2.6.4　薬物動態試験の概要文

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 3
略号一覧 4
1 まとめ 5
2 分析法 6
2.1 放射性標識体 6
2.2 放射能の分析 7
2.3 代謝物の同定及び構造解析 7
2.4 血漿中ルキソリチニブ及び代謝物濃度の定量 7
3 吸収 8
3.1 *In vitro* 試験 8
3.2 単回投与における薬物動態 8
3.3 反復投与における薬物動態 10
4 分布 12
4.1 血球分布 12
4.2 組織分布 12
4.3 胎盤通過性 13
4.4 脳移行性 13
4.5 蛋白結合 13
5 代謝（動物種間の比較） 14
5.1 *In vitro* 代謝 14
5.2 *In vivo* 代謝 15
5.3 代謝物の曝露量（動物種間の比較） 20
6 排泄 20
6.1 尿，糞及び胆汁中への排泄 20
6.2 乳汁中への移行 21
7 薬物動態学的薬物相互作用 21
7.1 酵素阻害 21
7.2 酵素誘導 22
8 その他の薬物動態試験 22
9 考察及び結論 22

表 一 覧

Table 2-1 放射性標識ルキソリチニブの比放射能及び放射化学的純度 6
Table 2-2 血漿中ルキソリチニブの定量法 8
Table 3-1 ルキソリチニブを単回投与したときの薬物動態パラメータ 10
Table 3-2 無毒性量をマウス，ラット及びイヌに反復投与後の TK パラメータ 11
Table 3-3 ラット，マウス，イヌ及びヒトに反復投与後のルキソリチニブの曝露量 12
Table 5-1 *in vivo* で認められた代謝物（マウス，ラット，イヌ，ヒト） 17
Table 5-2 マウス，ラット，イヌ及びヒトにおけるルキソリチニブ代謝物の AUC 20

図 一 覧

Figure 2-1 放射性標識ルキソリチニブの構造式及び標識部位 6
Figure 5-1 ルキソリチニブの推定代謝経路 19

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ADME	absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
AUC	area under the drug concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
AUC0-24h	area under the drug concentration-time curve from time 0 to 24hours	0 時間から 24 時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
AUCinf	area under the drug concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間まで外挿した薬物濃度-時間曲線下面積
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティー
CL	clearance	クリアランス
Cmax	maximum drug concentration	最高薬物濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
GLP	Good Laboratory Practices	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー–タンデム質量分析法
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計測
Papp	apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
PXR	pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
T1/2	elimination half-life	消失半減期
Tmax	timet to reach the maximum drug concentration	最高薬物濃度到達時間
Vss	distribution volume at steady state	定常状態分布容積

1　　まとめ

ルキソリチニブのマウス（CD1 及び CByB6F1 Hybrid），ラット（Sprague-Dawley），ウサギ（New Zealand White），イヌ（ビーグル）及びサル（カニクイザル）における吸収，分布，代謝及び排泄（ADME）について，^{14}C-標識又は非標識ルキソリチニブを用いて *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。薬物動態試験は毒性試験と同一の動物種及び系統を用いた。

吸収

In vitro の Caco-2 細胞単層膜による検討から，ルキソチリニブは高膜透過性薬物と考えられた。マウス，ラット，イヌ及びサルに単回経口投与したときの Tmax は 0.5～2 時間であり，吸収は速やかであった。

マウス，イヌ及びヒトにおいてはルキソリチニブ投与後の曝露量に性差はみられなかったが，ラットでは雄に比べて雌の曝露が高く性差がみられた。経口バイオアベイラビリティーは 22%（サル）から 105%（雌ラット）であり，動物種により異なっていた。サルにおいて，胃内 pH の上昇はルキソリチニブの経口吸収性に影響を及ぼさなかった。

分布

ラットに ^{14}C-ルキソリチニブを経口投与したとき，放射能は広く組織に分布し，消化管，膀胱，腎皮質，腎髄質，肝臓，動脈及び副腎に高濃度の分布が認められた。有色ラットの皮膚及びブドウ膜からの消失が速やかであったことから，メラニンに対して不可逆的に結合しないと考えられる。血液脳関門を通過しての中枢神経系への移行はほとんど見られなかった。妊娠ラットにおいて，胎児対母動物血漿中濃度比及び胎児組織対母動物血漿中濃度比が 1 を下回り，胎児からの消失も速かった。

Ex vivo 血漿蛋白非結合率は濃度に依存せず，2.7～4.9%（マウス），18%（ラット），9.7%（イヌ）であった。ヒトの *in vitro* 血漿蛋白非結合率は 3.3%であった。

代謝

ヒト肝ミクロソーム及び組換えチトクローム P450（CYP）による *in vitro* での検討から，ルキソリチニブのヒトにおける代謝には主に CYP3A4 が関与しており，CYP2C9 及び CYP1A2 の寄与もあることが示唆された。

ルキソリチニブを経口投与したときの血漿中には，マウス，イヌ及びヒトでは未変化体が主に認められたが，ラットでは代謝物が主に見られた。マウス，ラット，イヌ及びヒトにおける主な代謝経路は酸化（水酸化体，ケトン体の生成）及びそれに続くグルクロン酸抱合であった。

ヒトにおける主な代謝物について，毒性試験で用いたマウス，ラット，イヌの無毒性用量における曝露量は，ヒト臨床用量での曝露量を上回っていた。

排泄

ラットにおいて，^{14}C-ルキソリチニブを経口投与後の放射能の排泄は速やかであり，24 時間までに投与量のほぼ 100%が排泄された。尿，胆汁及び糞中への 96 時間までの累積排泄率は，雄でそれぞれ 52%，37%及び 12%，雌で 45%，40%及び 20%であり，雌雄間で同様であった。イヌに ^{14}C-ルキソリチニブを経口投与後の放射能は，96 時間までに尿中に 34～36%，糞中に 55～58%が排泄され，雌雄間で同様であった。

授乳中のラットにおける検討から，ルキソリチニブ由来放射能の乳汁移行性は高いが消失は速やかであり，乳汁中への蓄積性は低いと考えられた。

薬物間相互作用

In vitro 阻害試験の結果，ルキソリチニブ及び主代謝物である M18 は，いずれもヒト主要 CYP に対する阻害作用はほとんど見られなかった。また，*in vivo* 及び *in vitro* の結果から，臨床用量において CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導する可能性は低いと考えられる。

2 分析法

2.1 放射性標識体

放射性標識ルキソリチニブは [redacted] 社又はノバルティス ファーマ社で合成されたものを使用した。[^{14}C]-標識ルキソリチニブの化学構造式と標識位置をFigure 2-1に示す。使用した標識体の放射化学的純度は 99%以上であった（Table 2-1）。

Figure 2-1 放射性標識ルキソリチニブの構造式及び標識部位

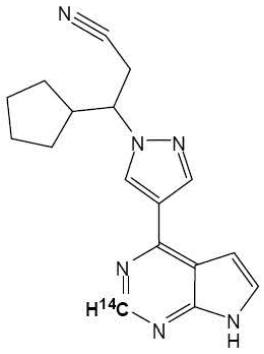


Table 2-1 放射性標識ルキソリチニブの比放射能及び放射化学的純度

ロット	比放射能	放射化学的純度
3562192	57.25 mCi/mmol	≥99.0%
3625229	59.98 mCi/mmol	99.5%
65359001	59.98 mCi/mmol	99.2%
RSE 532-2	5.321 MBq/mg (リン酸塩として)	>99.5%

2.2 放射能の分析

生体試料（血液，血漿，尿及び糞）中放射能は液体シンチレーション計測（LSC）により測定した。臓器及び組織内の放射能濃度は定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により測定した[Table 2.6.5.5A-INCYTE-DMB-07.109.1], [Table 2.6.5.5B-INCYTE-DMB-08.58.1]。

2.3 代謝物の同定及び構造解析

血漿，尿，糞及び胆汁中の代謝物は，放射能検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて定量した。代謝物の同定は液体クロマトグラフィー–タンデム質量分析法（LC-MS/MS），及び合成標準化合物との比較により実施した[Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-08.154.1], [Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-08.169.1], [Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-08.61.1], [Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-09.84.1], [Table 2.6.5.9B-INCYTE-DMB-08.149.1], [Table 2.6.5.9B-INCB 18424-134]

2.4 血漿中ルキソリチニブ及び代謝物濃度の定量

血漿中ルキソリチニブ濃度は，除蛋白又は液-液抽出による前処理後に LC-MS/MS で測定した[Table 2.6.5.2A-INCYTE-DMB-06.164.2], [Table 2.6.5.2B-INCYTE-DMB-07.56.1], [Table 2.6.5.2C-INCYTE-DMB-09.42.1], [Table 2.6.5.2C-INCYTE-DMB-09.42.2], [Table 2.6.5.2D-INCYTE-DMB-09.43.1], [Table 2.6.5.2D-INCYTE-DMB-09.43.2], [Table 2.6.5.2E-INCYTE-DMB-09.45.1], [Table 2.6.5.2E-INCYTE-DMB-09.45.2], [Table 2.6.5.2F-INCYTE-DMB-09.46.1], [Table 2.6.5.2G-INCYTE-DMB-09.44.2], [Table 2.6.5.2G-INCYTE-DMB-09.44.3]。ルキソリチニブの濃度測定法をTable 2-2に要約して示す。測定の内部標準物質として，開発初期にはルキソリチニブの類縁物質である INCB019203 を使用し，その後クロスバリデーションを実施して $^{13}C_4$-ルキソリチニブ（INCB028452）に変更した。クロスバリデーションの結果からいずれの内部標準物質を用いた場合も定量結果に影響はなく，ルキソリチニブ濃度の定量下限は 10 nmol/L（ラット，イヌ，ウサギ），25 nmol/L（マウス）であった。

さらに，蛋白結合性評価や非臨床 ADME 試験などの GLP 非適用試験では，[4.2.2.1-1-INCYTE-DMB-06.166.1]に示す定量下限 1 nmol/L の定量法を用いた。マウス，ラット，イヌにおける 8 種の代謝物（M7, M8, M9, M11, M16, M18 及び M27）の血漿中濃度は，ヒトにおいてバリデートされた[5.3.1.4-4-INCYTE-DMB-10.14.2]に示す定量下限 1 nmol/L の定量法を用いて測定した。

また，ルキソリチニブは-70℃ において，マウス血漿中で 116 日間，ラット及びイヌ血漿中で 489 日間，ウサギ血漿中で 811 日間の安定性が確認された。

Table 2-2　　血漿中ルキソリチニブの定量法

動物種	測定法	定量下限 (nmol/L)	内部標準物質	Source
ラット	LC-MS/MS	10	INCB019203	Table 2.6.5.2A-INCYTE-DMB-06.164.2
			INCB028452	Table 2.6.5.2C-INCYTE-DMB-09.42.1 Table 2.6.5.2C-INCYTE-DMB-09.42.2
イヌ	LC-MS/MS	10	INCB019203	Table 2.6.5.2B-INCYTE-DMB-07.56.1
			INCB028452	Table 2.6.5.2D-INCYTE-DMB-09.43.1 Table 2.6.5.2D-INCYTE-DMB-09.43.2
マウス(CD-1)	LC-MS/MS	25	INCB028452	Table 2.6.5.2E-INCYTE-DMB-09.45.1 Table 2.6.5.2E-INCYTE-DMB-09.45.2
マウス(Tg/Hairless)			INCB028452	Table 2.6.5.2F-INCYTE-DMB-09.46.1
ウサギ	LC-MS/MS	10	INCB028452	Table 2.6.5.2G-INCYTE-DMB-09.44.2 Table 2.6.5.2G-INCYTE-DMB-09.44.3

3　吸収

3.1　*In vitro* 試験

In vitro の Caco-2 細胞単層膜を用いた検討において，50 µmol/L におけるルキソリチニブの見かけの透過係数（Papp）は 21.5×10^{-6} cm/sec であり，高透過性化合物であるメトプロロール（17.4×10^{-6} cm/sec）よりも高かった[Table 2.6.5.15B-INCYTE-DMB-08.147.1]。また，検討した濃度（1～100 µmol/L）において Papp に濃度依存性が認められず，基底膜側から管腔側に対する管腔側から基底膜側の Papp 排出比はほぼ 1 であった。さらに，Papp は P-糖蛋白阻害剤の添加の影響を受けなかったことから，ルキソリチニブの Caco-2 細胞膜透過は受動的であり，P-糖蛋白などの輸送トランスポータの基質ではないと考えられた。

3.2　単回投与における薬物動態

ルキソリチニブを単回経口投与後の薬物動態について，雌雄 CD-1 マウス（15, 100 mg/kg），雌雄ラット（50 mg/kg），雄性ビーグルイヌ（10 mg/kg）及び雄性カニクイザル（10 mg/kg）を用いて検討した。また，単回静脈内投与後の薬物動態について，雌雄ラット（10 mg/kg），雄性ビークルイヌ（5 mg/kg）及び雄性カニクイザル（5 mg/kg）を用いて検討した。これらの試験では投与 0～24 時間後に採血を行い，血漿中濃度を測定して薬物動態パラメータを評価した（Table 3-1）

マウス

雌雄マウスにルキソリチニブを 15 及び 100 mg/kg の用量で単回経口投与したときの Tmax は，いずれの性別，用量でも 0.5 時間であった。15 mg/kg 及び 100 mg/kg における Cmax は，雄で 2.09 及び 39.8 µmol/L，雌で 1.76 及び 62.5 µmol/L であり，用量比を上回る増加を示した。この傾

向は AUC でも同様であり，15 mg/kg 及び 100 mg/kg における AUC は，雄で 2.64 及び 97.0 µmol·h/L，雌で 3.05 及び 168 µmol·h/L であった。消失半減期は 0.821～1.65 時間であり，短かった。

ラット

雌雄ラットにルキソリチニブを 50 mg/kg の用量で単回経口投与したときの Tmax は，雌雄いずれも 0.5 時間であった。Cmax 及び AUC の平均値は，雄で 2.24 µmol/L 及び 5.40 µmol·h/L であったのに対し，雌では 30.4 µmol/L 及び 39.3 µmol·h/L であり，雌の方が高かった。この性差の原因として，ラットでは雌に比べて雄の方が代謝を受けやすいことが考えられた（5.1 項）。

雌雄ラットにルキソリチニブを 10 mg/kg の用量で静脈内投与したときの全身クリアランスは，9.4 L/h/kg（雄）及び 4.8 L/h/kg（雌）と高く，分布容積は，3.8 L/kg（雄）及び 1.6 L/kg（雌）であった。消失半減期は，経口投与後で 1.7 時間（雄）及び 1.2 時間（雌）であり，静脈内投与後の 0.4 時間（雌雄）に比べて長かった。経口バイオアベイラビリティーの平均値は，雄で 29%であったのに対して，雌ではほぼ 100%であった。静脈内投与後の尿中未変化体排泄率は，雌雄ともに 1%未満であった。

イヌ

雄性ビーグルイヌにルキソリチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの Tmax は 2.0 時間であり，Cmax 及び AUC はそれぞれ 8.71 µmol/L 及び 38.9 µmol·h/L であった。また，雄性ビーグルイヌに 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの全身クリアランスは 0.48 L/h/kg であり，分布容積は 1.1 L/kg であった。経口投与後及び静脈内投与後の消失半減期は，いずれも約 2 時間であり，経口投与後のバイオアベイラビリティーは 57%であった。静脈内投与後の尿中未変化体排泄率は 1%未満であった。

サル

雄性カニクイザルにルキソリチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの Tmax は 1.7 時間であり，Cmax 及び AUC はそれぞれ 1.52 µmol/L 及び 8.05 µmol·h/L であった。また，5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの全身クリアランスは 0.91 L/h/kg であり，分布容積は 0.81 L/kg であった。経口投与後及び静脈内投与後の消失半減期は，それぞれ 1.5 時間及び 0.88 時間であり，経口投与後のバイオアベイラビリティーは 22%であった。静脈内投与後の尿中未変化体排泄率は 1%未満であった。

Table 3-1　　ルキソリチニブを単回投与したときの薬物動態パラメータ

投与経路	薬物動態パラメータ	マウス		マウス		ラット		イヌ	サル
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雄
i.v.	Dose (mg/kg)	-	-	-	-	10	10	5	5
	N	-	-	-	-	2	2	1	2
	CL(L/h/kg)	-	-	-	-	9.4	4.8	0.48	0.91
	AUCinf (µmol·h/L)	-	-	-	-	3.75	7.49	34.1	18.0
	Vss (L/kg)	-	-	-	-	3.8	1.6	1.1	0.81
	T1/2 (h)	-	-	-	-	0.41	0.43	2.5	0.88
	Fe(%)	-	-	-	-	< 1	< 1	< 1	< 1
p.o.	Dose (mg/kg)	15	15	100	100	50	50	10	10
	N	3[a]	3[a]	3[a]	3[a]	2	2	2	3
	Cmax (µmol/L)	2.09	1.76	39.8	62.5	2.24	30.4	8.71	1.52
	Tmax (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	2.0	1.7
	AUCinf (µmol·h/L)	2.64[b]	3.05[b]	97.0[b]	168[b]	5.40	39.3	38.9	8.05
	T1/2 (h)	0.899	0.821	0.938	1.65	1.7	1.2	2.2	1.5
	BA (%)	-	-	-	-	29	105	57	22

Source: Table 2.6.5.3A-INCYTE-DMB-08.170.1, Table 2.6.5.3A-INCYTE-DMB-06.169.1, Table 2.6.5.3A-INCYTE-DMB-06.182.1, Table 2.6.5.3A-INCYTE-DMB-07.08.1

