギンのトラフ濃度及び AUC_{0-24 hr} がわずかに上昇する。シクロスポリンの血漿中濃度の上昇に伴って、肝臓中のカスポファンギン濃度が低下するが、これは恐らくシクロスポリンによってカスポファンギンの肝臓取り込みが阻害されるためであると推定される。ラットにおけるカスポファンギンの薬物動態は急性腎不全による影響を受けなかった。

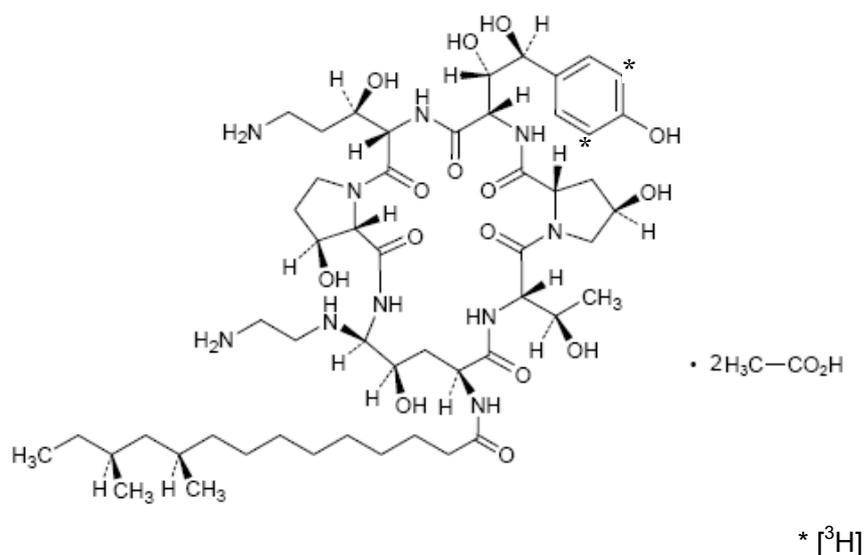


図 2.6.4: 1 [³H]カスポファンギン酢酸塩の化学構造

2.6.4.2 分析法

カスポファンギンは水溶性であり、投与液はすべて生理食塩液を用いて調製した。血漿中のカスポファンギン濃度はバリデートされたラジオイムノアッセイ (RIA) 法により測定した[資料4.3: 30]。この RIA 法の定量下限濃度は10 ng/mL であり、カスポファンギンに対する特異性は HPLC により確認した。なお、初期の試験では、蛍光検出-HPLC 法 (励起波長224 nm、蛍光波長302 nm) を用いて血漿中及び肝ホモジネート中のカスポファンギン濃度を測定したが (評価[資料4.2.2.2.1: G1])、この HPLC 法の定量下限濃度は0.1 µg/mL であった。組織、尿、胆汁及び糞中の総放射能は液体シンチレーション法により測定した。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 ラット

ラットにカスポファンギンを単回静脈内投与したときの消失は非常に緩徐であり、血漿クリアランス (CL_p) は0.42~0.5 mL/min/kg の範囲であった[表2.6.4: 1][図2.6.4: 2]。血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) が0.5~5 mg/kg の範囲でほぼ用量に比例して増加したことから、薬物動態の線形性が示された。高用量 (2及び5 mg/kg) を静脈内投与したときの血漿中カスポファンギン濃度は多相性の消失を示し、消失半減期 ($t_{1/2}$) は終末相では77~89時間と長かった。最低用量 (0.5 mg/kg) における見かけの $t_{1/2}$ は36時間とこれより短かったが、これは、最低用量では定量下限濃度未満となるポイントがあり、他の用量と同様のポイントで消失相を評価できなかつたためである。終末相の血漿中カスポファンギン濃度は *C. albicans* に対する90%最小殺真菌濃度 (MFC₉₀; 0.5 µg/mL) (評価[資料4.2.1.1.7: F8]) を大きく下回っていた。したがって、MFC₉₀ を超える血漿中濃度が得られたポイントでの濃度に基づいて、薬理的に意味のある実効 $t_{1/2}$ を計算した。0.5、2 及び5 mg/kg を投与したときの実効 $t_{1/2}$ はそれぞれ6.1、6.3及び8.5時間であった[表2.6.4: 1]。また、ラットの定常状態における分布容積 (V_{dss}) は0.60~0.68 L/kg であり、体液量 (0.7 L/kg) にほぼ等しかったことから、本薬が組織中に広く分布することが示唆された (評価[資料4.2.2.2.1: G1]) [2.6.5.2.1 項]。

ラットにカスポファンギンを経口投与したとき、本薬は非常に低い吸収性を示した。カスポファンギン50 mg/kg を単回経口投与したときの生物学的利用率は0.2%未満であった (評価[資料4.2.2.2.2: G2]) [2.6.5.2.4 項]。この結果はラット *in situ* 腸管ループ法を用いた吸収試験によってさらに裏付けられ、空腸管腔内にカスポファンギンを直接注入したときの吸収性も非常に低かった [2.6.5.2.5 項]。カスポファンギンの腸管吸収が低い原因は、分子量が大きく、脂溶性も低いためと考えられる[2.3.S.1.2 項] [2.3.S.1.3.7 項]。

ラットにカスポファンギンを2 mg/kg/日で反復静脈内投与したとき、10日目の AUC_{0-24 hr} は67.7 ±6.6 µg·hr/mL であり、単回投与後の AUC_{0-∞} 80.2 ±7.5 µg·hr/mL と類似しており、長期投与しても血漿中への蓄積はごくわずかであった (評価[資料4.2.2.2.1: G1]) [2.6.5.2.1 項] [2.6.5.3.1 項]。

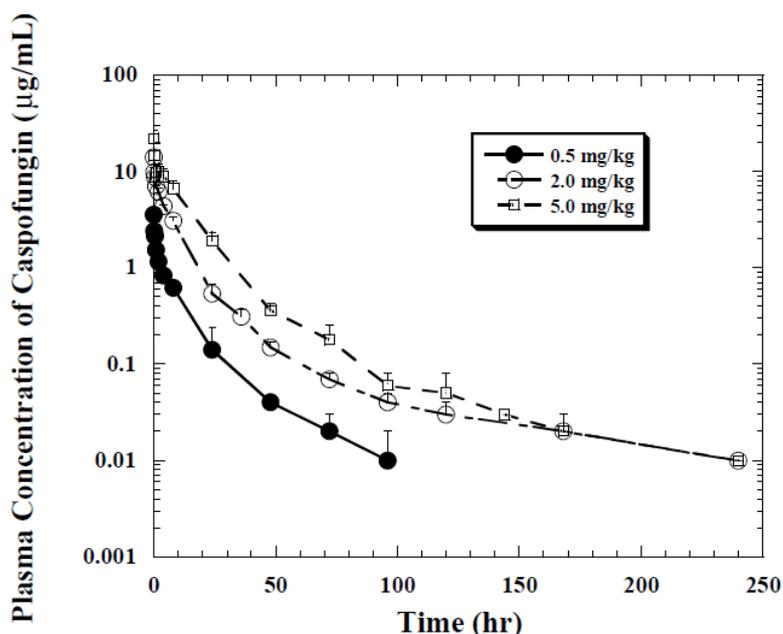


図 2.6.4: 2 ラットにカスポファンギン 0.5、2.0 及び 5.0 mg/kg を静脈内投与したときの血漿中濃度 (平均値±SD、n=5~6)

表 2.6.4: 1 ラット及びサルにカスポファンギンを単回静脈内投与したときの薬物動態 (平均値±SD)

動物種	投与量 (mg/kg)	CL _p (mL/min/kg)	終末相 t _{1/2} (hr)	実効 t _{1/2} (hr)	V _{dss} (L/kg)	AUC _{0-∞} (µg•hr/mL)	C _{24 hr} [†] (µg/mL)
ラット (n=5~6)	0.5	0.502 ± 0.062	35.8 ± 26.0	6.13 ± 0.94	0.676 ± 0.360	16.8 ± 2.0	0.14 ± 0.10
	2.0	0.418 ± 0.039	88.7 ± 27.9	6.28 ± 0.47	0.598 ± 0.088	80.2 ± 7.5	0.54 ± 0.13
	5.0	0.503 ± 0.076	77.3 ± 26.1	8.45 ± 1.01	0.660 ± 0.197	169 ± 25	1.91 ± 0.45
サル (n=3)	0.5	0.239 ± 0.017	25.4 ± 20.8	4.28 ± 0.97	0.248 ± 0.073	35.0 ± 2.6	0.30 ± 0.05
	2.0	0.265 ± 0.046	46.8 ± 22.3	6.31 ± 0.50	0.333 ± 0.056	128 ± 22	0.96 ± 0.19
	5.0	0.246 ± 0.037	55.3 ± 11.4	7.93 ± 1.57	0.355 ± 0.030	344 ± 53	3.87 ± 2.16

[†] 単回静脈内投与24時間後の血漿中濃度

2.6.4.3.2 サル

サルにカスポファンギンを静脈内投与したとき、血漿中濃度は緩徐に低下し、消失は多相性を示した[図2.6.4: 3]。血漿クリアランスは約0.25 mL/min/kg であり、0.5~5 mg/kg の範囲で用量依存性は認められなかった[表2.6.4: 1]。終末相 t_{1/2}及び実効 t_{1/2}のいずれについても、検討したすべての用量でばらつきが大きく、t_{1/2}は用量増加に伴って長くなると考えられた。平均分布容積が約0.3 L/kg であったことから、組織移行の程度はラットに比べてサルの方が低いことが示唆された (評価[資料4.2.2.2.1: G1]、評価[資料4.2.2.2.3: G3]) [2.6.5.2.1 項][2.6.5.2.2 項]。

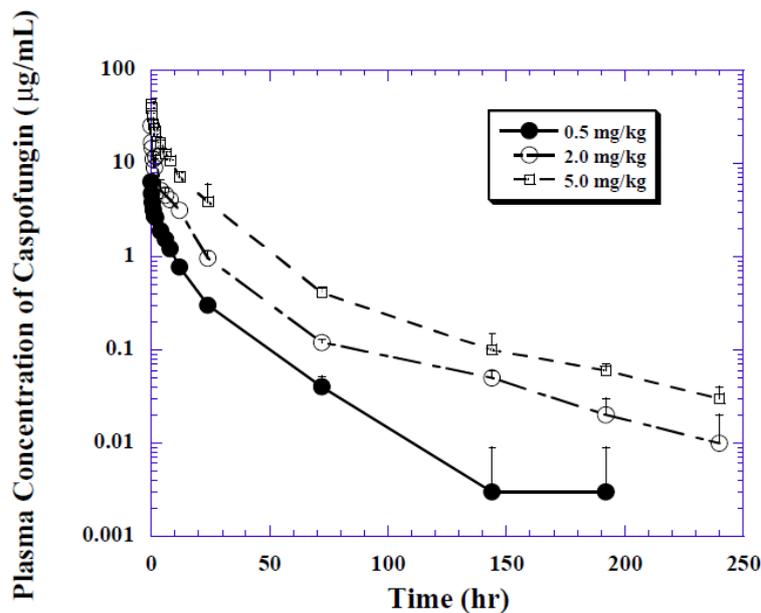


図 2.6.4.3 サルにカスポファンギン 0.5、2.0 及び 5.0 mg/kg を静脈内投与したときの血漿中濃度（平均値±SD、n=3）

サルでは、ラットとは対照的に、長期投与したときに薬物の蓄積が認められた。カスポファンギンを 5 mg/kg/日 で 14 日間静脈内投与したとき、血漿中トラフ濃度が上昇した。2 日目のトラフ濃度に対する 10 日目のトラフ濃度の比は約 2.9 であり、14 日目でも 2 日目に対する比は同程度であったことから、10 日以内に定常状態に達することが示唆された（評価[資料4.2.2.2.1: G1]） [2.6.5.3.2 項]。

2.6.4.3.3 マウス及びチンパンジー

毒性学的評価に用いた 2 種類の動物種ラット及びサルに加えて、初期の探索試験において、マウス及びチンパンジーを用いてカスポファンギンの薬物動態について評価した。マウスにカスポファンギン 1 mg/kg/日 を静脈内投与したときの血漿クリアランスは、ラットと同程度（0.44 mL/min/kg）であると推定され、分布容積は約 0.25 L/kg であった。また、チンパンジー 1 例にカスポファンギンを 0.5 mg/kg/日 で静脈内投与したとき、血漿クリアランスは 0.26 mL/min/kg、分布容積は約 0.11 L/kg であると推定された（評価[資料4.2.2.2.4: G4]） [2.6.5.2.3 項]。

検討した動物種全体にわたり、カスポファンギンの消失は非常に緩徐であり、ヒトに静脈内投与したときの血漿クリアランスも同様に小さかった（評価[資料5.3.3.1.3: P057]）。血漿クリアランスは 0.5 mL/min/kg（ラット）から 0.15 mL/min/kg（ヒト）の範囲であった。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 *In vitro* 蛋白結合

ラット、サル及びヒトで³Hカスポファンギンの血漿蛋白結合率は高かった。非結合型分率はラットで4.1%、サルで1.3%、ヒトで3.5%であり、100 µg/mLまでの濃度において、蛋白結合率に濃度依存性はみられなかった[表2.6.4: 2] (評価[資料4.2.2.2.1: G1]、評価[資料4.2.2.3.1: G6]) [2.6.5.5.1 項]。

表 2.6.4: 2 ³Hカスポファンギンの血漿蛋白結合率

初期薬物濃度 (µg/mL)	非結合型分率 (%) (平均値 ± SD, n=3)		
	ラット	サル	ヒト
0.1	4.90 ± 0.44	1.23 ± 0.20	3.25 ± 0.26
1.0	3.62 ± 0.35	1.19 ± 0.28	3.34 ± 0.26
10	3.72 ± 0.49	1.53 ± 0.51	4.32 ± 1.09
100	4.25 ± 1.03	1.32 ± 0.19	3.15 ± 0.38

腎機能障害の重症度が異なる患者36例から投与前に採取した血漿中で³Hカスポファンギンの血漿蛋白結合率を測定した。その結果、カスポファンギン10 µg/mLでの非結合型分率は腎障害患者群と対照群で類似していたことから、腎機能障害患者で蛋白結合率が有意に変化しないことが示唆された (評価[資料4.2.2.3.2: G7]) [2.6.5.5.2 項]。

さらに、カスポファンギンの主代謝物である L-000747969[図2.6.4: 5]のサル及びヒトにおける血漿蛋白結合率も測定した。未変化体同様、L-000747969の血漿蛋白結合率も高く、非結合型分率はサルで約1%、ヒトで約2%であった (評価[資料4.2.2.3.3: G8]) [2.6.5.5.3 項]。

ヒト血漿における³Hワルファリンの蛋白結合率に対するカスポファンギンの影響をカスポファンギン10 µM存在下で評価した。カスポファンギン存在下及び非存在下における血漿中ワルファリンの非結合率はそれぞれ、1.00%及び1.08%であり、カスポファンギンが存在してもワルファリンの非結合率は顕著に変動しないことが示された (評価[資料4.2.2.6.1: G28]) [2.6.5.17.1 項]。

2.6.4.4.2 *In vitro* 血球移行

ラット、サル及びヒトにおける³Hカスポファンギンの血液/血漿濃度比を *in vitro* で測定した。これらの動物種における平衡状態での血液/血漿濃度比は0.1~100 µg/mLの濃度範囲で約0.72であり、赤血球へのカスポファンギンの移行性は低いことが示された (評価[資料4.2.2.2.1: G1]、評価[資料4.2.2.3.1: G6]) [2.6.5.6 項]。

2.6.4.4.3 組織分布

ラットに³Hカスポファンギン (2 mg/kg) を静脈内投与したとき、投与0.5時間後の時点で放射能は組織に広く分布し、腎臓、肺、肝臓及び脾臓に高い放射能濃度が検出された[表2.6.4: 3] [表2.6.4: 4]。消化管内容物に低濃度ではあるが、持続的に放射能が検出されたことから、未変化体及び代謝物の消失過程に胆汁排泄が関与していることが示唆された。脳内に検出された放射能がわ

ずかであったことから、本薬は血液-脳関門をほとんど透過しないことが示された（評価[資料4.2.2.2.1: G1]） [2.6.5.4.1 項] [2.6.5.4.2 項]。

肝臓を除く大部分の組織において、放射能濃度は投与後2時間以内に最高値に達し、その後、時間経過とともに低下した。一方、肝臓中の放射能濃度は持続的に上昇し、投与24時間後で最高値を示した[図2.6.4: 4]。24時間後に肝臓に存在していた放射能量は投与量の約35%であり、主に未変化体であった。肝臓に移行した放射能は極めて緩徐に低下し、12日目の時点で肝臓内に投与量の約3%が残存していた。これらの結果から、カスポファンギンの肝臓への取り込み及び消失過程は非常に緩徐であり、血液と肝臓組織の間で平衡状態には速やかに到達しないことが明らかになった（評価[資料4.2.2.2.1: G1]） [2.6.5.4.1 項] [2.6.5.4.2 項]。

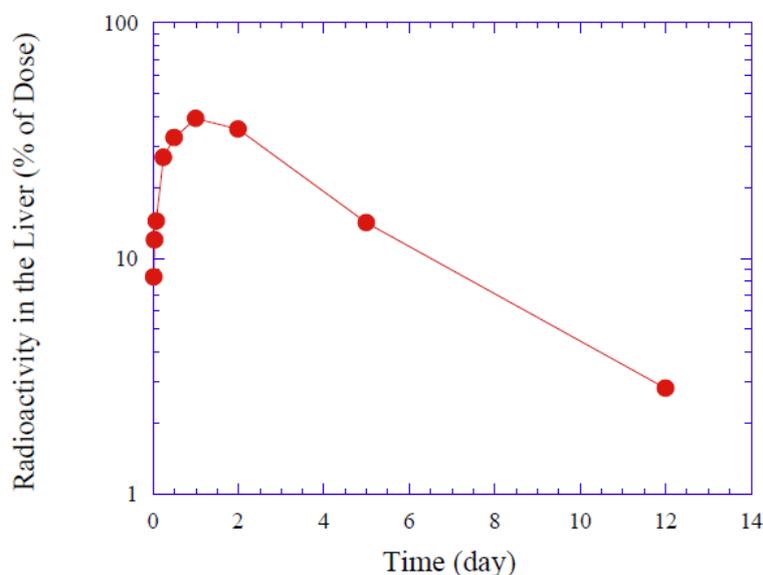


図 2.6.4: 4 ラットに ^3H カスポファンギン 2 mg/kg を単回静脈内投与したときの肝臓中放射能濃度（平均値、n=2~4）

ラット5週間反復投与毒性試験において、最終投与約24時間後に測定した肝臓中カスポファンギン濃度は、ほぼ用量に比例して上昇した。0.5、2.0及び5.0 mg/kg/日を静脈内投与したときの肝臓中濃度平均値はそれぞれ21.1、69.6及び172 $\mu\text{g/g}$ であった。ラットの肝臓中カスポファンギン濃度に性差は認められなかった（評価[資料4.2.2.2.1: G1]） [2.6.5.4.4 項]。

同じ用量をサルに投与したときの肝臓中カスポファンギン濃度をラットと比較した場合、サルの濃度はラットの約2倍であり、用量に比例した増加が認められた。5週間反復投与試験で2及び5 mg/kg/日を静脈内投与したときの試験終了時の肝臓中濃度はそれぞれ137及び318 $\mu\text{g/g}$ であった（評価[資料4.2.2.2.1: G1]） [2.6.5.4.4 項]。サル14週間試験でも同様の結果が認められており、肝臓中カスポファンギン濃度はほぼ用量に比例して上昇した（評価[資料4.2.3.2.7: TT 6130]） [2.6.5.4.5 項]。サルの肝臓中カスポファンギン濃度に性差は認められなかった。

表 2.6.4: 3 ラットに³H]カスポファンギン 2.0 mg/kg を静脈内投与したときの
 組織中放射能濃度 (µg/mL 又は µg/g) (平均値±SD、n=3)

組織	0.5時間後	2.0時間後	24時間後	12日後
脳	0.127 ± 0.004	0.153 ± 0.021	0.164 ± 0.111	0.022 ± 0.002
心臓	2.31 ± 0.138	1.87 ± 0.045	0.642 ± 0.089	0.030 ± 0.004
肺	5.12 ± 0.192	4.50 ± 0.601	2.44 ± 0.416	0.115 ± 0.022
腎臓	9.15 ± 1.30	10.6 ± 1.80	11.4 ± 1.64	0.789 ± 0.132
脾臓	4.37 ± 0.042	3.87 ± 0.491	3.62 ± 0.607	0.299 ± 0.035
肝臓	5.03 ± 0.597	7.04 ± 1.34	22.2 ± 2.43	1.65 ± 0.530
胃	1.65 ± 0.134	1.65 ± 0.215	0.963 ± 0.240	0.065 ± 0.053
小腸	3.94 ± 0.487	3.69 ± 0.076	2.27 ± 0.220	0.097 ± 0.004
大腸	2.25 ± 0.164	2.00 ± 0.388	1.38 ± 0.160	0.044 ± 0.002
盲腸	2.03 ± 0.433	2.22 ± 0.225	1.51 ± 0.054	0.063 ± 0.010
膵臓	1.58 ± 0.117	1.54 ± 0.197	1.02 ± 0.126	0.045 ± 0.004
腸間膜リンパ節	1.93 ± 0.118	1.85 ± 0.527	1.56 ± 0.352	0.062 ± 0.008
精巣	0.493 ± 0.050	0.855 ± 0.025	0.621 ± 0.061	0.142 ± 0.010
骨格筋	0.305 ± 0.042	0.386 ± 0.096	0.103 ± 0.013	0.009 ± 0.002
脂肪	0.431 ± 0.087	0.357 ± 0.073	0.358 ± 0.100	0.007 ± 0.000
血漿	11.0 ± 5.73	6.10 ± 0.596	1.74 ± 0.849	0.068 ± 0.040
赤血球	4.08 ± 2.57	1.93 ± 0.127	0.445 ± 0.219	0.132 ± 0.094
副腎	2.95 ± 0.998	3.01 ± 0.394	3.21 ± 1.72	0.331 ± 0.146
皮膚	1.60 ± 0.137	1.91 ± 0.043	0.959 ± 0.364	0.285 ± 0.128
膀胱	1.96 ± 0.866	2.23 ± 0.085	0.821 ± 0.374	0.051 ± 0.016
眼	0.516 ± 0.064	0.478 ± 0.081	0.295 ± 0.051	0.025 ± 0.002

表 2.6.4: 4 ラットに³H]カスポファンギン 2.0 mg/kg を静脈内投与したとき
 の組織中放射能 (対投与量%) (平均値±SD、n=3)

