

2.6.4 薬物動態試験の概要文

(2) ウサギにおける ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液を単回及び反復点眼投与した時の眼組織内分布

[!資料 4.2.2.3-4]

雄性有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液 1.0%(50 μL)を単回両眼点眼した際の眼組織及び血液中放射能濃度を表 2.6.4.4-2 に示した。点眼後の放射能は点眼部位である涙液から角膜、眼房水という順で放射能濃度が低くなることから、経角膜ルートで眼内に速やかに移行し、特にメラニン含有組織である虹彩・毛様体及び網膜・脈絡膜に多く分布した。放射能は虹彩・毛様体、水晶体及び網膜・脈絡膜では投与後 1 時間に、それ以外の組織では投与後 0.25 時間に最高濃度を示した。その後、メラニンを含有しない組織では投与後 336 時間までに放射能はおおむね消失したが、メラニン含有組織では緩やかに消失した。

雄性有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液 1.0%(50 μL)を反復(1 日 2 回、投与間隔 10 時間)両眼点眼した際の 7 日目最終点眼後の眼組織及び血液中放射能濃度を表 2.6.4.4-3 に示した。放射能は水晶体では最終投与後 1 時間に、網膜・脈絡膜では最終投与後 24 時間に、それ以外の組織では投与後 0.25 時間に最高濃度を示した。その後、メラニンを含有しない組織では投与後 336 時間までに放射能はおおむね消失していたが、メラニン含有組織では緩やかに消失した。単回点眼時と比較すると、AUC は血液で 2.7 倍、角膜で 2.6 倍、眼房水で 1.8 倍、虹彩・毛様体で 5.2 倍、水晶体で 2.7 倍、硝子体で 2.7 倍、網膜・脈絡膜で 7.5 倍、結膜で 3.9 倍、瞬膜で 2.0 倍、強膜(前眼部)で 2.8 倍、強膜(後眼部)で 5.4 倍、視神経で 1.9 倍、涙液で 1.2 倍となり、特にメラニン含有組織では放射能濃度は明らかに増大した(表 2.6.4.4-4)。強膜(後眼部)での AUC の増加は網膜・脈絡膜が隣接している影響と考えられた。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.4-2 雄性有色ウサギに ^{14}C -リバスジル塩酸塩点眼液 1.0%を単回両眼点眼した後の眼組織内放射能濃度

組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)			
	0.25 時間	1 時間	6 時間	24 時間
血液	276.48 ± 52.69	128.87 ± 29.70	10.63 ± 1.22	4.92 ¹⁾
角膜	42545.12 ± 10731.59	13939.25 ± 4170.35	1647.78 ± 1138.87	1016.67 ± 396.23
眼房水	5187.69 ± 764.67	1697.22 ± 438.93	177.73 ± 86.29	58.27 ± 41.64
虹彩・毛様体	40332.87 ± 22269.52	82078.55 ± 17871.07	29181.38 ± 8856.74	22081.94 ± 5016.87
水晶体	206.54 ± 171.32	386.34 ± 174.38	195.29 ± 75.62	87.15 ± 19.24
硝子体	176.00 ± 83.70	55.35 ± 12.14	28.65 ± 16.00	8.11 ± 0.50
網膜・脈絡膜	5617.66 ± 3101.39	6375.70 ± 1239.40	4116.71 ± 2838.11	2593.55 ± 293.91
結膜	2475.06 ± 545.58	1625.96 ± 731.34	580.22 ± 535.20	563.10 ± 258.32
瞬膜	3703.86 ± 151.26	1520.28 ± 686.18	228.56 ± 199.09	320.52 ± 136.14
強膜(前眼部)	4795.21 ± 1137.68	2195.77 ± 1184.64	1670.28 ± 1183.57	395.35 ± 81.72
強膜(後眼部)	366.66 ± 63.19	330.41 ± 223.78	80.15 ± 45.37	91.84 ± 85.77
視神経	346.51 ± 83.25	BLQ	BLQ	154.18 ²⁾
涙液	41525.64 ± 24434.89	34389.72 ± 19598.72	12311.63 ± 19875.53	3783.59 ± 4146.54