-: Not studied
Fe : 尿中未変化体排泄率

a) 時点あたりの N 数

b) AUC0-24h

3.3　　反復投与における薬物動態

マウス，ラット，ウサギ及びイヌにルキソリチニブを反復経口投与後のトキシコキネティクスについて，反復投与毒性試験の一部として評価した。詳細は[2.6.6-3 項]，[2.6.6-5 項]に記載した。

ルキソリチニブは単回及び反復投与後のいずれにおいても速やかに吸収され，消失半減期は短かった。マウス及びイヌにおいて性差はほとんど認められないが，ラットでは性差が認められた。

マウス（CByB6F1 Hybrid）に 26 週間反復投与した試験において，投与 176 日目の AUC は用量比を上回って増加したが，Cmax は用量比例的又は用量比を下回る増加を示した。また，投与 1 日目と比較して，投与 176 日における Cmax 及び AUC は同様又は若干低下する傾向が見られた。

ラットに 4 週間又は 26 週間反復投与した試験において，AUC は概ね用量比例的又は用量比を上回る増加を示した。雄ラットの代謝能が雌に比べて高いことと一致して（5.1 項），雌ラットにおける Cmax 及び AUC は雄に比べて数倍高かった。4 週間の反復投与試験において，雄ラットに反復投与後の Cmax 及び AUC はすべての用量で投与 1 日目と同様であったが，雌ラットでは最高用量で AUC が約 1/2 に低下した。26 週間の反復投与試験における Cmax 及び AUC は，投与 1 日目に比べて投与 27 日目では同程度であったが，投与 176 日目では高かった。

ウサギにおいて妊娠 8 日目から 21 日目までルキソリチニブを反復投与したところ，反復投与後（妊娠 21 日目）の Cmax 及び AUC は用量比を上回る増加を示した。

イヌにおける 4 週，26 週，52 週の反復投与試験において，4 週間及び 26 週間反復投与後の Cmax は用量比例的又は用量比を下回る増加であったが，52 週間反復投与後では用量比を上回る増加を示した。AUC についてはいずれの期間反復投与した場合でも，用量比例的又は用量比を上回る増加であった。Cmax については最長 52 週間までの投与で顕著な累積は見られなかった。AUC については投与 1 日目と比較して 4 週投与後は同程度であったが，26 週及び 52 週投与後では高かった。

以上の結果から，ルキソリチニブは反復投与による顕著な累積は生じず，ラット，ウサギ及びイヌにおいては誘導も見られないと考えられた。一方，マウスにおいては一部の試験において酵素誘導が示唆されるデータが得られた。

マウス，ラット及びイヌにおける無毒性量での TK パラメータ（Table 3-2）及び臨床用量でのヒト曝露量との比較（Table 3-3）を示す。

Table 3-2　　無毒性量をマウス，ラット及びイヌに反復投与後の TK パラメータ

性	PK パラメータ	マウス	ラット		イヌ		
雄	Day	176	28	181	28	175	357
	Dose (mg/kg)	125	50	30	10	2.5	1.5
	Cmax (µmol/L)	24.4	1.17	0.445	4.82	3.01	0.630
	Tmax (h)	0.500	0.50	0.500	1.2	0.64	0.929
	AUC0-24h (µmol·h/L)	67.8	1.08	0.662	23.0	7.54	2.36
	T1/2(h)	1.39	ND	1.11	2.06	1.2	1.89
雌	Day	176	28	181	28	175	357
	Dose (mg/kg)	125	50	60	10	2.5	1.5
	Cmax (µmol/L)	13.1	3.51	6.11	4.51	3.48	0.844
	Tmax (h)	0.500	0.50	0.500	1.0	0.64	0.786
	AUC0-24h (µmol·h/L)	78.0	11.1	25.8	16.7	8.10	2.57
	T1/2 (h)	3.91	2.3	1.40	1.55	1.1	1.50

Source: 4.2.3.4.2-1-T09-02-03-Text Table 13, 4.2.3.2-3-T06-08-03-Appendix4-Table 1, Table 2, 4.2.3.2-5-T07-10-06-Text Table 4., 4.2.3.2-7-T06-11-03-Appendix16-Table 4, 4.2.3.2-8-T07-10-07-AppendixJ-Table 5, 4.2.3.2-9-T08-07-03-Toxicokinetic Report-Table 4, Table 5

ND: 算出不能

Table 3-3　　ラット，マウス，イヌ及びヒトに反復投与後のルキソリチニブの曝露量

動物種	性	用量[a]	Cmax		AUC	
			(nmol/L)	動物/ヒト	(nmol·h/L)	動物/ヒト
ヒト	男女	0.66	1481	-	8726	-
マウス	雄	125	24400	16.5	67800	7.8
	雌	125	13100	8.8	78000	8.9
ラット	雄	30	445	0.3	662	0.1
	雌	60	6110	4.1	25800	3.0
イヌ	雄	1.5	630	0.4	2360	0.3
	雌	1.5	844	0.6	2570	0.3

Source: 5.3.5.2-2-251 試験-Table 15, 4.2.3.4.2-1-T09-02-03-Text Table 13, 4.2.3.2-5-T07-10-06-Text Table 4., 4.2.3.2-9-T08-07-03-Toxicokinetic Report-Table 4, Table 5

動物データは 1 日 1 回投与終了時の値であり，Day176（マウス），Day181（ラット），Day357（イヌ）。

ヒトの AUC は 251 試験の 1 日 2 回投与後のデータから定常状態の AUC を外挿した。

a) 用量は最大臨床用量（ヒト）又は無毒性用量（動物）。ヒトの用量は平均体重を 75 kg として，最大臨床用量（50 mg/日）から算出した。

4　　分布

雌雄ラットに ^{14}C-ルキソリチニブを 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの組織分布を検討した。^{14}C-ルキソリチニブを単回投与後の放射能の血球分布について，マウス（50 mg/kg），イヌ（3 mg/kg）及びヒト（25 mg）で検討した。妊娠ラットに ^{14}C-ルキソリチニブを単回経口投与後の胎盤通過性について検討した。また，ラットに静脈内投与後の脳移行性についても検討した。

4.1　　血球分布

ラット（雄性 Sprague-Dawley，雌雄 Long-Evans）に ^{14}C-ルキソリチニブを経口投与したときの放射能の吸収は速やかであり，血液及び血漿中濃度は投与 1～2 時間後に最高となった[Table 2.6.5.5A-INCYTE-DMB-07.109.1], [Table 2.6.5.5B-INCYTE-DMB-08.58.1]。投与 24 時間後までの放射能の血液／血漿中濃度比は 0.9～1.0（Sprague-Dawley）及び 1.0～1.3（Long-Evans）であった。

4.2　　組織分布

ラット（雄性 Sprague-Dawley，雌雄 Long-Evans）に ^{14}C-ルキソリチニブを 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布について検討した[2.6.5.5A-INCYTE-DMB-07.109.1], [Table 2.6.5.5B-INCYTE-DMB-08.58.1]。投与された放射能は広く組織中に分布し，4 時間以内に最高濃度となった。Sprague-Dawley ラットにおいては，消化管，膀胱，腎皮質，腎髄質，肝臓，動脈及び副腎において高濃度の分布が認められた。投与 96 時間後には，動脈，皮膚及び肝臓で低濃度（Cmax の 2%以下）の放射能が見られたものの，それ以外の臓器では検出されなかった。Long-Evans ラットにおいては，消化管，尿，胆汁，ブドウ膜，肝臓，腎皮質，腎髄質，皮膚（有色）及び腎臓において高濃度の分布が認められた。血漿中濃度と同様に，組織中放射能の最高濃

度は雄ラットに比べて雌ラットで高い傾向が見られた。血液脳関門を通過しての中枢神経系（小脳，大脳，髄質，嗅葉，脊髄）への移行はほとんど見られなかった。生殖器に対するわずかな分布が見られたが，投与 8 時間後までにほぼ消失した。Long-Evans ラットの放射能の消失は速やかであり，ほとんどの組織で投与 24 時間後には検出下限を下回り，336 時間後に放射能が認められた組織はなかった。有色ラットである Long-Evans ラットの皮膚及びブドウ膜における消失が速やかであったことから，ルキソリチニブ由来の放射能はメラニンに対して不可逆的に結合しないと考えられる。

4.3 胎盤通過性

妊娠 13 日目及び 18 日目の雌ラット（Sprague-Dawley）に，^{14}C-ルキソリチニブを 30 mg/kg の用量で単回経口投与したときの，母動物及び胎児中の放射能分布について検討した[Table 2.6.5.7A-INCYTE-DMB-10.50.1]。

妊娠 13 日目と 18 日目の母動物の放射能分布パターンは同様であり，消化管内容物，胆汁及び尿中に最も高い濃度が見られた。母動物の血液及び血漿中放射能濃度は，投与 1 時間後に最高濃度となり，投与 24 時間後までに最高濃度の 1%程度に低下した。ほとんどの母動物組織及び胎児中の放射能濃度は，投与 1 時間後に最高濃度となり，その後時間経過とともに低下した。母動物で最高濃度が見られた臓器は，妊娠 13 日目及び 18 日目のいずれも肝臓，腎臓及び副腎であった。

妊娠 13 日目の胎児中放射能濃度は，投与 1 時間後に最高濃度となり，投与 8 時間後に定量下限未満となった。妊娠 18 日目の胎児組織中の最高放射能濃度は，肝臓，心臓及び腎臓で最も高かった。妊娠 13 日目の胎児対母動物血漿中濃度比及び妊娠 18 日目の胎児組織対母動物血漿中濃度比は，定量可能であったすべての組織で 1 を下回った。したがってルキソリチニブ由来の放射能の胎盤通過性は低く胎児からの消失も早いことから，胎児への曝露は大きくないと考えられた。

4.4 脳移行性

ラットにルキソリチニブを 3 mg/kg 静脈内瞬時投与した後，6 mg/kg を静脈内に 4 時間持続投与したときの脳移行性について検討した[Table 2.6.5.8-INCYTE-DMB-07.12.1]。4 時間持続投与後のルキソリチニブの脳中濃度は血漿中濃度の 8.2%であり，脳脊髄液中濃度は血漿中非結合型濃度（*ex vivo* 蛋白結合率で補正）の 8.0%であった。したがって，ラットにおける全身分布を検討した試験で中枢神経系への移行がほとんど見られなかったことと同様に（4.2 項），ルキソリチニブのラットにおける血液脳関門透過性は低いと考えられる。

4.5 蛋白結合

マウス（CByB6F1 Hybrid, CD-1, hairless），ラット，ウサギ，イヌ，サル及びヒトにおける *in vitro* 血漿及び血清蛋白結合について，平衡透析法により検討した。*In vitro* 血漿蛋白非結合率の平均値は，マウスにおいて 5.2%（CByB6F1 Hybrid），3.1%（CD-1），4.5%（hairless）であり，ラット，ウサギ（妊娠）及びイヌではそれぞれ 14%，12%及び 12%であった[Table 2.6.5.6A-

INCYTE-DMB-08.158.1], [Table 2.6.5.6A-INCYTE-DMB-08.191.1], [Table 2.6.5.6A-INCYTE DMB-09.62.1], [Table 2.6.5.6A-INCYTE-DMB-07.11.1], [Table 2.6.5.6A-INCYTE-DMB-09.61.1]。サルにおける蛋白結合は *in vitro* 血清のみで検討され，血清蛋白非結合率は 5.6%であった[Table 2.6.5.6B-INCYTE-DMB-07.11.1]。*Ex vivo* 血漿蛋白非結合率は 4.9%（マウス；CByB6F1 Hybrid），2.7%（マウス；CD-1），3.0%（マウス；hairless），18%（ラット），13%（妊娠ウサギ），9.7%（イヌ）であり，ルキソリチニブ濃度に依存しなかった（0.39～19.5 µmol/L）[Table 2.6.5.6C-INCYTE-DMB-08.158.1], [Table 2.6.5.6C-INCYTE-DMB-08.191.1], [Table 2.6.5.6C-INCYTE DMB-09.62.1], [Table 2.6.5.6C-INCYTE-DMB-07.11.1], [Table 2.6.5.6C-INCYTE-DMB-09.61.1]。ヒトにおける *in vitro* 血漿及び血清蛋白非結合率は 3.3%及び 3.2%であり，濃度に依存しなかった（3～10 µmol/L）[Table 2.6.5.6A-INCYTE-DMB-07.11.1], [Table 2.6.5.6B-INCYTE-DMB-07.11.1]。

5 代謝（動物種間の比較）

5.1 *In vitro* 代謝

ラットにルキソリチニブを投与後の曝露量に性差が見られたことから（3.2 項），ラット肝ミクロソーム及びラット組換え CYP を用いて，ラットにおける *in vitro* 代謝について検討した[Table 2.6.5.10A-INCYTE-DMB-07.01.2], [Table 2.6.5.10B-INCYTE-DMB-07.01.2]。ラット肝ミクロソームによる *in vitro* 代謝クリアランスは，雌（1.02 L/h/kg）に比べて雄（2.54 L/h/kg）で高かった。さらに，ルキソリチニブを組換え CYP と 60 分インキュベート後の未変化体残存率は，雄ラット特異的な分子種である CYP2C11, CYP2C13 及び CYP3A2 でそれぞれ 2%, 78%及び 2%であったが，雌ラット特異的な分子種である CYP2C12 では 101%であった。この結果は，ラット *in vivo* における曝露量が雄に比べて雌で高かったことと一致するものであった。さらに，雌雄いずれにも発現している分子種である CYP1A2, CYP2C6 及び CYP2D1 もルキソリチニブの代謝に関与していた。

ヒト肝ミクロソーム及びヒト組換え CYP を用いて，ヒトにおける *in vitro* 代謝について検討した[Table 2.6.5.10A-INCYTE-DMB-07.02.1], [Table 2.6.5.10B-INCYTE-DMB-07.02.1]。最初の検討では標準的な反応条件を用いたが，この条件では十分にルキソリチニブが十分に代謝されなかったため，より高いミクロソーム蛋白濃度（0.5 mg/mL から 2 mg/mL に変更）として再度検討した[Table 2.6.5.10B-INCYTE-DMB-09.93.1]。ルキソリチニブをヒト CYP 選択的阻害薬の存在下でヒト肝ミクロソームとインキュベートしたところ，CYP3A4 阻害薬であるケトコナゾールの存在下でルキソリチニブの代謝が阻害され，CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 の阻害薬の存在下ではあまり阻害されなかったことから，ルキソリチニブのヒトにおける代謝には主に CYP3A4 が関与していることが示唆された。さらに，ヒト肝ミクロソーム及びヒト組換え CYP を用いて詳細に検討した結果，ヒト肝ミクロソームによるルキソリチニブ代謝に対する CYP3A4

の寄与率は 75.1%であり，次いで CYP2C9（18.5%）も寄与していることが示唆された[Table 2.6.5.10C- DMPK R1100644]。

5.2 *In vivo* 代謝

^{14}C-ルキソリチニブをマウス，ラット，イヌ及びヒトに経口投与後の血液，胆汁，尿及び糞を用いて，放射検出器及び LC-MS/MS により *in vivo* 代謝プロファイルを検討し，代謝物の構造同定を行った。各動物種で見られた代謝物をTable 5-1に示し，推定代謝経路をFigure 5-1に示す。

ヒトに ^{14}C-ルキソリチニブを単回経口投与したときの血漿中には，未変化体以外に複数の代謝物が認められた。さらに，代謝物の一部は未変化体に比べて弱いものの薬理活性を有していたことから[2.7.2-3.6 項]，マウス，ラット及びイヌにおいて代謝物濃度を測定して，代謝物の曝露量をヒトに 25 mg 単回経口投与後の曝露量と比較した（5.3 項）。

マウス

マウス（CByB6F1 hybrid）に ^{14}C-ルキソリチニブを 50 mg/kg の用量で単回経口投与したときの代謝物プロファイルには，性差はほとんど見られなかった[Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-08.154.1]。循環血中に最も多く見られたのは未変化体であり，投与 0.25 時間後の血漿中放射能の 64%であった。代謝物で最も多く見られたのは M7 であり，次いで M18 及び M50 が多かった。尿糞中においても概ね血漿と同様の代謝物プロファイルを示し，主代謝物は M7 であった。尿糞中の未変化体はわずかであったことから，ルキソリチニブは代謝を受けやすいと考えられた。

^{14}C 標識体を用いた試験で用いた分析法では，各代謝物を十分に分離定量できなかったため，マウス（CByB6F1 hybrid）における 26 週のトキシコキネティクス試験において，125 mg/kg のルキソリチニブを投与したときの 8 種のヒト主要代謝物の曝露量について検討した（Table 5-2）。検討した代謝物の曝露量は 26 週反復投与後においても単回投与後とほぼ同程度であり，未変化体に対する AUC 比が 10%を超える M7，M18 及び M9 の AUC の総和（M7+M18+M9）は未変化体と同レベルであった。

ラット

雌雄ラット（Sprague-Dawley）に ^{14}C-ルキソリチニブを 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの代謝物プロファイルを検討した[Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB 08.169.1], [Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-09.84.1]。雌雄間で代謝物の量的な差は見られたが，雌雄ラットの代謝物プロファイルは同様であり，血漿中の主な成分は M8 及び M11 であった。さらに，ラットに ^{14}C-ルキソリチニブを 50 mg/kg 単回経口投与または 10 mg/kg 静脈内投与したときの尿糞及び胆汁中の代謝物を検討した[Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB 08.61.1]。雄ラットにおいて，経口及び静脈内投与後の排泄物中の代謝物プロファイルは同様であり，一又は複数の水酸化体，ケトン体及びそれに続くグルクロン抱合体及び硫酸抱合体などの代謝物が認められた。尿中に最も多く認められた代謝物は，雄で M7，雌で M8 及び M11 であったが，胆汁中に最も多かったのはグルクロン酸抱合体で