組織	0.5時間後	2.0時間後	24時間後	12日後
脳	0.045 ± 0.002	0.054 ± 0.013	0.057 ± 0.037	0.008 ± 0.001
心臓	0.382 ± 0.026	0.284 ± 0.018	0.097 ± 0.017	0.005 ± 0.001
肺	1.10 ± 0.027	0.937 ± 0.112	0.531 ± 0.094	0.024 ± 0.002
腎臓	3.48 ± 0.206	3.91 ± 0.666	4.18 ± 0.379	0.282 ± 0.056
脾臓	0.606 ± 0.117	0.585 ± 0.092	0.472 ± 0.064	0.05 ± 0.008
肝臓	8.37 ± 0.879	14.4 ± 0.629	35.2 ± 3.21	2.82 ± 0.632
胃	0.420 ± 0.079	0.502 ± 0.084	0.244 ± 0.056	0.018 ± 0.013
小腸	2.42 ± 0.610	3.58 ± 0.645	1.30 ± 0.304	0.062 ± 0.004
大腸	0.402 ± 0.061	0.527 ± 0.063	0.216 ± 0.053	0.009 ± 0.001
盲腸	0.282 ± 0.096	0.497 ± 0.244	0.159 ± 0.013	0.009 ± 0.001
膵臓	0.409 ± 0.067	0.558 ± 0.051	0.276 ± 0.027	0.016 ± 0.003
腸間膜リンパ節	0.544 ± 0.100	0.335 ± 0.013	0.256 ± 0.048	0.013 ± 0.004
精巣	0.268 ± 0.033	0.417 ± 0.009	0.349 ± 0.041	0.092 ± 0.005
骨格筋	7.63 ± 1.04	9.64 ± 2.39	2.58 ± 0.337	0.214 ± 0.049
脂肪	0.862 ± 0.175	0.714 ± 0.147	0.715 ± 0.200	0.013 ± 0.001
血漿	24.6 ± 12.8	13.7 ± 1.33	3.91 ± 1.90	0.151 ± 0.090
赤血球	7.50 ± 4.74	3.54 ± 0.234	0.818 ± 0.403	0.243 ± 0.173
副腎	0.057 ± 0.022	0.066 ± 0.009	0.051 ± 0.023	0.006 ± 0.003
皮膚	14.0 ± 1.20	16.7 ± 0.372	8.38 ± 3.18	2.49 ± 1.12
膀胱	0.035 ± 0.018	0.038 ± 0.007	0.013 ± 0.007	0.001 ± 0.000
眼	0.025 ± 0.002	0.018 ± 0.000	0.012 ± 0.004	0.001 ± 0.000
組織合計	73.5 ± 17.5	71.0 ± 2.71	59.8 ± 6.90	6.53 ± 0.395
消化管内容物:				
胃	0.077 ± 0.019	0.056 ± 0.015	0.238 ± 0.270	0.018 ± 0.027
小腸	4.41 ± 0.353	3.63 ± 0.418	2.16 ± 0.644	0.058 ± 0.008
大腸	0.410 ± 0.146	0.222 ± 0.034	0.257 ± 0.246	0.031 ± 0.048
盲腸	0.328 ± 0.028	0.353 ± 0.384	3.92 ± 0.118	0.209 ± 0.112
消化管内容物合計	5.22 ± 0.384	4.26 ± 0.199	6.57 ± 0.910	0.316 ± 0.081
総計	78.7 ± 17.8	75.2 ± 2.87	66.4 ± 6.25	6.84 ± 0.389

2.6.4.4.4 ラットにおける肝取り込み

肝臓への取り込み及び消失が緩徐である原因となっているメカニズムを解明するため、ラット肝灌流標本を用いて³H]カスポファンギンの *in situ* 肝取り込み試験を実施した[資料4.2.2.2.1: G1]。0.5%アルブミン溶液として³H]カスポファンギン (10 µg/mL) を肝臓に再灌流させたとき、灌流液中の放射能濃度は、初期の5分間の急速な低下に続いて、非常に緩徐な低下を示す2相性の低下を示した。60分間の灌流終了時点で肝臓に残存していた放射能は投与量の約20%であった。このことから、初期相で細胞表面にカスポファンギンが吸着することにより速やかに取り込まれた後、次の相では細胞膜を通して緩徐に輸送されるという2段階で肝臓に取り込まれることが示唆された。この仮説を裏付ける知見として、追加試験の結果において、灌流ラット肝臓中に残存する放射能は灌流液中の非結合型画分に大きく左右され、灌流液中の非結合型分率が高いほど、肝臓に残存するカスポファンギン量が増えることが明らかになった。さらに、カスポファンギンを含まない4%アルブミン溶液で肝臓を再灌流すると、初期相で急速に肝臓に取り込まれた放射能の大部分 (約81%) が除去された。これらのことから、カスポファンギンの蛋白結合は競合的であると推察された (評価[資料4.2.2.2.1: G1]) [2.6.5.9.1 項]。

また、*in situ* ラット肝灌流試験でみられたのと同様に、*in vivo* で得られたラット肝標本においても4%アルブミン溶液によって時間依存的にラット肝臓から放射能が除去された[資料4.2.2.2.1: G1]。すなわち、ラットにカスポファンギン (2 mg/kg) を静脈内投与した際、投与30分後で肝臓に取り込まれた放射能の大部分 (66%) がその後の4%アルブミン溶液による灌流で除去された。しかしながら、投与24時間後の時点で肝臓から除去された放射能は少量 (約19%) であった。以上、*in situ* 試験及び *in vivo* 試験のいずれにおいても、カスポファンギンの肝臓取り込みが、初期の細胞表面への速やかな結合とこれに続く緩徐な細胞内への輸送 (機序不明) が関与する2段階過程をとるといふ仮説と一致する結果が得られた (評価[資料4.2.2.2.1: G1]) [2.6.5.9.1 項]。

2.6.4.4.5 P-gp の基質及び阻害剤としての可能性

カスポファンギンが P-gp の基質であるかどうか、P-gp 欠損 CF-1マウス (*mdr 1a* (-/-)) 及び P-gp 過剰発現細胞株を用いて、*in vivo* 試験及び *in vitro* 試験を実施した[資料4.2.2.3.4: G10]。*mdr 1a* (-/-) 及び (+/+) CF-1マウスに³H]カスポファンギン (5 mg/kg) を静脈内投与したときの脳中放射能濃度が *mdr 1a* (-/-) マウスと *mdr 1a* (+/+) マウスで類似していたことから、カスポファンギンは P-gp の基質ではないことが示唆された[資料4.2.2.3.4: G10]。また、マウス *mdr 1a* を形質移入したブタ腎上皮細胞株 L-*mdr 1a*、ヒト MDR-1を形質移入したブタ腎上皮細胞株 L-MDR1、ヒト大腸癌細胞株 Caco-2及びヒト表皮癌細胞株 KB-V1を用いて、カスポファンギンの *in vitro* 輸送についても検討した。*In vivo* 試験の結果と一致して、カスポファンギンが L-*mdr 1a* 単層膜の基底膜側から頂端膜側へのベクトル輸送はみられなかった[資料4.2.2.3.4: G10]。同様に、ヒト P-gp を発現する細胞株、すなわち、L-MDR1及び Caco-2においても、カスポファンギンのベクトル輸送は認められなかった。さらに、ヒト P-gp を過剰発現する細胞 (KB-V1) 内での³H]カスポファンギンの蓄積に関して、対照となる親細胞株 (KB-3-1) との間に有意差は認められず、また、強力かつ特異的な P-gp 阻害剤であるシクロスポリンによって、KB-V1細胞内での³H]カスポファンギンの蓄積が抑制されることもなかった。これらの結果を総合すると、マウス及びヒトのいずれにおいても、カスポファンギンが P-gp を介する輸送系の基質ではないことが強く示唆された (評価[資料4.2.2.3.4: G10]) [2.6.5.9.2 項] [2.6.5.9.3 項]。

また、KB-V1及び KB-3-1細胞において、カスポファンギンが P-gp 阻害剤として作用するかどうかについて、³H]ビンブラスチンを P-gp 輸送のマーカー基質として用いて *in vitro* で評価した。ビンブラスチン (10 nM) の KB-V1細胞内蓄積に対して、カスポファンギンはほとんど影響せず、IC₅₀は100 µM 超であると推定された。これらの結果から、カスポファンギンが P-gp 輸送系の強力な阻害剤ではないことが示された (評価[資料4.2.2.3.4: G10]) [2.6.5.9.4 項]。

2.6.4.4.6 カスポファンギンの肝取り込みにおけるトランスポーターの役割

カスポファンギン肝取り込みにおけるトランスポーターの役割について、異種の発現系肝トランスポーターを用いて評価した[資料4.2.2.3.5: G27]。組換えエワクシニアウイルス系で発現させたトランスポーターではいずれも統計学的に有意なカスポファンギンの取り込みは観察されなかった。しかしながら、有機アニオントランスポーターポリペプチド (OATP) 1B1を過剰に発現している

Tet-on-Hela 細胞で、わずかではあるが統計学的に有意な取り込みが観察され、OATP1B3を過剰に発現している細胞では観察されなかった。これらの結果から、カスポファンギンはOATP1B1の低親和性基質であるため、その肝取り込みがゆるやかであることが示唆された（評価[資料4.2.2.3.5: G27]） [2.6.5.9.5 項]。

肝トランスポーターOATP1B1、Na⁺-依存的胆汁酸トランスポーター（NTCP）、有機カチオントランスポーター（OCT1）及び有機アニオントランスポーター（OAT1）に対するカスポファンギンの阻害作用を10及び100 µM の濃度で評価した。カスポファンギン10 µM（臨床濃度）ではトランスポーターを阻害しなかったが、100 µM（臨床濃度を上回る濃度）ではこれらトランスポーターをわずかに阻害することが示唆された（評価[資料4.2.2.3.5: G27]） [2.6.5.9.5 項]。

2.6.4.4.7 ウサギ及びラットにおける胎盤通過

妊娠ウサギ及びラットにカスポファンギンを反復静脈内投与したときの胎盤通過について検討した。

妊娠ニュージーランドホワイトウサギに妊娠7日から妊娠20日までカスポファンギンを5 mg/kg/日で静脈内投与し、妊娠20日の最終投与後に血液試料を採取した。投与4及び24時間後の平均胎児血漿中カスポファンギン濃度はそれぞれ0.71及び0.43 µg/mL であり、母動物の血漿中濃度の5%及び29%であった。これらの結果から、ウサギの胎盤をカスポファンギンが通過することが示された（評価[資料4.2.3.5.2.6: TT 7190]） [2.6.5.7 項]。

ラットを用いた同様の試験で、妊娠ラットに妊娠6日から妊娠20日までカスポファンギンを5 mg/kg/日で静脈内投与した。妊娠20日の4及び24時間後における平均胎児血漿中カスポファンギン濃度は0.62及び0.32 µg/mL であり、母動物の血漿中濃度の約3%及び18%であった。したがって、ラットでもカスポファンギンが胎盤を通過することが示された（評価[資料4.2.3.5.3.2: TT 7180]） [2.6.5.7 項]。

2.6.4.4.8 ラットにおける乳汁移行

ラットに妊娠6日から授乳14日までカスポファンギンを5 mg/kg/日で静脈内投与し、乳汁移行について評価した。授乳14日に母動物から血液及び乳汁を採取した。投与4時間後における母動物の血漿及び乳汁中カスポファンギン濃度はそれぞれ19.53及び2.59 µg/mL であった。この乳汁中濃度は血漿中濃度の約13%に相当し、ラットにおいて、カスポファンギンが血漿から乳汁中に移行することが示された（評価[資料4.2.3.5.3.2: TT 7180]） [2.6.5.8 項]。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 *In vivo* ヒト代謝経路

ヒトにおけるカスポファンギンの推定代謝経路を[図2.6.4: 5]に示す。健康被験者に $[^3\text{H}]$ カスポファンギンを70 mgで静脈内投与したとき、最初の24時間の血漿中に検出された放射活性物質は、主として未変化体であり、ペプチド加水分解物 L-000747969もわずかに検出された。しかしながら、それ以降（5日目～20日目）の血漿試料では、L-000747969が主成分であった。対照的に、尿には主に極性の高い加水分解代謝物 M1及びM2が含まれていた。16日間にわたり尿中に排泄された累積放射能に占める M1、M2、未変化体及び L-000747969の割合はそれぞれ、13、71、9及び<1%であった[表2.6.4: 7]。主代謝物である M2は極性が高く、HPLC 分離条件下で不安定であり、極性の低い M2D へと分解された[図2.6.4: 5]。化学的に安定な M2誘導体の NMR 解析から、M2が N-アセチル-4(S)-ヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシフェニル) L-トレオニンであると同定された。また、もう1つの代謝物 M1は、4(S)-ヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシフェニル) L-トレオニンと同定された(評価[資料4.2.2.4.3: G15]) [2.6.5.11 項]。

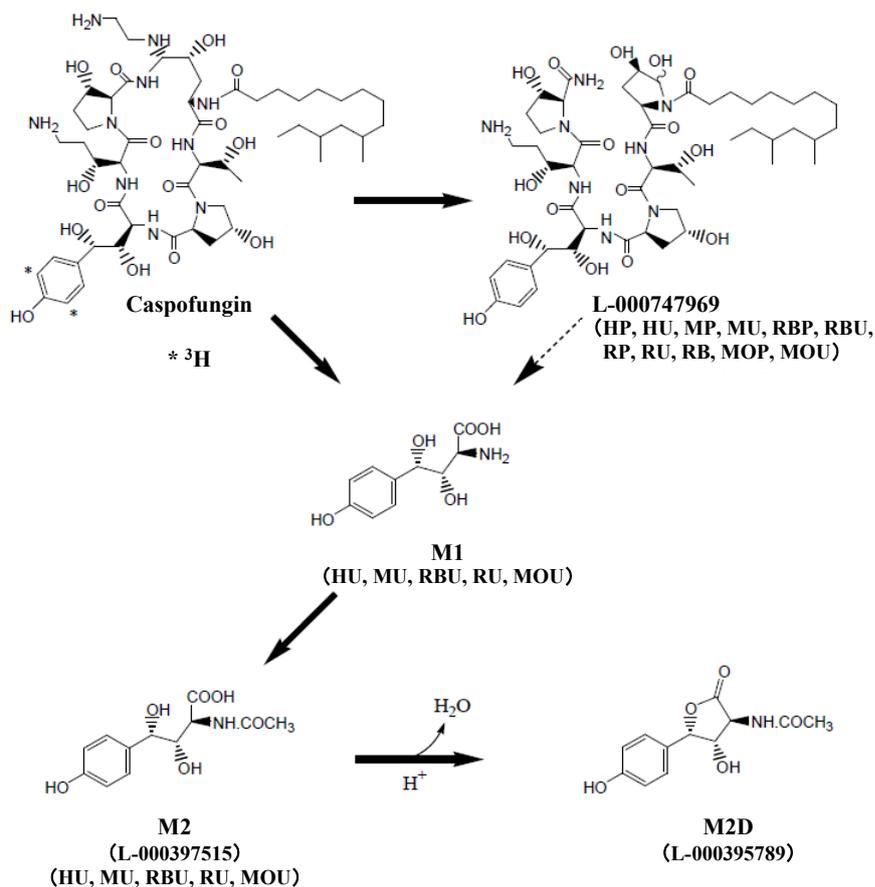


図 2.6.4: 5 ヒト、サル、ウサギ、ラット及びマウスにおけるカスポファンギンの推定代謝経路

HP=ヒト血漿、HU=ヒト尿、MP=サル血漿、MU=サル尿、RBP=ウサギ血漿、RBU=ウサギ尿、RP=ラット血漿、RU=ラット尿、RB=ラット胆汁、MOP=マウス血漿、MOU=マウス尿

2.6.4.5.2 代謝の種間比較

定性的評価により、ヒトで検出されたカスポファンギンの主代謝物すべてがマウス、ラット、ウサギ及びサルでも認められた。投与約8時間後（ウサギ）あるいは約24時間後（マウス、ラット、サル及びヒト）に採取した血漿抽出物のラジオクロマトグラムから、カスポファンギンが主成分であり、L-000747969の生成はわずかであることが明らかになった。それ以降（3日目以降）に採取した血漿では、すべての動物種において、未変化体の割合が相対的に低下し、L-000747969の割合が上昇した[図2.6.4: 6] [図2.6.4: 7]。さらに、ラット、サル及びヒトから採取した尿試料のラジオクロマトグラムにおいて、M1及び M2の2種類が尿中主代謝物であることが明らかになった。ヒト尿中に検出された微量代謝物 M4は動物の尿でも検出された。さらに、ラット、ウサギ（M5のみ）及びサルの尿で、2種類の微量放射活性成分（M3及び M5）が検出されたが、未同定である。また、未同定の代謝物 M6がマウス及びウサギの尿中から検出されたが、ラット、サル及びヒト尿中からは検出されなかった[図2.6.4: 8] [図2.6.4: 9] [表2.6.4: 7]。

これらの結果を総合して、検討したすべての動物種において、カスポファンギンの主代謝経路にペプチド加水分解及びN-アセチル化が関与していることが示された（評価[資料4.2.2.2.1: G1]、評価[資料4.2.2.4.6: G13]、評価[資料4.2.2.4.3: G15]、評価[資料4.2.2.4.2: G25]、評価[資料4.2.2.4.5: G26]） [2.6.5.11 項]。

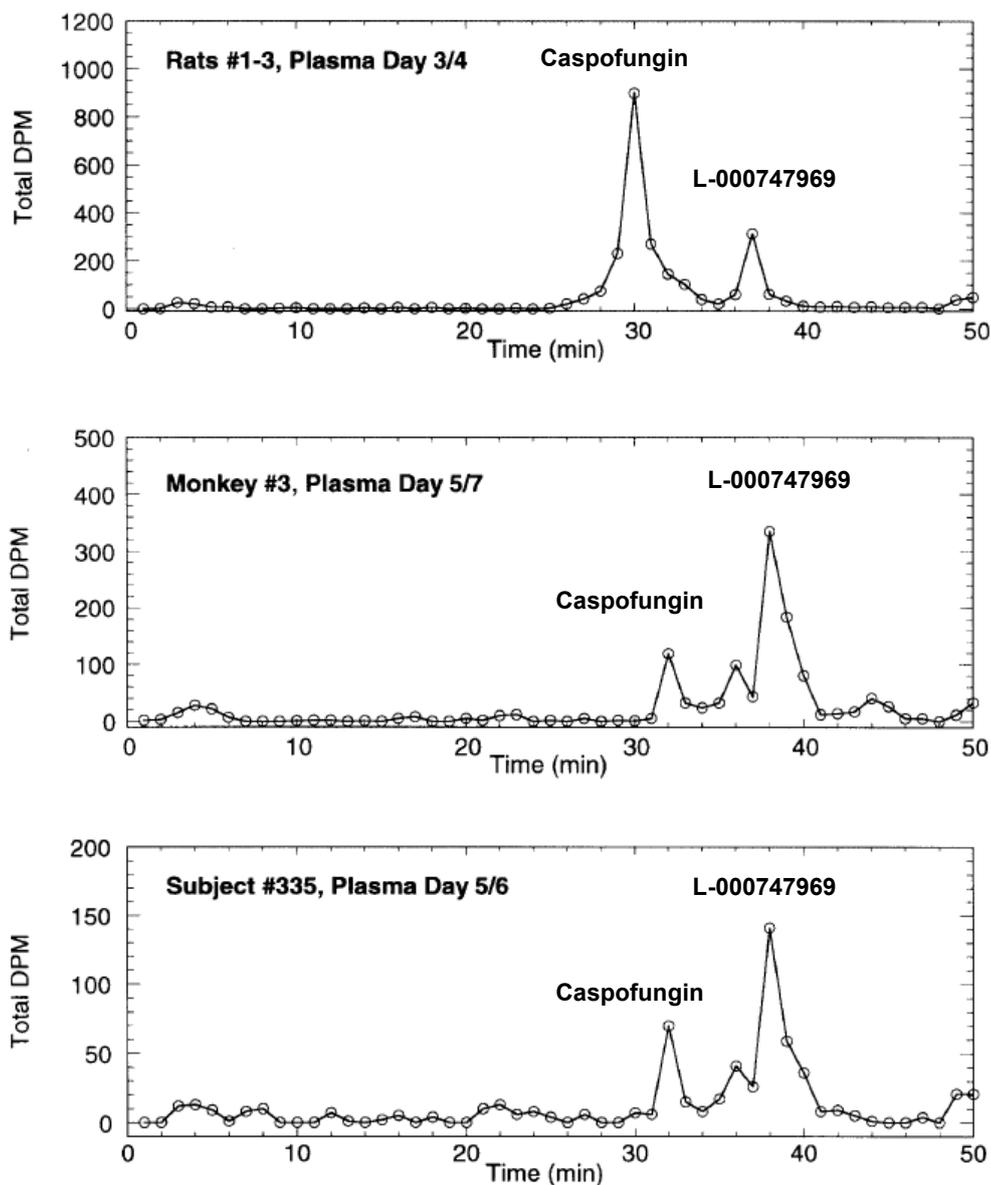


図 2.6.4: 6 ラット (5 mg/kg)、サル (5 mg/kg) 及びヒト (70 mg) に³Hカスポファンギンを静脈内投与したときの血漿試料の代表的ラジオクロマトグラム

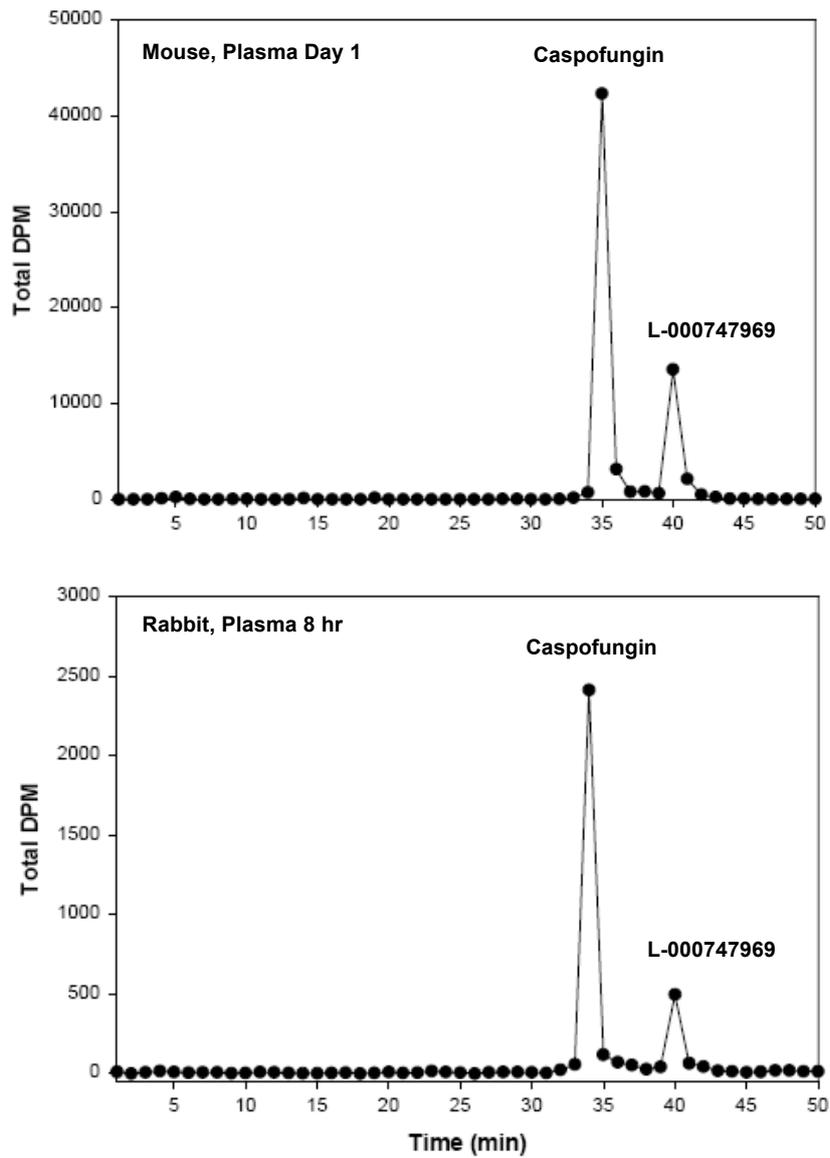


図 2.6.4: 7 マウス (5 mg/kg) 及びウサギ (5 mg/kg) に³Hカスポファンギンを静脈内投与したときの血漿試料の代表的ラジオクロマトグラム