組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)		
	72 時間	168 時間	336 時間
血液	6.24 ± 0.43	6.12 ± 0.39	3.17 ²⁾
角膜	233.80 ± 112.59	210.77 ± 72.12	78.80 ± 43.60
眼房水	9.78 ± 4.53	10.78 ± 6.23	5.74 ²⁾
虹彩・毛様体	12388.83 ± 1692.46	12551.81 ± 1843.16	6551.73 ± 1987.96
水晶体	20.29 ± 3.62	6.04 ± 2.08	2.58 ± 1.17
硝子体	14.68 ± 10.39	6.95 ± 3.09	2.68 ± 1.71
網膜・脈絡膜	1447.62 ± 250.80	2210.04 ± 353.01	1814.19 ± 163.71
結膜	107.42 ± 30.91	232.44 ± 107.20	66.75 ± 74.42
瞬膜	248.56 ± 221.35	68.05 ± 17.56	59.44 ¹⁾
強膜(前眼部)	197.62 ± 59.37	159.76 ± 24.26	127.69 ± 26.04
強膜(後眼部)	69.33 ± 23.60	47.59 ± 9.62	20.24 ± 4.57
視神経	BLQ	60.88 ²⁾	BLQ
涙液	1842.43 ¹⁾	1163.12 ± 507.38	529.23 ²⁾

平均値±標準偏差(n=3)

1): 各値は 2 例の平均値

2): 各値は個体値

BLQ: 定量下限未満

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.4-3 雄性有色ウサギに ^{14}C -リバスジル塩酸塩点眼液 1.0% を 7 日間 1 日 2 回
反復両眼点眼した後の眼組織内放射能濃度

組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)			
	最終投与後 0.25 時間	最終投与後 1 時間	最終投与後 6 時間	最終投与後 24 時間
血液	241.15 ± 38.60	146.61 ± 14.11	44.30 ± 4.84	30.40 ± 3.13
角膜	121986.13 ± 42495.65	17878.78 ± 4626.91	7745.62 ± 4634.26	1847.54 ± 845.11
眼房水	10232.89 ± 3276.35	2448.48 ± 890.85	301.94 ± 86.71	134.55 ± 68.85
虹彩・毛様体	239129.98 ± 61499.29	159149.23 ± 15124.36	126511.89 ± 25017.57	158434.80 ± 46477.19
水晶体	570.35 ± 34.99	804.82 ± 345.14	302.97 ± 72.40	251.41 ± 40.45
硝子体	132.57 ± 47.71	80.41 ± 10.34	39.47 ± 13.77	53.79 ± 21.27
網膜・脈絡膜	19098.63 ± 5264.86	19744.80 ± 5697.88	12278.63 ± 2803.47	38297.21 ± 13828.59
結膜	10637.80 ± 7373.93	2023.05 ± 729.23	3144.10 ± 2506.86	1340.44 ± 1180.62
瞬膜	4509.14 ± 2066.65	1216.79 ± 132.79	969.49 ± 853.92	872.05 ± 899.01
強膜(前眼部)	4165.66 ± 728.87	2847.89 ± 1211.54	1879.82 ± 611.77	993.38 ± 601.71
強膜(後眼部)	1077.79 ± 429.37	701.14 ± 161.97	432.78 ± 100.43	697.11 ± 398.78
視神経	380.06 ± 139.55	157.76 ± 39.25	77.86 ¹⁾	BLQ
涙液	448562.31 ± 246596.32	38531.93 ± 8683.53	7209.77 ± 4699.77	3601.89 ¹⁾