あった。糞中に最も多く認められた代謝物は雄で M7，雌で M8 であった。雄ラットにおいて，投与経路によらず排泄物中の未変化体は投与量の 2%未満であり，雌ラットに経口投与した場合も 1%未満であった。このことから，ルキソリチニブはラットにおいて非常に代謝を受けやすいと考えられる。

また，ラットに 30 mg/kg（雄）または 60 mg/kg（雌）の用量でルキソリチニブを単回経口投与したときの，8 種のヒト主要代謝物の曝露量について検討した（Table 5-2）。雌における未変化体の AUC は 30431 nmol·h/L であり，雄（1640 nmol·h/L）に比べて高かった。雌における 8 種の代謝物の AUC の総和は未変化体と同程度であったが，雄では未変化体の 11 倍高かった。しかし，雌雄における代謝物の AUC の総和は 17885 nmol·h/L（雄）及び 32466 nmol·h/L（雌）であり，2 倍未満の違いであった。雄において M14 以外の代謝物の AUC は未変化体の 10%以上であり，そのうち 4 種（M8, M11, M7, M9）は未変化体より AUC が大きかった。雌においては，最も高濃度であった M8 以外に M18，M11 及び M7 の AUC が未変化体の 10%以上であった。

イヌ

雌雄イヌに ^{14}C-ルキソリチニブを 3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの代謝物プロファイルを検討した[Table 2.6.5.9B-INCYTE-DMB-08.149.1]。投与 1 時間後の血漿中に最も多く見られた成分は未変化体であり，総放射能濃度の 27.3%（雄），31.0%（雌）であった。血漿中の代謝物プロファイルは雌雄で同様であり，未変化体の他に代謝物 M18 及び M39 が総放射能濃度の 10%を超える濃度で認められた。尿糞中の代謝物プロファイルは雌雄で同様であり，尿中に最も多く見られた代謝物は M37 であった。糞中に最も多く見られたのは未変化体であり，代謝物としては複数の代謝物の混合物と考えられるピーク及び M36 と M37 の混合ピークが多く認められた。

また，イヌに 1.5 mg/kg の用量でルキソリチニブを単回経口投与したときの，8 種のヒト主要代謝物の曝露量について検討した（Table 5-2）。血漿中の未変化体及び代謝物の曝露量は，雄に比べて雌で約 2 倍程度高かった。マウスと同様に，血漿中で最も多く見られたのは未変化体であり，未変化体に対する代謝物の曝露量比に性差は認められなかった。8 種の代謝物の AUC の総和は 983 nmol·h/L（雄）及び 1807 nmol·h/L（雌）であり，未変化体の AUC（雄：868 nmol·h/L，雌：1847 nmol·h/L）と同程度であった。最も多く見られた代謝物は M18 であり，次いで M27 が多く，未変化体に対する AUC 比が 10%以上であったが，それ以外の代謝物の未変化体に対する AUC 比は 10%未満であった。

ヒト

ヒトにおける代謝物プロファイル及び排泄パターンは，動物と概ね類似したものであった。ヒトに ^{14}C-ルキソリチニブを 25 mg の用量で経口投与したとき，血漿中に最も多く認められたのは未変化体であった[Table 2.6.5.9B-INCB 18424-134]。代謝物で最も多かったのは M18 であり，それ以外の代謝物は総放射能の AUC の 10%未満であった。ヒトで見られた代謝物は，一又は二水酸化体及びケトン体であった。

^{14}C 標識体を用いた試験で用いた分析法では，各代謝物を十分に分離定量できなかったため，thorough QT 試験においてヒトに 25 mg のルキソリチニブを投与したときの 8 種のヒト主要代謝物の曝露量について検討した（Table 5-2）。血漿中には最も多く認められたのは未変化体であり，測定したルキソリチニブ由来成分の AUC の 61%であった。ルキソリチニブ由来成分の AUC に対する比が 10%を超えた代謝物は M18 のみであった。

Table 5-1　　*in vivo* で認められた代謝物（マウス，ラット，イヌ，ヒト）

代謝物	構造	*m/z*	血漿	尿	糞	胆汁
M1	三水酸化+還元体	357		R		R
M1-B	三水酸化+還元体	357		R		R
M2	三水酸化+還元体	357		R		R
M2-B	三水酸化+還元体	357		R		R
M3	シクロペンチル-二水酸化体	339		R		
M4	シクロペンチル-二水酸化体	339		R	R	
M5	シクロペンチル-3 位-O-Glu 抱合体	499		R		R
M6	シクロペンチル-3 位-O-Glu 抱合体	499				R
M7	シクロペンチル-3 位水酸化体	323	M, R, D, H	M, R, H	M, R, D, H	R
M8	シクロペンチル-3 位水酸化体	323	M, R, D, H	M, R, D, H	M, R, D, H	
M9	シクロペンチル-3 位ケトン体	321	M, R, D, H	M, R, D	R, D	R
M10	シクロペンチル-3 位-O-Glu 抱合体	499				R
M11	シクロペンチル-3 位ケトン体	321	M, R, D, H	M, R, H	M, R, D, H	R
M12	シクロペンチル-2 位水酸化+還元体	325		R		
M13	二水酸化体	339		R		
M14	シクロペンチル-2 位水酸化体	323		R, D	R	
M15	シクロペンチル-3 位-O-Glu 抱合体	499				R
M16	シクロペンチル-3 位水酸化体	323	M, R, D, H	M, R, D, H	M, R, D, H	R
M17	シクロペンチル-3 位-O-Glu 抱合体	499		R		R
M18	シクロペンチル-2 位水酸化体	323	M, R, D, H	M, R, D	M, R, D, H	
M19	二水酸化+還元体	341		R	R	R
M20	シクロペンチル-水酸化+-PPP-水酸化体	339		R		
M21	シクロペンチル-水酸化+-PPP-水酸化体	339		R		
M22	シクロペンチル-3 位水酸化体の硫酸抱合体	403		R		
M23	CPP-三水酸化体	355			D	
M24	CPP-三水酸化体	355			D	
M25	CPP-O-Glu 抱合体	499		D		R
M26	CPP-O-Glu 抱合体	499		D		R
M27	シクロペンチル-3 位水酸化体	323	M, R, D, H	M, R, D, H	M, R, D, H	
M28	CPP-O-Glu 抱合体	499		D, H		R
M29	CPP-ケトン体	321			D	
M30	CPP-水酸化+ピロリジン水酸化体	339		D		
M31	シクロペンチル-2 位水酸化体	323	D	D	D, H	

代謝物	構造	*m/z*	血漿	尿	糞	胆汁
M32	CPP-水酸化体	323	D			
M34	CPP-O-Glu 抱合体	499	D			R
M35	CPP-二水酸化+ピロリジン水酸化体	355	R	D		
M36	CPP-二水酸化+ピロリジン水酸化体	355			D	
M37	CPP-水酸化+ピロリジン水酸化体	339	D	M, D, H	M, D	
M38	CPP-水酸化+ピロリジン水酸化体	339	H	D		
M39	ピロリジン酸化体	321	D			
M40	CPP-二水酸化+ピロリジン水酸化体	355		M	M	
M41	CPP-二水酸化体	339	R	M	M	
M42	CPP-二水酸化体	339		M		
M43	CPP-二水酸化体	339	R		H	
M44	CPP-水酸化体	323		H		
M45	CPP-二水酸化体	339			H	
M48	シクロペンチル-2 位水酸化体	323	R	M, R	M, R	
M49	ピロリジン-水酸化+ケトン体	339	H	R, H	H	
M50	ピロリジン-水酸化体	323	M	R	M	R
M50-B	ピロリジン-水酸化体	323	R	R		
M51	CPP-O-Glu 抱合体	499		H		
M52	酸化+脱シアノ体	312	R			
M53	シクロペンチル-不飽和化体	305	R			R
M54	構造不明	367	R			
	ルキソリチニブ未変化体	307	M, R, D, H	R, D, H	M, R, D, H	R

Source: Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-08.154.1, Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB 08.169.1, Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB-09.84.1, Table 2.6.5.9A-INCYTE-DMB 08.61.1, Table 2.6.5.9B-INCYTE-DMB-08.149.1, Table 2.6.5.9B-INCB 18424-134

^{14}C 標識体を投与後に見られた代謝物を示しており，M（マウス），R（ラット），D（イヌ），H（ヒト）

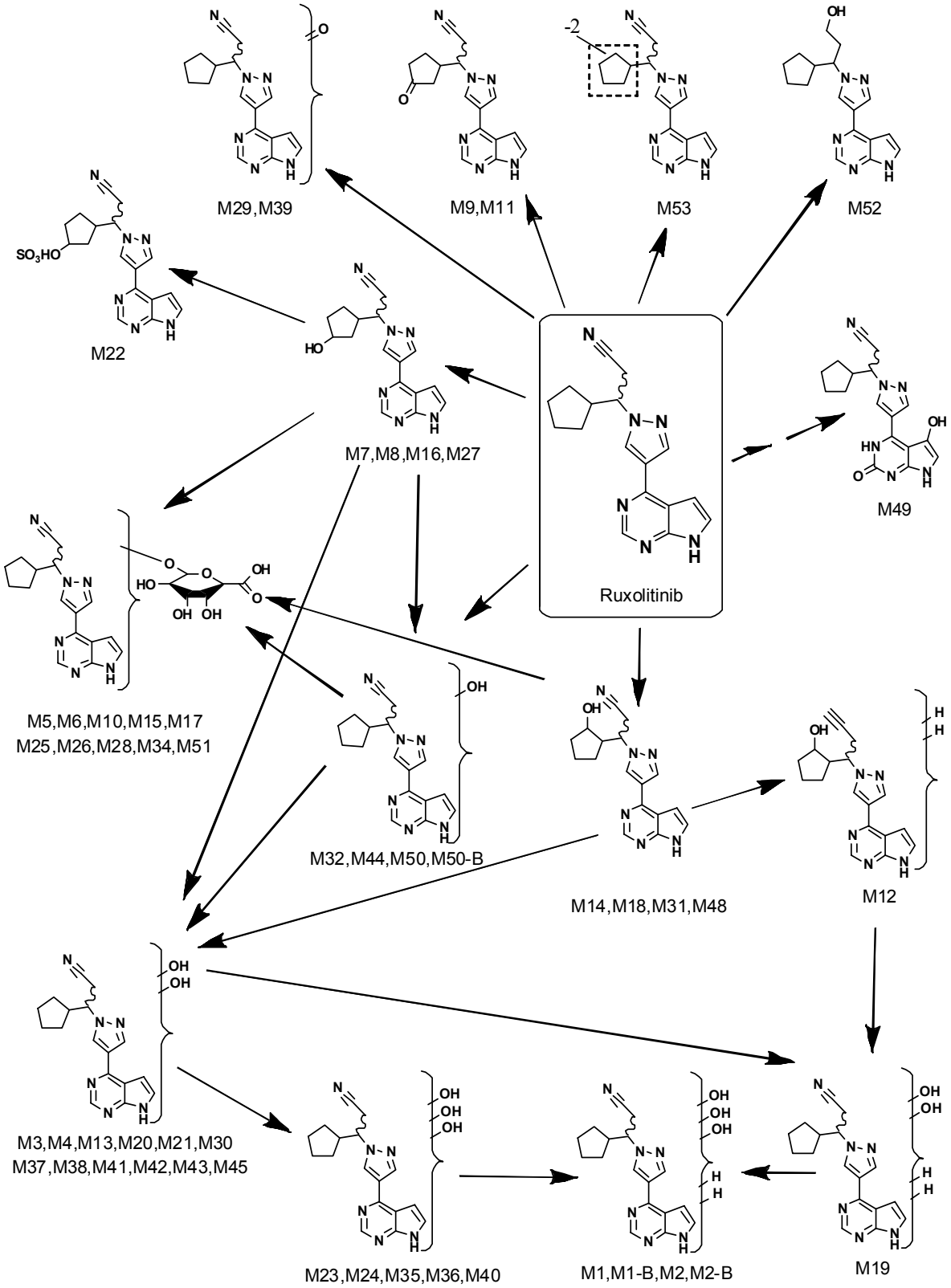
胆汁はラットのみで検討した。

Glu：グルクロン酸

PPP：pyrazolpyrolopyrimidine

CPP：cyclopentylpropanenitrile

Figure 5-1　　ルキソリチニブの推定代謝経路



5.3 代謝物の曝露量（動物種間の比較）

ルキソリチニブ 25 mg をヒトに単回経口投与したときの 8 種の代謝物(M7, M8, M9, M11, M14, M16, M18 及び M27)の AUCinf から，最大臨床用量である 1 日 2 回 25 mg 経口投与したときの定常状態における各代謝物の AUC0-24h の推定値を算出し，マウス，ラット，イヌにおける初回投与後の AUC0-24h と合わせて示した（Table 5-2）。

ルキソリチニブを雌雄マウス（125 mg/kg）又は雌ラット（60 mg/kg）に経口投与したときの 8 種の代謝物の AUC は，いずれも臨床用量（1 日 2 回 25 mg）におけるヒトの AUC を超えていた。一方，雄ラットに経口投与（30 mg/kg）したとき，M7, M8, M9, M11, M16, M27 の AUC はヒトを超えていたが，M14 及び M18 のヒトに対する AUC 比は 0.4 及び 0.3 であり，ヒトより曝露が低かった。雌雄イヌに経口投与（1.5 mg/kg）したときのヒトに対する AUC 比は，M9（雄で 0.3，雌で 0.5）及び M18（雌で 0.4）を除いて，いずれも 0.3 未満と低かった。

ヒトにおける主代謝物は，毒性試験で用いたいずれの動物種（マウス，ラット，イヌ）でも認められ，マウス及びラットではヒト臨床用量での曝露量を上回っていたことから，非臨床毒性試験においてルキソリチニブの代謝物も評価されていたと考えられる。

Table 5-2 マウス，ラット，イヌ及びヒトにおけるルキソリチニブ代謝物の AUC

代謝物	ヒト	マウス		ラット		イヌ	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
	25 mg	125 mg/kg	125 mg/kg	30 mg/kg	60 mg/kg	1.5 mg/kg	1.5 mg/kg
未変化体	10700	67135 (6)	116024 (11)	1640 (0.2)	30431 (3)	868 (0.1)	1847 (0.2)
M7	596	28369 (48)	47917 (80)	2480 (4)	3305 (6)	70.8 (0.1)	110 (0.2)
M8	834	3105 (4)	5132 (6)	6833 (8)	11202 (13)	35.6 (0.04)	75.9 (0.1)
M9	176	10415 (59)	18787 (107)	2212 (13)	2162 (12)	51.9 (0.3)	94.0 (0.5)
M11	922	5827 (6)	9264 (10)	3930 (4)	5252 (6)	42.7 (0.05)	119 (0.1)
M14	258	4414 (17)	6459 (25)	97.7 (0.4)	853 (3)	23.4 (0.1)	52.6 (0.2)
M16	248	899 (4)	1360 (5)	404 (2)	881 (4)	1.69 (0.01)	4.45 (0.02)
M18	2728	11693 (4)	22858 (8)	795 (0.3)	6816 (2)	673 (0.2)	1161 (0.4)
M27	1212	1891 (2)	3413 (3)	1133 (1)	1995 (2)	83.6 (0.07)	190 (0.2)

Source: 5.3.1.4-3-INCYTE-DMB-10.55.1-Table 2, 4.2.2.4-12-INCYTE-DMB-10.54.1-Table 2～Table 4
数値は AUC0-24h (単位：nmol·h/L)を示し，動物データのカッコ内はヒトに対する AUC 比（動物/ヒト）を示す。

6 排泄

6.1 尿，糞及び胆汁中への排泄

雄ラットにおいて，^{14}C-ルキソリチニブを投与後 96 時間までの尿，胆汁及び糞中への累積排泄率は，経口投与後で 52.0%，36.7%及び 11.9%，静脈内投与後で 48.8%，36.5%及び 11.8%であり，排泄経路は投与経路によらず同様であった[Table 2.6.5.13A-INCYTE-DMB-08.61.1]。雌ラットにおける経口投与後の尿，胆汁及び糞中への累積排泄率は，45.4%，39.5%及び 20.1%であり，雄と同

様であった[Table 2.6.5.13A-INCYTE-DMB-09.82.1]。雌雄ラットのいずれにおいても，投与後の消失は速やかであり，24 時間までに投与量のほぼ 100%が排泄された。

イヌにおいて，^{14}C-ルキソリチニブを経口投与後 96 時間までの尿糞中への累積排泄率は，雄で 34.4%（尿）及び 54.8%（糞），雌で 36.3%（尿）及び 57.9%（糞）であり，雌雄で同様であった[Table 2.6.5.13B-INCYTE-DMB-08.62.2]。また，ケージ回収液も含めた投与後 96 時間までの総累積回収率は 94.0%（雄）及び 96.1%（雌）であった。

ヒトに ^{14}C-ルキソリチニブを経口投与したとき，192 時間までの尿及び糞中排泄率は 74%及び 22%であり，総排泄率は 96%であった[Table 2.6.5.13B-INCB 18424-134]。ヒトにおける排泄は速やかであり，24 時間までに 70%以上が尿糞中に排泄された。

6.2 乳汁中への移行

授乳中のラットに ^{14}C-ルキソリチニブを経口投与したとき，血漿中及び乳汁中放射能濃度は投与後 1 時間及び 2 時間に最も高く，それぞれ 3.02 µg-eq/g，14.0 µg-eq/g であった[Table 2.6.5.7B-INCYTE-DMB-10.50.1]。血漿及び乳汁中の AUC は 10.8 µg-eq·h/g，145 µg-eq·h/g であり，乳汁/血漿中 AUC 比は 13.4 であったことから，ルキソリチニブ由来放射能の乳汁移行性は高いと考えられた。乳汁中の放射能は投与 2 時間後に最高濃度に到達した後速やかに低下したことから，乳汁中への蓄積性は低いと考えられた。乳汁中の半減期は 2.93 時間であり，血漿からの半減期（2.19 時間）とほぼ同様であった。