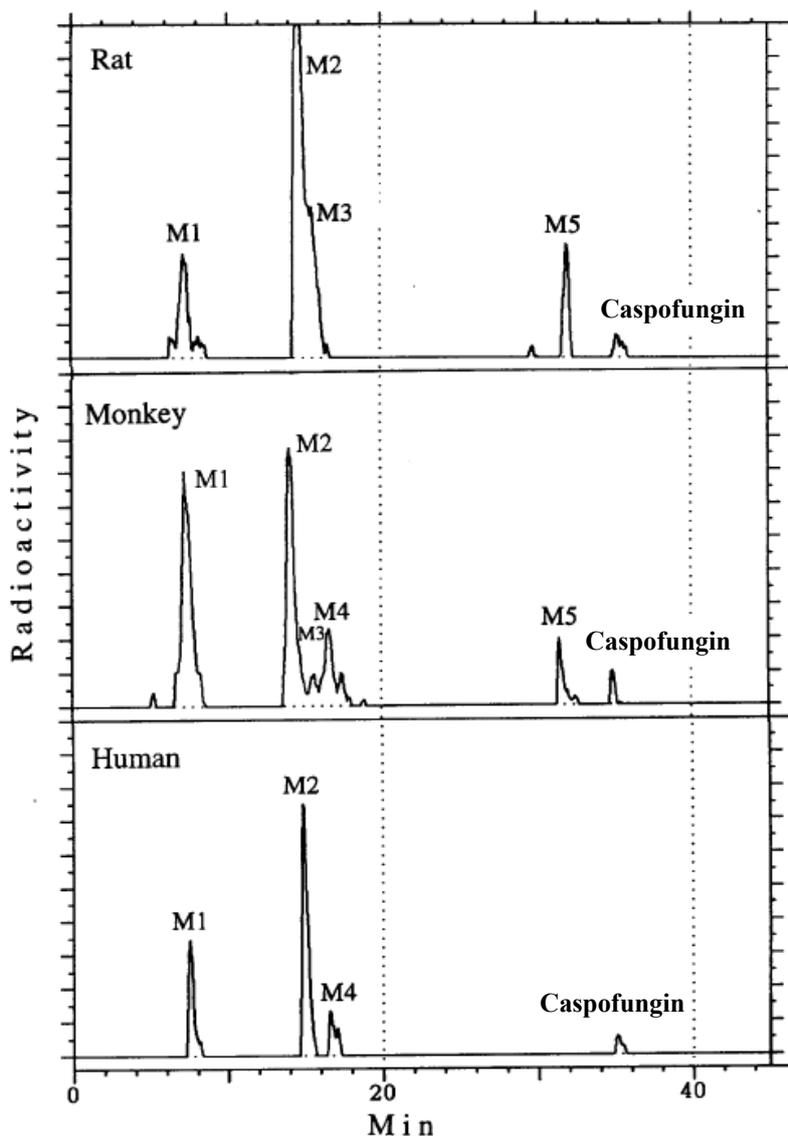


図 2.6.4: 8 ラット (5 mg/kg)、サル (5 mg/kg) 及びヒト (70 mg) に ^3H カスポファンギンを
静脈内投与したときの尿試料の代表的ラジオクロマトグラム

ラット尿、3日目；サル尿、3日目；ヒト（被験者番号333）尿、5日目。異なる時点のラット尿において、M4及びL-000747969がわずかに検出された。同様に、サル及びヒト尿中にもL-000747969はわずかに検出された。

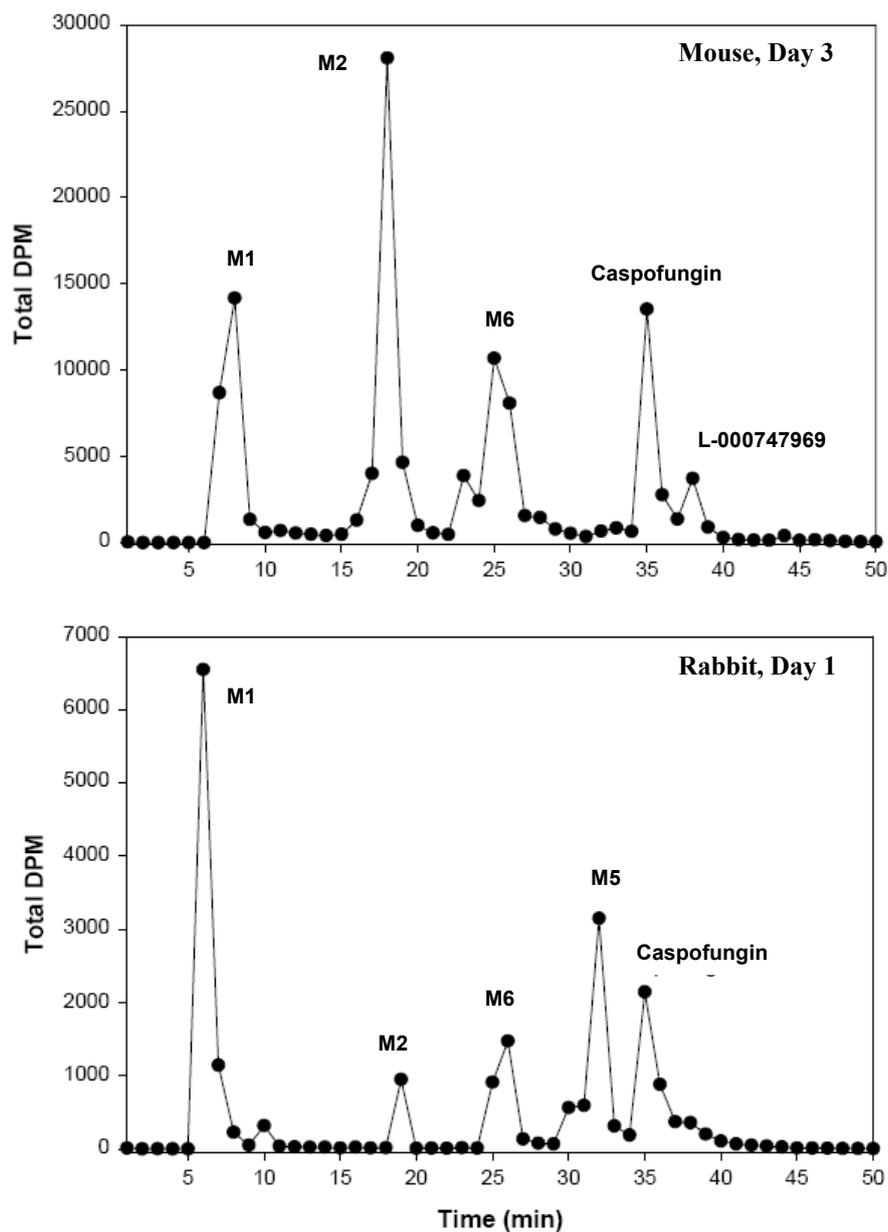


図 2.6.4: 9 マウス (5 mg/kg) 及びウサギ (5 mg/kg) に³H]カスポファンギンを静脈内投与したときの尿試料の代表的ラジオクロマトグラム

2.6.4.5.3 *In vitro* 代謝

カスポファンギンの代謝に関与する酵素系を特定するため、ラット肝臓及び腎臓ホモジネート（ミクロソーム及び S9）、ラット肝臓及び腎臓切片、全血、ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞、組換え CYP 分子種を用いて *in vitro* 試験を実施した。これらの生体試料すべてにおいて、カスポファンギンの代謝変換及び極性代謝物 M1及び M2の生成は認められなかったが、L-000747969がわずかに検出された。対照試料においても、L-000747969の生成が認められたことから、*in vitro* 代謝系で検出された少量の L-000747969は非酵素的に生成されている可能性があった。*In vivo* で同

定されたすべての代謝物が環状ペプチドの加水分解物であったことから、アミダーゼ、ペプチダーゼ、アミノペプチダーゼ I、ロイシニアミノペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼ (B 及び Y)、トリプシン、フィシン、プロテアーゼ (V、XXVII、XXIV)、プロリダーゼ、エンドペプチダーゼなどの加水分解酵素を用いた追加 *in vitro* 代謝試験を実施した。この場合も、これらの代謝酵素系によってカスポファンギンが代謝されることはなく、M1 及び M2 のいずれも検出されなかった。これらの結果は、カスポファンギンが主要 CYP 分子種及び検討した加水分解酵素の基質とはならないことを示している (評価[資料4.2.2.4.1: G16]) [2.6.5.10 項]。

2.6.4.5.4 ヒト及びラット肝ミクロソームを用いたカスポファンギンの CYP 分子種阻害能評価

ヒト肝ミクロソームにおいて、カスポファンギンが強力な CYP 阻害剤ではないことが立証された[資料4.2.2.4.8: G17]。臨床的に意味のある濃度 (70 mg を1時間点滴静注したときのヒト C_{max} 11 μM) において、カスポファンギンの主要ヒト CYP 分子種阻害作用はごくわずかであり、検討したすべての CYP 分子種について、 IC_{50} 値は 67 μM 以上であった[表2.6.4: 5] (評価[資料4.2.2.4.8: G17]) [2.6.5.12.1 項]。これらの結果から判断して、カスポファンギンが CYP を阻害して、ヒトで薬物間相互作用を誘発する可能性は低いと考えられた。また、*in vitro* 試験でカスポファンギンが CYP 分子種の良好な基質ではないことが明らかになっていることから、既知 CYP 阻害剤と併用投与したときにカスポファンギンのクリアランスが低下する可能性も低いと考えられた。

ラット肝ミクロソームを用いて追加試験を実施した結果、ヒト肝ミクロソーム同様、カスポファンギンはラットの主要 CYP 分子種を阻害せず、 IC_{50} 値は 56 μM 以上であった[表2.6.4: 6] (評価[資料4.2.2.4.7: G18]) [2.6.5.12.1 項]。したがって、ラットにおいて代謝に基づく薬物間相互作用は生じないと予想された。この予想を検証するため、ラットを用いてインジナビル又はケトコナゾールとカスポファンギンを併用する *in vivo* 薬物相互作用試験を実施した。これらの薬剤の間で有意な薬物動態学的相互作用が生じなかったことから、カスポファンギンは CYP 分子種の強力な阻害剤ではなく、基質ともならないことが確認された。

表 2.6.4: 5 ヒト肝ミクロソームにおけるカスポファンギンの
CYP マーカー活性阻害定数 (IC_{50})

CYP 分子種	マーカー反応	$IC_{50}(\mu\text{M})$
CYP1A2	フェナセチン O-脱エチル化	186
CYP2A6	クマリン7-水酸化	213
CYP2C9	トルブタミドメチル水酸化	217
CYP2C19	S-メフェニトイン4' -水酸化	131
CYP2D6	ブフラロール1' -水酸化	216
CYP3A4	テストステロン6 β -水酸化	67

表 2.6.4: 6 ラット肝ミクロソームにおけるカスポファンギンの
 CYP マーカー活性阻害定数 (IC₅₀)

CYP 分子種	マーカー反応	IC ₅₀ (μM)
CYP1A2	フェナセチン O-脱エチル化	123
CYP2A1	テストステロン7α-水酸化	56.8
CYP2C11	テストステロン2α-水酸化	107
CYP2C11	テストステロン16α-水酸化	111
CYP2D1	ブフラロール1'-水酸化	112
CYP3A2	テストステロン6β-水酸化	57.5

ヒト血漿中に検出されたカスポファンギンの主代謝物は L-000747969であったことから、ヒト肝ミクロソームを用いて、L-000747969の CYP 分子種阻害能も評価した。主要ヒト CYP 分子種 (CYP3A4、2C9、2D6、1A2、2A6及び2C19) に対する L-000747969の IC₅₀値は200 μM 以上であり、L-000747969が強力な CYP 阻害剤ではないことが示された(評価[資料4.2.2.4.9: G19]) [2.6.5.12.2 項]。

2.6.4.5.5 酵素誘導

カスポファンギンを雄及び雌マウスに静脈内投与する探索的酵素誘導試験を実施した[資料4.2.2.4.4: TT 2800/TT 2801]。カスポファンギンを5 mg/kg/日で4日間静脈内投与し、これらの動物から調製した肝ミクロソームの CYP を介した7-エトキシ-4-トリフルオロメチルクマリン O-脱エチル化 (EFCOD) 活性及びペルオキシソームの脂肪アシル CoA 酸化 (FACO) 活性を測定した。カスポファンギンにはEFCOD活性及びFACO活性又は肝重量に対する作用は認められなかった。ペルオキシソームの誘導については、ラット肝細胞による *in vitro* 試験でも検討した。本試験で、50 μM (これ以上は毒性発現) 以下のカスポファンギンは、ペルオキシソームの FACO 活性を誘導しなかった (評価[資料4.2.2.4.4: TT 2800/TT 2801]) [2.6.5.13.1 項] [2.6.5.13.2 項]。

2.6.4.5.6 血漿蛋白への不可逆的結合

健康被験者に³H]カスポファンギンを70 mg で単回静脈内投与したとき、血漿からの放射能の消失は長期間に及んだ (半減期約12日間) [図2.6.4: 10]。サルにカスポファンギンを5 mg/kg で静脈内投与したときにも同様の血漿中濃度推移が認められた (参考[資料5.3.3.1.1: P010]、評価[資料4.2.2.4.3: G15])。ヒト及びサルから採取した終末相 (5~20日目) の血漿試料に関して、強酸及び種々の有機溶媒を用いて蛋白沈殿物の抽出を行ったが、放射能の約半分が血漿蛋白から除去できなかったことから、カスポファンギン由来の一部の放射能が血漿蛋白に不可逆的に結合していることが示唆された。ヒトにおける不可逆的結合レベルは低く、5/6日目の血漿で約7 pmol/mg 蛋白であった。19/20日目までに3 pmol/mg 蛋白となり、不可逆的結合レベルは経時的に低下すると考えられた。安全性評価試験でサルに5 mg/kg の³H]カスポファンギンを単回静脈内投与したときの不可逆的結合レベルは同様のタイミングで採取したヒト試料中の不可逆的結合レベルに比べて約3~5倍高かった (評価[資料4.2.2.4.11: G20]) [2.6.5.14.1 項]。しかし、サルにおける不可逆的血漿蛋白結合が3~5倍高いこと、及びサルでは重大な毒性が認められないことから、この不可逆的結

合の毒性学的な意義は低いと考えられた。また、別の臨床試験（参考[資料5.3.3.1.2: P034]）で $[^3\text{H}]$ カスポファンギン70 mg を健康成人に静脈内投与したとき、投与後2週の試料では、血漿蛋白に対し6.71 pmol/mg 蛋白の不可逆的結合がみられた。この結合は投与後8週では1.62 pmol/mg 蛋白に減少し、投与後12週では定量下限未満となった（評価[資料4.2.2.4.12: G29]） [2.6.5.14.1 項]。

ラットに2 mg/kg、マウス、ウサギ及びサルに5 mg/kg の $[^3\text{H}]$ カスポファンギンを静脈内投与すると、血漿蛋白との初期の不可逆的結合は10.0~32.7 pmol/mg 蛋白、終末相では0.2~9.3 pmol/mg 蛋白であった。ラット肝蛋白に対する不可逆的結合も同様に低レベル (<13.3 pmol/mg 蛋白) であった。以上の結果から、血漿及び肝蛋白に対する不可逆的結合は低レベルであり、検討したすべての種で経時的に低下することが示された（評価[資料4.2.2.4.11: G20]、評価[資料4.2.2.4.2: G25]、評価[資料4.2.2.4.5: G26]、評価[資料4.2.2.4.12: G29]、評価[資料4.2.2.4.10: G30]） [2.6.5.14.1 項]。

血漿蛋白に対する不可逆的結合メカニズムを解明するため、追加 *in vitro* 試験を実施した[資料4.2.2.4.11: G20]。サル及びヒト血漿並びにヒト血清アルブミンとともに $[^3\text{H}]$ カスポファンギンをインキュベートしたときにも不可逆的結合が認められたことから、反応性中間体が自然に生成することが示唆された。結合の程度は時間及び pH に依存し、pH 値が高く、インキュベーション時間が長いほど、不可逆的結合レベルは高かった。カスポファンギンは塩基性条件下で不安定であり、部分的に L-000747969 に分解されることから、高 pH (pH 9.0) における不可逆的結合レベルの上昇は、カスポファンギンが L-000747969 に化学分解される際に活性中間体が生成することを示唆しているものと考えられた（評価[資料4.2.2.4.11: G20]） [2.6.5.14.2 項]。[図2.6.4: 11]に示すように、分解過程で2種類の反応性中間体（1及び2）が生成する可能性があり、中間体1の α,β -不飽和系への求核付加又は中間体2のアルデヒド基 (-CHO) と蛋白のリジン-NH₂基の間での可逆的イミン（シッフ塩基）結合生成のいずれかを介して、これらの中間体が蛋白付加体を形成すると考えられる（評価[資料4.2.2.4.11: G20]） [2.6.5.14.3 項] [2.6.5.14.4 項] [2.6.5.14.5 項] [2.6.5.15 項]。 $[^3\text{H}]$ カスポファンギンと血漿の *in vitro* インキュベーション液に求核性捕捉剤グルタチオン (GSH) 又はメトキシルアミンを添加することにより、蛋白沈殿物に結合した放射エネルギーが低下したことは、不可逆的結合に両メカニズムが関与しているという見解と一致するものである。さらに、水性緩衝液中での $[^3\text{H}]$ カスポファンギンと H₂¹⁸O、GSH 及びメトキシルアミンとの反応により、それぞれ [¹⁸O]L-000747969並びに GSH 及びメトキシルアミン付加物が生成することが反応産物の MS/MS 及び NMR スペクトルによって確認された（評価[資料4.2.2.4.11: G20]） [2.6.5.15 項]。これらの結果から、カスポファンギンから L-000747969 への非酵素的分解には、2種類の反応性中間体の生成が関与し、この中間体がイミン又は求核性付加メカニズムを介して血漿蛋白に不可逆的に結合するという仮説が支持された。

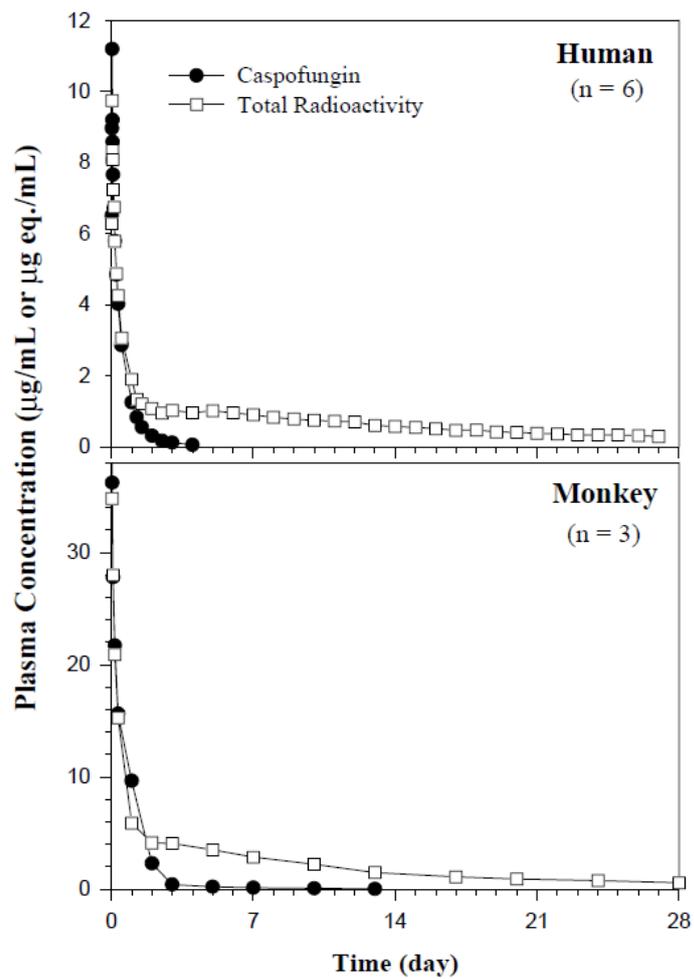


図 2.6.4: 10 ヒト (70 mg) 及びサル (5 mg/kg) に³H]カスポファンギンを静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.4 薬物動態試験の概要文

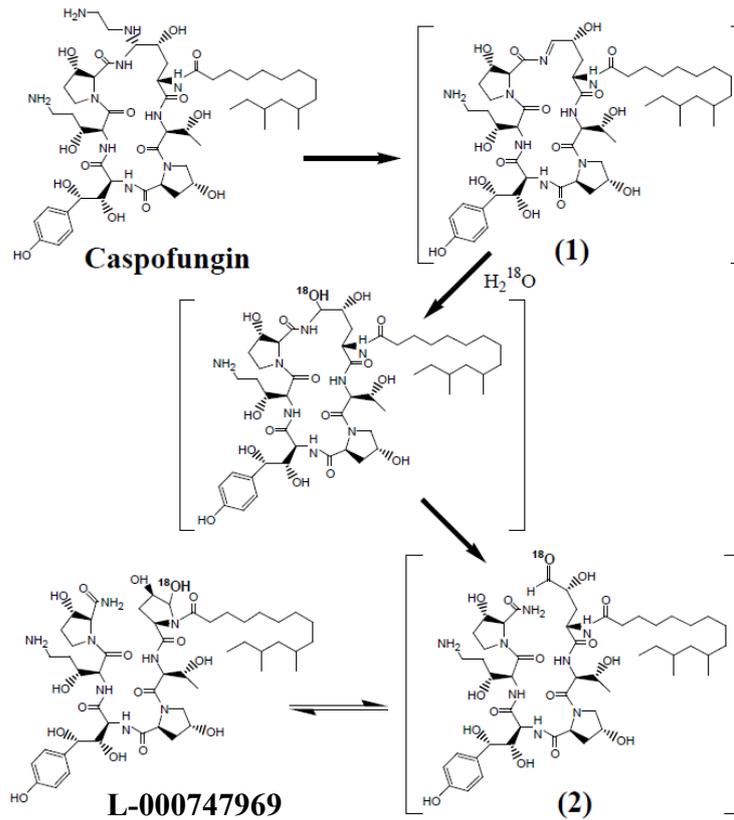


図 2.6.4: 11 カスポファンギンから L-000747969 への推定分解経路

分解過程で2種類の反応性中間体（1及び2）が生成すると推定される。

2.6.4.6 排泄

ラットに³H]カスポファンギン (2 mg/kg) を静脈内投与したとき、12日間の試料採取期間中、投与量の約42%が尿中に、約29%が糞中に排泄された[表2.6.4: 7]。最初の8時間尿に排泄された放射能の大部分は未変化体であった。その後、尿中に排泄された放射能の大部分は極性代謝物であった。胆管にカニューレを挿入したラットでは、24時間以内に投与量の約3%が胆汁中に主に未変化体として排泄された (評価[資料4.2.2.2.1: G1]、評価[資料4.2.2.4.3: G15]) [2.6.5.16 項]。

ラット同様、サルに³H]カスポファンギン (5 mg/kg) を静脈内投与したとき、28日間の試料採取期間中、尿 (45.4%) 及び糞 (36.2%) 中にほぼ等量が排泄された[表2.6.4: 7] [資料4.2.2.4.6: G13]。この場合も、未変化体は最初の尿試料のみに検出され (投与量の1%未満)、その後の尿試料中の主な構成成分は極性代謝物 (M1、M2及び M4) であった (評価[資料4.2.2.4.6: G13]、評価[資料4.2.2.4.3: G15]) [2.6.5.16 項]。