組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)		
	最終投与後 72 時間	最終投与後 168 時間	最終投与後 336 時間
血液	20.97 ± 2.81	15.24 ± 0.31	8.33 ± 1.10
角膜	1187.81 ± 193.29	493.14 ± 126.91	222.63 ± 63.76
眼房水	43.16 ± 22.85	13.46 ± 4.87	BLQ
虹彩・毛様体	67819.95 ± 3809.55	51970.75 ± 12989.11	45214.62 ± 3004.15
水晶体	69.10 ± 10.28	21.59 ± 1.08	23.28 ± 14.95
硝子体	26.48 ± 5.95	18.93 ± 7.05	15.77 ± 6.64
網膜・脈絡膜	18160.61 ± 1687.16	14513.74 ± 1962.25	7003.91 ± 4089.58
結膜	1439.38 ± 261.97	651.27 ± 594.17	177.77 ± 97.82
瞬膜	551.50 ± 468.16	79.80 ± 36.86	82.34 ± 5.70
強膜(前眼部)	647.29 ± 59.58	621.81 ± 313.86	587.64 ± 31.35
強膜(後眼部)	239.80 ± 64.43	272.63 ± 65.21	165.83 ± 55.16
視神経	337.90 ¹⁾	BLQ	BLQ
涙液	1497.29 ± 1018.61	987.73 ± 247.63	718.02 ²⁾

平均値±標準偏差(n=3)

1): 各値は 2 例の平均値

2): 各値は個体値

BLQ: 定量下限未満

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.4-4 有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液を単回及び反復点眼後の
組織中薬物動態パラメータ

組織	Cmax(ng eq./g 又は ng eq./mL)			AUC _{0-t} (ng eq. · hr/g 又は ng eq. · hr/mL)		
	単回	反復	反復/単回	単回	反復	反復/単回
血液	276	241	0.9	2317	6276	2.7
角膜	42545	121986	2.9	165122	431756	2.6
眼房水	5188	10233	2.0	14049	24953	1.8
虹彩・毛様体	82079	239130	2.9	4419612	22801558	5.2
水晶体	386	805	2.1	8811	24160	2.7
硝子体	176	133	0.8	3044	8256	2.7
網膜・脈絡膜	6376	38297	6.0	702414	5283034	7.5
結膜	2475	10638	4.3	75190	296063	3.9
瞬膜	3704	4509	1.2	51300	102838	2.0
強膜(前眼部)	4795	4166	0.9	87008	242716	2.8
強膜(後眼部)	367	1078	2.9	18060	97719	5.4
視神経	347	380	1.1	13297	25868	1.9
涙液	41526	448562	10.8	716718	835334	1.2

パラメータは組織内放射能濃度の平均値を用いて算出

2.6.4.4.3 血漿蛋白結合

[!資料 4.2.2.3-5]

平衡透析法(*in vitro*)によるヒト及び各種動物の血漿に対する ^{14}C -リパスジル塩酸塩 (10, 100, 1000ng/mL)の蛋白結合率を表 2.6.4.4-5 に示した。ヒト, イヌ, ウサギ及びラット血漿での蛋白結合率はいずれの濃度でもほぼ一定であり,それぞれ 55.4~59.8%, 41.8~43.1%, 41.2~41.9%及び 35.3~36.7%であった。ヒト血漿の構成蛋白であるヒト血清アルブミン(HSA)及び酸性糖タンパク(α_1 -AGP)に対する蛋白結合率を表 2.6.4.4-6 に示した。HSA 及び α_1 -AGP に対する蛋白結合率はそれぞれ 19.7~22.7%及び 27.6~30.4%であり, リパスジルはヒト血漿中で HSA 及び α_1 -AGP に結合していると考えられた。

表 2.6.4.4-5 *in vitro* における ^{14}C -リパスジルの血漿蛋白に対する結合率

動物種/系統	血漿蛋白結合率 (%)		
	10ng/mL	100ng/mL	1000ng/mL
ヒト	No.1 59.8 ± 1.7	56.9 ± 1.8	58.0 ± 0.3
	No.2 56.4 ± 1.4	55.6 ± 1.2	55.8 ± 0.4
	No.3 56.4 ± 1.9	56.8 ± 1.9	55.4 ± 2.6
イヌ/Beagle	43.1 ± 0.9	42.5 ± 1.4	41.8 ± 0.6
ウサギ/Japanese White	41.9 ± 1.9	41.3 ± 1.3	41.2 ± 0.6
ラット/Sprague Dawley	35.3 ± 0.8	36.7 ± 0.1	35.9 ± 1.6