7 薬物動態学的薬物相互作用

7.1 酵素阻害

組換え CYP 又は肝ミクロソームにおいて，CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 及び CYP2D6 に対するルキソリチニブの阻害能は低く，IC50 濃度は 25 µmol/L 以上であった[Table 2.6.5.12A-INCYTE-DMB-07.13.1], [Table 2.6.5.12B-INCYTE-DMB-09.87.1]。CYP3A4 に対するルキソリチニブの阻害能については，組換え CYP を用いた場合には阻害が認められたが（IC50 =8.8 µmol/L），ヒト肝ミクロソームを用いた場合はほとんど阻害されなかった（IC50 >25 µmol/L）[Table 2.6.5.12B-INCYTE-DMB-09.71.1], [Table 2.6.5.12B-INCYTE-DMB-07.13.1]。さらに，ヒト肝ミクロソームとルキソリチニブを NADPH 存在下でプレインキュベートして時間依存的な阻害を検討した結果，ルキソリチニブは CYP3A4 に対する Mechanism-based 阻害剤ではなかった[Table 2.6.5.12D-INCYTE-DMB-09.92.1]。

主代謝物である M18 の阻害能について肝ミクロソームを用いて検討したところ，CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4 に対する IC50 は 3 µmol/L 以上であり，ほとんど阻害は見られなかった[Table 2.6.5.12C-INCYTE-DMB-11.07.1]。

7.2 酵素誘導

ラット及びヒトプレグナン X 受容体（PXR）アッセイ法を用いて,CYP3A 分子種に対するルキソリチニブの誘導能を検討した[Table 2.6.5.12E-INCYTE-DMB-07.05.1]。また，ヒト肝細胞を用いて，CYP1A2 及び CYP2B6 に対するルキソリチニブの誘導能を検討した[Table 2.6.5.12F-INCYTE-DMB-11.06.1]。

ラット PXR アッセイの結果，ルキソリチニブ濃度が 3～10 µmol/L の場合の CYP3A 遺伝子誘導は溶媒対照の 2 倍以内であったが，30 µmol/L では 4.8 倍の誘導がみられた。陽性対照である pregnenolone 16α-carbonitrile による誘導は 30 µmol/L で 20 倍であった。ヒト PXR アッセイの結果，ルキソリチニブ濃度が 3 µmol/L の場合の CYP3A4 遺伝子誘導は溶媒対照の 2 倍以内であったが，10 µmol/L 及び 30 µmol/L では 6 倍及び 10 倍の誘導がみられた。陽性対照であるリファンピンによる誘導は 30 µmol/L で 38 倍であった。

ヒト肝細胞を用いて CYP1A2 及び CYP2B6 に対するルキソリチニブの誘導能を検討したところ，いずれの分子種に対しても誘導は見られなかった。

以上の結果より，ルキソリチニブは CYP1A2 及び CYP2B6 を誘導しないが，ルキソリチニブ濃度が高い場合には CYP3A 分子種を誘導する可能性があることが示唆された。

8 その他の薬物動態試験

胃内 pH の影響

雄性カニクイザルにルキソリチニブを 2.5 mg/kg の用量で空腹下単回経口投与し（Day0），7 日間 Wash-out した後，ファモチジン（2 mg/kg 静脈内持続投与），炭酸カルシウム（500 mg 経口投与）で胃内 pH を上昇させてから再度ルキソリチニブを 2.5 mg/kg の用量で投与して（Day8），ルキソリチニブの吸収に及ぼす胃内 pH の影響を検討した[Table 2.6.5.15A-INCYTE-DMB-09.60.1]。

Day0 及び Day8 における AUC は 1630±184 nmol·h/L（Day0）及び 1373±394 nmol·h/L（day8）であり，Cmax は 294±140 nmol/L（Day0）及び 370±276 nmol/L（Day8）であった。また，Tmax 及び T1/2 も同様であったことから，ルキソリチニブの経口吸収性に対して胃内 pH の上昇は影響しないと考えられた。

9 考察及び結論

毒性試験動物種及びヒトにおいて，ルキソリチニブの吸収，分布，代謝，及び排泄について検討した。

マウス，ラット，イヌ及びサルにおける単回投与後の薬物動態試験から，ルキソリチニブは経口投与後速やかに吸収され，Tmax は 0.5～2 時間であった。経口バイオアベイラビリティーは 22～105%であり動物種により異なるが，これはクリアランスの種差によるものであり，経口吸収

率は良好と考えられる。静脈内及び経口投与後の半減期は短く，0.4 時間（ラット）～2.5 時間（イヌ）であった。

マウス，イヌ及びヒトにおけるルキソリチニブ投与後の未変化体及び代謝物の曝露量に性差は見られなかった。ラットに経口投与後の未変化体の曝露量には性差があり，雄に比べて雌が高かったが，これは代謝クリアランスの性差によるものと考えられた。

静脈内投与後の全身クリアランスは 0.48 L/h/kg（イヌ）～9.4 L/h/kg（雄ラット）と種差が認められた。また，定常状態分布容積は 3.8 L/kg（雄ラット），1.6 L/kg（雌ラット），1.1 L/kg（イヌ），0.81 L/kg（サル）であり，イヌ及びサルではルキソリチニブの分布容積は高くないことが示唆された。ラット胎盤通過性試験の結果，胎児対母動物血漿中濃度比，胎児組織対母動物血漿中濃度比が 1 を下回っていたことから，ルキソリチニブ由来の放射能の胎盤通過性は低く，胎児への曝露は大きくないと考えられた。授乳ラットに投与後の乳汁/血漿中 AUC 比は 13.4 であったことから，ルキソリチニブ由来放射能の乳汁移行性は高いが，乳汁からの消失は血漿と同様に速やかであると考えられた。血漿蛋白非結合率は動物種により異なり，3.1%（マウス）～14%（ラット）であり，ヒトでは 3.3%であった。

In vitro 試験の結果から，ルキソリチニブの代謝に関与する主な代謝酵素は，CYP3A4 と考えられる。ルキソリチニブ及び主代謝物である M18（シクロペンチル-2 位水酸化体）の CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4 に対する阻害能は低く（IC50 > 25 μmol/L），臨床においてこれらの CYP 分子種を介した薬物間相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。また，CYP1A2 及び CYP2B6 を誘導しないが，PXR アッセイから CYP3A 分子種に対する誘導能が示唆された。しかし，非臨床及び臨床試験からは反復投与による自己誘導を示唆する結果は得られておらず，ルキソリチニブが臨床において CYP3A4 を誘導する可能性は低いと考えられる。

マウス，ラット及びヒトに経口投与後の全身循環血中の主成分は未変化体であったが，ラットでは代謝物が多かった。ルキソリチニブは，主に代謝（酸化反応）によって消失すると考えられた。尿糞中の未変化体排泄率はいずれの動物種でも低かったことから，ルキソリチニブは非常に代謝を受けやすいことが示唆された。

ルキソリチニブをヒトに経口投与後の血漿中に最も多く認められたのは未変化体であり，測定したルキソリチニブ由来成分の AUC の約 60%であった。ヒト臨床用量での代謝物の曝露量と比較して，毒性試験で用いた動物種（マウス，ラット，イヌ）の無毒性用量における曝露量が上回っていたことから，非臨床毒性試験においてルキソリチニブの代謝物の毒性が適切に評価されていたと考えられる。

2.6.5　薬物動態試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 4
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧 5
2.6.5.2A　薬物動態試験：分析方法 8
2.6.5.2B　薬物動態試験：分析方法 9
2.6.5.2C　薬物動態試験：分析方法 10
2.6.5.2D　薬物動態試験：分析方法 11
2.6.5.2E　薬物動態試験：分析方法 12
2.6.5.2F　薬物動態試験：分析方法 13
2.6.5.2G　薬物動態試験：分析方法 14
2.6.5.3A　薬物動態試験：単回経口投与 15
2.6.5.3B　薬物動態試験：単回静脈内投与 16
2.6.5.4　薬物動態試験：反復投与後の吸収 17
2.6.5.5A　薬物動態試験：分布（ラット：Sprague-Dawley） 18
2.6.5.5B　薬物動態試験：分布（ラット：Long-Evans） 20
2.6.5.6A　薬物動態試験：*in vitro* 血漿蛋白結合 25
2.6.5.6B　薬物動態試験：*in vitro* 血清蛋白結合 26
2.6.5.6C　薬物動態試験：*Ex vivo* 血漿蛋白結合 27
2.6.5.7A　薬物動態試験：妊娠動物における試験（胎盤通過性） 28
2.6.5.7B　薬物動態試験：妊娠動物における試験（乳汁移行性） 32
2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験 - 脳及び脊髄液への分布 33
2.6.5.9A　薬物動態試験：*in vivo* における代謝 34
2.6.5.9B　薬物動態試験：*in vivo* における代謝 37
2.6.5.10A　薬物動態試験：*in vitro* における代謝（CYP 発現系） 39
2.6.5.10B　薬物動態試験：*in vitro* における代謝（肝ミクロソーム系） 40
2.6.5.10C　薬物動態試験：*in vitro* における代謝（肝ミクロソーム系） 41
2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路 42
2.6.5.12A　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（組換え CYP を用いた CYP 阻害） 43
2.6.5.12B　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害） 44
2.6.5.12C　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害） 45
2.6.5.12D　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（CYP3A4 阻害） 46
2.6.5.12E　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（CYP3A 誘導） 47
2.6.5.12F　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（CYP1A2,2B6 誘導） 48

2.6.5.13A　薬物動態試験：累積排泄 49
2.6.5.13B　薬物動態試験：累積排泄 50
2.6.5.14　薬物動態試験：胆汁中排泄 51
2.6.5.15A　薬物動態試験：薬物相互作用（吸収に及ぼす胃内 pH の影響） 52
2.6.5.15B　薬物動態試験：薬物相互作用（Caco-2 膜透過性） 53

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
AUC0-24h	area under the drug concentration-time curve from time 0 to 24hours	0 時間から 24 時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
AUCinf	area under the drug concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間まで外挿した薬物濃度-時間曲線下面積
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティー
BQL	below the lower limit of quantitation	定量下限未満
Cmax	maximum drug concentration	最高薬物濃度
CL	clearance	クリアランス
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
GLP	Good Laboratory Practices	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IC_{50}	concentration producing 50% inhibition	反応を 50%阻害する濃度
iv	intravenous	静脈内
Km,app	apparent Michaelis-Menten constant	みかけのミカエリス-メンテン定数
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー–タンデム質量分析法
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計測
PK	pharmacokinetics	薬物動態
Papp	apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
PXR	pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
QC	quality control	品質管理
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
T1/2	elimination half-life	消失半減期
Tmax	timet to reach the maximum drug concentration	最高薬物濃度到達時間
ULOQ	upper limit of quantification	定量上限
Vmax	velocity max	最大速度
Vss	distribution volume at steady state	定常状態分布容積

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧

Type of Study	Test system	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	GLP status	Location in CTD
Absorption and excretion	CD-1 mouse	oral	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-08.170.1]	Non GLP	4.2.2.2-1
Absorption and excretion	Rats	oral, iv	[redacted]	[INCYTE-DMB-06.169.1]	Non GLP	4.2.2.2-2
Absorption and excretion	Dogs	oral, iv		[INCYTE-DMB-06.182.1]	Non GLP	4.2.2.2-3
Absorption and excretion	Monkeys	oral, iv		[INCYTE-DMB-07.08.1]	Non GLP	4.2.2.2-4
Absorption with famotidine and calcium carbonate	Monkeys	oral		[INCYTE-DMB-09.60.1]	Non GLP	4.2.2.2-5
Absorption and excretion	Human	oral	[redacted]	[INCB 18424-134]	Non GLP	5.3.3.1-4
Single-dose tissue distribution	Rats (Sprague-Dawley)	oral		[INCYTE-DMB-07.109.1]	Non GLP	4.2.2.3-7
Single-dose tissue distribution	Rats (Long-Evans)	oral	[redacted]	[INCYTE-DMB-08.58.1]	Non GLP	4.2.2.3-8
Brain and CSF partitioning	Rats	iv	[redacted]	[INCYTE-DMB-07.12.1]	Non GLP	4.2.2.3-6
Placental transfer	Rats	oral		[INCYTE-DMB-10.50.1]	Non GLP	4.2.2.3-9
Plasma protein binding	Mice (TgRasH2)	*in vitro*, oral	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-08.158.1]	Non GLP	4.2.2.3-2
Plasma protein binding	Mice (CD-1)	*in vitro*, oral	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-08.191.1]	Non GLP	4.2.2.3-1
Plasma protein binding	Mice (hairless)	*in vitro*, oral	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.62.1]	Non GLP	4.2.2.3-5
Plasma protein binding	Rats, dogs, monkeys, humans	*in vitro*, oral	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-07.11.1]	Non GLP	4.2.2.3-3
Plasma protein binding	Rabbits	*in vitro*, oral	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.61.1]	Non GLP	4.2.2.3-4
In vitro metabolism	Rat	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-07.01.2]	Non GLP	4.2.2.4-1
In vitro metabolism	Human CYPs and liver microsomes	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-07.02.1]	Non GLP	5.3.2.2-3
In vitro metabolism	Human liver microsomes	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.93.1]	Non GLP	5.3.2.2-4
In vitro metabolism	Human liver microsomes	*in vitro*	Novartis Pharma AG	[DMPK R1100644]	Non GLP	5.3.2.2-2

2.6.5 薬物動態試験概要表

Type of Study	Test system	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	GLP status	Location in CTD
In vitro CYP inhibition	Human CYPs and liver microsomes	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-07.13.1]	Non GLP	5.3.2.2-5
In vitro CYP inhibition	Human CYPs	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.24.1]	Non GLP	5.3.2.2-6
In vitro CYP inhibition	Human liver microsomes	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.71.1]	Non GLP	5.3.2.2-7
In vitro CYP inhibition	Human liver microsomes	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.87.1]	Non GLP	5.3.2.2-8
In vitro CYP inhibition by M18	Human liver microsomes	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-11.07.1]	Non GLP	5.3.2.2-9
In vitro CYP inhibition	Human liver microsomes	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.92.1]	Non GLP	5.3.2.2-10
In vitro CYP induction	Rat and Human PXR	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-07.05.1]	Non GLP	5.3.2.2-11
In vitro CYP induction	Human hepatocytes	*in vitro*	[redacted]	[INCYTE-DMB-11.06.1]	Non GLP	5.3.2.2-12
Metabolites in plasma, urine and feces	Mice (TgRasH2)	oral	[redacted]	[INCYTE-DMB-08.154.1]	Non GLP	4.2.2.4-3
Metabolites in plasma	Rats	oral	[redacted]; Incyte Corp	[INCYTE-DMB-08.169.1]	Non GLP	4.2.2.4-5
Metabolites in plasma, bile, urine and feces	Rats	oral	[redacted]; Incyte Corp	[INCYTE-DMB-09.84.1]	Non GLP	4.2.2.4-6
Metabolites in urine, bile and feces	Rats	oral, iv	[redacted]	[INCYTE-DMB-08.61.1]	Non GLP	4.2.2.4-4
Metabolites in milk	Rats	oral	[redacted]; Incyte Corp.	[INCYTE-DMB-10.51.2]	Non GLP	4.2.2.4-10
Metabolites in plasma, urine and feces	Dogs	oral	[redacted]	[INCYTE-DMB-08.149.1]	Non GLP	4.2.2.4-9
Metabolites in plasma, urine and feces	Humans	oral	[redacted]	[INCB 18424-134]	Non GLP	5.3.3.1-4
Excretion mass balance	Rats	iv, oral	[redacted]	[INCYTE-DMB-08.61.1]	Non GLP	4.2.2.4-4
Excretion mass balance	Rats	oral	[redacted]	[INCYTE-DMB-09.82.1]	Non GLP	4.2.2.5-1
Excretion into milk	Rats	oral	[redacted]	[INCYTE-DMB-10.50.1]	Non GLP	4.2.2.3-9
Excretion mass balance	Dogs	oral	[redacted]	[INCYTE-DMB-08.62.2]	Non GLP	4.2.2.5-2

2.6.5 薬物動態試験概要表

Type of Study	Test system	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	GLP status	Location in CTD
Excretion mass balance	Humans	oral	[redacted]	[INCB 18424-134]	Non GLP	5.3.3.1-4
Drug interactions : permeability assessment	Caco-2 cells	*in vitro*	Incyte Corp	[INCYTE-DMB-08.147.1]	Non GLP	5.3.2.3-1

2.6.5.2A　薬物動態試験：分析方法

Test article: ruxolitinib

Study title:	Method validation for the quantitation of INCB018424 in rat plasma by turbo ion spray LC/MS/MS
GLP compliance:	Not required
Report number:	[INCYTE-DMB-06.164.2]
Location in CTD:	4.2.2.1-5
Species, Matrix:	Rat, Plasma
Method description:	Protein precipitation and LC-MS/MS analysis
Substance analyzed:	ruxolitinib
Internal Standard:	INCB019203
Results:	
Assay Range	0.010 ~ 10.0 µmol/L using 50 µL of plasma.
Accuracy	93.1 ~ 111% (Intra-day), 95.7 ~ 109% (Inter-day)
Precision	1.6 ~ 14.9% (Intra-day), 4.9 ~ 9.6% (Inter-day)
Stability	Stock solution: -0.7% after storage for 82 days at 2 ~ 8°C.
	Extracted Sample: 95.9 ~ 107% after storage for 1 day at room temperature
	QC sample: -2.0 ~ 0.0% difference after 24 hours at room temperature
	-3.1 ~ 0.9% difference after three freeze/thaw cycles from -70°C to room temperature