ウサギに³H]カスポファンギン (5 mg/kg) を静脈内投与したときも、28日間の試料採取期間中で尿 (32%) 及び糞 (51%) 中にほぼ等量が排泄された[表2.6.4: 7]。ウサギでは未同定の代謝物 M5 (ラット及びサルではマイナー代謝物) と M6 (ラット、サル、ヒトで生成されないが、マウスでは生成した) がみられ、それぞれ尿中放射能の15%及び11%を占めていた (評価[資料4.2.2.4.5: G26]) [2.6.5.16 項]。

表 2.6.4: 7 ヒト、サル、ウサギ及びラットにカスポファンギンを単回静脈内投与したときの未変化体及び代謝物の累積排泄率

動物種	投与量	試料採取期間 (日)	糞		尿				
			対投与量 %	対投与量 %	対尿中放射能 %				
					M1	M2	M4	L-000747969	カスポファンギン
ヒト [†]	70 mg	27	35	41	13	71	2	<1	9
サル [‡]	5 mg/kg	28	36	45	40	42	10	<1	<1
ラット [§]	2 mg/kg	12	29	42 [#]	6	75	4	<1	3
ウサギ [¶]	5mg/kg	28	51	36 [#]	37	4	ND	<1	16

[†] 16日間にわたり尿中代謝物を定量した (投与量の約33%)。
[‡] 7日間にわたり尿中代謝物を定量した。
[§] 5-mg/kg 試験において6日間にわたり尿中代謝物を定量した。
^{||} 胆管にカニューレを挿入したラットを用いた別の試験で3日間にわたり採取した胆汁中にカスポファンギンと L-000747969 が70 : 30の比で検出された。
[¶] 24時間採取した尿試料を用いて代謝物を定量した。
[#] ケージ洗浄による回収分 (ラット4.1%、ウサギ4.1%) を含む。
 ND : 未検出

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 ラットにおける薬物間相互作用

In vitro 代謝データから、カスポファンギンが CYP 酵素の阻害剤ではないことが示唆されている[2.6.4.5.4 項]。カスポファンギンにより CYP を介する薬物間相互作用が起こる可能性についてはラットを用いた *in vivo* 試験でも検討した。

ラットにカスポファンギンとインジナビル (CYP3A1/2によって広範に代謝される薬剤) 又はケトコナゾール (強力な CYP 阻害剤) を同時に投与した。ラットにカスポファンギン (2 mg/kg 静脈内) を同時投与してもインジナビル (20 mg/kg 経口) の薬物動態に影響はなく、カスポファンギンが CYP の阻害剤でないことを示した *in vitro* 試験結果と一致した。同様に、対照群のラット及びインジナビル投与群のラットにおける血漿中カスポファンギン濃度は類似しており、薬物間相互作用はみられなかった[図2.6.4: 12]。さらに、ケトコナゾール (25 mg/kg 経口) を併用投与しても、カスポファンギンの薬物動態に影響はなかった[図2.6.4: 12]。カスポファンギンのクリアランスにケトコナゾールが影響しなかったことから、カスポファンギンが CYP3A の基質ではないことが示唆された (評価[資料4.2.2.6.2: G21]) [2.6.5.17.2 項]。

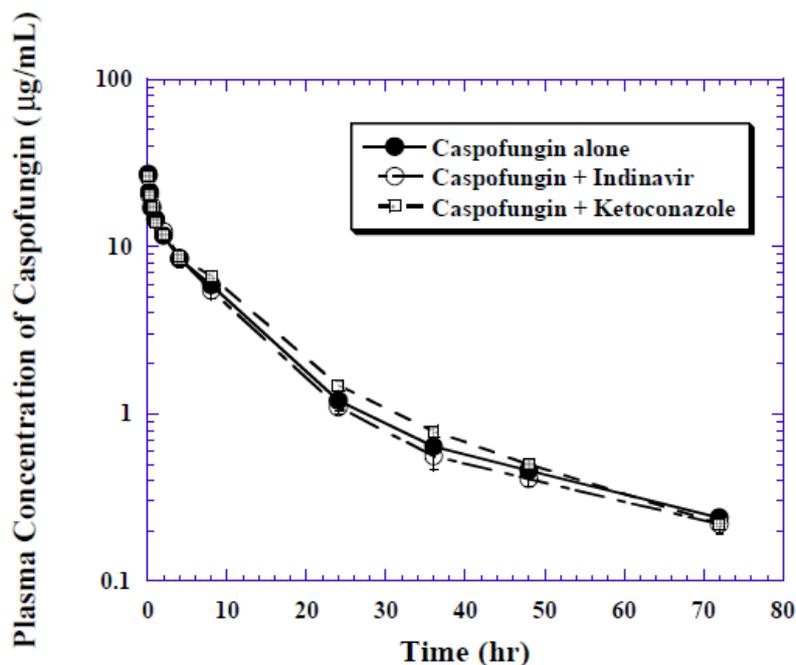


図 2.6.4: 12 ラットにカスポファンギン (2 mg/kg 静脈内) を単独投与、若しくはインジナビル又はケトコナゾールと併用投与したときの血漿中カスポファンギン濃度 (平均値±SD、n=3~4)

臨床では、カスポファンギンと併用してアムホテリシン B (AmB) 及びシクロスポリンが投与される可能性がある。そこで、カスポファンギンとこれらの薬剤間で薬物間相互作用の可能性を評価するため、ラットを用いて追加試験2試験を実施した。

カスポファンギンと AmB の14日間相互作用試験において、ラットにカスポファンギン(2 mg/kg/日)又は AmB (0.5 mg/kg/日)を単独投与、又はこれら2剤を併用投与した。14日目の最終投与後にカスポファンギン及び AmB の血漿中濃度を測定した。AmB を併用投与しても定常状態におけるカスポファンギンの薬物動態に影響はなかった。対照群及び AmB 併用群のラットにおけるカスポファンギンの AUC_{0-24 hr} はそれぞれ63.9±12.1及び55.4±6.4 µg•hr/mL であった。逆に、カスポファンギンを併用投与しても定常状態における AmB の薬物動態に影響はなく、対照群及びカスポファンギン併用群のラットにおける AmB の AUC_{0-24 hr} はそれぞれ2.55±0.69 及び2.27±0.43 µg•hr/mL であった(評価[資料4.2.2.6.3: G22]) [2.6.5.17.3 項]。

ラットに単回及び反復投与したときのカスポファンギンとシクロスポリンの間の薬物動態学的相互作用の可能性について検討した。反復投与試験において、2群のラットにカスポファンギン(2 mg/kg/日静脈内)を単独投与又はシクロスポリン(10 mg/kg/日経口)と併用投与した。14日目にカスポファンギンの薬物動態を評価した。シクロスポリンを併用投与すると、対照群と比較して、カスポファンギンのトラフ血漿濃度及び AUC_{0-24 hr} がそれぞれ27%及び16%上昇したことから、カスポファンギンの薬物動態に対してわずかではあるが、有意な影響が生じると考えられた。併用投与群における血漿中カスポファンギン濃度の上昇に伴って、肝臓中カスポファンギン濃度が中等度(約11%)に低下した。さらに、³H]カスポファンギンの胆汁排泄に対するシクロスポリンの影響について評価するため、胆管にカニューレを挿入したラットにカスポファンギンを2 mg/kgで静脈内単独投与又はシクロスポリン(50 mg/kg経口)と併用投与したときの³H]カスポファンギンの薬物動態を評価した。シクロスポリンを併用投与すると、肝臓中放射能濃度が有意に低下し、放射能の胆汁排泄もわずかに減少した[表2.6.4: 8]。対照的に、シクロスポリンは尿中放射能排泄にはほとんど影響しなかった。これらの結果を総合すると、シクロスポリンを併用したときにみられたカスポファンギンの薬物動態に対する影響は、シクロスポリンによるカスポファンギンの肝取り込みの低下によるものであることが示唆された(評価[資料4.2.2.6.4: G23]) [2.6.5.17.4 項] [2.6.5.17.5 項]。

さらに、シクロスポリンによるカスポファンギンの肝取り込みの低下が結合置換によるものかどうか評価するため、肝臓組織に対する³H]カスポファンギンの結合に対するシクロスポリンの影響を *in vitro* で評価した。肝臓組織20%を含むホモジネート中の³H]カスポファンギン(20 µg/mL)の非結合型分率は1.5%であり、シクロスポリン(50 µg/mL)を添加しても影響はなかった(評価[資料4.2.2.6.4: G23]) [2.6.5.17.6 項]。したがって、シクロスポリンによるカスポファンギンの肝取り込み低下は、肝臓蛋白に対するカスポファンギン結合の単純な置換によるものではないと考えられた。

表 2.6.4: 8 ラットに $[^3\text{H}]$ カスポファンギン 2 mg/kg を単回静脈内投与したときの薬物動態
 に対するシクロスポリンの影響 (平均値 \pm SD、n=3~5)

カスポファンギン 単独投与			
AUC _{0-24 hr} ($\mu\text{g eq}\cdot\text{hr}/\text{mL}$) [†]	胆汁 (対投与量%) [‡]	肝臓 (対投与量%) [§]	尿 (対投与量%) [‡]
85.5 \pm 9.15	5.14 \pm 2.35	35.4 \pm 2.90	8.80 \pm 1.70
カスポファンギン + シクロスポリン併用投与			
AUC _{0-24 hr} ($\mu\text{g eq}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	胆汁 (対投与量%)	肝臓 (対投与量%)	尿 (対投与量%)
93.4 \pm 14.6	4.03 \pm 0.82	25.4 \pm 1.55	8.53 \pm 1.68

[†] 放射能濃度に基づいて算出した AUC。

[‡] 24時間で排泄された放射能割合%。

[§] 24時後の肝臓で回収された放射能割合%。

^{||} 対照群との間に統計学的有意差あり (p<0.01)。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 急性腎不全ラットにおける薬物動態

急性腎不全モデルラットを用いて、 $[^3\text{H}]$ カスポファンギンの *in vivo* 薬物動態に対する腎疾患の影響について検討した。ラットに硝酸ウラニルを2及び5 mg/kg で静脈内投与することにより中等度及び高度急性腎不全を誘発した。硝酸ウラニル処理ラットに $[^3\text{H}]$ カスポファンギン (2 mg/kg) を静脈内投与しても、血漿中カスポファンギン濃度に対照群のラットとの間に有意差は認められなかった。カスポファンギンの AUC は、腎機能正常ラット、中等度腎機能不全ラット及び高度腎機能不全ラットでそれぞれ69.8 \pm 9.5、76.2 \pm 3.9及び61.5 \pm 5.2 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ であったことから、急性腎不全ラットにおけるカスポファンギンの薬物動態に影響はないことが示された (評価[資料 4.2.2.7.1: G24]) [2.6.5.18.1 項]。

2.6.4.9 考察及び結論

ラットにカスポファンギンを経口投与した際の吸収性は極めて低く、生物学的利用率は0.2%未満であった。本剤は静注剤であるため、消化管からの吸収は重要ではなく、主として、静脈内投与による検討を実施した。

ラットに $[^3\text{H}]$ カスポファンギンを静脈内投与したとき、放射能は全身に広く分布し、特に肝臓内に高濃度の放射能が検出された。カスポファンギンの血漿蛋白結合率は高く（非結合型分率：ラット4.1%、サル1.3%、ヒト3.5%）、血球移行性は低いことが示された。

カスポファンギンを静脈内投与した実験動物及びヒトにおいて、カスポファンギンの血漿クリアランスは0.15~0.5 mL/min/kg と低く、その消失が非常に緩徐であることが示された。カスポファンギンを静脈内投与して、約24時間後に採取したラット、サル及びヒト血漿中には主としてカスポファンギンが認められ、血漿中の主要代謝物である L-000747969の生成量はわずかであることが確認された。それ以降（3日目以降）の血漿試料中では、すべての動物種で、未変化体の割合が相対的に低下し、L-000747969の割合が上昇した。

さらに、ラット、ウサギ、サル及びヒトに $[^3\text{H}]$ カスポファンギンを静脈内投与したとき、放射能は尿及び糞中にほぼ均等に排泄された。試験に用いたいずれの動物種においても、未変化体として尿中に排泄されるのは投与量の6%未満であった。代謝プロファイルはラット、サル及びヒトで概して質的に類似していた。

これらのことから、いずれの動物種も、カスポファンギンの消失における腎クリアランスの寄与は低く、肝代謝が主要な消失過程となっていると考えられる。また、血漿及び肝臓組織間で本薬は投与後速やかに平衡状態に達していないことが示唆され、カスポファンギンの薬物動態を考える上で、肝への取り込み過程も重要となると考えられた。

代謝過程に関しては、カスポファンギンは非酵素的に開環ペプチド体である L-000747969に変換され、主としてペプチド加水分解及びN-アセチル化により代謝されると考えられるが、一連の *in vitro* 代謝試験の結果からは、各種加水分解酵素によりカスポファンギンから代謝物（M1及びM2）の生成は認められなかった。また、カスポファンギンは CYP の基質、誘導剤とはならず、強力な阻害剤でもないことが示された。これらのことから、少なくとも、カスポファンギンとの併用で CYP の変動に起因する相互作用が起きる可能性は低いと考えられる。なお、L-000747969 への変換過程において、生成する中間体が血漿蛋白と不可逆的に結合することが示されているが、この不可逆的結合は経時的に減少することが確認されており、さらにその結合レベルはサル5 mg/kg 投与時の方がヒト70 mg 投与時に比べ約3~5倍高かった。サルに6 mg/kg/日を6ヵ月間反復静脈内投与した際、軽度のトランスアミナーゼの上昇がみられたのみで、肝臓に病理組織学的な変化はみられなかった[2.6.6.9.1 項]。

また、カスポファンギンの輸送に関する一連の検討の結果、本薬は P-gp の基質ではなく、強力な阻害剤でもないことが示された。また、取り込みトランスポーターである OATP1B1の低親和性基質であるため、その肝取り込みがゆるやかであることが示唆された。その他、臨床濃度（10 μM ）のカスポファンギンは OATP1B1を含め NTCP、OCT1及び OAT1を阻害しないことが示された。

カスポファンギンの薬物相互作用の検討のため、ラットでインジナビル、ケトコナゾール又は

AmB との併用試験を実施したところ、薬物間相互作用は認められなかったが、シクロスポリンとの併用試験では、シクロスポリンとの併用によりカスポファンギンのトラフ濃度及び AUC_{0-24 hr} がわずかに上昇した。シクロスポリンは OATP1B1 の阻害剤として知られており、この *in vivo* 試験での結果は *in vitro* 試験でカスポファンギンが OATP1B1 の基質と示唆されていることと一致していた。また、シクロスポリン併用時の肝臓中のカスポファンギン濃度は低下しており、シクロスポリンによってカスポファンギンの肝臓取り込みが阻害され、カスポファンギンの血漿中濃度が上昇したものと考えられた。

その他、ラットにおいて急性腎不全によるカスポファンギンの薬物動態への影響について検討したが、腎機能正常群と比べ変動はみられず、腎機能状態はカスポファンギンの薬物動態に有意に影響しないと考えられた。

以上、毒性試験に主として用いたラット及びサル薬物動態特性は概してヒトと類似していた。

2.6.4.10 図表

図は、本文中の該当箇所に記載した。表は、本文中の該当箇所又は薬物動態試験の概要表[2.6.5 項]に記載し、概要表を参照する場合は、参照箇所を本文中に示した。

2.6.4.11 参考文献

添付資料番号	タイトル	著者	掲載紙
[資料4.3: 30]	Determination of an echinocandin, MK-0991, in mammalian plasma by radioimmunoassay.	Yuan AS, Cyle D, Hsieh JY, Matuszewski BK.	J Pharm Biomed Anal. 2001 Jul;25:811-20.

目次

	頁
略号及び用語の定義.....	3
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表.....	4
2.6.5.2 単回投与後の吸収.....	8
2.6.5.2.1 静脈内投与（ラット・サル）.....	8
2.6.5.2.2 静脈内投与（サル）.....	9
2.6.5.2.3 静脈内投与（動物種間比較）.....	10
2.6.5.2.4 経口投与（ラット）.....	11
2.6.5.2.5 腸管からの吸収.....	12
2.6.5.2.6 油水分配係数.....	12
2.6.5.3 反復投与後の吸収.....	13
2.6.5.3.1 静脈内投与（ラット）.....	13
2.6.5.3.2 静脈内投与（サル）.....	14
2.6.5.4 組織内分布.....	15
2.6.5.4.1 組織内濃度.....	15
2.6.5.4.2 組織内分布量.....	16
2.6.5.4.3 肝臓中濃度（ラット）.....	17
2.6.5.4.4 肝臓中濃度（ラット・サル）.....	18
2.6.5.4.5 肝臓中濃度（サル）.....	19
2.6.5.5 蛋白結合.....	20
2.6.5.5.1 蛋白結合（種間比較）.....	20
2.6.5.5.2 蛋白結合（腎機能障害による影響）.....	21
2.6.5.5.3 蛋白結合（代謝物）.....	21
2.6.5.6 血球移行.....	22
2.6.5.7 胎盤移行.....	23
2.6.5.8 乳汁移行.....	24
2.6.5.9 その他の分布試験.....	25
2.6.5.9.1 肝取り込み.....	25
2.6.5.9.2 P-糖蛋白に対する基質性 (<i>In Vivo</i>).....	26
2.6.5.9.3 P-糖蛋白に対する基質性 (<i>In Vitro</i>).....	27
2.6.5.9.4 P-糖蛋白阻害.....	27
2.6.5.9.5 肝トランスポーターの関与.....	28
2.6.5.10 <i>In Vitro</i> における代謝.....	29
2.6.5.11 <i>In Vivo</i> における代謝及び推定代謝経路.....	30
2.6.5.12 薬物代謝酵素の阻害.....	31
2.6.5.12.1 CYP 阻害（未変化体）.....	31

2.6.5.12.2 CYP 阻害 (代謝物)	31
2.6.5.13 薬物代謝酵素の誘導.....	32
2.6.5.13.1 薬物代謝酵素の誘導 (<i>In Vivo</i>)	32
2.6.5.13.2 薬物代謝酵素の誘導 (<i>In Vitro</i>)	33
2.6.5.14 不可逆的結合.....	34
2.6.5.14.1 不可逆的結合 (<i>In Vivo</i>)	34
2.6.5.14.2 不可逆的結合 (<i>In Vitro</i>)	36
2.6.5.14.3 不可逆的結合 (求核性捕捉剤の影響)	37
2.6.5.14.4 不可逆的結合 (β -エンドルフィンの影響)	38
2.6.5.14.5 不可逆的結合 (代謝物)	39
2.6.5.15 反応性中間生成物.....	40
2.6.5.16 マスバランス.....	41
2.6.5.17 薬物相互作用.....	42
2.6.5.17.1 ワルファリンとの薬物相互作用.....	42
2.6.5.17.2 インジナビル及びケトコナゾールとの薬物相互作用.....	43
2.6.5.17.3 アムホテリシン B との薬物相互作用.....	44
2.6.5.17.4 シクロスポリンとの薬物相互作用 (単回投与)	45
2.6.5.17.5 シクロスポリンとの薬物相互作用 (反復投与)	46
2.6.5.17.6 シクロスポリンとの薬物相互作用 (肝蛋白結合率への影響)	47
2.6.5.18 その他の薬物動態試験.....	48
2.6.5.18.1 急性腎障害モデルラットでの体内動態.....	48

略号及び用語の定義

略号	定義	
カスポファンギン	Caspofungin	開発番号：MK-0991、L-743872又はL-000743872
AmB	Amphotericin B	アンホテリシン B
ARF	Acute renal failure	急性腎不全
AUC	Area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
BLQ	Below the limit of quantitation	定量下限未満
BUN	Blood urea nitrogen	血液尿素窒素
C _{24hr}	Concentration at 24 hr postdose	投与後24時間の血漿中濃度
Caco-2	Human colon adenocarcinoma cell line	ヒト大腸癌細胞株
CL _p	Plasma clearance	血漿クリアランス
Conc.	Concentration	濃度
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
EFCOD	7-ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin O-deethylase	7-エトキシ-4-トリフルオロメチルクマリン O-脱エチル化酵素
Effective t _{1/2}	Effective elimination Half-life	有効消失半減期
ESI	Electrospray ionization	エレクトロスプレーイオン化法
FACO	Fatty acid acyl-CoA oxidase	脂肪酸アシル CoA オキシダーゼ
GSH	Glutathione	グルタチオン
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
I.V.	Intravenous Administration	静脈内投与
MS	Mass spectrometry	質量分析
MDR/mdr	Multiple drug resistance transporter	多剤耐性トランスポーター
LSS	Liquid scintillation spectrometer	液体シンチレーションスペクトロメーター
MFC	Minimum fungicidal concentration	最小殺真菌濃度
MRL	Merck Research Laboratory	－
NTCP	Na ⁺ -taurocholate cotransporting polypeptide	Na ⁺ -依存性胆汁酸共輸送ポリペプチド
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PAH	Para-aminohippurate	パラアミノ馬尿酸
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
RIA	Radioimmunoassay	ラジオイムノアッセイ
S.D.	Standard deviation	標準偏差
Terminal t _{1/2}	Terminal elimination half-life	終末相消失半減期
TEA	Tetraethylammonium	テトラエチルアンモニウム
TOFMS	Time-of-flight mass spectrometry	飛行時間型質量分析
V _c	Central compartment volume of distribution	中央コンパートメント分布容積
V _{dss}	Steady-state volume of distribution	定常状態分布容積

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（1/4）

Type of Study	Test System /Species	Method of Administration	Test [†] Facility	Study No.	Location in CTD
吸収					
単回投与	Rat	I.V.: 0.5, 2, 5 mg/kg	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
	Monkey	I.V.: 2, 5 mg/kg			
	Monkey	I.V.: 0.5 mg/kg	MRL	G-3	評価 [資料4.2.2.2.3: G3]
	Mouse	I.V.: 1 mg/kg	MRL	G-4	評価 [資料4.2.2.2.4: G4]
	Rat Monkey Chimpanzee	I.V.: 1 mg/kg I.V.: 2 mg/kg I.V.: 0.5 mg/kg			
	Rat	P.O.: 50 mg/kg	MRL	G-2	評価 [資料4.2.2.2.2: G2]
反復投与	Rat	I.V.: 2 mg/kg/day for 21 days	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
	Monkey	I.V.: 5 mg/kg/day for 14 days			
腸管からの吸収	Rat intestinal loop	<i>In Situ</i> : 1 mg/mL at a Rate of 0.2-0.3 mL/min	MRL	G-2	評価 [資料4.2.2.2.2: G2]
油水分配係数	Octanol/Buffer Partition	1, 10, 50 µg/mL	MRL	G-2	評価 [資料4.2.2.2.2: G2]
分布					
組織内分布	Rat	I.V.: 2 mg/kg	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
肝臓中濃度	Rat	I.V.: 0.5, 2, 5 mg/kg/day for 5 weeks	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
	Monkey	I.V.: 2, 5, 8 mg/kg/day for 5 weeks			
	Monkey	I.V.: 0.5, 2, 5 mg/kg/day for 14 weeks	Chibret	TT #■■-613-0	評価 [資料4.2.3.2.7: TT■■6130]
蛋白結合	Rat and Monkey Plasma	<i>In Vitro</i> : 0.1, 1, 10, 100 µg/mL	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
	Human Plasma	<i>In Vitro</i> : 0.1, 1, 10, 100 µg/mL	MRL	G-6	評価 [資料4.2.2.3.1: G6]
	Control and Renal-Impaired Subjects Plasma	<i>In Vitro</i> : 10 µg/mL	MRL	G-7	評価 [資料4.2.2.3.2: G7]
	Monkey and Human Plasma	<i>In Vitro</i> : L-000747969, 5 µg/mL	MRL	G-8	評価 [資料4.2.2.3.3: G8]
† MRL: Merck Research Laboratory, Chibret: Laboratoires Merck Sharp & Dohme-Chibret, France					