平均値±標準偏差(n=3)

表 2.6.4.4-6 *in vitro* における ^{14}C -リパスジルのヒト血漿構成蛋白に対する結合率

蛋白種	蛋白結合率 (%)		
	10ng/mL	100ng/mL	1000ng/mL
4% HSA	22.7 ± 0.8	19.7 ± 0.7	20.3 ± 0.3
0.1% α_1 -AGP	30.4 ± 2.4	30.3 ± 0.4	27.6 ± 0.8

平均値±標準偏差(n=3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.4 血球移行性

(1) *In vitro* における ^{14}C -リパスジルの血球移行性

[!資料 4.2.2.3-5]

ヒト及び各種動物での ^{14}C -リパスジル塩酸塩の血球移行率を表 2.6.4.4-7 に示した。ヒト、イヌ、ウサギ及びラットの血球移行率はいずれの濃度でもほぼ一定であり、それぞれ 37.7～45.8%, 47.5～52.2%, 47.6～50.9%及び 48.0～49.4%であった。

表 2.6.4.4-7 *in vitro* における ^{14}C -リパスジルの血球移行率

動物種/系統		血球移行率(%)		
		10ng/mL	100ng/mL	1000ng/mL
ヒト	No.1	40.6 ± 2.7	45.8 ± 4.1	45.4 ± 2.9
	No.2	39.6 ± 3.5	39.8 ± 1.3	38.8 ± 2.6
	No.3	42.5 ± 1.1	37.7 ± 1.8	38.3 ± 1.5
イヌ/Beagle		47.5 ± 6.7	50.3 ± 3.1	52.2 ± 2.5
ウサギ/Japanese White		50.9 ± 2.8	48.4 ± 1.0	47.6 ± 0.5
ラット/Sprague Dawley		48.9 ± 1.9	49.4 ± 1.6	48.0 ± 1.0

平均値±標準偏差(n=3)

(2) ^{14}C -リパスジル塩酸塩をラットに単回経口投与した時の血球移行性

[!資料 4.2.2.2-2]

^{14}C -リパスジル塩酸塩を雄性ラットに 3mg/kg の投与量で経口投与した際の血球移行率を表 2.6.4.4-8 に示した。投与後 15 分での血球移行率は 22%であったが、経時的に上昇して 168 時間後では 86%を示した。この上昇は血液中での代謝物の割合に影響されると推察された。

表 2.6.4.4-8 雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した時の血球移行率

経過時間	血球移行率(%)
15 分	22 ± 1
4 時間	28 ± 1
24 時間	47 ± 3
72 時間	65 ± 3
168 時間	86 ± 2

平均値±標準偏差(n=3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.4.5 メラニン親和性

[!資料 4.2.2.3-7]

リパスジル塩酸塩水和物及び2種類の代謝物(M1及びM2)の合成メラニンに対する結合率及び解離率を表 2.6.4.4-9 に示した。メラニン結合率は同じ濃度(6.25 μ mol/L)で比較すると、対照薬物であるクロロキンが97.30%と最も高く、次いでM1が66.86%、リパスジルが62.11%であり、M2が5.86%と最も低かった。解離率は同じ濃度(6.25 μ mol/L)で比較すると、クロロキンが1.00%と低く、ほとんど解離しないのに対し、M1が22.22%、リパスジルが25.29%及びM2が85.52%の解離を示した。メラニン親和性のパラメータを表 2.6.4.4-10 に示した。メラニン結合ポテンシャル(n/Kb)を比較すると、クロロキン>M1>リパスジル>M2 の順で高く、リパスジル及び代謝物のメラニン親和性はクロロキンの10分の1以下であった。