2.6.5.2B　薬物動態試験：分析方法

Test article: ruxolitinib

Study title:	Method validation for the quantitation of INCB018424 in dog plasma by turbo ion spray LC/MS/MS
GLP compliance:	Not required
Report number:	[INCYTE-DMB-07.56.1]
Location in CTD:	4.2.2.1-8
Species, Matrix:	Dog, Plasma
Method description:	Protein precipitation and LC-MS/MS analysis
Substance analyzed:	ruxolitinib
Internal Standard:	INCB019203
Results:	
Assay Range	0.010 ~ 10.0 µmol/L using 50 µL of plasma.
Accuracy	97.4 ~ 105% (Intra-day), 100 ~ 102% (Inter-day)
Precision	2.5 ~ 8.8% (Intra-day), 3.9 ~ 6.8% (Inter-day)
Stability	Stock solution: -0.7% after storage for 82 days at 2 ~ 8°C. Extracted Sample: 100 ~ 105% after storage for 1 day at room temperature QC sample: -3.0 ~ -2.0% difference after 24 hours at room temperature -1.6 ~ -1.0% difference after three freeze/thaw cycles from -70°C to room temperature

2.6.5.2C　薬物動態試験：分析方法

Test article: ruxolitinib

Study title:	Abbreviated method validation for the quantitation of INCB018424 in rat plasma by turbo ion spray LC/MS/MS
GLP compliance:	Not required
Report number:	[INCYTE-DMB-09.42.1], [INCYTE-DMB-09.42.2]
Location in CTD:	4.2.2.1-6, 4.2.2.1-7
Species, Matrix:	Rat, Plasma
Method description:	Protein precipitation and LC-MS/MS analysis
Substance analyzed:	ruxolitinib
Internal Standard:	INCB028452 ($^{13}C_4$-ruxolitinib)
Results:	
Assay Range	0.010 ~ 10.0 µmol/L using 50 µL of plasma.
Accuracy	90.3 ~ 102% (Intra-day), 96.8 ~ 98.7% (Inter-day)
Precision	1.1 ~ 4.0% (Intra-day), 3.5 ~ 5.9% (Inter-day)
Stability	Extracted Sample: 98.8 ~ 105% after storage for 1 day at room temperature
	QC sample: 1.50~ 2.78% difference after 489 days at -70°C

追記: 内部標準物質を ^{13}C-安定同位体に変更したため，INCYTE-DMB-06.164.2 (2.6.5.2A) の追加試験として実施

2.6.5.2D　薬物動態試験：分析方法

Test article: ruxolitinib

Study title:	Abbreviated method validation for the quantitation of INCB018424 in dog plasma by turbo ion spray LC/MS/MS
GLP compliance:	Not required
Report number:	[INCYTE-DMB-09.43.1], [INCYTE-DMB-09.43.2]
Location in CTD:	4.2.2.1-9, 4.2.2.1-10
Species, Matrix:	Dog, Plasma
Method description:	Protein precipitation and LC-MS/MS analysis
Substance analyzed:	ruxolitinib
Internal Standard:	INCB028452 ($^{13}C_4$-ruxolitinib)
Results:	
Assay Range	0.010 ~ 10.0 µmol/L using 50 µL of plasma.
Accuracy	93.4 ~ 117% (Intra-day), 97.0 ~ 108% (Inter-day)
Precision	0.9 ~ 5.5% (Intra-day), 2.7 ~ 8.6% (Inter-day)
Stability	Extracted Sample: 99.5 ~ 105% after storage for 1 day at room temperature
	QC sample: -0.33 ~ 2.78% difference after 489 days at -70°C

追記:内部標準物質を ^{13}C-安定同位体に変更したため，INCYTE-DMB-07.56.1 (2.6.5.2B) の追加試験として実施

2.6.5.2E　薬物動態試験：分析方法

Test article: ruxolitinib

Study title:	Method validation for the quantitation of INCB018424 in CD-1 mouse plasma by turbo ion spray LC/MS/MS
GLP compliance:	Not required
Report number:	[INCYTE-DMB-09.45.1], [INCYTE-DMB-09.45.2]
Location in CTD:	4.2.2.1-2, 4.2.2.1-3
Species, Matrix:	Mouse (CD-1), Plasma
Method description:	Liquid/liquid extraction using methyl t-butyl ether (MTBE)/$NaHCO_3$ and LC-MS/MS analysis
Substance analyzed:	ruxolitinib
Internal Standard:	INCB028452 ($^{13}C_4$-ruxolitinib)
Results:	
Assay Range	0.025 ~ 25.0 µmol/L using 50 µL of plasma.
Accuracy	92.5 ~ 103% (Intra-day), 93.4 ~ 101% (Inter-day)
Precision	1.2 ~ 5.7% (Intra-day), 1.8 ~ 5.0% (Inter-day)
Stability	Stock solution: 4.2% after storage for 391 days at 2 ~ 8°C.
	Extracted Sample: 96.5 ~ 107% after storage for 54 days at room temperature
	QC sample: -0.1 ~ 0.2% difference after 24 hours at room temperature
	0.7 ~ 1.6% difference after three freeze/thaw cycles from -70°C to room temperature
	-1.57 ~ 2.61% difference after 116 days at -70°C

2.6.5.2F　薬物動態試験：分析方法

Test article: ruxolitinib

Study title:	Method validation for the quantitation of INCB018424 in transgenic (CByB6F1) and hairless mouse plasma by turbo ion spray LC/MS/MS
GLP compliance:	Not required
Report number:	[INCYTE-DMB-09.46.1]
Location in CTD:	4.2.2.1-4
Species, Matrix:	Mouse (transgenic (CByB6F1) / hairless), Plasma
Method description:	Liquid/liquid extraction using methyl t-butyl ether (MTBE) /$NaHCO_3$ and LC-MS/MS analysis
Substance analyzed:	ruxolitinib
Internal Standard:	INCB028452 ($^{13}C_4$-ruxolitinib)
Results:	
Assay Range	0.025 ~ 25.0 µmol/L using 50 µL of plasma.
Accuracy	Transgenic(CByB6F1) :96.6 ~ 107% (Intra-day)
	Hairless: 94.8 ~ 110% (Intra-day)
Precision	Transgenic(CByB6F1) :2.3 ~ 6.5% (Intra-day)
	Hairless: 2.0 ~ 3.8% (Intra-day)
Stability	Transgenic(CByB6F1) :
	QC sample: -11.7 ~ -3.2% difference after 24 hours at room temperature
	-4.1 ~ 3.0% difference after three freeze/thaw cycles from -70°C to room temperature
	Hairless :
	QC sample: -5.6 ~ 3.3% difference after 24 hours at room temperature
	-4.7 ~ 3.9% difference after three freeze/thaw cycles from -70°C to room temperature

追記: INCYTE-DMB-09.45.1 (2.6.5.2E) のクロスバリデーション試験として実施

2.6.5.2G　薬物動態試験：分析方法

Test article: ruxolitinib

Study title:	Method validation for the quantitation of INCB018424 in rabbit plasma by turbo ion spray LC/MS/MS
GLP compliance:	Not required
Report number:	[INCYTE-DMB-09.44.2], [INCYTE-DMB-09.44.3]
Location in CTD:	4.2.2.1-11, 4.2.2.1-12
Species, Matrix:	Rabbit, Plasma
Method description:	Protein precipitation and LC-MS/MS analysis
Substance analyzed:	ruxolitinib
Internal Standard:	INCB028452 ($^{13}C_4$-ruxolitinib)
Results:	
Assay Range	0.010 ~ 10.0 µmol/L using 50 µL of plasma.
Accuracy	95.2 ~ 106% (Intra-day), 96.7 ~ 105% (Inter-day)
Precision	0.5 ~ 5.4% (Intra-day), 1.3 ~ 4.7% (Inter-day)
Stability	QC sample: -0.7 ~ -1.8% difference after 24 hours at room temperature 5.83 ~ 10.3% difference after 811 days at -70°C

2.6.5.3A 薬物動態試験：単回経口投与

Test article: ruxolitinib / [^{14}C] ruxolitinib

	CD-1 Mouse				Rat		Dog	Monkey	Human
Report Number:	[INCYTE-DMB-08.170.1]				[INCYTE-DMB-06.169.1]		[INCYTE-DMB-06.182.1]	[INCYTE-DMB-07.08.1]	[INCB 18424-134]
GLP compliance:	Not required				Not required		Not required	Not required	Not required
Location in CTD:	4.2.2.2-1				4.2.2.2-2		4.2.2.2-3	4.2.2.2-4	5.3.3.1-4
Gender / number of animals:	Male/3[a]	Female/3[a]	Male/3[a]	Female/3[a]	Male/2	Female/2	Male/2	Male/3	Male/6
Feeding condition:	Fasted				Fasted		Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle / Formulation:	Suspension / 0.5% methylcellulose				Suspension / 0.5% methylcellulose		Solution / 0.5% methylcelluose	Solution/0.2% Tween-20 in 0.5% methylcellulose	Solution / Water
Method of administration:	oral				oral		oral	oral	oral
Dose:	15 mg/kg		100 mg/kg		50 mg/kg		10 mg/kg	10 mg/kg	25 mg
Sample:	Plasma				Plasma		Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	ruxolitinib				ruxolitinib		ruxolitinib	ruxolitinib	ruxolitinib
Assay:	LC-MS/MS				LC-MS/MS		LC-MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK parameters									
Tmax (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	2.0	1.7	0.63
Cmax (µmol/L)	2.09	1.76	39.8	62.5	2.24	30.4	8.71	1.52	1.09
AUCinf (µmol·h/L)	2.64[b]	3.05[b]	97.0[b]	168[b]	5.40	39.3	38.9	8.05	3.20
T1/2(h)	0.899	0.821	0.938	1.65	1.7	1.2	2.2	1.5	2.3
BA (%)	NS	NS	NS	NS	29	105	57	22	NS

NS:not studied

a) per time point (21 total)

b) AUC0-24h

2.6.5.3B　薬物動態試験：単回静脈内投与

Test article: ruxolitinib

	Rat		Dog	Monkey
Report Number:	[INCYTE-DMB-06.169.1]		[INCYTE-DMB-06.182.1]	[INCYTE-DMB-07.08.1]
GLP compliance:	Not required		Not required	Not required
Location in CTD:	4.2.2.2-2		4.2.2.2-3	4.2.2.2-4
Gender / number of animals:	Male/2	Female/2	Male/1	Male/2
Feeding condition:	Fasted		Fasted	Fasted
Vehicle / Formulation:	Solution/2.0 mg/mL in 10% dimethyl acetamide, 30% SBE-beta-cyclodextrin (50% w/v) and 60% saline		Solution/1 mg/mL in saline	Solution/1 mg/mL in 10% dimethyl acetamide, 30% hydroxypropyl beta-cyclodextrin (45% w/v) and 60% normal saline
Method of administration:	iv		iv	iv
Dose:	10 mg/kg		5 mg/kg	5 mg/kg
Sample:	Plasma		Plasma	Plasma
Analyte:	ruxolitinib		ruxolitinib	ruxolitinib
Assay:	LC-MS/MS		LC-MS	LC-MS/MS
PK parameters				
CL (L/h/kg)	9.4	4.8	0.48	0.91
Vss (L/kg)	3.8	1.6	1.1	0.81
AUCinf (μmol·h/L)	3.75	7.49	34.1	18.0
T1/2 (h)	0.41	0.43	2.5	0.88
% dose in urine as unchanged	< 1	< 1	< 1	< 1

2.6.5.4　薬物動態試験：反復投与後の吸収

反復投与試験はトキシコキネティクス試験として実施しており，[2.6.7.2 項]及び[2.6.7.3 項]に記載した。

2.6.5.5A　薬物動態試験：分布（ラット：Sprague-Dawley）

Test article: [^{14}C]ruxolitinib

Study title:	Quantitative whole-body autoradioluminography tissue distribution of ^{14}C-INCB018424 in Sprague Dawley rats following a single oral dose
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-07.109.1]
Location in CTD:	4.2.2.3-7
Species, strain:	Rat (Sprague-Dawley)
Gender / number of animals:	Male/10 (2/time point for blood and plasma; 1/time point for QWBA)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle / formulation:	Solution/0.5% methylcellulose in water
Method of administration:	oral
Dose (mg/kg):	25
Radionuclide:	^{14}C
Specific activity:	57.25 mCi/mmol
Analyte / assay:	Total radioactivity / QWBA for tissue slices, LSC for blood and plasma
Sampling time:	1, 4, 24, 48 and 96 h

	Concentration (µg-eq/g)				
Tissues / organs:	1 h	4 h	24 h	48 h	96 h
Aorta	23.907	4.749	0.852	1.106	0.509
Blood (cardiac-QWBA)	8.436	1.153	BQL	BQL	BQL
Blood (cardiac-LSC)	6.232	0.786	0.044	BQL	BQL
Plasma (LSC)	6.266	0.783	0.049	BQL	BQL
Bone Marrow	7.206	0.768	BQL	BQL	BQL
Bile (in duct)	965.632	31.960	2.376	BQL	BQL
Renal Cortex	60.112	13.922	0.446	0.125	BQL
Renal Medulla	42.559	5.149	BQL	BQL	BQL
Liver	40.696	9.668	0.638	0.407	0.141
Urinary Bladder	142.539	2.535	BQL	BQL	BQL
Urinary Bladder Contents	3337[a]	179.857	1.220	0.262	BQL

2.6.5 薬物動態試験概要表

Tissues / organs:	1 h	4 h	24 h	48 h	96 h
Adrenal Gland	20.665	2.652	BQL	BQL	BQL
Pancreas	10.246	1.188	BQL	BQL	BQL
Adipose (brown)	8.372	1.074	BQL	BQL	BQL
Adipose (white)	1.912	0.149	BQL	BQL	BQL
Skin	13.435	5.481	1.881	0.421	0.218
Skeletal Muscle	8.595	0.914	BQL	BQL	BQL
Lung	9.369	0.993	BQL	BQL	BQL
Cecum	13.367	2.185	1.661	0.146	BQL
Cecum Contents	22.669	403.574	51.103	3.131	0.196
Stomach (gastric mucosa)	20.846	1.025	0.179	BQL	BQL
Stomach Contents	739.442	55.245	74.880	0.459	BQL
Duodenum	501.183	18.051	0.484	BQL	BQL
Duodenum Contents	2377[a]	152.051	4.551	0.193	BQL
Jejunum	67.482	142.962	0.450	BQL	BQL
Jejunum Contents	348.328	5813[a]	13.759	0.963	0.141
Ileum	10.624	28.583	3.312	BQL	BQL
Ileum Contents	291.793	788.553	26.366	0.611	0.286
Colon	14.309	4.119	1.173	0.236	BQL
Colon Contents	BQL	31.642	46.702	4.853	0.316

a) Above Upper Limit of Quantitation (ULOQ)

BQL - Value is below the Lower Limit of Quantitation (LLOQ)

LLOQ = 0.118 µg-eq / g tissue

ULOQ = 1140.605 µg-eq / g tissue

2.6.5.5B　薬物動態試験：分布（ラット：Long-Evans）

Test article: [^{14}C] ruxolitinib

Study title:	Quantitative whole-body autoradiography of rats following oral administration of ^{14}C-INCB018424				
GLP compliance:	Not required				
Report Number:	[INCYTE-DMB-08.58.1]				
Location in CTD:	4.2.2.3-8				
Species, strain:	Rat (Long-Evans)				
Gender / number of animals:	Male/5, Female/5 (1 / time point)				
Feeding condition:	Fasted				
Vehicle / formulation:	Solution/0.5% methylcellulose in water				
Method of administration:	oral				
Dose (mg/kg):	25				
Radionuclide:	^{14}C				
Specific activity:	57.25 mCi/mmol				
Analyte / assay:	Total radioactivity / QWBA for tissue slices, LSC for blood and plasma				
Sampling time:	2, 8, 24, 168 and 336 h				
Male	Concentration (µg-eq/g)				
Tissues / organs:	2 h	8 h	24 h	168 h	336 h
Adrenal gland	2.12	ND	ND	ND	ND
Bile	30.2	ND	ND	ND	ND
Blood	ND	ND	ND	ND	ND
Blood (LSC)	1.40	0.178	0.0448	0.0146	BLQ
Plasma (LSC)	1.42	0.170	0.0333	BLQ	BLQ
Bone	BLQ	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	0.950	ND	ND	ND	ND
Cecum	5.71	121	ND	ND	ND
Cecum contents	91.5	498	1.55	ND	ND
Cerebellum	BLQ	ND	ND	ND	ND
Cerebrum	BLQ	ND	ND	ND	ND

Tissues / organs:	2 h	8 h	24 h	168 h	336 h
Diaphragm	1.42	ND	ND	ND	ND
Epididymis	1.08	ND	ND	ND	ND
Esophageal contents	1.40	ND	ND	ND	ND
Esophagus	5.01	ND	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	0.754	ND	ND	ND	ND
Eye	2.17	0.852	BLQ	BLQ	ND
Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Fat (abdominal)	BLQ	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	0.844	ND	ND	ND	ND
Harderian gland	1.01	ND	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	1.03	ND	ND	ND	ND
Kidney	5.42	0.673	ND	ND	ND
Large intestinal contents	1.06	634	4.06	ND	ND
Large intestine	10.5	31.4	ND	ND	ND
Liver	9.71	2.14	BLQ	ND	ND
Lung	1.06	ND	ND	ND	ND
Lymph nodes	ND	ND	ND	ND	ND
Medulla	BLQ	ND	ND	ND	ND
Muscle	1.46	ND	ND	ND	ND
Myocardium	ND	ND	ND	ND	ND
Nasal turbinates	0.613	ND	ND	ND	ND
Olfactory lobe	BLQ	ND	ND	ND	ND
Pancreas	1.55	BLQ	ND	ND	ND
Pituitary gland	0.835	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	1.41	0.590	ND	ND	ND
Prostate	1.24	ND	ND	ND	ND
Renal cortex	4.91	ND	ND	ND	ND
Renal medulla	5.95	ND	ND	ND	ND
Salivary gland	1.25	ND	ND	ND	ND