2.6.5 薬物動態試験概要表

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（2/4）

Type of Study	Test System /Species	Method of Administration	Test [†] Facility	Study No.	Location in CTD
分布（続き）					
血球移行	Rat, Monkey	<i>In Vitro</i> : 0.1, 1.0, 10, 100 µg/mL	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
	Human	<i>In Vitro</i> : 0.1, 1.0, 10, 100 µg/mL	MRL	G-6	評価 [資料4.2.2.3.1: G6]
胎盤移行性	Rat	I.V.: 5 mg/kg/day	MRL	TT #■■-718-0	評価 [資料4.2.3.5.3.2: TT■■7180]
	Rabbit	I.V.: 5 mg/kg/day	MRL	TT #■■-719-0	評価 [資料4.2.3.5.2.6: TT■■7190]
乳汁移行	Rat	I.V.: 5 mg/kg/day	MRL	TT #■■-718-0	評価 [資料4.2.3.5.3.2: TT■■7180]
肝取り込み	Rat	<i>In Vivo</i> : 2 mg/kg <i>In Vitro</i> : 10µg/mL	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
P-糖蛋白に対する基質性	P-gp-Deficient and Wild-Type Mice P-gp Over-Expressing Cell Lines: L-mdr 1a, L-MDR1, KB-V1 and Caco-2	<i>In Vivo</i> : 5 mg/kg <i>In Vitro</i> : 10µM	MRL	G-10	評価 [資料4.2.2.3.4: G10]
P-糖蛋白阻害	KB-V1 Cell Line	<i>In Vitro</i> : 10, 100 µM	MRL	G-10	評価 [資料4.2.2.3.4: G10]
各種トランスポーター（OATP、NTCP、OCT及びOAT）に対する基質性/阻害能	Recombinant Vaccinia Virus Transfected Cells HeLa Cells Expressing OATP1B1 or 1B3	<i>In Vitro</i> : 0.5, 5 µM <i>In Vitro</i> : 10, 100 µM	MRL	G-27	評価 [資料4.2.2.3.5: G27]
代謝					
<i>In Vitro</i> 代謝	Biological Matrix or Enzymes	<i>In Vitro</i> : <0.2 µg~1 mM	MRL	G-16	評価 [資料4.2.2.4.1: G16]
<i>In Vivo</i> 代謝	Mouse	I.V.: 5 mg/kg	MRL	G-25	評価 [資料4.2.2.4.2: G25]
† MRL: Merck Research Laboratory					

2.6.5 薬物動態試験概要表

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（3/4）

Type of Study	Test System /Species	Method of Administration	Test [†] Facility	Study No.	Location in CTD
代謝（続き）					
In Vivo 代謝	Rat	I.V.: 2, 5 mg/kg 8-hr Infusion: 30 or 45 mg/kg	MRL	G-1/ G-15	評価 [資料4.2.2.2.1: G1] 評価 [資料4.2.2.4.3: G15]
	Rabbit	I.V.: 5 mg/kg	MRL	G-26	評価 [資料4.2.2.4.5: G26]
	Monkey	I.V.: 2, 5 mg/kg	MRL / [REDACTED]	G-1/ G-13/ G-15	評価 [資料4.2.2.2.1: G1] 評価 [資料4.2.2.4.6: G13] 評価 [資料4.2.2.4.3: G15]
	Human	I.V.: 70 mg/man	MRL	G-15	評価 [資料4.2.2.4.3: G15]
薬物代謝酵素の阻害	Rat Liver Microsomes	In Vitro: 10~1000 µM	MRL	G-18	評価 [資料4.2.2.4.7: G18]
	Human Liver Microsomes	In Vitro: 10~1000 µM	MRL	G-17	評価 [資料4.2.2.4.8: G17]
	Human Liver Microsomes	In Vitro: L-000747969 (5~500 µM)	MRL	G-19	評価 [資料4.2.2.4.9: G19]
薬物代謝酵素の誘導	Mouse	I.V.: 5 mg/kg/day for 4 days	MRL	TT# [REDACTED]-280-0,-1	評価 [資料4.2.2.4.4: TT [REDACTED] 2800/TT [REDACTED] 2801]
	Rat Hepatocyte	In Vitro: 10~500 µM			
不可逆的結合	Mouse	I.V.: 5 mg/kg	MRL	G-25	評価 [資料4.2.2.4.2: G25]
	Rat	I.V.: 2 mg/kg	MRL	G-30	評価 [資料4.2.2.4.10: G30]
	Rabbit	I.V.: 5 mg/kg	MRL	G-26	評価 [資料4.2.2.4.5: G26]
	Monkey Human Monkey and Human Plasma	I.V.: 5 mg/kg I.V.: 70 mg/man In Vitro: 5 µg/mL	MRL	G-20	評価 [資料4.2.2.4.11: G20]
	Human	I.V.: 70 mg/man	MRL	G-29	評価 [資料4.2.2.4.12: G29]
	Human Serum Albumin	In Vitro: 5 µg/mL	MRL	G-20	評価 [資料4.2.2.4.11: G20]
† MRL: Merck Research Laboratory					

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（4/4）

Type of Study	Test System /Species	Method of Administration	Test [†] Facility	Study No.	Location in CTD
代謝（続き）					
不可逆的結合	Human β-endorphin	<i>In Vitro</i> : Caspofungin 400 μM L-000747969 400 μM	MRL	G-20	評価 [資料4.2.2.4.11: G20]
	Monkey and Human Plasma	<i>In Vitro</i> : L-000747969 (5 μg/mL)	MRL	G-20	評価 [資料4.2.2.4.11: G20]
反応性中間生成物	NA	<i>In Vitro</i> : H ₂ O ¹⁸ and chemical trapping agents	MRL	G-20	評価 [資料4.2.2.4.11: G20]
排泄					
マスバランス	Rat	I.V.: 2 mg/kg	MRL	G-1	評価 [資料4.2.2.2.1: G1]
	Rabbit	I.V.: 5 mg/kg	MRL	G-26	評価 [資料4.2.2.4.5: G26]
	Monkey	I.V.: 2, 5 mg/kg	MRL / [REDACTED]	G-1/ G-13	評価 [資料4.2.2.2.1: G1] 評価 [資料4.2.2.4.6: G13]
	Human	I.V.: 70 mg/man	MRL	G-14/ G-15	評価 [資料4.2.2.5.1: G14] 評価 [資料4.2.2.4.3: G15]
薬物相互作用					
Warfarin の蛋白結合への影響	Human Plasma	<i>In Vitro</i> : 1, 10, 25 μM	MRL	G-28	評価 [資料4.2.2.6.1: G28]
Indinavir 及び Ketoconazole の影響	Rat	I.V.: 2 mg/kg	MRL	G-21	評価 [資料4.2.2.6.2: G21]
Amphotericin B の影響	Rat	I.V.: 2 mg/kg/day for 14 days	MRL	G-22	評価 [資料4.2.2.6.3: G22]
Cyclosporin の影響 (単回投与)	Rat	I.V.: 2 mg/kg	MRL	G-23	評価 [資料4.2.2.6.4: G23]
Cyclosporin の影響 (反復投与)	Rat	I.V.: 2 mg/kg/day for 14 days	MRL	G-23	評価 [資料4.2.2.6.4: G23]
Cyclosporin の影響 (肝結合)	Rat Liver Homogenate	<i>In Vitro</i> : 20, 200 μg/mL	MRL	G-23	評価 [資料4.2.2.6.4: G23]
その他					
腎障害の影響	Rats with Acute Renal Failure	I.V.: 2 mg/kg	MRL	G-24	評価 [資料4.2.2.7.1: G24]
† MRL: Merck Research Laboratory, NA: Not Applicable					

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.2 単回投与後の吸収

2.6.5.2.1 静脈内投与（ラット・サル）

Location in CTD: [資料4.2.2.2.1: G1]

Species	Rat			Rhesus Monkey	
Gender/Number of Animals	Male/5-6 per Groups			Male/3 per Groups	
Vehicle/Formulation	Solution in Saline			Solution in Saline	
Method of Administration	Intravenous Administration			Intravenous Administration	
Dose (mg/kg)	0.5	2	5	2	5
Sample	Plasma			Plasma	
Analyte	Caspofungin			Caspofungin	
Assay	RIA			RIA	
PK Parameters (Mean ± S.D.)					
CL _p (mL/min/kg)	0.502 ± 0.062	0.418 ± 0.039	0.503 ± 0.076	0.265 ± 0.046	0.246 ± 0.037
Terminal t _{1/2} (hr)	35.8 ± 26.0	88.7 ± 27.9	77.3 ± 26.1	46.8 ± 22.3	55.3 ± 11.4
Apparent effective t _{1/2} (hr) [†]	6.13 ± 0.94	6.28 ± 0.47	8.45 ± 1.01	6.31 ± 0.50	7.93 ± 1.57
V _{dss} (L/kg)	0.676 ± 0.360	0.598 ± 0.088	0.660 ± 0.197	0.333 ± 0.056	0.355 ± 0.030
AUC _{0-∞} (µg·hr/mL)	16.8 ± 2.0	80.2 ± 7.5	169 ± 25	128 ± 22	344 ± 53
C _{24 hr} (µg/mL)	0.14 ± 0.10	0.54 ± 0.13	1.91 ± 0.45	0.96 ± 0.19	3.87 ± 2.16
Results: Following I.V. administration, caspofungin was eliminated very slowly in rats with an average plasma clearance of 0.474 mL/min/kg. AUC increased approximately proportional to dose over the dose range of 0.5 to 5 mg/kg, and the plasma clearance appeared to be independent of dose. The terminal half-life (t _{1/2}) ranged from 35.8 to 88.7 hours. However, the plasma concentrations in the terminal phase were far below the minimum fungicidal concentration (MFC). A pharmacologically relevant t _{1/2} (apparent effective t _{1/2}) was calculated using the plasma data above the MFC ₉₀ (0.5 µg/mL). The values of apparent effective t _{1/2} for 0.5, 2 and 5 mg/kg were 6.1, 6.3 and 8.5 hours, respectively. Following I.V. administration, caspofungin was eliminated very slowly in monkeys with an average plasma clearance of 0.256 mL/min/kg. AUC increased approximately proportional to dose and the plasma clearance appeared to be independent of dose. The terminal half-life (t _{1/2}) ranged from 46.8 to 55.3 hours. As in the case for rats, a pharmacologically relevant t _{1/2} (apparent effective t _{1/2}) was calculated for monkeys using the plasma data above the MFC ₉₀ (0.5 g/mL). The values of apparent effective t _{1/2} for 2 and 5 mg/kg were 6.31 and 7.93 hours, respectively. [†] Apparent effective t _{1/2} was calculated based on concentrations above MFC ₉₀ (0.5 µg/mL) using the method of residuals.					

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.2.2 静脈内投与（サル）

Location in CTD: [\[資料4.2.2.2.3: G3\]](#)

Species	Rhesus Monkey
Gender/Number of Animals	Male/3
Vehicle/Formulation	Solution in Saline
Method of Administration	Intravenous Administration
Dose (mg/kg)	0.5
Sample	Plasma
Analyte	Caspofungin
Assay	RIA
PK Parameters (Mean ± S.D.)	
CL _p (mL/min/kg)	0.239 ± 0.017
Terminal t _{1/2} (hr)	25.4 ± 20.8
Apparent effective t _{1/2} (hr)	4.28 ± 0.97
V _{dss} (L/kg)	0.248 ± 0.073
AUC _{0-∞} (µg·hr/mL)	35.0 ± 2.6
C _{24hr} (µg/mL)	0.30 ± 0.05
Results: Following I.V. administration, caspofungin was eliminated very slowly in monkeys with a mean plasma clearance (CL _p) of 0.239 mL/min/kg. Plasma concentrations of caspofungin declined polyphasically and the terminal half-life (t _{1/2}) was about 25 hours. The apparent effective t _{1/2} , calculated using the plasma data above the MFC ₉₀ (0.5 µg/mL), was 4.28 hours.	

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.2.3 静脈内投与（動物種間比較）

Location in CTD: [資料4.2.2.2.4: G4]

Species	Mouse	Rat	Rhesus Monkey	Chimpanzee
Gender/Number of Animals	Female/3 per Time Point	Female/4	Male/3	Male/1
Vehicle/Formulation	Solution in Saline	Solution in Saline	Solution in Saline	5% mannitol in Saline
Method of Administration	Intravenous Administration	Intravenous Administration	Intravenous Administration	Intravenous Administration
Dose (mg/kg)	1	1	2	0.5
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Caspofungin	Caspofungin	Caspofungin	Caspofungin
Assay	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC
PK parameters (Mean ± S.D.)				
CL _p (mL/min/kg)	0.44 ± 0.02	0.51 ± 0.05	0.39 ± 0.06	0.26
Terminal t _{1/2} (hr)	7.6 ± 1.0	6.5 ± 0.6	5.6 ± 0.5	5.2
V _c (L/kg)	0.136 ± 0.018	0.205 ± 0.044	0.088 ± 0.017	0.057
V _{dss} (L/kg)	0.253 ± 0.022	0.272 ± 0.037	0.158 ± 0.027	0.111
Results: The pharmacokinetics of caspofungin in 4 animal species showed a remarkable consistency in the behavior of the compound across the species. This provides some measure of assurance that caspofungin's efficacy in animal models will accurately extrapolate to man.				

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.2.4 経口投与（ラット）

Location in CTD: [\[資料4.2.2.2.2: G2\]](#)

Species	Rat
Gender/Number of Animals	Male/6
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	Solution in Saline
Method of Administration	Oral Administration
Dose (mg/kg)	50
Sample	Plasma
Analyte	Caspofungin
Assay	RIA
PK Parameters (Mean ± S.D.)	
C _{max} (µg/mL)	0.200 ± 0.121
T _{max} (hr)	4.38 ± 3.14
AUC _{0-∞} (µg·hr/mL)	3.71 ± 2.18
Bioavailability [†] (%)	0.185 ± 0.109
<p>Results: Following oral administration of 50 mg/kg to rats, plasma concentrations of caspofungin were very low. The C_{max} observed at ~4 hours postdose was about 0.2 µg/mL, which is lower than the minimum fungicidal concentration of 0.5 µg/mL. The estimated bioavailability was less than 0.2%.</p>	
<p>[†] Bioavailability was determined by comparison of AUC to a previous study in which caspofungin (2 mg/kg) was administered intravenously.</p>	

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.2.5 腸管からの吸収

Location in CTD: [資料4.2.2.2.2: G2]

Study System	<i>In Situ</i> Rat Intestinal Loop Preparation									
Gender /Number of Animals	Male/4									
Vehicle/ Formulation	Solution in Saline									
Method of Administration	Direct Injection into the Jejunal Lumen									
Dose	1 mg/mL at a Rate of 0.2-0.3 mL/min									
Sample	Blood									
Analyte	[³ H]Caspofungin									
Assay	LSS (Radioactivity)									
Caspofungin Radioequivalents in Mesenteric Blood (% of Dose, Mean ± S.D., n=4)	Time (min)									
	5	10	15	20	25	30	40	50	60	Total
	0.14 ± 0.08	0.19 ± 0.09	0.18 ± 0.08	0.14 ± 0.06	0.12 ± 0.07	0.12 ± 0.09	0.12 ± 0.04	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.02	1.19 ± 0.41
Results: When [³ H]caspofungin (1 mg) was introduced directly into the intestinal lumen, only about 1% of the radioactive dose was absorbed into the mesenteric blood.										

2.6.5.2.6 油水分配係数

Location in CTD: [資料4.2.2.2.2: G2]

Type of Study	Octanol/Buffer Partition	
Method	To determine the octanol/buffer partition coefficient, [³ H]caspofungin was added into equal volumes of Ringer-Hepes buffer (pH 7.4) and 2-octanol to yield final caspofungin concentration. After shaking and centrifugation, the aliquots of phase were assayed for total radioactivity.	
Initial Concentration of [³ H]-Caspofungin (µg/mL)	Octanol/Water Partition (Mean ± S.D., n=4)	Log P [†] (Mean ± S.D., n=4)
1	0.099 ± 0.033	-1.02 ± 0.13
10	0.054 ± 0.003	-1.27 ± 0.02
50	0.063 ± 0.008	-1.20 ± 0.06
Results: A log P value of -1.2 was obtained for [³ H]caspofungin at physiological pH, suggesting that the compound was very hydrophilic.		
† Partition coefficient		

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.3 反復投与後の吸収

2.6.5.3.1 静脈内投与（ラット）

Location in CTD: [資料4.2.2.2.1: G1]

Species	Rat										
Gender /Number of Animals	Male/3-4 per Group										
Vehicle/ Formulation	Solution in Saline										
Method of Administration	Intravenous Administration										
Dose (mg/kg)	2										
Sample	Plasma										
Analyte	Caspofungin										
Assay	HPLC										
No. of Doses Received	Sampling Time (min)										AUC [§] (µg·hr/mL)
	<u>5</u>	<u>15</u>	<u>30</u>	<u>60</u>	<u>90</u>	<u>120</u>	<u>240</u>	<u>360</u>	<u>480</u>	<u>1440</u>	
	Plasma Concentration of Caspofungin (µg/mL, Mean ± S.D.)										
Day 10 [†]	15.8 ± 1.65	8.90 ± 1.55	8.18 ± 1.83	7.28 ± 0.83	6.36 ± 0.91	4.95 ± 1.31	3.95 ± 0.81	3.45 ± 0.52	2.67 ± 0.38	0.66 ± 0.28	67.7 ± 6.6
Day 14 [†]	11.6 ± 1.39	8.49 ± 0.25	7.09 ± 0.28	5.87 ± 0.46	4.48 ± 0.81	3.10 ± 1.75	3.39 ± 0.42	2.91 ± 0.57	2.44 ± 0.36	0.46 ± 0.03	55.4 ± 6.0
Day 21 [‡]	10.2 ± 0.51	7.00 ± 0.22	6.56 ± 0.27	5.32 ± 0.37	4.78 ± 0.21	4.17 ± 0.25	4.23 ± 0.10	3.30 ± 0.30	2.51 ± 0.20	0.83 ± 0.24	68.3 ± 7.7
<p>Results: Following multiple I.V. doses of caspofungin at 2 mg/kg/day for 10, 14, and 21 days, plasma concentration-time curves from 0-24 hours after the last dose were almost superimposable to each other and to Day 1. The AUC_{0-24 hr} values among different groups were very similar, indicating that accumulation of the drug in plasma was not significant in rats.</p>											
<p>[†] n=3, [‡] n=4, [§] AUC_{0-24 hr}</p>											

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.3.2 静脈内投与（サル）

Location in CTD: [\[資料4.2.2.1: G1\]](#)

Species	Rhesus Monkey					
Gender /Number of Animals	Male/4					
Vehicle/Formulation	Solution in Saline					
Method of Administration	Intravenous Administration					
Dose (mg/kg)	5					
Sample	Plasma					
Analyte	Caspofungin					
Assay	HPLC					
Caspofungin Trough Concentration (µg/mL) (Mean ± S.D., n=4)	No. of Doses Received					
	<u>Day 2</u>	<u>Day 4</u>	<u>Day 7</u>	<u>Day 10</u>	<u>Day 14</u>	<u>Day 22</u>
	2.39 ± 0.42	4.56 ± 0.94	3.99 ± 1.30	7.01 ± 2.41	5.56 ± 2.25	NC
<p>Results: An increase in trough plasma concentrations was observed with time following multiple doses of caspofungin in monkeys. One week following the final dose, the plasma concentration of caspofungin was below the quantitation limit.</p>						
<p>NC: Not calculated for BLQ (below the limit of quantitation: 1µg/mL).</p>						

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.4 組織内分布

2.6.5.4.1 組織内濃度

Location in CTD: [資料4.2.2.2.1: G1]

Species	Rat			
Gender/Number of Animals	Male/3 per Time Point			
Vehicle/Formulation	Solution in Saline			
Method of Administration	Intravenous Administration			
Dose (mg/kg)	2			
Radionuclide	³ H			
Specific Activity	1.77 MBq/mg			
Tissues/Organs	Levels of Radioactive Equivalents (µgEquiv/mL or µg Equiv/g) of [³ H]Caspofungin (Mean ± S.D., n=3)			
	0.5 hr	2.0 hr	24 hr	12 day
Brain	0.127 ± 0.004	0.153 ± 0.021	0.164 ± 0.111	0.022 ± 0.002
Heart	2.31 ± 0.138	1.87 ± 0.045	0.642 ± 0.089	0.030 ± 0.004
Lung	5.12 ± 0.192	4.50 ± 0.601	2.44 ± 0.416	0.115 ± 0.022
Kidney	9.15 ± 1.30	10.6 ± 1.80	11.4 ± 1.64	0.789 ± 0.132
Spleen	4.37 ± 0.042	3.87 ± 0.491	3.62 ± 0.607	0.299 ± 0.035
Liver	5.03 ± 0.597	7.04 ± 1.34	22.2 ± 2.43	1.65 ± 0.530
Stomach	1.65 ± 0.134	1.65 ± 0.215	0.963 ± 0.240	0.065 ± 0.053
Small Intestine	3.94 ± 0.487	3.69 ± 0.076	2.27 ± 0.220	0.097 ± 0.004
Large Intestine	2.25 ± 0.164	2.00 ± 0.388	1.38 ± 0.160	0.044 ± 0.002
Cecum	2.03 ± 0.433	2.22 ± 0.225	1.51 ± 0.054	0.063 ± 0.010
Pancreas	1.58 ± 0.117	1.54 ± 0.197	1.02 ± 0.126	0.045 ± 0.004
Mesenteric Lymph Node	1.93 ± 0.118	1.85 ± 0.527	1.56 ± 0.352	0.062 ± 0.008
Testes	0.493 ± 0.050	0.855 ± 0.025	0.621 ± 0.061	0.142 ± 0.010
Skeletal Muscle	0.305 ± 0.042	0.386 ± 0.096	0.103 ± 0.013	0.009 ± 0.002
Fat	0.431 ± 0.087	0.357 ± 0.073	0.358 ± 0.100	0.007 ± 0.00
Plasma	11.0 ± 5.73	6.10 ± 0.596	1.74 ± 0.849	0.068 ± 0.040
Red Blood Cell	4.08 ± 2.57	1.93 ± 0.127	0.445 ± 0.219	0.132 ± 0.094
Adrenal	2.95 ± 0.998	3.01 ± 0.394	3.21 ± 1.72	0.331 ± 0.146
Skin	1.60 ± 0.137	1.91 ± 0.043	0.959 ± 0.364	0.285 ± 0.128
Bladder	1.96 ± 0.866	2.23 ± 0.085	0.821 ± 0.374	0.051 ± 0.016
Eye	0.516 ± 0.064	0.478 ± 0.081	0.295 ± 0.051	0.025 ± 0.002

Results:
 Caspofungin and its metabolites distributed extensively to tissues following intravenous administration. At 0.5 hour the tissues with the highest levels of radioactivity were kidney, lung, liver and spleen. There was a substantial amount of radioactivity found in the GI tract, indicating that biliary excretion was involved in the elimination process. The low radioactivity in the brain suggested that the compound penetrated the blood-brain barrier poorly.
 In general, the concentration of radioactivity peaked within 2 hours in most tissues except the liver, and declined with time thereafter. The radioactivity in the liver continued to increase and peaked at 24 hours after dosing. The amount of radioactivity in the liver at 24 hours was ~35% of administered dose. The decline of radioactivity in the liver also was slow. These results suggest that the processes of hepatic uptake and elimination were very slow, and that the equilibration between blood and liver tissues was not established rapidly.