表 2.6.4.4-9 *in vitro* におけるリパスジル及び代謝物のメラニン結合率及び解離率

化合物		濃度(μ mol/L)								
		0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
リパスジル	結合率(%)	82.48	78.33	73.67	70.10	62.11	56.04	49.46	40.48	31.53
	解離率(%)	12.20	15.58	18.06	21.90	25.29	28.66	31.49	34.48	40.86
M1	結合率(%)	85.38	81.34	78.80	74.40	66.86	60.55	55.18	43.80	33.42
	解離率(%)	9.64	12.51	14.73	18.74	22.22	26.10	29.17	33.58	41.83
M2	結合率(%)	10.33	11.37	6.47	5.99	5.86	7.26	5.54	3.57	2.55
	解離率(%)	71.04	57.85	99.50	93.49	85.52	63.34	59.42	84.53	107.31
クロロキン*	結合率(%)	93.58	96.12	96.07	96.38	97.30	97.48	98.10	96.46	91.74
	解離率(%)	-	-	1.36	1.39	1.00	0.86	0.73	1.13	3.40

*: 対照薬物, -: 非算出

表 2.6.4.4-10 メラニン親和性パラメータ

化合物	n (μ mol/mg melanin)	Kb(1/K) (μ mol/L)	K (L/ μ mol)	n/Kb (L/mg melanin)
リパスジル	0.498	37.1	0.0269	0.0134
M1	0.486	27.7	0.0361	0.0175
M2	0.0364	40.0	0.0250	0.000911
クロロキン	1.38	2.94	0.340	0.470

n: メラニン 1mg 当たりに結合する最大薬物分子数

Kb: 結合定数の逆数

K: 結合定数

n/Kb: メラニン結合ポテンシャル

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.4.6 角膜透過性

[!資料 4.2.2.3-8, 4.2.2.3-9]

ヒト，サル，イヌ及びウサギの摘出角膜を用いて *in vitro* でのリパスジルの角膜透過性を評価した(表 2.6.4.4-11)。角膜透過性定数 K_p はヒト，サル，イヌ及びウサギでそれぞれ 6.81, 6.44, 2.91 及び 5.96 ($\times 10^{-6}$ cm/sec)であり，種差は大きくなかった。

表 2.6.4.4-11 *in vitro* でのリパスジルの角膜透過性

動物種 (系統)	例数 (眼)	摘出眼 保存状態	K_p ($\times 10^{-6}$ cm/sec)	Lag-time (min)
ヒト	1	DMEM 中 5 日間 4°C で保存	6.81	40.5
サル (Cynomolgus)	3	新鮮	6.44 \pm 1.21	51.4 \pm 3.6
イヌ (Beagle)	3	新鮮	2.91 \pm 0.20	52.6 \pm 2.6
ウサギ (NZW)	3	新鮮	5.96 \pm 1.83	37.7 \pm 0.8

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium

K_p : 角膜透過性定数

NZW: New Zealand White

平均値 \pm 標準偏差(n=3)

2.6.4.4.7 水晶体蛋白結合

[!資料 4.2.2.3-10, 4.2.2.3-11]

ヒト，サル，イヌ及びウサギの摘出水晶体を用いて *in vitro* でのリパスジルの水晶体蛋白結合を評価した(表 2.6.4.4-12)。10%水晶体ホモジネートとリパスジル塩酸塩水和物をインキュベーションした後，超遠心分離法により結合率を算出した。水晶体蛋白との結合率には大きな種差を認めず，結合率は低かった。また，眼房水と水晶体は隣接する組織であり，眼房水中ではリパスジルの非結合状態として存在することから，水晶体蛋白結合率は眼房水から水晶体への移行を擬似的に表していると考えられ，眼房水から水晶体への移行及び特異的結合の程度は低いものと推察された。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.4-12 *in vitro* でのリパスジルの水晶体蛋白に対する結合率