Tissues / organs:	2 h	8 h	24 h	168 h	336 h
Seminal vesicle	1.08	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	1.30	ND	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	5.86	3.31	1.40	ND	ND
Small intestinal contents	3980[a]	26.7	ND	ND	ND
Small intestine	104	1.37	ND	ND	ND
Spinal cord	BLQ	ND	ND	ND	ND
Spleen	1.19	ND	ND	ND	ND
Stomach	1.91	ND	ND	ND	ND
Stomach contents	65.0	ND	BLQ	ND	ND
Testis	0.753	ND	ND	ND	ND
Thymus	1.12	ND	ND	ND	ND
Thyroid	ND	ND	ND	ND	ND
Urinary bladder	ND	ND	ND	ND	ND
Urine	46.6	ND	ND	ND	ND
Uveal tract	14.4	6.24	3.32	1.09	ND

Female					
Tissues/organs	2 h	8 h	24 h	168 h	336 h
Adrenal gland	12.2	0.409	ND	ND	ND
Bile	111	ND	ND	ND	ND
Blood	3.20	ND	ND	ND	ND
Blood (LSC)	4.83	0.183	0.0407	0.0144	BLQ
Plasma (LSC)	5.13	0.163	0.0363	BLQ	BLQ
Bone	0.492	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	3.06	ND	ND	ND	ND
Cecum	15.7	58.9	ND	ND	ND
Cecum contents	73.4	329	7.22	ND	ND
Cerebellum	BLQ	ND	ND	ND	ND
Cerebrum	BLQ	ND	ND	ND	ND

Tissues/organs	2 h	8 h	24 h	168 h	336 h
Diaphragm	5.12	ND	ND	ND	ND
Esophageal contents	35.1	ND	ND	ND	ND
Esophagus	5.50	ND	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	5.01	ND	ND	ND	ND
Eye	2.91	1.01	0.477	BLQ	ND
Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Fat (abdominal)	0.515	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	5.12	ND	ND	ND	ND
Harderian gland	5.32	ND	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	4.63	ND	ND	ND	ND
Kidney	18.7	1.02	ND	ND	ND
Large intestinal contents	1.33	415	9.48	ND	ND
Large intestine	14.6	27.3	ND	ND	ND
Liver	25.3	3.07	0.449	ND	ND
Lung	3.52	ND	ND	ND	ND
Lymph nodes	4.05	ND	ND	ND	ND
Medulla	BLQ	ND	ND	ND	ND
Muscle	4.16	ND	ND	ND	ND
Myocardium	5.98	ND	ND	ND	ND
Nasal turbinates	2.44	ND	ND	ND	ND
Olfactory lobe	BLQ	ND	ND	ND	ND
Ovary	1.85	ND	ND	ND	ND
Pancreas	5.92	ND	ND	ND	ND
Pituitary gland	4.45	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	3.51	ND	ND	ND	ND
Renal cortex	19.5	1.12	ND	ND	ND
Renal medulla	15.9	0.739	ND	ND	ND
Salivary gland	5.52	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	4.68	ND	ND	ND	ND

Tissues/organs	2 h	8 h	24 h	168 h	336 h
Skin (pigmented)	6.12	ND	ND	ND	ND
Small intestinal contents	2890[a]	16.4	ND	ND	ND
Small intestine	98.5	ND	ND	ND	ND
Spinal cord	BLQ	ND	ND	ND	ND
Spleen	4.40	ND	ND	ND	ND
Stomach	7.66	ND	ND	ND	ND
Stomach contents	363	1.01	ND	ND	ND
Thymus	4.07	ND	ND	ND	ND
Thyroid	4.14	ND	ND	ND	ND
Urinary bladder	ND	ND	ND	ND	ND
Urine	138	7.15	ND	ND	ND
Uterus	3.69	ND	ND	ND	ND
Uveal tract	19.0	7.36	3.63	2.35	ND

a) Above Upper Limit of Quantitation (> 2230 µg-eq/g).

BLQ - Below the limit of quantitation (< 0.398 µg-eq/g) for QWBA).

ND - Not detectable (sample not discernible from background or surrounding tissue).

2.6.5.6A　薬物動態試験：*in vitro* 血漿蛋白結合

Test article: ruxolitinib

Study title:	*Ex vivo* and *in vitro* protein binding of INCB018424 in CByB6F1 hybrid (wild-type TgRasH2) mouse plasma (INCYTE-DMB-08.158.1) *Ex vivo* and i*n vitro* protein binding of INCB018424 in CD-1 mouse plasma (INCYTE-DMB-08.191.1) *In vitro* and e*x vivo* protein binding of INCB018424 in hairless mouse plasma (INCYTE-DMB-09.62.1) *In vitro* and e*x vivo* protein Binding of INCB018424 in rat, cynomolgus monkey, dog, minipig, and human serum and plasma (INCYTE-DMB-07.11.1) *In vitro* and *ex vivo* protein binding of INCB018424 in rabbit plasma (INCYTE-DMB-09.61.1)
GLP compliance:	Not required
Method:	Equilibrium dialysis was carried out in teflon cells separated by a dialysis membrane with a molecular weight cut-off of 10,000 Da. The cells were rotated at 12 rpm in a 37°C water bath for 2 hours. Separated buffer and plasma samples were analyzed.
Analyte / Assay	Ruxolitinib / LC-MS/MS

Species	Concentration range (µmol/L)	% Unbound	Report Number:	Location in CTD:
CByB6F1hybrid mice	11	5.2	[INCYTE-DMB-08.158.1]	4.2.2.3-2
CD-1 mouse	1 ~ 10	2.7～3.4	[INCYTE-DMB-08.191.1]	4.2.2.3-1
Hairless mouse	0.43～4.3	3.8～5.2	[INCYTE-DMB-09.62.1]	4.2.2.3-5
Rat	1.0～3.0	12～17	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3
Rabbit	0.5～ 5	9.5～12.8	[INCYTE-DMB-09.61.1]	4.2.2.3-4
Rabbit (gestating)	0.5～5	10.0～13.7	[INCYTE-DMB-09.61.1]	4.2.2.3-4
Dog	1.0～10	11～13	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3
Human	10	3.3	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3

2.6.5.6B　薬物動態試験：*in vitro* 血清蛋白結合

Test article: ruxolitinib

Study title:	*In vitro* and e*x vivo* protein binding of INCB018424 in rat, cynomolgus monkey, dog, minipig, and human serum and plasma (INCYTE-DMB-07.11.1)
GLP compliance:	Not required
Method:	Equilibrium dialysis was carried out in teflon cells separated by a dialysis membrane with a molecular weight cut-off of 10,000 Da. The cells were rotated at 12 rpm in a 37°C water bath for 2 hours. Separated buffer and serum samples were analyzed.
Analyte / Assay	Ruxolitinib / LC-MS/MS

Species	Concentration range (µmol/L)	% Unbound	Report Number:	Location in CTD:
Rat	3.0～10	14～15	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3
Dog	3.0～10	9.2～10	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3
Cynomolgus monkey	3.0	5.6	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3
Human	3.0～10	2.6～3.6	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3

2.6.5.6C　薬物動態試験：*Ex vivo* 血漿蛋白結合

Test article: ruxolitinib

Study title:	*Ex vivo* and *in vitro* protein binding of INCB018424 in CByB6F1 hybrid (wild-type TgRasH2) mouse plasma (INCYTE-DMB-08.158.1) *Ex vivo* and i*n vitro* protein binding of INCB018424 in CD-1 mouse plasma (INCYTE-DMB-08.191.1) *In vitro* and e*x vivo* protein binding of INCB018424 in hairless mouse plasma (INCYTE-DMB-09.62.1) *In vitro* and e*x vivo* protein Binding of INCB018424 in rat, cynomolgus monkey, dog, minipig, and human serum and plasma (INCYTE-DMB-07.11.1) *In vitro* and *ex vivo* protein binding of INCB018424 in rabbit plasma (INCYTE-DMB-09.61.1)
GLP compliance:	Not required
Method:	Equilibrium dialysis was carried out in teflon cells separated by a dialysis membrane with a molecular weight cut-off of 10,000 Da. The cells were rotated at 12 rpm in a 37°C water bath for 2 hours. Separated buffer and plasma samples were analyzed.
Analyte / Assay	Ruxolitinib / LC-MS/MS

Species	Concentration range (µmol/L)	% Unbound	Report Number:	Location in CTD:
CByB6F1 hybrid mice	1.2～13.6	4.9～5.0	[INCYTE-DMB-08.158.1]	4.2.2.3-2
CD-1 mouse	5.7～19.5	2.4～3.0	[INCYTE-DMB-08.191.1]	4.2.2.3-1
Hairless mouse	1.3～14	3.0	[INCYTE-DMB-09.62.1]	4.2.2.3-5
Rat	4.3	18	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3
Rabbit (gestating)	0.7～3.1	11.8～13.1	[INCYTE-DMB-09.61.1]	4.2.2.3-4
Dog	0.39～4.8	7.3～12	[INCYTE-DMB-07.11.1]	4.2.2.3-3

2.6.5.7A　薬物動態試験：妊娠動物における試験（胎盤通過性）

Test article: [^{14}C]ruxolitinib

Study title:	Placental transfer and lacteal excretion of ^{14}C-INCB018424 following administration of a single oral dose to pregnant Sprague Dawley rats									
GLP compliance:	Not required									
Report Number:	[INCYTE-DMB-10.50.1]									
Location in CTD:	4.2.2.3-9									
Species, strain:	Rat, Sprague Dawley									
Gestation day / number of animals:	Day13, Day18 / 1 animal per time point									
Vehicle / formulation:	0.5% methylcellulose in water									
Method of administration:	oral									
Dose (mg/kg):	30									
Radionuclide:	^{14}C									
Specific activity:	59.98 mCi/mmol									
Analyte / assay:	Total radioactivity / QWBA for tissue slices, LSC for blood and plasma									
Dam	Concentration/Amount (µg-eq/g)									
Day of Gestation	13					18				
Tissues / organs:	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Maternal plasma	3.35	2.08	2.61	0.513	0.047	4.57	2.81	3.69	0.751	0.047
Placenta	2.77	1.11	1.39	BLQ	ND	4.28	2.20	3.88	0.625	BLQ
Amniotic fluid	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Adrenal gland	11.9	7.02	6.20	1.37	ND	10.8	5.73	14.6	2.11	ND
Amniotic sac	6.24	9.72	10.1	8.17	BLQ	3.66	2.84	5.77	1.23	0.789
Aorta	7.47	5.03	5.00	1.84	1.43	9.66	6.05	8.64	2.87	1.30
Bile	27.5	30.1	36.2	ND	ND	84.2	42.1	50.1	13.3	ND
Blood	2.86	1.53	1.89	BLQ	ND	3.54	1.97	2.55	BLQ	ND
Bone	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Bone marrow	3.41	1.34	2.00	BLQ	ND	4.62	2.28	3.88	0.671	ND
Brain cerebellum	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	0.652	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Brain cerebrum	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	0.624	BLQ	BLQ	BLQ	ND

2.6.5 薬物動態試験概要表

Day of Gestation	13					18				
Tissues / organs:	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Brain choroid plexus	ND	1.52	2.09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Brain olfactory lobe	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	0.855	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Cecum	4.07	7.86	6.45	3.30	0.947	5.63	4.28	13.9	ND	ND
Contents, cecum	15.7	21.2	322	547	5.09	11.9	20.4	294	498	7.19
Contents, esophageal	2.72	23.0	113	BLQ	ND	10.9	0.637	19.1	BLQ	ND
Contents, large intestinal	2.28	11.3	27.3	289	37.3	1.66	3.92	39.0	470	34.1
Contents, small intestinal	202	806	555	71.9	ND	45.7	642	395	60.7	1.41
Contents, stomach	1440	260	522	1.69	ND	1170	1180	224	2.64	ND
Diaphragm	4.24	2.61	3.39	0.772	ND	5.73	2.78	4.69	1.13	ND
Esophagus	4.05	2.38	2.80	BLQ	ND	7.14	3.03	4.11	0.845	ND
Exorbital lacrimal gland	4.54	2.01	3.38	ND	ND	5.63	3.06	5.85	0.950	ND
Eye	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	0.904	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Eye lens	ND	BLQ	BLQ	ND	ND	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Eye uveal tract	2.73	0.612	1.12	ND	ND	3.69	1.17	1.70	ND	ND
Fat (abdominal)	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	0.650	BLQ	0.682	BLQ	ND
Fat (brown)	2.94	1.51	2.80	ND	ND	4.27	1.51	3.38	ND	ND
Harderian gland	5.49	2.74	4.77	BLQ	0.862	8.00	4.60	8.06	1.41	0.977
Intra-orbital lacrimal gland	4.47	1.44	3.42	ND	ND	6.51	2.84	6.05	ND	ND
Kidney	17.5	7.88	13.4	2.44	BLQ	19.7	9.34	15.6	3.94	0.897
Kidney cortex	17.4	8.74	14.1	2.67	ND	20.9	9.25	16.8	3.40	ND
Kidney medulla	15.4	6.58	12.7	1.79	ND	17.4	9.05	14.3	4.50	ND
Large intestine	3.71	2.48	3.79	2.05	1.53	4.58	3.30	8.97	4.80	ND
Liver	21.9	12.3	26.2	4.80	2.56	26.2	17.9	23.9	10.3	3.40
Lung	3.00	1.91	2.31	BLQ	ND	5.27	2.84	3.95	ND	ND
Lymph nodes	2.77	1.50	2.24	ND	ND	4.48	2.23	4.10	0.641	ND
Mammary gland	2.36	1.38	1.52	1.13	ND	5.89	3.39	6.84	3.87	BLQ
Muscle	2.93	1.84	2.18	ND	ND	4.25	2.73	4.17	0.792	ND

Day of Gestation	13					18				
Tissues / organs:	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Myocardium	5.22	2.68	3.95	BLQ	ND	7.43	3.98	5.78	1.08	ND
Nasal turbinates	0.780	BLQ	1.08	BLQ	ND	1.90	0.739	1.24	BLQ	ND
Ovary	1.52	1.06	1.15	ND	ND	2.42	1.25	2.34	ND	ND
Pancreas	5.68	2.64	3.99	BLQ	ND	7.06	3.82	6.08	0.859	ND
Pituitary gland	3.72	2.59	2.95	BLQ	ND	7.47	3.08	4.05	0.761	ND
Preputial gland	6.30	2.20	4.18	2.28	ND	5.29	2.71	NR	0.692	ND
Salivary gland	4.30	2.37	3.43	ND	ND	6.52	3.28	5.19	0.820	ND
Skin	2.48	1.54	2.27	1.66	0.669	2.81	1.79	4.31	1.64	BLQ
Small intestine	10.0	11.0	10.1	5.45	ND	7.27	6.75	12.7	6.82	ND
Spinal cord	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Spleen	3.56	1.83	2.80	BLQ	ND	5.64	2.76	4.45	0.675	ND
Stomach	4.22	3.96	3.31	BLQ	ND	6.77	6.14	3.90	1.18	ND
Thymus	3.30	1.77	2.17	ND	ND	4.41	2.51	4.11	BLQ	ND
Thyroid	4.06	3.15	4.28	1.90	ND	6.55	5.13	7.07	2.75	1.67
Urinary bladder	8.35	2.13	1.41	7.77	ND	7.72	1.70	NR	NR	ND
Urine	243	152	85.2	33.7	ND	27.1	20.6	NR	NR	ND
Uterus	4.36	1.60	1.90	BLQ	ND	4.15	2.13	2.48	0.639	ND
Fetus										
Whole fetus	0.923	BLQ	0.711	BLQ	ND	2.12	1.22	2.26	BLQ	ND
Fetal blood	ND	ND	ND	ND	ND	1.77	0.722	1.62	ND	ND
Fetal brain	ND	ND	ND	ND	ND	1.73	0.866	1.51	BLQ	ND
Fetal eye	ND	ND	ND	ND	ND	2.45	1.20	2.53	ND	ND
Fetal gastrointestinal tract	ND	ND	ND	ND	ND	2.39	1.38	ND	ND	ND
Fetal heart	ND	ND	ND	ND	ND	3.05	1.82	3.25	ND	ND
Fetal kidney	ND	ND	ND	ND	ND	2.66	1.53	ND	ND	ND
Fetal liver	ND	ND	ND	ND	ND	2.95	1.64	3.38	0.628	ND
Fetal lung	ND	ND	ND	ND	ND	2.42	1.18	2.47	ND	ND
Fetal muscle	ND	ND	ND	ND	ND	2.53	ND	ND	ND	ND

Day of Gestation	13					18				
Tissues / organs:	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Fetal spinal cord	ND	ND	ND	ND	ND	2.02	0.909	1.72	ND	ND

BLQ : Below the limit of quantitation (< 0.611 µg-eq/g).