2.6.5 薬物動態試験概要表

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.4.2 組織内分布量

Location in CTD: [資料4.2.2.2.1: G1]

Species	Rat			
Gender/Number of Animals	Male/3 per Time Point			
Vehicle/Formulation	Solution in Saline			
Method of Administration	Intravenous Administration			
Dose (mg/kg)	2			
Radionuclide	³ H			
Specific Activity	1.77 MBq/mg			
Tissues/Organs	Percent of the Administered Dose of [³ H]Caspofungin			
	0.5 hr	2.0 hr	24 hr	12 day
Brain	0.045 ± 0.002	0.054 ± 0.013	0.057 ± 0.037	0.008 ± 0.001
Heart	0.382 ± 0.026	0.284 ± 0.018	0.097 ± 0.017	0.005 ± 0.001
Lung	1.10 ± 0.027	0.937 ± 0.112	0.531 ± 0.094	0.024 ± 0.002
Kidney	3.48 ± 0.206	3.91 ± 0.666	4.18 ± 0.379	0.282 ± 0.056
Spleen	0.606 ± 0.117	0.585 ± 0.092	0.472 ± 0.064	0.05 ± 0.008
Liver	8.37 ± 0.879	14.4 ± 0.629	35.2 ± 3.21	2.82 ± 0.632
Stomach	0.420 ± 0.079	0.502 ± 0.084	0.244 ± 0.056	0.018 ± 0.013
Small Intestine	2.42 ± 0.610	3.58 ± 0.645	1.30 ± 0.304	0.062 ± 0.004
Large Intestine	0.402 ± 0.061	0.527 ± 0.063	0.216 ± 0.053	0.009 ± 0.001
Cecum	0.282 ± 0.096	0.497 ± 0.244	0.159 ± 0.013	0.009 ± 0.001
Pancreas	0.409 ± 0.067	0.558 ± 0.051	0.276 ± 0.027	0.016 ± 0.003
Mesenteric Lymph Node	0.544 ± 0.10	0.335 ± 0.013	0.256 ± 0.048	0.013 ± 0.004
Testes	0.268 ± 0.033	0.417 ± 0.009	0.349 ± 0.041	0.092 ± 0.005
Skeletal Muscle	7.63 ± 1.04	9.64 ± 2.39	2.58 ± 0.337	0.214 ± 0.049
Fat	0.862 ± 0.175	0.714 ± 0.147	0.715 ± 0.200	0.013 ± 0.001
Plasma	24.6 ± 12.8	13.7 ± 1.33	3.91 ± 1.90	0.151 ± 0.090
Red Blood Cell	7.50 ± 4.74	3.54 ± 0.234	0.818 ± 0.403	0.243 ± 0.173
Adrenal	0.057 ± 0.022	0.066 ± 0.009	0.051 ± 0.023	0.006 ± 0.003
Skin	14.0 ± 1.20	16.7 ± 0.372	8.38 ± 3.18	2.49 ± 1.12
Bladder	0.035 ± 0.018	0.038 ± 0.007	0.013 ± 0.007	0.001 ± 0.00
Eye	0.025 ± 0.002	0.018 ± 0.00	0.012 ± 0.004	0.001 ± 0.00
Sum in Tissues	73.5 ± 17.5	71.0 ± 2.71	59.8 ± 6.90	6.53 ± 0.395
Contents				
Stomach	0.077 ± 0.019	0.056 ± 0.015	0.238 ± 0.270	0.018 ± 0.027
Small Intestine	4.41 ± 0.353	3.63 ± 0.418	2.16 ± 0.644	0.058 ± 0.008
Large Intestine	0.410 ± 0.146	0.222 ± 0.034	0.257 ± 0.246	0.031 ± 0.048
Cecum	0.328 ± 0.028	0.353 ± 0.384	3.92 ± 0.118	0.209 ± 0.112
Sum in GI Contents	5.22 ± 0.384	4.26 ± 0.199	6.57 ± 0.910	0.316 ± 0.081
Total	78.7 ± 17.8	75.2 ± 2.87	66.4 ± 6.25	6.84 ± 0.389

2.6.5 薬物動態試験概要表

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.4.3 肝臓中濃度 (ラット)

Location in CTD: [\[資料4.2.2.2.1: G1\]](#)

Study System	Time Course of Radioactivity in Rat Liver								
Gender/Number of Animals	Male/2-4 per time point								
Vehicle/Formulation	Solution in Saline								
Method of Administration	Intravenous Administration								
Dose (mg/kg)	2								
Sample	Liver								
Radionuclide	³ H								
Specific Activity	0.159 to 1.99 MBq/mg								
Analyte	[³ H]Caspofungin								
Assay	LSS (Radioactivity)								
Mean Radioactivity in the Liver (% of Dose)	Sampling Time (hr)								
	<u>0.5</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>6</u>	<u>12</u>	<u>24</u>	<u>48</u>	<u>120</u>	<u>288</u>
	8.37	12.0	14.4	26.8	32.5	39.2	35.4	14.2	2.82
<p>Results:</p> <p>Following I.V. administration of [³H]caspofungin in rats, the hepatic uptake appeared to be biphasic, in that the initial hepatic uptake of radioactivity was very rapid and approximately 8% of the dose was found in the liver at 30 min. At later times, the rate of uptake appeared to be much slower than the initial uptake and radioactivity in the liver peaked at 24 hours postdose. The decline of radioactivity from the liver also was very slow.</p>									

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.4.4 肝臓中濃度（ラット・サル）

Location in CTD: [資料4.2.2.2.1: G1]

Study System	Hepatic Concentration in Rat [†]			Hepatic Concentration in Rhesus Monkey [‡]		
Gender/Number of Animals	Male and Female/5 per Group			Male and Female /4 per Group		
Vehicle/Formulation	Solution in Saline			Solution in Saline		
Method of Administration	Intravenous Administration			Intravenous Administration		
Dosing Period	5 weeks			5 weeks		
Dose (mg/kg/day)	0.5 [§]	2 [§]	5 [§]	2 [§]	5	8
Sample	Liver after Last Dosing			Liver after Last Dosing		
Analyte	Caspofungin			Caspofungin		
Assay	HPLC			HPLC		
Gender	Hepatic Concentration of Caspofungin (µg/g Liver)			Hepatic Concentration of Caspofungin (µg/g Liver)		
Male (Mean ± S.D.)	23.8 ± 3.17	70.8 ± 14.2	157 ± 17.9	129 ± 23.9	316 ± 33.4	440 ± 53.1
Female (Mean ± S.D.)	18.5 ± 1.96	68.3 ± 2.66	186 ± 37.0	145 ± 11.8	319 ± 35.4	417 ± 50.9
<p>Results: In a five-week toxicity study in rats, the hepatic drug concentrations, determined at ~24 hours after the last dose, increased in a roughly dose-proportional manner. After administration of I.V. doses of 0.5, 2, and 5 mg/kg/day, the mean concentrations were 21.1, 69.6 and 172 µg/g liver, respectively. Comparatively, the hepatic concentrations of caspofungin in monkeys were about twice the corresponding values in rats.</p>						
<p>[†] Rats from a five week intravenous toxicity study (TT#■■■■-637-0), [‡] Monkeys from a five week intravenous toxicity study (TT#■■■■-638-0), [§] Average of two determinations, Average of three determinations</p>						

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.4.5 肝臓中濃度 (サル)

Location in CTD: [資料4.2.3.2.7: TT# 6130]

Study System	Hepatic Concentration in Rhesus Monkey [†]		
Gender/Number of Animals	Male and Female/4 per Group		
Vehicle/Formulation	Solution in Saline		
Method of Administration	Intravenous Administration		
Dosing Period	14 Weeks		
Dose (mg/kg/day)	0.5 [‡]	2 [‡]	5 [‡]
Sample	Liver after Last Dosing		
Analyte	Caspofungin		
Assay	HPLC		
Gender	Hepatic Concentration of Caspofungin (µg/g Liver)		
Male (Mean ± S.D.)	30.3 ± 6.75	172 ± 24.4	370 ± 36.9
Female (Mean ± S.D.)	34.2 ± 7.69	160 ± 17.1	410 ± 44.2
Results:	<p>Following I.V. administration of caspofungin for 14 weeks, hepatic concentrations of the parent drug in monkeys were approximately proportional to dose. The mean concentrations for male and female monkeys, respectively, were 30.3 and 34.2 µg/g tissue at 0.5 mg/kg/day, 172 and 160 µg/g tissue at 2 mg/kg/day, and 370 and 410 µg/g tissue at 5 mg/kg/day. There were no sex-related differences in the hepatic concentrations of caspofungin at all dose levels.</p>		
	<p>[†] Monkeys from a fourteen-week intravenous toxicity study (TT# 6130-0)</p> <p>[‡] Average of three determinations</p>		

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.5 蛋白結合

2.6.5.5.1 蛋白結合（種間比較）

Study System	<i>In Vitro</i> Plasma Protein Binding		
Target Entity	[³ H]Caspofungin in Control Plasma		
Test System and Method	The plasma protein binding study was carried out using an ultracentrifugation method. The radioactivity in each fraction was determined by LSS.		
Species	Conc. Tested (µg/mL)	% Unbound (Mean ± S.D., n=3)	Location in CTD
Rat	0.1	4.90 ± 0.44	[資料4.2.2.2.1: G1]
	1.0	3.62 ± 0.35	
	10	3.72 ± 0.49	
	100	4.25 ± 1.03	
Monkey	0.1	1.23 ± 0.20	[資料4.2.2.2.1: G1]
	1.0	1.19 ± 0.28	
	10	1.53 ± 0.51	
	100	1.32 ± 0.19	
Human	0.1	3.25 ± 0.26	[資料4.2.2.3.1: G6]
	1.0	3.34 ± 0.26	
	10	4.32 ± 1.09	
	100	3.15 ± 0.38	
Results: [³ H]Caspofungin was bound extensively to rat, monkey and human plasma proteins. The unbound percentage was approximately 4% for rat, 1.3% for monkey and 3.5% for human. The protein binding was independent of drug concentrations from 0.1 to 100 µg/mL.			

2.6.5.5.2 蛋白結合（腎機能障害による影響）

Location in CTD: [\[資料4.2.2.3.2: G7\]](#)

Study System	<i>In Vitro</i> Plasma Protein Binding			
Target Entity	Radioactivity in Pre-dose Plasma from Control and Renal-Impaired Subjects with [³ H]Caspofungin			
Test System and Method	The plasma protein binding study was carried out using an ultracentrifugation method. The radioactivity in each fraction was determined by LSS.			
Subjects	n	Conc. tested (µg/mL)	Plasma Protein Concentration (g/dL, Mean ± S.D.)	Unbound Percent (%; Mean ± S.D.)
Control Subjects	5	10	6.04 ± 0.73	3.27 ± 0.65
Renal-Impaired Subjects	36	10	6.40 ± 0.65	3.50 ± 0.82
Results: There was no significant difference in plasma protein concentrations between the control subjects and renal-impaired patients. At a drug concentration of 10 µg/mL, the unbound percentage of [³ H]caspofungin was 3.27% for control subjects and 3.50% for renal-impaired patients, indicating that caspofungin was extensively bound to plasma proteins and the drugprotein binding was not altered dramatically in renal-impaired patients.				

2.6.5.5.3 蛋白結合（代謝物）

Location in CTD: [\[資料4.2.2.3.3: G8\]](#)

Study System	<i>In Vitro</i> Plasma Protein Binding of L-000747969		
Target Entity	Radioactivity in Control Plasma with [³ H]L-000747969		
Test System and Method	The plasma protein binding study was carried out using an ultracentrifugation method. The radioactivity in each fraction was determined by LSS.		
Species	n	Conc. Tested (µg/mL)	% Unbound (Mean ± S.D., n=3)
Monkey	3	5	0.98 ± 0.32
Human	3	5	2.03 ± 0.34
Results: [³ H]L-000747969 was bound extensively to plasma proteins and the unbound percentage was about 1% in monkeys and 2% in humans.			

2.6.5.6 血球移行

Study System	<i>In Vitro</i> Erythrocyte Partitioning		
Target Entity	Radioactivity in Blood Incubation Mixture with [³ H]Caspofungin		
Test System and Method	Aliquots were taken at the end of the incubation period. Blood and plasma were combusted to ³ H ₂ O in a same oxidizer for radioactivity measurement. The radioactivity in each fraction was determined by LSS.		
Species	Initial Blood Conc. (µg/mL)	Blood/Plasma Ratio (Mean ± S.D., n=3)	Location in CTD
Rat	0.1	0.72 ± 0.06	[資料4.2.2.2.1: G1]
	1.0	0.72 ± 0.03	
	10	0.71 ± 0.01	
	100	0.72 ± 0.01	
Monkey	0.1	0.73 ± 0.05	[資料4.2.2.2.1: G1]
	1.0	0.75 ± 0.04	
	10	0.71 ± 0.04	
	100	0.73 ± 0.04	
Human	0.1	0.735 ± 0.041	[資料4.2.2.3.1: G6]
	1.0	0.764 ± 0.024	
	10	0.718 ± 0.022	
	100	0.715 ± 0.020	
Results: The blood/plasma ratio was relatively constant (0.71-0.76) in rat, monkey and human, suggesting that the drug was confined mainly in plasma. The blood/plasma ratio was concentration-independent over a drug concentration range of 0.1 to 100 µg/mL.			

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.7 胎盤移行

Species	Rat			Rabbit		
Gestation Day / Number of Animals	Gestation Days 6 through 20 / 8			Gestation Days 7 through 20 / 10		
Vehicle/Formulation	Solution in Saline			Solution in Saline		
Method of Administration	Intravenous Administration			Intravenous Administration		
Dose (mg/kg/day)	5			5		
Analyte	Caspofungin			Caspofungin		
Assay	HPLC			HPLC		
Sample Collection	Gestation Day 20			Gestation Day 20		
	Plasma Concentration (µg/mL)		Fetal/ Maternal	Plasma Concentration (µg/mL)		Fetal/ Maternal
	Maternal	Fetal		Maternal	Fetal	
2 hr	29.96	NA	NA	23.04	NA	NA
4 hr	17.76	0.62	0.03	13.70	0.71	0.05
24 hr	1.78	0.32	0.18	1.49	0.43	0.29
AUC _{2-24 hr} (µg·hr/mL) in Maternal Plasma	212.48			203.56		
Location in CTD	[資料4.2.3.5.3.2: TI ■■■ 7180]			[資料4.2.3.5.2.6: TI ■■■ 7190]		
Results: In rabbits and rats that received I.V. doses of caspofungin at 5 mg/kg/day, the mean fetal plasma concentrations of caspofungin, determined at 24 hours on Gestational Day 20, were 29% and 18% of the maternal plasma values, respectively, indicating that caspofungin crosses the placenta in these two species.						
NA: Not applicable.						

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.8 乳汁移行

Location in CTD: [資料4.2.3.5.3.2: TT 7180]

Species	Rat		
Lactation Day / Number of Animals	Lactation Days 1 through 14 / 4		
Vehicle/Formulation	Solution in Saline		
Method of Administration	Intravenous Administration		
Dose (mg/kg/day)	5		
Analyte	Caspofungin		
Assay	HPLC		
Sample Collection	Time (hr)	Concentrations ($\mu\text{g/mL}$, Mean \pm S.D., n=4)	
		Maternal Plasma	Milk
Lactation Day 14	4	19.53 \pm 0.82	2.59 \pm 0.12
<p>Results.</p> <p>The secretion of caspofungin into milk was assessed in rats after I.V. administration of 5 mg/kg/day. On Lactation Day 14, the drug concentrations in milk were equivalent to about 13% of the corresponding value in plasma concentration, indicating that caspofungin is transferred from plasma to the milk in rats.</p>			

2.6.5.9 その他の分布試験

2.6.5.9.1 肝取り込み

Location in CTD: [資料4.2.2.2.1: G1]

Type of Study	<i>In Situ</i> Rat Liver Perfusion Preparation			
Method	Two groups of rats were studied. In the first group, rat livers perfused with [³ H]caspofungin in a recirculated mode for one hour (<i>in vitro</i> group); in the second group, rat received an i.v. bolus of [³ H]caspofungin and livers were sampled 24 hr post dosing (<i>in vivo</i> group). For washout, rat livers were perfused with the perfusate containing a high concentration of albumin (4% albumin solution) for one hour in a single-pass mode.			
Group	<i>In Vitro</i>		<i>In Vivo</i>	
Gender/Number of Animals	Male/3		Male/3	
Vehicle/Formulation	Solution in Saline		Solution in Saline	
Method of Administration	Perfusion with [³ H]Caspofungin		Intravenous Bolus of [³ H]Caspofungin	
Dose	10 µg/mL		2 mg/kg	
Sample	Livers in a Recirculated Mode for 1 hr		Livers Sampled 24 hr Post Dosing	
Assay	LSS (Radioactivity)		LSS (Radioactivity)	
Radioactivity in the Liver (% of Dose, Mean ± S.D.)	Prior to Wash	After Wash	Prior to Wash	After Wash
	18.9 ± 2.00	3.65 ± 1.59	35.3 ± 3.21	28.6 ± 1.46
<p>Results:</p> <p>The biphasic hepatic uptake process was confirmed by <i>in situ</i> rat liver perfusion preparations. When [³H]caspofungin (10 µg/mL) was perfused through rat liver in a perfusate containing 0.5% albumin for 1 hour (<i>in vitro</i> group), approximately 19% of the dose was retained in the rat liver. However, most retained radioactivity in the isolated rat liver was washed out when the liver was re-perfused with the drug-free, 4% albumin perfusate, suggesting that the initial rapid hepatic uptake of [³H]caspofungin was mainly due to adsorption of the compound to the surface of cell membrane. Similar results were observed for livers sampled at 0.5 hour after I.V. administration of [³H]caspofungin (2 mg/kg). In contrast, the radioactivity in the liver determined at 24 hours after I.V. administration (ca. 35% of the dose), was only slightly washed out by the high protein perfusate, suggesting that the radioactivity transferred across the cell membrane at a later time via a slow and yet unknown mechanism.</p>				

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.9.2 P-糖蛋白に対する基質性 (*In Vivo*)

Location in CTD: [資料4.2.2.3.4: G10]

Study System	<i>In Vivo</i> Assessment of Caspofungin to Act as a Potential P-glycoprotein Substrate		
Species	P-gp-deficient CF-1 Mice (<i>mdr 1a</i> (-/-)) and Wild-Type Control CF-1 Mice (<i>mdr 1a</i> (+/+))		
Number of Animals	4 per Group		
Vehicle/Formulation	Solution in Saline		
Method of Administration	Intravenous Administration		
Dose (mg/kg)	5		
Analyte	[³ H]Caspofungin		
Assay	LSS (Radioactivity)		
Tissue [†]	Radioactivity (% of Dose, Mean ± S.D., n=4)		<i>mdr 1a</i> (-/-) / <i>mdr 1a</i> (+/+) Ratio
	P-gp-Deficient CF-1 Mice (<i>mdr 1a</i> (-/-))	Wild-Type Control CF-1 Mice(<i>mdr 1a</i> (+/+))	
Brain	0.083 ± 0.016	0.082 ± 0.005	1.02
Intestine	5.66 ± 1.32	4.404 ± 0.325	1.29
Heart	0.177 ± 0.019	0.190 ± 0.034	0.935
Lung	0.547 ± 0.044	0.620 ± 0.054	0.882
Liver	32.6 ± 0.959	30.4 ± 3.41	1.07
Kidney	2.94 ± 0.342	3.12 ± 0.380	0.944
Spleen	0.257 ± 0.040	0.318 ± 0.083	0.810
Plasma	2.16 ± 0.352	2.34 ± 0.144	0.922
Results: The ratios of radioactivity derived from [³ H]caspofungin in all tissues from <i>mdr 1a</i> (-/-) and (+/+) mice are approximately equal to 1, which indicates that caspofungin is not likely to be a substrate for <i>mdr 1a</i> P-gp.			
[†] Tissues were removed at 24 hr postdose.			