動物種 (系統)	例数 (眼)	摘出眼 保存状態	リパスジル濃度 (ng/mL)	水晶体蛋白結合率 (%)
ヒト	1	DMEM 中 5 日間 4°C で保存	100	27.91
サル (Cynomolgus)	3	新鮮	100	23.55 ± 1.92
イヌ (Beagle)	3	新鮮	10	24.82 ± 4.53
			100	25.63 ± 1.08
			1000	20.31 ± 4.18
ウサギ (NZW)	3	新鮮	10	23.82 ± 4.17
			100	20.13 ± 7.11
			1000	17.88 ± 5.87
ウサギ (Dutch)	3	新鮮	10	24.36 ± 3.05
			100	18.85 ± 1.35
			1000	17.55 ± 0.39

NZW: New Zealand White

平均値±標準偏差(n=3)

2.6.4.4.8 胎盤・胎児移行性

[!資料 4.2.2.3-6]

妊娠 18 日目のラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を 3mg/kg の投与量で単回経口投与した際の全身オートラジオグラムを図 2.6.4.4-9, 図 2.6.4.4-10 及び図 2.6.4.4-11 に示した。投与した放射能は母体及び胎児のほとんどの臓器・組織・体液で、最初の測定時間である投与後 15 分に最高濃度に達した後、経時的に減少した。投与後 15 分の母体では小腸内容物、胃内容物、胆汁、膀胱尿に著しく高濃度の放射能が分布し、以下、腎盂、肝臓、腎臓髓質外帯、腎臓皮質、腎臓髓質内帯、唾液腺、眼窩外涙腺、脾臓、脾臓、下垂体、ハーダー腺、甲状腺、卵黄嚢、副腎、松果体、骨髓、乳腺、胸腺、卵巣、肺に血液中濃度を上回る放射能を認めた。胎児では肝臓で若干高濃度を示したが、その放射能濃度は母体の血液中濃度を下回り、他の部位は肝臓よりも低濃度でおおむね同程度の濃度を示した。投与 72 時間後の母体では腎臓髓質外帯、肝臓、大腸内容物、腎臓皮質、小腸内容物、篩骨、卵黄嚢、膀胱尿、腎臓髓質内帯、脾臓、肺、褐色脂肪、ハーダー腺、眼窩外涙腺、甲状腺に血液中濃度を上回る放射能を認めた。胎児では消化管内容物に母体の血液中濃度を上回る放射能を検出したが、他の部位ではほとんど消失した。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