ND : Not detectable (sample not discernible from background or surrounding tissue)

NR : Not represented (tissue not present in section)

2.6.5.7B　薬物動態試験：妊娠動物における試験（乳汁移行性）

Test article: [^{14}C] ruxolitinib

Study title:	Placental transfer and lacteal excretion of ^{14}C-INCB018424 following administration of a single oral dose to pregnant Sprague Dawley rats
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-10.50.1]
Location in CTD:	4.2.2.3-9
Species, strain:	Rat, Sprague Dawley
Lactating day / number of animals:	Day 10 / 3 animals per time point
Vehicle / formulation:	0.5% methylcellulose
Method of administration:	oral, Not fasted
Dose (mg/kg):	30
Radionuclide:	^{14}C
Specific activity:	59.98 mCi/mmol
Analyte / assay:	Total radioactivity / LSC

	Concentration/Amount (µg-eq/g)					T1/2	AUCinf
Tissues / organs:	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	24 hr	(h)	(µg-eq·h./g)
Milk:	12.0	14.0	12.7	7.25	0.128	2.93	145
Plasma:	3.02	2.09	1.02	0.307	BLQ	2.19	10.8
Milk/plasma ratio:	4.02	6.72	12.6	24.8	NA	NA	13.4

BLQ : Below the limit of quantitation (< 43.2 ng-eq/g for plasma and < 51.1 ng-eq/g for milk)

NA : Not applicable

追記: 血液についても検討したが，血漿と同様の結果であった。

乳汁及び胆汁中の代謝プロファイルを検討した結果，乳汁中の代謝物濃度は血漿に比べて全体的に高いものの，代謝物の種類は血漿と同様であり，最も多く認められた代謝物は M8 であった[4.2.2.4-10-INCYTE-DMB-10.51.2]。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 - 脳及び脊髄液への分布

Test article: ruxolitinib

Study title:	Brain and cerebrospinal fluid concentrations of INCB018424 in rats
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-07.12.1]
Location in CTD:	4.2.2.3-6
Species:	Rat
Gender / number of animals:	Male / 3
Vehicle / formulation:	Solution/10% dimethylacetamide in saline
Dose (mg/kg) and method of administration:	Intravenous bolus of 3.0 mg/kg, followed by 6.0 mg/h/kg iv infusion for 4 h.

Sample	Concentration at 4 h (µmol/L)	Tissue / Plasma ratio
Plasma	3.77	-
Brain	0.309	0.082
Cerebrospinal Fluid	0.053	0.080 [a]

a) CSF / unbound plasma concentration. ： calculated using rat *ex vivo* fraction unbound of 18%

2.6.5.9A 薬物動態試験：*in vivo* における代謝

Test article: [^{14}C] ruxolitinib

Gender (M/F)/Number of animals:			Mice: M/21, F/21 (3/timepoint)				Rats: M/6 (plasma); M/4 (excreta)				Rats: F/4			
Feeding condition:			Not fasted				Fasted				Fasted			
Vehicle/Formulation:			0.5% MC in water				0.5% MC in water				0.5% MC in water			
Method of Administration:			oral				oral				oral			
Dose (mg/kg):			50				25 (plasma); 50 (excreta)				25			
Radionuclide:			^{14}C				^{14}C				^{14}C			
Specific Activity:			57.25 mCi/mmol				57.25 mCi/mmol				59.98 mCi/mmol			
Analyte / assay:			Metabolite profiles in plasma, urine and feces by HPLC with radioactivity detection; Metabolite structures by LC-MS/MS											
	Mice (Male)			Mice (Female)			Rat (Male)				Rat (Female)			
Species	Pl	Ur	Fe	Pl	Ur	Fe	Pl	Ur	Bile	Fe	Pl	Ur	Bile	Fe
Sampling Time or Period	0.25 h	4-8 h	8-24 h	0.25 h	4-8 h	8-24 h	1 h	0-96 h[a]	0-96 h[a]	0-96 h[a]	1 h	0-8 h	0-8 h	0-24 h
% of Dose in Sample	-	15.4	16.4	-	22.6	10.3	-	52.0	36.7	11.9	-	40.1	36.8	18.6
% Radioactivity in Sample														
Parent	64.2	ND	2.8	60.1	ND	2.7	6.7	0.3	ND	4.6	34.5	0.1	0.1	1.4
M1								10.1				2.6	4.3	
M1-B												0.9	1.8	
M2												1.1	2.5	
M2-B												2.5	1.4	
M3								3.3				5.2		
M4								4.6[b]				3.5		3.7
M5									7.1					
M6									7.4					
M7	15.3	22.8	11.5	19.9	27.4	14.8	10.0	30.5		33.7	4.2	5.0	3.4	14.2
M8	2.3	6.8	10.1	ND	6.9	10.3	18.9				20.2	17.8		29.4
M9	1.3	2.8	ND	1.3	3.5	ND	14.0	29.0[c]	9.2[f]	8.8	2.3	5.1	1.7	2.6
M11	ND	7.8	3.7	1.6	7.5	2.3	18.2			21.8[g]	11.3	19.1	6.6	5.6

2.6.5 薬物動態試験概要表

	Mice (Male)			Mice (Female)			Rat (Male)				Rat (Female)			
Species	Pl	Ur	Fe	Pl	Ur	Fe	Pl	Ur	Bile	Fe	Pl	Ur	Bile	Fe
M15									11.6				9.2	
M16	ND	5.9	5.3	0.7	5.1	5.7	6.8	4.1[d]		6.5	3.8		1.3	5.7
M17									31.4				0.7	
M18	5.3	1.8	4.9	4.3	1.9	6.4	1.7	2.4[e]			3.7	0.6		1.0
M19												12.1	4.7	4.9
M20								3.8				2.5		
M21								3.2				2.9		
M25													12.7	
M26													3.7	
M27		3.5	2.8		2.1	2.1					3.4	5.7		12.3
M28													22.0	
M34													0.5	
M37		1.0	8.2		1.5	6.2								
M40		4.6	2.7		3.7	2.3								
M41		ND	9.2		5.9	11.0	7.1							
M42		11.3			5.3									
M43							2.9							
M48		1.5	1.4		1.9	3.4	4.8				4.1	2.2		2.8
M49												0.5		
M50	4.1		0.8	2.8		0.3						0.5	1.9	
M50-B											2.3	2.9		
M52							1.7							
M53							2.7						3.6	
M54											1.1			
Unknown peaks			19.2			15.9					1.6	0.9	4.4	13.5
Others											7.4	1.2	13.4	3.1

2.6.5 薬物動態試験概要表

Study Number:	[INCYTE-DMB-08.154.1]	[INCYTE-DMB-08.169.1] (plasma) [INCYTE-DMB-08.61.1] (excreta)	[INCYTE-DMB-09.84.1]
Location in CTD:	4.2.2.4-3	4.2.2.4-5 (plasma) 4.2.2.4-4 (excreta)	4.2.2.4-6

ND : not detected

MC : methylcellulose

Pl : Plasma, Ur : Urine, Fe : Feces

a) ~ 30% of each sample was pooled from each time point such that 90% of the excreted dose from one rat was contained in a single sample.

b) In rat urine, M5 co-eluted with M4

c) In rat urine, M11, M12, M13 co-eluted with M9

d) In rat urine, M17 co-eluted with M16

e) In rat urine, M19 co-eluted with M18

f) In rat bile, M10 co-eluted with M9

g) In rat feces, M14 co-eluted with M11

追記: 雄ラットにおいて，静脈内投与後の排泄物中代謝物パターンは，経口投与後と同様であった。

2.6.5.9B　薬物動態試験：*in vivo* における代謝

Test article: [^{14}C] ruxolitinib

Gender (M/F)/Number of animals:	Dogs: M/2			Dogs: F/2			Humans: M/6		
Feeding condition:	Not fasted			Not fasted			Fasted		
Vehicle/Formulation:	Solution / 0.5% MC in water			Solution / 0.5% MC in water			Solution / Water		
Method of Administration:	oral			oral			oral		
Dose (mg/kg):	3			3			25 mg		
Radionuclide:	^{14}C			^{14}C			^{14}C		
Specific Activity:	57.25 mCi/mmol			57.25 mCi/mmol			57.25 mCi/mmol		
Analyte / assay:	Metabolite profiles in plasma, urine and feces by HPLC with radioactivity detection; Metabolite structures by LC-MS/MS								
	Dog (Male)			Dog (Female)			Human		
Species	Plasma	Urine	Feces	Plasma	Urine	Feces	Plasma	Urine	Feces
Sampling Time or Period (h)	1 h	0-4 h	0-24 h	1 h	0-4 h	0-24 h	1 h	0-8 h	24-48 h
% of Dose in Sample	-	10.3	46.8	-	10.8	45.5	-	45.1	9.7
Mean% Radioactivity in Sample									
Parent	27.3	4.6	19.8	31.0	2.6	25.1	74.1	0.5	1.2
M7	1.3	ND	0.8	1.9	ND	1.0	3.8	14.3	9.9
M8	2.5	6.5	4.2	3.4	2.7	6.4	3.6	17.8	22.1
M9	2.7	4.1[b]	3.3	3.2	2.3[b]	1.2	ND	ND	ND
M11	1.1	ND	0.9[c]	1.5	ND	1.2[c]	3.7	23.6	ND
M16	2.9[a]	2.9	[c]	5.0[a]	5.9	[c]	2.3	5.2	4.5
M18	12.5	5.8	2.8	16.3	9.6	4.2	7.3		6.3
M23			3.2			5.2			
M24			2.8			3.2			
M25		5.2			6.4				
M26		2.0			7.1				
M27	[a]	8.4	3.6	[a]	10.2	3.9		18.9	14.5
M28		2.8			2.5			1.3	
M29			4.5			4.6			

2.6.5 薬物動態試験概要表

	Dog (Male)			Dog (Female)			Human		
Species	Plasma	Urine	Feces	Plasma	Urine	Feces	Plasma	Urine	Feces
M30		4.3			ND				
M31	2.6	2.0	3.5	3.6	2.9	4.0			4.6
M32	7.3			6.3					
M34	1.9			1.3					
M35		5.5			8.8				
M37	5.9	22.9	14.7[d]	5.0	22.4	7.2[d]		1.4	
M38		4.8			3.8		1.6		
M39	22.6			10.6					
M43									6.2
M45									2.3
M49							2.2	11.0	15.6
M51								1.9	
Unknown peak			11.4			10.8			
Study Number:	[INCYTE-DMB-08.149.1]						[INCB 18424-134]		
Location in CTD:	4.2.2.4-9						5.3.3.1-4		

ND : not detectable

MC : methylcellulose

a) In dog plasma, M27 co-eluted with stereoisomer, M16

b) In dog urine, M14 co-eluted with M9

c) In dog feces, M16 co-eluted with M11

d) In dog feces, M37 co-eluted with M36

2.6.5.10A　薬物動態試験：*in vitro* における代謝（CYP 発現系）

Test article: ruxolitinib

Study title:	The *in vitro* metabolism of INCB018424 by rat liver microsomes and individual rat recombinant cytochrome P450(s)	The *in vitro* metabolism of INCB018424 by individual recombinant human cytochromes P450(s)
GLP compliance:	Not required	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-07.01.2]	[INCYTE-DMB-07.02.1]
Location in CTD:	4.2.2.4-1	5.3.2.2-3
Study System:	Rat recombinant CYPs	Human recombinant CYPs
Concentration:	1 µmol/L	1 µmol/L
Incubation time	% parent remaining after 60 min	% parent remaining after 60 min
CYP1A2	5	67
CYP2B1	102	-
CYP2C6	1	-
CYP 2C9	-	60
CYP 2C11	2	-
CYP 2C12	101	-
CYP 2C13	78	-
CYP 2C19	-	29
CYP 2D1	42	-
CYP 2D6	-	74
CYP 3A2	2	-
CYP 3A4	-	2

2.6.5.10B　薬物動態試験：*in vitro* における代謝（肝ミクロソーム系）

Test article: ruxolitinib

Study title:	The *in vitro* metabolism of INCB018424 by rat liver microsomes and individual rat recombinant cytochrome P450(s)		The *in vitro* metabolism of INCB018424 by individual recombinant human cytochromes P450(s)	Human CYP isozymes that are responsible for the *in vitro* metabolism of INCB018424
GLP compliance:	Not required		Not required	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-07.01.2]		[INCYTE-DMB-07.02.1]	[INCYTE-DMB-09.93.1]
Location in CTD:	4.2.2.4-1		5.3.2.2-3	5.3.2.2-4
Study System:	Rat liver microsomes		Human liver microsomes	Human liver microsomes
Concentration:	1 µmol/L		1 µmol/L	1 µmol/L
Gender	Male (pool of 10)	Female (pool of 10)	Male/female mix	Male/female mix
Extrapolated clearance	2.54 L/hr/kg	1.02 L/hr/kg	-	-
Hepatic extraction ratio	0.88	0.35	-	-
% parent remaining				
Vehicle	ND		75	35
+ Furafylline (5 µM)[a]	ND		84	38
+ Sulfaphenazole (5 µM)[b]	ND		75	40
+ Benzylnirvanol (5 µM)[c]	ND		76	35
+ Quinidine (5 µM)[d]	ND		69	42
+ Ketoconazole (1 µM)[e]	ND		85	74
+ All inhibitors	ND		90	86

- : not determined

a) Furafylline is a specific inhibitor of CYP1A2

b) Sulfaphenazole is a specific inhibitor of CYP2C9

c) Benzylnirvanol is a specific inhibitor of CYP2C19

d) Quinidine is a specific inhibitor is CYP2D6

e) Ketoconazole is a specific inhibitor of CYP3A4

2.6.5.10C　薬物動態試験：*in vitro* における代謝（肝ミクロソーム系）

Test article:[^{14}C]ruxolitinib

Study title:	Identification of cytochrome P450 enzymes involved in the oxidative metabolism of INC424 in HLM
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[DMPK R1100644]
Location in CTD:	5.3.2.2-2
Species/sex:	Human / mixed
Study system:	Human liver microsomes / human recombinant CYPs
Specific activity:	5.321 MBq/mg (referring to phosphate salt)
Method:	*In vitro* incubation of [^{14}C]ruxolitinib with human liver microsomes and recombinant enzymes, chemical inhibition by enzyme-selective inhibitors. Enzyme kinetic experiments to determine Km and Vmax
Assay:	HPLC with radioactivity detection

Results:

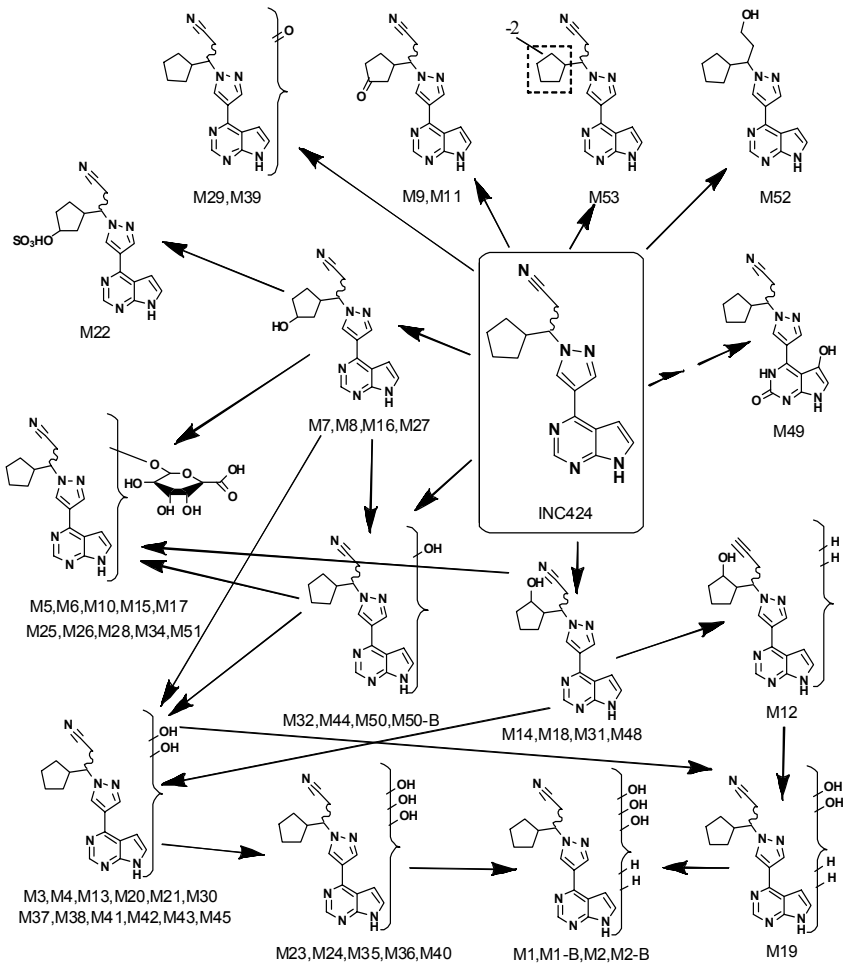
Enzyme kinetics	Vmax (pmol/min/mg)	Km,app (µmol/L)	Vmax/Km,app(µL/mg/min)	Hill constant
	2936±82	55.3±4.0	53.1	1.19

Chemical inhibition	Furafylline (1A2)	Montelukast (2C8)	Sulfaphenazole (2C9)	Ticlopidine (2C19)	Quinidine (2D6)	Ketoconazole (3A)
Concentration (µmol/L)	0.16～10	0.008～2	0.08～50	0.16～10	0.008～2	0.008～1
IC_{50} (µmol/L)	>10	>2	>5	>10	>2	0.112
Maximal inhibition (%)	17	13	19	12	4	71

CYP isoforms contribution	1A2	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	3A4
Km (µmol/L)	13.5	184	213	21	19.4	162	15.6
Vmax (1/min)	3.458	1.632	9.765	2.854	4.224	5.708	33.66
Vmax/Km (µL/min/pmol)	0.256	0.009	0.046	0.136	0.218	0.035	2.157
fm,cyp	4.2%	0.12%	1.44%	18.5%	0.58%	0.06%	75.1%

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

Test article: [^{14}C] ruxolitinib



	Plasma	Urine	Feces	Bile[a]
M1		R		R
M1-B		R		R
M2		R		R
M2-B		R		R
M3		R		
M4		R	R	R
M5				R
M6				R
M7	M/R/D/H	M/R/H	M/R/D/H	R
M8	M/R/D/H	M/R/D/H	M/R/D/H	
M9	M/R/D/H	M/R/D	R/D	R
M10				R
M11	M/R/D/H	M/R/H	M/R/D/H	R
M12		R		
M13		R		
M14		R/D	R	
M15				R
M16	M/R/D/H	M/R/D/H	M/R/D/H	R
M17		R		R
M18	M/R/D/H	R/D	R/D/H	
M19		R	R	R
M20		R		
M21		R		
M22		R		
M23			D	
M24			D	
M25		D		R

	Plasma	Urine	Feces	Bile[a]
M26		D		R
M27	M/R/D/H	M/R/D/H	M/R/D/H	
M28		D/H		R
M29			D	
M30		D		
M31	D	D	D/H	
M32	D			
M34	D			R
M35	R	D		
M36			D	
M37	D	M/D/H	M/D	
M38	H	D		
M39	D			
M40		M	M	
M41	R	M	M	
M42		M		
M43	R		H	
M44		H		
M45			H	
M48	R	M	M/R	
M49	H	H	H	
M50	M		M	R
M50-B	R	R		
M51		H		
M52	R			
M53	R			R
M54	R			

mice (M), rats (R), dogs (D),human (H)
a) bile collected in rat.