2.6.5.9.3 P-糖蛋白に対する基質性 (*In Vitro*)

Location in CTD: [資料4.2.2.3.4: G10]

Type of Study	<i>In Vitro</i> Studies: Effect of Cyclosporin on the Cellular Accumulation in KB-V1 [†] Cells as Compared to that in the Parental Control (KB-3-1) Cells	
Method	The cellular accumulation of [³ H]caspofungin (10 μM) in the presence and absence of cyclosporin (10 μM) was determined. The cell-associated total radioactivity was measured in trypsin-solubilized cell suspension by LSS.	
Incubation Time (hr)	Cellular Accumulation of [³ H]Caspofungin (pmol/well, Mean ± S.D., n=4)	
	Control	With Cyclosporin
0.5	143 ± 22.9	105 ± 16.6
1	123 ± 17.1	124 ± 23.8
2	171 ± 31.5	150 ± 21.3
4	186 ± 4.18	251 ± 27.5
8	433 ± 58.1	431 ± 32.4
24	714 ± 43.7	613 ± 95.4
<p>Results: The extent of cellular drug accumulation was not affected by the presence of cyclosporin. The results again indicate that caspofungin is not a good human P-gp substrate. In addition, there was no significant difference in cellular accumulation of [³H]caspofungin in human P-gp over-expressing (KB-V1) cells as compared to that in the parental control (KB-3-1) cells. In agreement with <i>in vivo</i> results, no vectorial transport from the basolateral to apical side was observed in L-mdr 1a monolayers. Similarly, no polarized transport of [³H]caspofungin was observed for human P-gp in cultured L-MDR1 and Caco-2 cell monolayers.</p>		
<p>[†] KB-V1: a human epidermoid carcinoma cell line with over-expression of human MDR1 P-gp Note: Each well contained 10⁶ cells.</p>		

2.6.5.9.4 P-糖蛋白阻害

Location in CTD: [資料4.2.2.3.4: G10]

Type of Study	<i>In Vitro</i> Studies: Inhibitory Effects of Caspofungin on P-Glycoprotein Activities	
Method	The cellular accumulation of [³ H]vinblastine (10 nM) in the presence and absence of caspofungin (at 10 and 100 μM) or cyclosporin (10 μM) was determined after a 4-hr incubation at 37°C using KB-V1 [†] cells to assess the inhibitory potential of caspofungin on P-gp.	
<p>Results: Cyclosporin dramatically increased (~17-fold) the cellular accumulation of vinblastine in KB-V1 cells. In contrast, caspofungin (10 and 100 μM) had little effect on the cellular accumulation of vinblastine in KB-V1 cells, and the IC₅₀ of caspofungin for P-gp-mediated transport of vinblastine is estimated to be greater than 100 μM. These results suggest that the inhibitory potency of caspofungin on P-gp-mediated transport is very low, and caspofungin is not expected to inhibit P-gp activities at clinically relevant plasma concentrations.</p>		
<p>[†] KB-V1: a human epidermoid carcinoma cell line with over-expression of human MDR1 P-gp</p>		

2.6.5.9.5 肝トランスポーターの関与

Location in CTD: [資料4.2.2.3.5: G27]

Type of Study	Role of Transporters in the Hepatic Uptake	
Method	In order to identify the proteins responsible for the hepatic uptake of caspofungin, transport experiments were performed in HeLa cells transiently transfected with a variety of cDNAs coding for members of human and rat OATP [†] , OAT, OCT and NTCP families. To further evaluate the interactions between caspofungin and other hepatic transporters, transport inhibition studies were performed.	
Experiment		
Caspofungin Uptake	Recombinant Vaccinia System	Results
	OATP-A, OATP-B, OATP-C, OATP-E, OATP-8, hNTCP, hOCT1, hOCT2, hOAT1, hOAT3, rOATP1, rOATP2, rOATP3, rOAT1, rOAT3, rOCT1	When tested using a recombinant vaccinia system, a statistically significant caspofungin uptake (up to 60 min) was not observed for any of the transporters.
	Tet-on-HeLa Cells Expressing OATP-C	Caspofungin uptake was seen.
	Tet-on-HeLa Cells Expressing OATP-8	Caspofungin uptake was not seen.
Inhibition by Caspofungin	Uptake of a Prototypical Substrate	Results
	OATPC-Mediated Uptake of [³ H]Estradiol-17β-D-Glucuronide	At a very high concentration of 100 μM, caspofungin can inhibit various types of transporters, but the effect is minimal and not significant at 10 μM.
	NTCP-Mediated Uptake of [³ H]Taurocholate	
	hOCT1-Mediated Uptake of [¹⁴ C]TEA	
	hOAT1-Mediated Uptake of [³ H]PAH	
† OATP-A: OATP1A2, OATP-B: OATP2B1, OATP-C: OATP1B1, OATP-E: OATP4A1, OATP-8: OATP1B3		

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.10 *In Vitro* における代謝

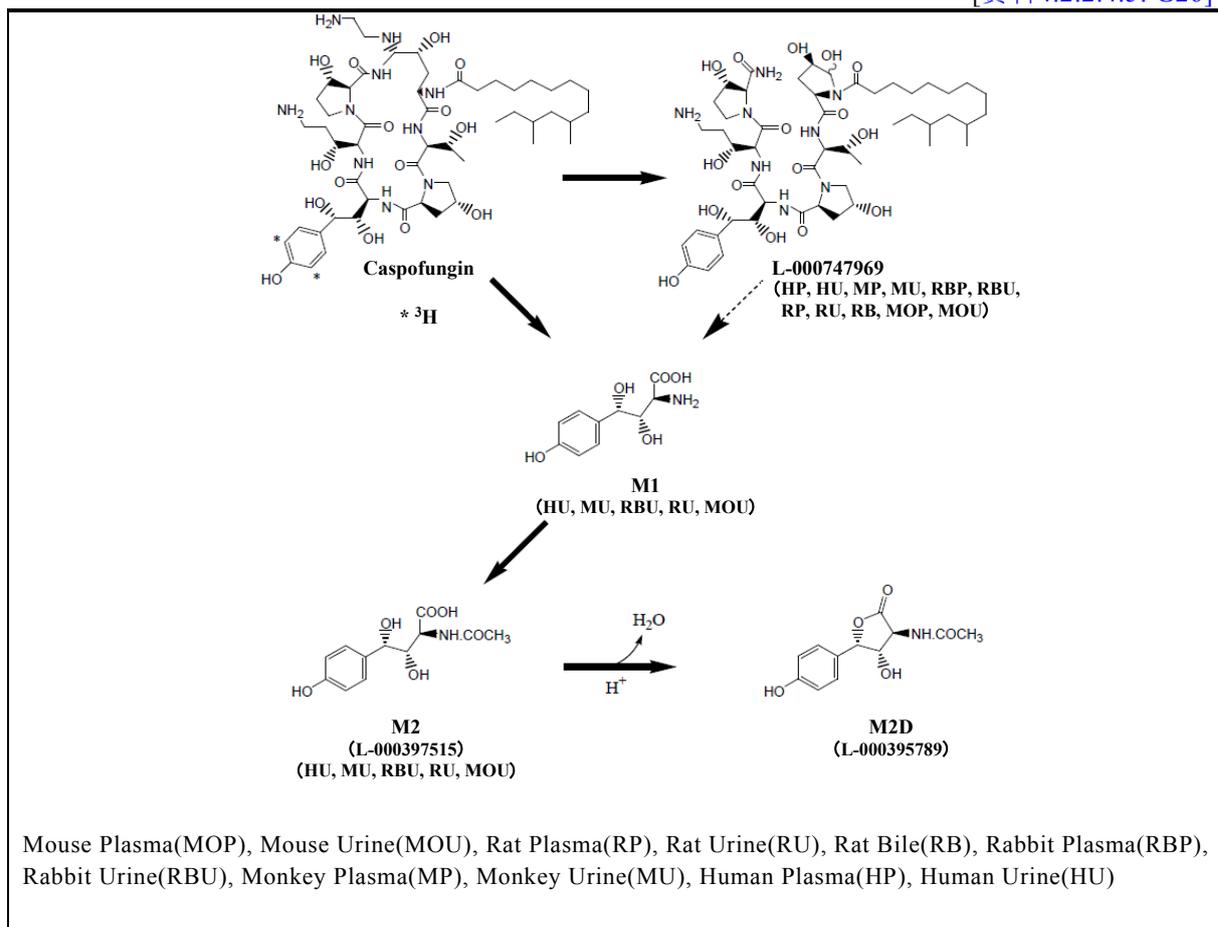
Location in CTD: [資料4.2.2.4.1: G16]

Study System	<i>In Vitro</i> Metabolism in Biological Matrix or Enzymes		
Target Entity	[³ H]Caspofungin and Major Metabolites in Incubation Mixtures		
Assay	LSS and HPLC		
Biological Matrix or Enzymes	Incubation Conditions		
	Caspofungin Concentration	Concentration of Proteins or Enzymes	Incubation Time
Rat Liver Slices [†]	100 µM	97 ~ 272 mg tissue /2 mL	0, 2, 3, 18, 24 & 27 hr
Rat Liver Homogenate [†]	50 µM	163 mg tissue/mL	2 hr
Rat Liver S9 Fraction [†]	Tracer (<0.2 µg)	~9 mg/mL	0 & 60 min
	10 µM		Up to 3 hr [‡]
	1 mM	~8 mg/mL	Up to 48 hr [‡]
Rat Liver Microsomes [§]	Tracer (<0.2 µg)	2 mg/mL	0 & 30 min
	50 µM	2 mg/mL	60 min
Rat Kidney Slices [†]	100 µM	88~97 mg tissue/2 mL	4 & 24 hr
Rat Kidney Homogenate [†]	50 µM	163 mg tissue/mL	2 hr
Rat Kidney S9 Fraction [†]	1 mM	~9 mg/mL	Up to 48 hr [‡]
Rat Fresh Blood (Hemolyzed and Non-Hemolyzed)	50 µM	Whole blood or 50% hemolyzed blood	2 hr
Human Liver Microsomes	50 µM	2 mg/mL	1 hr
Human Hepatocytes	10 µM	9 × 10 ⁵ cells/mL	2 & 24 hr
Recombinant CYP Isozymes (1A1, 1A2, 2C8, 2C9, 2C19, 3A4, 3A5 & 4A11)	50 µM	0.1~2 mg/mL	1~2 hr
Peptidase	50 µM	1.5 units/mL	0, 30, 60, & 120 min
Amidase	50 µM	0.3 unit/mL	0, 30, 60, & 120 min
Carboxypeptidase B	1 mM	~4 units/mL [¶]	Up to 48 hr
Carboxypeptidase Y	1 mM	~60 µg/mL [¶]	Up to 48 hr
Ficin	1 mM	~1 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Trypsin	1 mM	~1 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Aminopeptidase I	1 mM	~1 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Protease V	1 mM	~1 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Protease XXVII	1 mM	~1 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Protease XXIV	1 mM	~1 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Leucine Aminopeptidase	1 mM	0.5 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Prolidase	1 mM	~1 mg/mL [¶]	Up to 48 hr
Endopeptidase	1 µM	~0.5 mg/mL	1 hr
Results: Over a wide range of <i>in vitro</i> systems tested, there was no conversion of [³ H]caspofungin to the polar metabolites, which were observed <i>in vivo</i> in laboratory animals and humans.			
[†] Cofactors (UDPGA, PAPS, and/ or NADPH) were added.			
[‡] Supplementary cofactors (UDPGA, PAPS, and/or NADPH) were added periodically during the incubation to ensure a sufficient supply of the cofactors to support the reactions.			
[§] Large-scale incubation (20 mL, 2 mg protein/mL, 3 hr) also was used.			
Supersomes were used whenever available.			
[¶] Supplementary enzymes were added every 4 hr up to 48 hr.			

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.11 *In Vivo* における代謝及び推定代謝経路

Location in CTD: [資料4.2.2.2.1: G1]
 [資料4.2.2.4.6: G13]
 [資料4.2.2.4.3: G15]
 [資料4.2.2.4.2: G25]
 [資料4.2.2.4.5: G26]



Results:

Qualitatively, all major metabolites of caspofungin detected in humans also were found in laboratory animals. Radiochromatograms of rat, monkey, and human plasma extracts, collected about 24 hours postdose, showed caspofungin as the major component with a trace amount of L-000747969. For plasma collected at later time points (greater than 3 days postdose), the relative proportion of caspofungin decreased and that of L-000747969 increased in all species. The radiochromatograms of urine samples from rats, monkeys, and humans revealed that M1 and M2 were the 2 major urinary metabolites. M-2 degraded to a less polar product M2D. A minor metabolite, M4, detected in human urine, also was found in animal urine. Additionally, 2 minor radioactive components (M3 and M5) were detected only in rat and monkey urine samples. The identity of the minor metabolites, M3 to M5, is unknown. Also, unidentified metabolite M6 was not detected in rat, monkey, or human profiles but was present in rabbit and mouse urine. Collectively, these results indicated that the main metabolic pathways of caspofungin in humans and laboratory animals involve peptide hydrolysis and *N*-acetylation.

2.6.5.12 薬物代謝酵素の阻害

2.6.5.12.1 CYP 阻害（未変化体）

Type of Study		<i>In Vitro</i> Inhibition of CYP Isozymes		
Method		The inhibitory potency of caspofungin (10~1000 µM) on the major rat and human hepatic cytochrome P450 isozymes was determined by the functional activities of selective marker substrates. After the reaction, the marker substrates were determined by HPLC.		
Species	P450	Metabolism of Marker Substrate	IC ₅₀ (µM)	Location in CTD
Rat	CYP1A2	Phenacetin <i>O</i> -Deethylation	123	[資料4.2.2.4.7: G18]
	CYP2A1	Testosterone 7α-Hydroxylation	56.8	
	CYP2C11	Testosterone 2α-Hydroxylation	107	
	CYP2C11	Testosterone 16α-Hydroxylation	111	
	CYP2D1	Bufuralol 1'-Hydroxylation	112	
	CYP3A2	Testosterone 6β-Hydroxylation	57.5	
Human	CYP1A2	Phenacetin <i>O</i> -Deethylation	186	[資料4.2.2.4.8: G17]
	CYP2A6	Coumarin 7-Hydroxylation	213	
	CYP2C9	Tolbutamide Methyl Hydroxylation	217	
	CYP2C19	<i>S</i> -Mephenytoin 4'-Hydroxylation	131	
	CYP2D6	Bufuralol 1'-Hydroxylation	216	
	CYP3A4	Testosterone 6β-Hydroxylation	67	
Results: Concentration-dependent inhibition by caspofungin on human P450 isoforms was observed. The IC ₅₀ values for CYP3A2, CYP2A1 and CYP3A4 were 57.5, 56.8 and 67 µM, respectively, and greater than 100 µM for other isoforms, suggesting that caspofungin was not a potent P450 inhibitor.				

2.6.5.12.2 CYP 阻害（代謝物）

Location in CTD: [資料4.2.2.4.9: G19]

Type of Study		<i>In Vitro</i> Inhibition of CYP Isozymes by L-000747969	
Method		The inhibitory potency of L-000747969 (5~500 µM) on the major human hepatic cytochrome P450 isozymes was determined by the functional activities of selective marker substrates. After the reaction, the marker substrates were determined by LC-MS/MS, LC-MS or HPLC.	
Species	P-450	Metabolism of Marker Substrate	Results
Human	CYP1A2	Phenacetin <i>O</i> -Deethylation	L-000747969 was not a potent inhibitor of the major P450 isozymes. The IC ₅₀ values were greater than 200 µM for all six isozyme tested.
	CYP2A6	Coumarin 7-Hydroxylation	
	CYP2C9	Tolbutamide Methyl Hydroxylation	
	CYP2C19	<i>S</i> -Mephenytoin 4'-Hydroxylation	
	CYP2D6	Debrisoquine 4'-Hydroxylation	
	CYP3A4	Testosterone 6β-Hydroxylation	

2.6.5.13 薬物代謝酵素の誘導

2.6.5.13.1 薬物代謝酵素の誘導 (In Vivo)

Location in CTD: [資料4.2.2.4.4: TT 2800/TT 2801]

Study System	<i>In Vivo</i> Assessment of Enzyme Induction in Mice							
Target Entity	Enzyme Activities in Liver Microsomal Pellet from Mice after I.V. Dosing of caspofungin at 5 mg/kg/day for 4 Days							
Test System and Method	Animals were dosed once a day by IV injection for 4 days and livers harvested for approximately 24 hrs after the last dose. The resulting microsomal pellet from the mouse liver homogenate was used for the enzyme assays.							
Treatment	Male				Female			
	Liver [†] % B.W.	mg [‡] Microsome /g Liver	EFCOD [§] Rates	FACO Rates	Liver [†] % B.W.	mg [‡] Microsome /g Liver	EFCOD [§] Rates	FACO Rates
Negative Control (0.5% Methylcellulose, 10 mL/kg)	6.01	45.67	1082 ± 200	2.14 ± 0.36	5.33	47.74	1397 ± 170	1.99 ± 0.70
Positive Control (Phenobarbital /Bezafibrate at 75/75 mg/kg/day)	8.70	54.92	3391 ± 191	10.67 ± 2.01	7.66	52.98	4898 ± 578	8.89 ± 1.57
P-value [¶]	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.08	<0.01	<0.01
Caspofungin at 5 mg/kg/day	6.29	42.21	962 ± 271	2.90 ± 0.37	5.64	43.32	1269 ± 95.5	3.14 ± 0.46
P-value [¶]	0.30	0.26	69.12	20.74	0.36	0.48	80.59	7.10
Results: Caspofungin did not induce EFCOD (7-ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin- <i>O</i> -deethylase) or FACO (fatty acyl CoA oxidase) in the livers of CD-1 mice after 4 days of treatment at 5 mg/kg/day.								
[†] Liver weight as percent of body weight (Mean, n=4). [‡] Yields of microsomes in liver (Mean, n=4). [§] Rates are in units of pmoles/min/mg microsomal protein (Mean ± S.D., n=4). Rates are nmoles/min/mg microsomal protein (Mean ± S.D., n=4). [¶] Comparison of treatment groups use one-way analysis of variations on log-transformed data. P-values are based on Dunnett's on-sided procedure for negative control and treatment groups.								

2.6.5.13.2 薬物代謝酵素の誘導 (*In Vitro*)

Location in CTD: [資料4.2.2.4.4: TT 2800/TT 2801]

Type of Study	<i>In Vitro</i> Assessment of Enzyme Induction in Rats				
Method	Rat hepatocytes were incubated for 48 hrs, with one medium + compound replacement at 24 hrs, and then harvested, homogenized by sonication and assayed for FACO activity.				
Compound	Dose (μM)	FACO Activity (nmoles/mg/min)		Fold inc over Control	48 hour Observations
		Mean	S.D.		
Caspofungin	0	2.3	0.2	1.0	-
	10	2.1	0.1	0.9	-
	20	1.9	0.0	0.8	-
	50	1.8	0.1	0.8	Cells Sloughing
	100	0.0	0.0	0.0	Cells dead
	200	0.0	0.0	0.0	Cells dead
	500	0.0	0.0	0.0	Cells dead
Positive Control (Bezafibrate)	60	8.0	0.0	3.4	-
<p>Results: Caspofungin did not cause induction of FACO (fatty acyl CoA oxidase) activity in isolated rat hepatocytes.</p> <p>Negative control value represents duplicate assays on twelve independent cultures. Treated values represent duplicate assays on two independent cultures. -: No specific observation.</p>					

2.6.5.14 不可逆的結合

2.6.5.14.1 不可逆的結合 (*In Vivo*)

Type of Study	<i>In Vivo</i> Irreversible Protein Binding			
Method	Pooled plasma treated with a single I.V. dose of [³ H]casprofungin was used. Protein concentrations were measured with a colorimetric method. Radioactivity was removed from plasma proteins after exhaustive extraction of protein pellets with a strong acid and various organic solvents and determined by LSS.			
Species	Dose	Pooled Plasma Samples	<i>In Vivo</i> Irreversible Binding (pmol/mg protein)	Location in CTD
Mouse [†] (n=3)	5 mg/kg	Day 1	31.9 ± 2.5	[資料4.2.2.4.2: G25]
		Day 3	21.7 ± 3.5	
		Day 5	14.4 ± 2.0	
		Day 10/11	3.5 ± 2.0	
Rat (n=3)	2 mg/kg	Day 1	22.4 ± 1.3	[資料4.2.2.4.10: G30]
		Day 5	10.0 ± 2.9	
		Day 11	1.5	
		Day 19	0.2 ± 0.0	
Rabbit [‡] (n=3)	5 mg/kg	Day 1	22.5 ± 0.2	[資料4.2.2.4.5: G26]
		Day 5/6	29.0 ± 1.3	
		Day 9/11	17.3 ± 1.8	
		Day 19/21	4.7 ± 0.8	
Monkey (n=3)	5 mg/kg	Day 5/7	32.7 ± 1.23	[資料4.2.2.4.11: G20]
		Day 10/13	15.3 ± 6.04	
		Day 17/20	9.27 ± 3.89	
Human [§] (n=5-6)	70 mg/man	Day 5/6	6.94 ± 1.46	
		Day 11/12	5.49 ± 1.17	
		Day 19/20	3.32 ± 0.71	
Human [¶] (n=6)	70 mg/man	Week 2	6.71 ± 2.05	[資料4.2.2.4.12: G29]
		Week 4	3.46 ± 0.86	
		Week 8	1.62 ± 0.55	
		Week 12	<LOQ [#]	
Results: Following I.V. administration of [³ H]casprofungin, the majority of radioactivity in monkey and human plasma consisted of casprofungin and a metabolite, L-000747969. However, approximately 45% of the radioactivity was not extractable from the proteins of plasma collected at later time points (5-20 days) after exhaustive washing of the protein pellets with a strong acid and various organic solvents, suggesting that part of the radioactivity in plasma was irreversibly bound to proteins. The extent of the binding was very low in humans, about 7 pmol/mg protein following an I.V. dose of 70 mg, and decreased with time. At comparable time points after administration of [³ H]casprofungin to monkeys, levels of irreversible binding were about 3-5 times higher than that in humans, suggesting an exposure of the putative adduct in the animal safety species.				

カスポファンギン酢酸塩 注射剤

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

In addition, the irreversible binding to liver proteins was investigated in rat following I.V. administration of [³H]caspofungin (2 mg/kg). The extent of the binding was 13.3 pmol/mg protein at Day 1 and decreased with time (0.9 pmol/mg protein at Day 19).

[†] Samples were pooled from two mice for Days 1, 3, 5, and 10/11. The pooled samples (n=3) were from the 24, 72, 120, and 240/264 hr time points, respectively.

[‡] Samples were pooled across Days 5/6, 9/11, and 19/21 for all 3 subjects. The Day 1 sample was from the 24 hr time point.

[§] Clinical Study Protocol 010

[¶] Clinical Study Protocol 034

^{||} n=2

[#] LOQ: Limit of quantification was defined as <2 fold the background radioactive count.