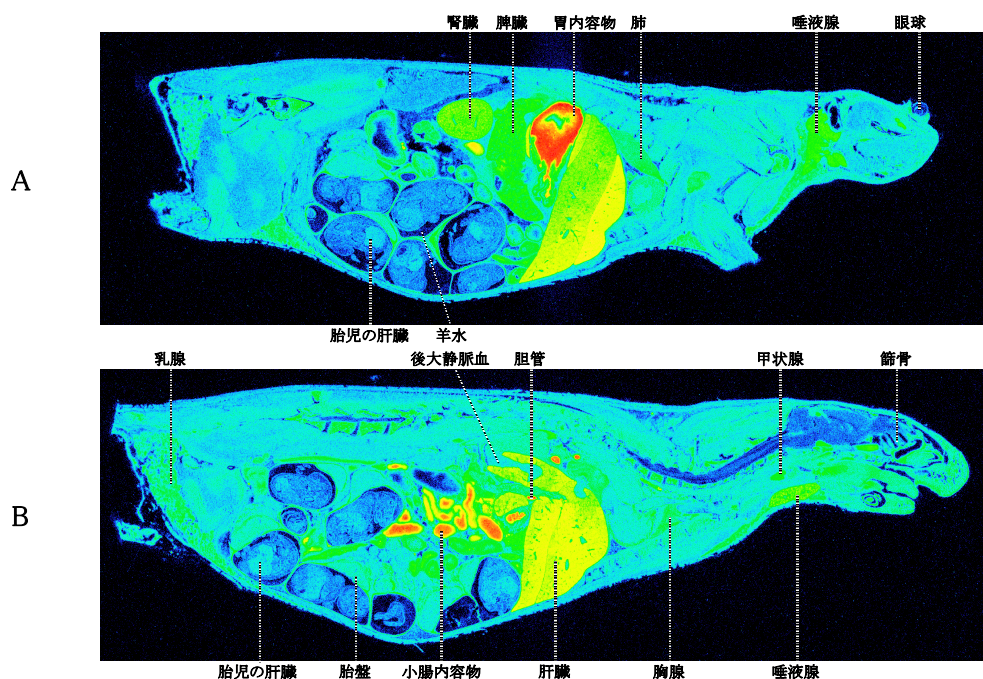


図 2.6.4.4-9 妊娠ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後 15 分の全身オートラジオグラム

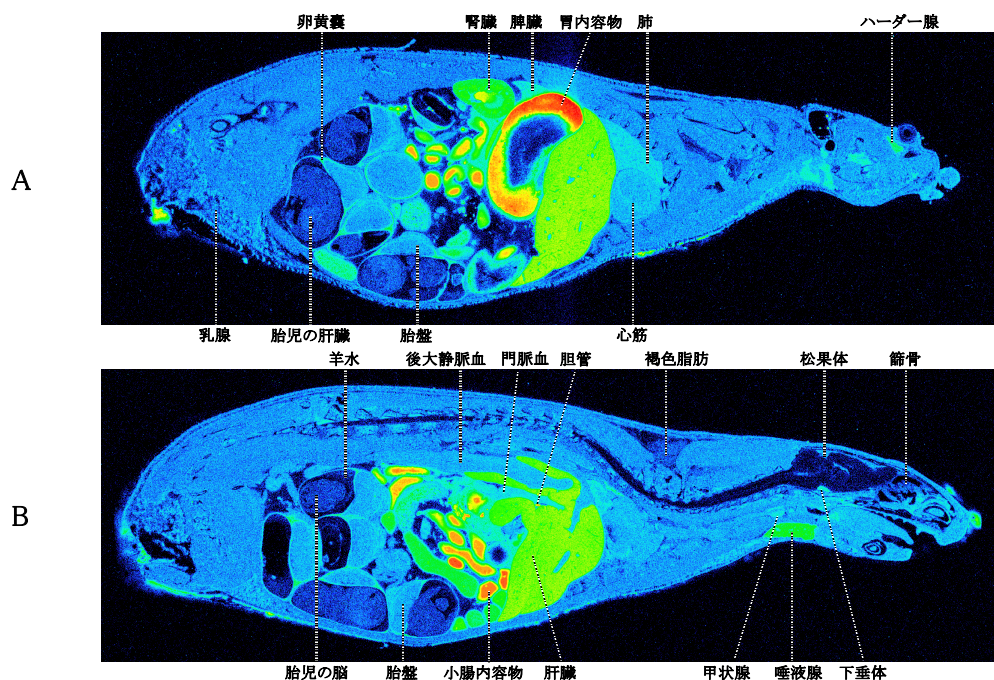
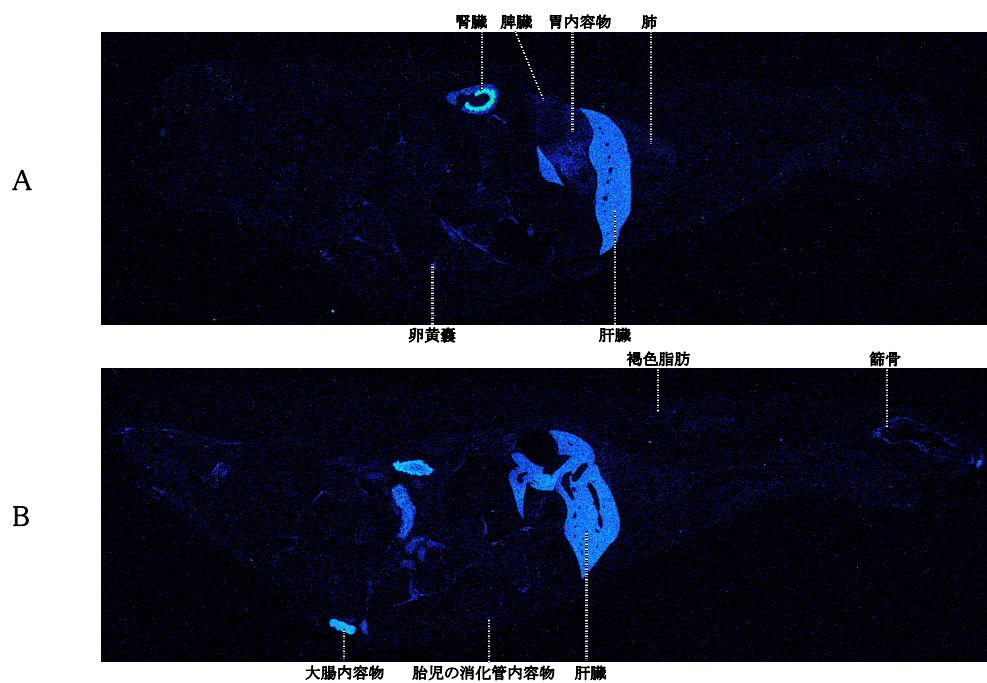