2.6.5.12A　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（組換え CYP を用いた CYP 阻害）

Test article: ruxolitinib

Study title:	The *in vitro* inhibition of cytochrome P450(s) by INCB018424 (INCYTE-DMB-07.13.1)	
	The *in vitro* inhibition of CYP2B6 and CYP2C8 by INCB018424 (INCYTE-DMB-09.24.1)	
GLP compliance:	Not required	
Report Number:	[INCYTE-DMB-07.13.1]	[INCYTE-DMB-09.24.1]
Location in CTD:	5.3.2.2-5	5.3.2.2-6
Type of study:	*In vitro* enzyme inhibition	
Study system:	Human recombinant CYPs	
Method:	The potential of ruxolitinib to inhibit recombinant CYP activity was determined using fluorescent substrates.	
Ruxolitinib concentration:	0～25 µmol/L	

Results:

CYP isozymes	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4	CYP2B6	CYP2C8
Probe substrate	BFC	MFC	EFC	AMMC	BFC	EFC	DBF
Substrate concentration	50 µmol/L	75 µmol/L	50 µmol/L	1.5 µmol/L	50 µmol/L	2.5 µmol/L	1.0 µmol/L
IC_{50} (µmol/L)	> 25	> 25	> 25	> 25	8.8	> 25	> 25
Inhibitor (positive control)	α-naphthoflavone	Sulfaphenazole	Tranylcypromine	Quinidine	Ketoconazole	Tranylcypromine	Quercetin
IC_{50} (µmol/L)	(0.019)	(0.141)	(4.9)	(0.012)	(0.037)	(2.1)	(4.0)

BFC : 7-benzyloxy-4-trifluoromethyl-coumarin
MFC : 7-methoxy-4-(trifluoromethyl)-coumarin
EFC : 7-ethoxy-4-trifluoromethyl-coumarin
AMMC : 7-methoxy-4-methylcoumarin
DBF : Dibenzylfluoresein

2.6.5.12B　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害）

Test article: ruxolitinib

Study title:	The *in vitro* inhibition of human liver microsomal CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 by INCB018424 (INCYTE-DMB-09.87.1) The *in vitro* inhibition of human microsomal CYP3A4 by INCB018424 using midazolam as a substrate (INCYTE-DMB-09.71.1) The *in vitro* inhibition of cytochrome P450(s) by INCB018424 (INCYTE-DMB-07.13.1)							
GLP compliance:	Not required							
Report Number:	[INCYTE-DMB-09.87.1]						[INCYTE-DMB-09.71.1]	[INCYTE-DMB-07.13.1]
Location in CTD:	5.3.2.2-8						5.3.2.2-7	5.3.2.2-5
Type of study:	*In vitro* enzyme inhibition							
Study system:	Human liver microsomes							
Method:	The potential for ruxolitinib to inhibit selective substrates for human liver microsomal CYP were determined using human liver microsomes by LC-MS/MS.							
Ruxolitinib concentration:	0～25 µmol/L							
Results:								
CYP isozymes	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP 2D6	CYP3A4	CYP3A4
Probe substrate	Phenacetin	Bupropion	Amodiaquine	Tolbutamide	Mephenytoin	Dextrometh-orphan	Midazolam	Testosterone
Substrate concentration	50 µmol/L	60 µmol/L	3 µmol/L	125 µmol/L	37.5 µmol/L	5 µmol/L	2.5 µmol/L	70 µmol/L
IC_{50} (µmol/L)	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25
Inhibitor (positive control)	Furafylline	Ticlopidine	Quercetin	Sulfaphenazole	Benzylnirvanol (0.112)	Quinidine	Ketoconazole	Ketoconazole
IC_{50} (µmol/L)	(2.41)	(0.120)	(3.12)	(0.169)		(0.271)	(0.01)	(< 0.1)

2.6.5.12C　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害）

Test article: metabolite M18

Study title:	The *in vitro* inhibition of human microsomal CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4 by the M18, metabolite of INCB018424
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-11.07.1]
Location in CTD:	5.3.2.2-9
Type of study:	*In vitro* enzyme inhibition
Study system:	Human liver microsomes
Method:	The potential for ruxolitinib to inhibit selective substrates for human liver microsomal CYP were determined using human liver microsomes by LC-MS/MS.
M18 concentration:	0～3.0 µmol/L

Results:

CYP isozymes	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4	CYP3A4
Probe substrate	Phenacetin	Bupropion	Amodiaquine	Tolbutamide	Mephenytoin	Dextrometh-orphan	Midazolam	Testosterone
Substrate concentration	50 µmol/L	60 µmol/L	3 µmol/L	125 µmol/L	37.5 µmol/L	5 µmol/L	2.5 µmol/L	50 µmol/L
IC_{50} (µmol/L)	> 3.0	> 3.0	> 3.0	> 3.0	> 3.0	> 3.0	> 3.0	> 3.0
Inhibitor (positive control)	Furafylline	Ticlopidine	Quercetin	Sulfaphenazole	Benzylnirvanol	Quinidine	Ketoconazole	Ketoconazole
IC_{50} (µmol/L)	(1.89)	(0.035)	(8.22)	(0.090)	(0.782)	(0.040)	(0.055)	(0.003)

2.6.5.12D　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（CYP3A4 阻害）

Test article: metabolite ruxolitinib

Study title:	The metabolism dependent inhibition of human microsomal CYP3A4 by INCB018424 *In vitro*
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-09.92.1]
Location in CTD:	5.3.2.2-10
Type of study:	*In vitro* enzyme inhibition
Study system:	Human liver microsomes
Method:	Ruxolitinib was pre-incubated with or without NADPH with human liver microsomes, and CYP3A4 activity was determined by LC-MS/MS using testosterone as the substrate.

Results:

	% Initial CYP3A4 Activity Remaining vs. Vehicle Control			
Time (min)	Ruxolitinib (10 µmol/L)		Troleandomycin (20 µmol/L)	
	NADPH(-)	NADPH(+)	NADPH(-)	NADPH(+)
0	98 ± 2	98 ± 2	84 ± 1	83 ± 2
10	95 ± 0	95 ± 3	84 ± 2	28 ± 0
20	94 ± 1	96 ± 1	83 ± 1	24 ± 0
30	91 ± 2	94 ± 2	86 ± 2	22 ± 1

2.6.5.12E　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（CYP3A 誘導）

Test article: metabolite ruxolitinib

Study title:	Pregnane X Receptor (PXR) activation by INCB018424					
GLP compliance:	Not required					
Report Number:	[INCYTE-DMB-07.05.1]					
Location in CTD:	5.3.2.2-11					
Type of study:	Pregnane X Receptor (PXR) Activation Assay					
Study system:	Rat and human, *in vitro*					
Method:	The potential for ruxolitinib to induce human CYP3A4 or rat CYP3A was determined using the pregnane X receptor (PXR) assay.					
Results:						
	Human			Rat		
Ruxolitinib concentration:	3 µmol/L	10 µmol/L	30 µmol/L	3 µmol/L	10 µmol/L	30 µmol/L
Fold induction compared to vehicle control:	2	6	10	1.0	2.0	4.8
induction of positive control [a]	2	14	38	8	11	20

a) Rifampicin for human and pregnenolone 16α-carbonitrile for rat.

2.6.5.12F　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（CYP1A2,2B6 誘導）

Test article: metabolite ruxolitinib

Study title:	*In vitro* evaluation of INCB018424 as an inducer of cytochrome P450 expression in cultured human hepatocytes
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-11.06.1]
Location in CTD:	5.3.2.2-12
Type of study:	*In vitro* hepatocyte induction experiment
Study system:	Primary cultures of cryopreserved or fresh human hepatocytes
Method:	Hepatocytes were treated once daily for 3 days with DMSO (vehicle control), ruxolitinib (1, 3 or 10 µM), or positive control. After treatment, the cells were incubated with substrates for the analysis of phenacetin O-dealkylation (marker for CYP1A2) and bupropion hydroxylation (marker for CYP2B6) by LC-MS/MS.

Results:

	CYP1A2 (Phenacetin O-dealkylation)							
	Fold induction compared to vehicle control:				Induction as% of positive control			
Subject [a]:	H768	HC2-14	H1016	Mean	H768	HC2-14	H1016	Mean
Vehicle control (0.1% DMSO)	1.00	1.00	1.00	1.00				
1 µM ruxolitinib	1.41	0.990	1.09	1.16	1.52	-0.00826	0.0994	0.536
3 µM ruxolitinib	0.993	0.969	1.11	1.02	-0.0275	-0.0269	0.118	0.0212
10 µM ruxolitinib	1.17	0.967	1.26	1.13	0.629	-0.0286	0.292	0.298
100 µM omeprazole (positive control)	27.8	117	91.2	78.8	100	100	100	100
	CYP2B6 (Bupropion hydroxylation)							
Vehicle control (0.1% DMSO)	1.00	1.00	1.00	1.00				
1 µM ruxolitinib	1.09	1.07	1.39	1.18	1.35	2.26	3.59	2.40
3 µM ruxolitinib	1.31	1.25	1.59	1.38	4.90	7.73	5.41	6.01
10 µM ruxolitinib	1.47	1.02	1.75	1.41	7.44	0.735	6.84	5.01
750 µM phenobarbital (positive control)	7.37	4.29	11.9	7.85	100	100	100	100

a) Subjects H768 and HC2-14 were cryopreserved hepatocytes and H1016 was freshly isolated hepatocytes

2.6.5.13A 薬物動態試験：累積排泄

Test article: [^{14}C]ruxolitinib

Species:	Rat				Rat				Rat			
Report Number::	[INCYTE-DMB-08.61.1]				[INCYTE-DMB-08.61.1]				[INCYTE-DMB-09.82.1]			
GLP compliance:	Not required				Not required				Not required			
Location in CTD:	4.2.2.4-4				4.2.2.4-4				4.2.2.5-1			
Gender (M/F)/Number of animals:	M/4				M/4				F/4			
Feeding condition:	Fasted				Fasted				Fasted			
Vehicle/Formulation:	Solution / 0.5% methylcellulose in water				Solution / 10% DMAC, 30% of SBE-beta-cyclodextrin aqueous solution (50% w/v), and 60% saline				Solution / 0.5% methylcellulose in water			
Method of Administration:	oral				Intravenous				oral			
Dose:	50 mg/kg				10 mg/kg				25 mg/kg			
Specific activity:	57.25 mCi/mmol				57.25 mCi/mmol				59.98 mCi/mmol			
Radionuclide:	^{14}C											
Analyte / assay:	Total radioactivity / LSC											
Result												
Excretion (% of dose) :	Urine	Bile	Feces	Total	Urine	Bile	Feces	Total	Urine	Bile	Feces	Total
Time												
0 – 24 hr	51.6	36.5	12.6	101	48.3	36.3	12.9	97.5	44.8	39.1	18.6	102
0 – 48 hr	51.9	36.6	13.1	102	48.6	36.5	14.1	99.2	45.2	39.3	19.8	104
0 – 72 hr	52.0	36.7	13.3	102	48.7	36.5	14.2	99.4	45.3	39.5	20.0	105
0 – 96 hr	52.0	36.7	13.5	102	48.8	36.5	14.4	99.7	45.4	39.5	20.1	105

2.6.5.13B　薬物動態試験：累積排泄

Test article: [^{14}C]ruxolitinib

Species:	Dog			Dog			Human		
Report Number::	[INCYTE-DMB-08.62.2]			[INCYTE-DMB-08.62.2]			[INCB 18424-134]		
GLP compliance:	Not required			Not required			Not required		
Location in CTD:	4.2.2.5-2			4.2.2.5-2			5.3.3.1-4		
Gender (M/F)/Number of animals:	M/2			F/2			M/6		
Feeding condition:	Not fasted			Not fasted			Fasted		
Vehicle/Formulation:	Solution / 0.5% methylcellulose in water			Solution / 0.5% methylcellulose in water			Solution / water		
Method of Administration:	oral			oral			oral		
Dose:	3 mg/kg			3 mg/kg			25 mg		
Specific activity:	57.25 mCi/mmol			57.25 mCi/mmol			59.98 mCi/mmol		
Radionuclide:	^{14}C								
Analyte / assay:	Total radioactivity / LSC								
Result									
Excretion (% of dose) :	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
Time									
0 – 24 hr	32.1	46.8	78.9	32.8	45.5	78.3	69.9	0.5	70.4
0 – 48 hr	33.9	53.1	87.0	35.8	51.9	87.7	73.0	9.9	82.9
0 – 72 hr	34.3	54.5	88.8	36.2	57.3	93.5	73.4	16.1	89.5
0 – 96 hr	34.4	54.7	89.1	36.3	57.9	94.2	73.5	18.8	92.3
0 – 192 hr	-	-	-	-	-	-	73.6	21.9	95.5

追記: ケージ回収液も含めたイヌの総回収率は 94.0%（雄），96.1%（雌）

2.6.5.14　薬物動態試験：胆汁中排泄

すべての結果は2.6.5.13Aに記載した。

2.6.5.15A　薬物動態試験：薬物相互作用（吸収に及ぼす胃内 pH の影響）

Test article: ruxolitinib

Study title:	Effect of elevated gastric pH on the oral absorption of INCB018424 in cynomolgus monkeys	
GLP compliance:	Not required	
Report Number:	[INCYTE-DMB-09.60.1]	
Location in CTD:	4.2.2.2-5	
Type of study:	Absorption and pharmacokinetics in the presence and absence of famotidine and calcium carbonate (pH-altering agents) in monkeys	
Method:	Species / Gender / number of animals:	cynomolgus monkey/ Male / 4
	Feeding condition:	Fasted
	Vehicle / Formulation:	Solution / 0.5% methylcellulose
	Dose:	Day0: single oral dose,2.5 mg/kg of ruxolitinib Day8: single oral dose 2.5 mg/kg of ruxolitinib + 2 mg/kg/10 min infusion of famotidine (1-hour prior dosing of ruxolitinib) + 500 mg/10 mL water oral dose of calcium carbonate (0.5-hour prior dosing of ruxolitinib)
	Sampling schedule:	pre-dose, 15, 30 min, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 and 24 h post-dose
	Sample / Analyte / Assay:	Plasma / ruxolitinib / LC-MS/MS

PK parameters	ruxolitinib alone	ruxolitinib + famotidine + calcium carbonate
Tmax (h)	3.5	1.8
Cmax (nmol/L)	294	370
AUCinf (nmol·h/L)	1630	1373
T1/2(h)	1.5	1.2

2.6.5.15B　薬物動態試験：薬物相互作用（Caco-2 膜透過性）

Test article: ruxolitinib

Study title:	Biopharmaceutical classification of INCB018424 - Part II Evaluation of permeability in Caco-2 cell monolayers
GLP compliance:	Not required
Report Number:	[INCYTE-DMB-08.147.1]
Location in CTD:	5.3.2.3-1
Type of study:	*In vitro* permeability assessment and transporter interactions across Caco-2 cell monolayers
Study system	Human intestinal cell Caco-2
Method:	The apparent permeability coefficient (Papp) as well as the bi-directional transport of ruxolitinib was determined across the Caco-2 cell monolayers in the absence and presence of P-glycoprotein(P-gp) inhibitors by LC-MS.

Results:

Substrate	Ruxolitinib						Digoxin			Nadolol	Metoprolol
(nmol/L)	1	1	1	10	50[a]	100	5	5	5	50 [a]	50 [a]
Inhibitor	-	CSA	Quinidine	-	-	-	-	CSA	Quinidine	-	-
Papp (x 10^{-6} cm/sec)											
(A-B)	28.6	32.3	30.6	20.0	21.5	17.9	0.97	3.11	2.84	0.41	17.4
(B-A)	22.4	21.7	20.5	17.5	-	12.9	8.69	4.99	4.12	-	-
Ratio (B-A/A-B)	0.79	0.67	0.67	0.88	-	0.72	8.94	1.60	1.45	-	-

CSA : cyclosporine A

a) in the presence of 4% BSA

CSA 及び Digoxin は P-gp の阻害薬であり，Digoxin は P-gp のベンチマーク，Nadolol 及び Metoprolol はそれぞれ P-gp の低透過性及び高透過性基質として用いた