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 35 -

2.6.5.14.2 不可逆的結合 (*In Vitro*)

Location in CTD [資料4.2.2.4.11: G20]

Type of Study			
<i>In Vitro</i> Irreversible Protein Binding in Monkeys and Humans			
Method	To determine whether the irreversible binding could occur <i>in vitro</i> , time-dependent irreversible binding and effect of pH on the binding of [³ H]-caspofungin degradates were investigated. Protein concentrations were measured with a colorimetric method. Radioactivity was removed from plasma proteins after exhaustive extraction of protein pellets with a strong acid and various organic solvents and determined by LSS.		
Species/ Protein	Concentration (µg/mL)	Incubation Time (hr)	<i>In Vitro</i> Irreversible Binding(pmol/mg protein) [†]
Monkey/ Plasma	5	0	1.03
		24	21.0
		48	28.4
		72	35.9
Human/ Plasma	5	0	0.23
		24	11.1
		48	17.9
		72	23.3
Human/ Serum Albumin (4%)	5	0	0.42 ± 0.085 [‡]
		24	19.2 ± 3.68 [‡]
		48	42.6
		72	48.8
Species/ Protein	Concentration (µg/mL)	pH	<i>In Vitro</i> Irreversible Binding (pmol/mg protein) [‡]
Human/ Serum Albumin (4%)	5	7.4	19.2 ± 3.68
		9.0	34.6 ± 1.25
		4.5	9.13 ± 0.76
Results: Irreversible binding was observed <i>in vitro</i> when [³ H]caspofungin was incubated with monkey and human plasma, and human serum albumin, and the extent of the binding was time-dependent. The extent of the irreversible binding was pH-dependent, the higher the pH value the more irreversible binding. It is known that caspofungin is relatively stable under mildly acidic conditions (pH 4.5-5.5), while under basic conditions, caspofungin degrades to L-000747969. The increased irreversible binding at pH 9.0 suggested that the reactive intermediates were formed during the chemical degradation of caspofungin to L-000747969.			
† Mean of two determinations. ‡ Mean ± SD (n=3)			

2.6.5.14.3 不可逆的結合（求核性捕捉剤の影響）

Location in CTD: [資料4.2.2.4.11: G20]

Type of Study	Mechanism Study for <i>In Vitro</i> Irreversible Protein Binding	
Method	The irreversible binding was determined by incubating [³ H]caspofungin with 4% human serum albumin (HSA). Binding studies were conducted by adding the nucleophilic trapping agent glutathione or methoxylamine into the reaction mixture. To increase the yield of the drug-protein adduct formed via the imine mechanism, sodium cyanobronhydride was used to the incubation mixture. Protein concentrations were measured with a colorimetric method. Radioactivity was removed from plasma proteins after exhaustive extraction of protein pellets with a strong acid and various organic solvents and determined by LSS.	
Species/Protein	Treatment	<i>In Vitro</i> Irreversible Binding (pmol/mg protein) [†]
Human Serum Albumin (HSA)	HSA + [³ H]Caspofungin (5 µg/mL)	19.2 ± 3.68
	HSA + [³ H]Caspofungin (5 µg/mL) + 5 mM Glutathione (GSH)	17.8 ± 1.32
	HSA + [³ H]Caspofungin (5 µg/mL) + 5 mM Methoxylamine	5.41 ± 2.22
	HSA + [³ H]Caspofungin (5 µg/mL) + NaCNBH ₃ (NaCNBH ₃ was added at the end of 24-hr incubation and incubated for another 30 min before extraction)	23.8 ± 0.877
	HSA + [³ H]Caspofungin (5 µg/mL) + NaCNBH ₃ (NaCNBH ₃ was added at 0-hr and incubated for 24 hr)	28.1 ± 2.41
<p>Results:</p> <p>The presence of nucleophilic, competitive trapping agents GSH and methoxylamine reduced the radioactivity bound to the protein pellets, which supported the view that both nucleophilic addition and the imine mechanism were involved in the irreversible binding.</p> <p>The dramatic decrease in the formation of the protein adduct by methoxylamine indicated that the imine mechanism was quantitatively more important. Addition of imine reducing reagent NaCNBH₃ to incubation mixtures markedly increased irreversible binding, which provided additional evidence of the imine mechanism.</p>		
<p>[†] Mean ± S.D. (n=3)</p>		

2.6.5.14.4 不可逆的結合 (β-エンドルフィンの影響)

Location in CTD: [\[資料4.2.2.4.11: G20\]](#)

Type of Study	Mechanism Study for <i>In Vitro</i> Irreversible Protein Binding
Method	<p>L-000747969 or caspofungin, 400 μM each, was incubated with 80 μM β-endorphin in a phosphate buffer (50 mM, pH 7.4) for 24 hours at 37°C in the presence or absence of 10 mM sodium cyanoborohydride (NaCNBH₃). Control samples were prepared by incubating L-000747969, caspofungin, and endorphin separately in the phosphate buffer. The reactions were terminated by addition of 200 μL acetonitrile containing 2% formic acid. The solvent was evaporated under N₂ stream and the residue dissolved in 50 μL of 20% acetonitrile in water. Formation of the peptide conjugate of the active intermediate was determined by LC-Q and ESI-TOF MS.</p>
<p>Results: When L-000747969 or caspofungin was incubated with β-endorphin, a conjugated product was detected by LC-MS. A full-scan MS spectrum of the conjugate peak showed two multiply charged ions (<i>m/z</i> 1500 and 1125.3), which corresponded to (M+3H)³⁺ and (M+4H)⁴⁺ of an expected adduct with β-endorphin. The adduct was also confirmed by observation of an isotope spacing of 0.33 daltons for the triply charged adduct ion (<i>m/z</i> 1500) in the zoom scan mode. The same isotope spacing was also observed for the (M+3H)³⁺ ion of endorphin (<i>m/z</i> 1156). Studies with ESI-TOF MS further revealed the additional charged ions of the conjugate at <i>m/z</i> 750, 900, 1125, and 1500, which corresponded to the envelope charges from +6 to +3. An isotope spacing of 0.2 daltons detected for the (M+5H)⁵⁺ ion (<i>m/z</i> 900) of the conjugate also was observed for the corresponding endorphin ion. Overall, these results were consistent with the view that caspofungin degraded spontaneously to an intermediate capable of reacting with lysine residues.</p>	

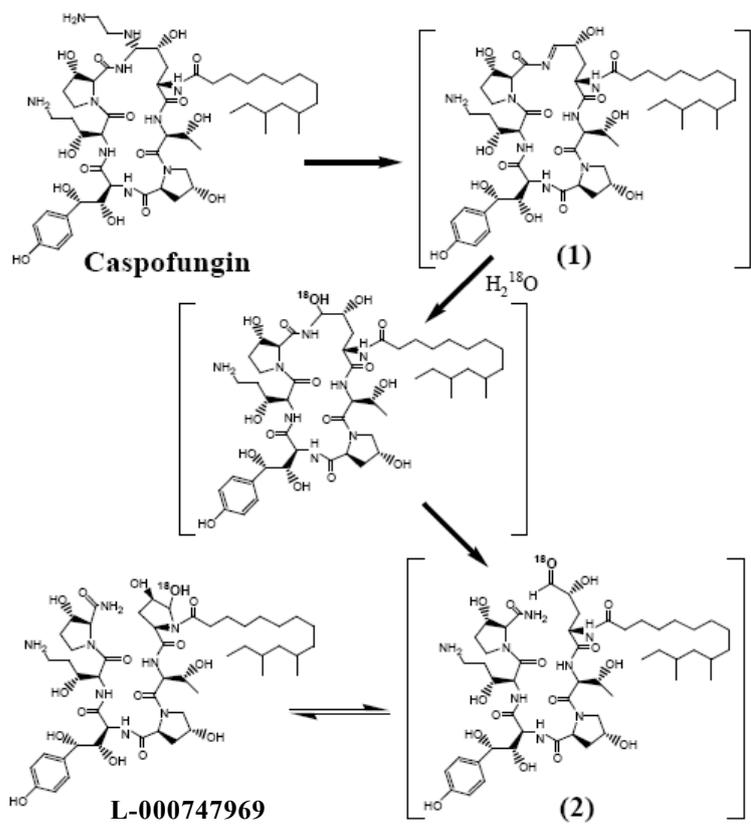
2.6.5.14.5 不可逆的結合（代謝物）

Location in CTD: [\[資料4.2.2.4.11: G20\]](#)

Type of Study	<i>In Vitro</i> Irreversible Protein Binding of L-000747969 in Monkeys and Humans	
Method	[³ H]L-000747969 (5 µg/mL) was incubated with monkey and human plasma. Radioactivity was removed from plasma proteins after exhaustive extraction of protein pellets with a strong acid and various organic solvents and determined by LSS.	
Species	Incubation Time (hr)	Irreversible Binding (pmol/mg protein, Mean ± S.D., n=3)
Monkey	0	1.75 ± 0.18
	24	48.0 ± 6.62
Human	0	1.89 ± 0.11
	24	41.0 ± 11.1
<p>Results: Irreversible binding of [³H]L-000747969 to plasma proteins was detected <i>in vitro</i>. Under similar incubation conditions (pH 7.4, 37°C, 24 hours), the extent of the irreversible binding of [³H]L-000747969 appeared to be higher than that for [³H]caspofungin (48 vs. 21 pmol/mg protein in monkeys and 41 vs. 11 pmol/mg protein in humans). This may be due to the expected reversible equilibrium of L-000747969 with the hydroxy aldehyde intermediate. In contrast, several steps would be involved in the formation of the hydroxy aldehyde intermediate from caspofungin.</p>		

2.6.5.15 反応性中間生成物

Location in CTD: [資料4.2.2.4.11: G20]

Type of Study	Identification of Reactive Intermediates
Method	<p>[³H]Caspofungin (100 µg/mL) was incubated with 5 mM glutathione (GSH) at 37°C for 24 hours. To demonstrate the involvement of imine mechanism, [³H]caspofungin (100 µg/mL) or L-000747969 (100 µg/mL) was incubated with 5 mM methoxylamine (NH₂OCH₃) at 37°C for 24 hours. The formation of adducts of GSH or methoxylamine was ascertained by LC-MS/MS and NMR.</p> <p>[³H]caspofungin (100 µg/mL) was incubated with H₂¹⁸O at 37°C for 24 hours to validate the proposed degradation pathway of caspofungin to L-000747969. The formation of ¹⁸O-L-000747969 was determined by LC-MS/MS.</p>
 <p>The diagram illustrates the proposed degradation pathway of caspofungin. It starts with the Caspofungin molecule. An arrow points to intermediate (1), which is a cyclic structure where the imine nitrogen is double-bonded to the carbon atom. From intermediate (1), an arrow labeled with H₂¹⁸O points to intermediate (2), where the oxygen atom at the imine position is labeled with ¹⁸O. A final arrow points from intermediate (2) to the L-000747969 molecule, which has the ¹⁸O label at the corresponding position.</p>	
<p>Results: The reaction of [³H]caspofungin with H₂¹⁸O and with GSH and methoxylamine in aqueous buffer resulted in the formation of [¹⁸O]L-000747969, and of GSH and methoxylamine adducts, respectively, as evidenced by MS/MS and NMR spectra of the products. Collectively, these results support the hypothesis that the spontaneous degradation of caspofungin to L-000747969 involves the formation of two potentially reactive intermediates which appear to bind irreversibly to plasma proteins via an imine or a nucleophilic addition mechanism.</p>	

カスポファンギン酢酸塩 注射剤
 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
 2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.16 マスバランス

Vehicle/ Formulation	Solution in Saline									
Method of Administration	Intravenous Administration									
Radionuclide	³ H									
Assay	LC-MS/MS, HPLC, LSS									
Species	Dose	Collection Interval (days)	Feces % of Dose	Urine % of Dose	% of Urinary Radioactivity					Location in CTD
					M1	M2	M4	L-000 747969	Caspo fungin	
Human [†]	70 mg	27	35	41	13	71	2	<1	9	[資料4.2.2.4.3: G15]
Monkey [‡]	2 mg/kg	10	30	36	-	-	-	-	-	[資料4.2.2.2.1: G1]
	5 mg/kg	28	36	45	40	42	10	<1	<1	[資料4.2.2.4.6: G13]
Rat [§]	2 mg/kg	12	29 [¶]	42 [#]	6	75	4	<1	3	[資料4.2.2.2.1: G1] [¶] [資料4.2.2.4.3: G15]
Rabbit	5 mg/kg	28	51	36 [#]	37	4	ND	<1	16	[資料4.2.2.4.5: G26]
<p>Results: Following I.V. administration of [³H]casprofungin, radioactivity was excreted very slowly and in roughly equal proportions into urine and feces in rat, rabbit, monkey and human. The incomplete recovery of radioactivity was attributed to the long t_{1/2}.</p> <p>[†] Quantitation of metabolites in urine was over 16 days.(~33% of the dose) [‡] Quantitation of metabolites in urine was over 7 days. [§] Quantitation of metabolites in urine was over 6 days from a 5 mg/kg study. Quantitation of metabolites in urine was from the 0-24 hr collection period. [¶] In a separate study in bile duct-cannulated rats, bile collected over 3 days showed the presence of casprofungin and L-000747969 in a ratio of 70:30. [#] Including radioactivity recovered in cage wash (rat: 4.1% and rabbit: 4.1%). ND: Not detected. -: No data</p>										

2.6.5.17 薬物相互作用

2.6.5.17.1 ワルファリンとの薬物相互作用

Location in CTD: [資料4.2.2.6.1: G28]

Type of Study	<i>In Vitro</i> Interaction: Effect on Protein Binding of Warfarin in Human Plasma	
Method	The percentage unbound for [³ H]-(R, S)-warfarin in the presence and absence of caspofungin was determined. The plasma protein binding study was carried out using an ultracentrifugation method. The radioactivity in each fraction was determined by LSS.	
Warfarin Concentration (μM)	Caspofungin Concentration (μM)	Percent Unbound Warfarin (%; Mean ± S.D., n=3)
7	0	1.08 ± 0.09
	1	1.01 ± 0.02
	10	1.00 ± 0.06
	25	0.98 ± 0.01
<p>Results: Over the concentration range tested, caspofungin had a minimal effect on the unbound fraction of warfarin in human plasma. In the presence of caspofungin (10 μM), the percentage unbound for warfarin was 1.00, which is slightly lower than the 1.08% observed in the absence of caspofungin. Peak plasma concentrations of caspofungin in humans following infusion of a therapeutic dose (70 mg loading dose on Day 1 followed by a 50 mg daily dose) are ~9 to 11 μM. At therapeutic doses, therefore, there would be only a relatively minor change in the unbound fraction of warfarin.</p>		

2.6.5.17.2 インジナビル及びケトコナゾールとの薬物相互作用

Location in CTD: [資料4.2.2.6.2: G21]

Type of Study	<i>In Vivo</i> Interaction of Caspofungin with Indinavir or Ketoconazole					
Method	Pharmacokinetics of caspofungin were evaluated in male rats that received caspofungin alone and coadministered with either indinavir or ketoconazole. In addition, the effect of caspofungin on absorption kinetics of indinavir and ketoconazole were assessed. Plasma concentrations of caspofungin were determined by RIA, and those of indinavir and ketoconazole were determined by HPLC.					
Treatment 1	Treatment 2	PK Parameters (Mean±S.D.)				
Administration	Coadministration	Assay drug	n	AUC (µM·hr)	C _{max} (µM)	T _{max} (min)
Caspofungin (2 mg/kg I.V.)	NA	Caspofungin	3-4	137 ± 4.8	NC	NC
Indinavir (10 mg/kg I.V., t.i.d. for Two Days)	Caspofungin (2 mg/kg I.V.)		3-4	128 ± 10	NC	NC
Ketoconazole (25 mg/kg P.O., b.i.d. for Two Days)	Caspofungin (2 mg/kg I.V.)		3-4	151 ± 16	NC	NC
Indinavir (20 mg/kg P.O.)	NA	Indinavir	4	3.46 ± 1.36	5.96 ± 2.05	20 ± 0
Indinavir (20 mg/kg P.O.)	Caspofungin (2 mg/kg I.V.)		4	4.91 ± 1.45	8.7 ± 3.40	15 ± 6
Ketoconazole (25 mg/kg P.O.)	NA	Ketoconazole	3	124.5 ± 47.2	54.6 ± 23.0	60 ± 30
Ketoconazole (25 mg/kg P.O.)	Caspofungin (2 mg/kg I.V.)		3	125.3 ± 77.3	53.6 ± 43.3	50 ± 8.7
<p>Results:</p> <p>The disposition of caspofungin was not affected by coadministration of indinavir (10 mg/kg, I.V. bolus, t.i.d. for 2 days) and ketoconazole (25 mg/kg, P.O., b.i.d. for 2 days) in rats, suggesting that caspofungin was not a competitive substrate for CYP3A.</p> <p>Also, Coadministration of caspofungin did not influence the oral kinetics of indinavir and ketoconazole, suggesting that caspofungin was not a potent CYP3A inhibitor.</p> <p>NA: Not applicable. NC: Not calculated.</p>						

2.6.5.17.3 アムホテリシン B との薬物相互作用

Location in CTD: [資料4.2.2.6.3: G22]

Type of Study	<i>In Vivo</i> Interaction of Caspofungin with Amphotericin B	
Method	The potential of drug-drug interaction between caspofungin and amphotericin B was assessed in male rats. In the study, three groups of rats were treated intravenously with either caspofungin alone, amphotericin B alone, or a combination of caspofungin and amphotericin B. The disposition kinetics of caspofungin and amphotericin B were determined on Day 14. Plasma concentrations of caspofungin and amphotericin B were determined by RIA and HPLC, respectively.	
Treatment	AUC _{0-24hr} (µg·hr/mL) (Mean ± S.D., n=6)	
	Caspofungin	Amphotericin B
Caspofungin Alone (2 mg/kg/day I.V. for 14 days)	63.9 ± 12.1	NA
Amphotericin B Alone (0.5 mg/kg/day I.V. for 14 days)	NA	2.55 ± 0.69
Caspofungin (2 mg/kg/day I.V. for 14 days) + Amphotericin B (0.5 mg/kg/day I.V. for 14 days)	55.4 ± 6.4	2.27 ± 0.43
Results:	Coadministration of AmB, an antifungal agent with known nephrotoxicity, did not influence the disposition kinetics of caspofungin in rats after multiple I.V. doses of caspofungin (2 mg/kg/day for 14 days) and AmB (0.5 mg/kg/day for 14 days).	
NA: Not applicable		

2.6.5.17.4 シクロスポリンとの薬物相互作用（単回投与）

Location in CTD: [資料4.2.2.6.4: G23]

Type of Study	<i>In Vivo</i> Interaction of Caspofungin with Cyclosporin (Single-Dose Study)			
Method	The effect of cyclosporin on the disposition of caspofungin was investigated in bile duct-cannulated rats (male) after a single I.V. dose of [³ H]caspofungin. Rats received either [³ H]caspofungin alone or in combination with cyclosporin. Radioactivity in plasma, urine, bile and liver homogenate was measured by LSS.			
Treatment (Mean ± S.D., n=3-5)	AUC _{0-24hr} (µg eq·hr/mL) †	Bile (% of Dose) §	Liver (% of Dose)	Urine (% of Dose) §
Caspofungin Alone (2 mg/kg, a Single I.V. Dose)	85.5 ± 9.15	5.14 ± 2.35	35.4 ± 2.90	8.80 ± 1.70
Caspofungin (2 mg/kg, a Single I.V. Dose) + Cyclosporin (50 mg/kg, P.O.) †	93.4 ± 14.6	4.03 ± 0.82	25.4¶ ± 1.55	8.53 ± 1.68
<p>Results: When rats were treated with a combination of [³H]caspofungin (2 mg/kg, I.V.) and cyclosporin (50 mg/kg, P.O.), plasma radioactivity in the coadministration group was slightly higher (9%) than that in the control group. The increase of plasma radioactivity was accompanied by a significant decrease in hepatic radioactivity and a slight decrease in biliary excretion of the radioactivity. The urinary excretion of the radioactivity was low (≤9%) and little difference was observed between these two different treatment groups.</p>				
<p>† The dosing solution was made by diluting the original solution with olive oil. ‡ AUC was determined based on the radioactivity. § Percent of radiolabeled dose excreted over a 24 hr period. Percent of radiolabeled dose recovered in the liver at 24 hr postdose. ¶ Statistically different from the control group (p<0.01).</p>				

2.6.5.17.5 シクロスポリンとの薬物相互作用（反復投与）

Location in CTD: [資料4.2.2.6.4: G23]

Type of Study	<i>In Vivo</i> Interaction of Caspofungin with Cyclosporin (Multiple-Dose Study)						
Method	Male rats were randomly divided into two treatment groups. In the first group, rats were dosed intravenously with caspofungin for 13 days, and on Day 14, [³ H]caspofungin was administered. In the second group, rats received concurrent oral administration of cyclosporin for 14 days. Blood samples were taken on Day 14 after administration of the last dose. At 24 hr after the last dose, livers were removed and homogenized. Plasma and liver concentrations of caspofungin were determined by HPLC and RIA, respectively. Radioactivity in plasma and liver homogenate was measured by LSS.						
Treatment	PK Parameters of Caspofungin on Day 14 (Mean ± S.D.)						
	n	Caspofungin			Total Radioactivity		
		Plasma C _{24hr} (µg/mL)	Liver C _{24hr} (µg/mL)	AUC _{0-24hr} (µg·hr/mL)	Plasma C _{24hr} (µg eq/mL)	Liver % of Dose	AUC _{0-24hr} (µg eq·hr/mL)
Caspofungin Alone (2 mg/kg/day I.V. for 14 days)	7	0.70 ± 0.09	49.9 ± 4.43	70.3 ± 3.64	0.98 ± 0.10	37.9 ± 2.30	69.7 ± 4.0
Caspofungin (2 mg/kg/day I.V. for 14 days) + Cyclosporin (10 mg/kg/day P.O for 14 days)	7	0.89 [†] ± 0.10	44.9 ± 4.32	81.8 [†] ± 6.92	1.33 [†] ± 0.13	31.0 [†] ± 1.08	82.0 [†] ± 7.1
Results: Following multiple-dose treatment, cyclosporin appeared to have a slight but significant effect on the disposition of caspofungin in rats. The Day 14 trough concentration and AUC _{0-24 hr} of unchanged caspofungin were 27 and 16% higher in the concurrent treatment group than those in the control group. The increase of plasma concentrations of caspofungin was accompanied by a modest decrease (~11%) of hepatic concentrations of caspofungin at 24 hours after the last dose. The effect of cyclosporin on the disposition of [³ H]caspofungin was further supported by the total radioactivity data, in that an increase (18%) of AUC _{0-24 hr} and a decrease (22%) of radioactivity in the liver at 24 hours postdose were detected. Following multiple doses of cyclosporin (10 mg/kg/day), the C _{max} of cyclosporin in rat plasma, occurring at 2 hours post the last dose, was about 2.4 µg/mL and the value was comparable to the clinical C _{max} of 2.1 µg/mL following a single oral dose of 800 mg in healthy volunteers, suggesting an adequate systemic exposure of cyclosporin in this study.							
† Statistically different from the control group (p<0.01).							

2.6.5.17.6 シクロスポリンとの薬物相互作用（肝蛋白結合率への影響）

Location in CTD: [\[資料4.2.2.6.4: G23\]](#)

Type of Study	Effect of Cyclosporin on the Hepatic Binding of Caspofungin		
Method	To explore potential mechanisms of the caspofungin-cyclosporin interaction, the effect of cyclosporin on the hepatic binding of caspofungin was investigated <i>in vitro</i> . The unbound fraction of [³ H]caspofungin in the absence and the presence of cyclosporin was determined by an ultracentrifugation method in rat liver homogenate (20% tissue in saline). Radioactivity in each fraction was measured by LSS.		
Caspofungin Concentration (µg/mL)	Cyclosporin Concentration (µg/mL)	Unbound Percent (%) of [³ H]-Caspofungin (Mean ± S.D., n=3)	
		Caspofungin Alone	Caspofungin + Cyclosporin
20	50	1.48 ± 0.05	1.65 ± 0.04
200	100	0.99 ± 0.05	1.00 ± 0.03
Results: Cyclosporin did not influence the protein binding of [³ H]caspofungin in the rat liver <i>in vitro</i> .			

2.6.5.18 その他の薬物動態試験

2.6.5.18.1 急性腎障害モデルラットでの体内動態

Location in CTD: [資料4.2.2.7.1: G24]

Type of Study	Disposition in Rats with Acute Renal Failure			
Method	A rat model of induced, acute renal failure (ARF) was used to investigate the potential effect of renal disease on the disposition of [³ H]caspofungin. Experimental ARF was induced by I.V. administration of uranyl nitrate. Following I.V. administration of [³ H]caspofungin (2 mg/kg) to the uranyl nitrate-treated male rats, plasma concentration of caspofungin and total radioactivity in plasma and urine were measured.			
PK Parameters (Mean ± S.D.)	n	Control	Treated with 2 mg/kg Uranyl Nitrate	Treated with 5 mg/kg Uranyl Nitrate
AUC _{0-48hr} (µg·hr/mL) † of Caspofungin	6	69.8 ± 9.49	76.2 ± 3.88	61.5 ± 5.16
Total Radioactivity in Urine (% of Dose)	Day 1 ‡	8.19 ± 2.68	5.85 ± 1.14	3.65 ± 1.46
	Day 2 ‡	8.54 ± 1.60	6.30 ± 1.35	5.78 ± 1.85
	Day 3 ‡	5.73 ± 1.58	4.53 ± 1.78	6.96 ± 2.43
	Total	6	22.5 ± 1.86	16.7 ± 3.91
Urinary Excretion of Caspofungin (% of Dose in 72 hr)	3	2.89 ± 2.41	2.62 ± 0.66	4.70 ± 1.03
<p>Results: Three days after I.V. administration of uranyl nitrate to rats, the blood urea nitrogen (BUN) levels increased three-fold at a dose of 2 mg/kg and twenty-fold at a dose of 5 mg/kg, indicating that the expected renal failure was produced. Following I.V. administration of [³H]caspofungin (2 mg/kg) to rats with ARF, plasma concentrations of caspofungin and total radioactivity were not significantly different from those in control rats. The AUC values of caspofungin were 69.9±9.48, 76.2±3.88, and 61.5±5.16 µg·hr/mL for control, 2 mg/kg uranyl nitrate-treated, and 5-mg/kg uranyl nitrate-treated rats, respectively. About 20% of the dose was recovered in urine, mostly as polar metabolites, over a collection period of 3 days. Only a modest decrease (<30%) in renal excretion of the radioactivity, without any change in that of caspofungin, was observed for the uranyl nitrate-treated rats. Results indicate that the disposition kinetics of caspofungin remained unaffected in rats with ARF.</p>				
<p>† The difference in AUC_{0-48 hr} values between the control and uranyl nitrate-treated rats (male) was not statistically significant (p>0.05). ‡ Days postdose</p>				