図 2.6.4.4-10 妊娠ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後 1 時間の全身オートラジオグラム

2.6.4 薬物動態試験の概要文



A: 左側断面, B: 中央断面

図 2.6.4.4-11 妊娠ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後 72 時間の全身オートラジオグラム

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.5 代謝(動物種間の比較)

2.6.4.5.1 ウサギに点眼後の眼組織中代謝物

[!資料 4.2.2.3-4]

雄性有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液 1.0%(50 μL)を単回両眼点眼した際の角膜、眼房水及び虹彩・毛様体中の代謝物を HPLC-RAD 法で分析した(表 2.6.4.5-1)。また、反復(1日2回、投与間隔 10 時間)両眼点眼した際の 7 日目最終点眼後の角膜、眼房水及び虹彩・毛様体中の代謝物を HPLC-RAD 法で分析した(表 2.6.4.5-2)。点眼後の角膜、眼房水及び虹彩・毛様体中には代謝物として M1 のみを認めた。存在割合はリパスジルよりも明らかに低い値であり、点眼後の眼内組織ではリパスジルが薬効本体であることが示唆された。

表 2.6.4.5-1 雄性有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液 1.0%を単回両眼点眼後の眼組織中未変化体及び代謝物濃度

眼組織	化合物	濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)		
		1 時間	6 時間	24 時間
角膜	リパスジル	6504.87	540.75	241.10
	M1	1770.67	221.31	BLQ
	未同定代謝物	5533.97	628.68	393.44
眼房水	リパスジル	1752.90	59.91	BLQ
	M1	172.79	23.65	BLQ
	未同定代謝物	189.55	67.82	32.52
虹彩・毛様体	リパスジル	54460.13	30057.99	14022.57
	M1	1723.42	1948.81	1245.37
	未同定代謝物	21895.62	11242.94	6579.08

代謝物分析は 3 例の組織をまとめて分析試料とした

未同定代謝物濃度はすべての未同定代謝物の合計を示す

M2, M3, M4, M5, M6 の濃度は全て BLQ であった

BLQ: 定量下限未満

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-2 雄性有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液 1.0% を 7 日間 1 日 2 回
反復両眼点眼後の眼組織中未変化体及び代謝物濃度

眼組織	化合物	濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)		
		1 時間	6 時間	24 時間
角膜	リパスジル	6845.08	6907.00	907.62
	M1	866.25	252.31	19.64
	未同定代謝物	7008.39	4884.77	796.12
眼房水	リパスジル	1858.38	434.90	60.86
	M1	98.55	47.37	BLQ
	未同定代謝物	77.77	22.71	27.60
虹彩・毛様体	リパスジル	89182.61	58480.87	46775.05
	M1	14000.24	14813.10	11084.71
	未同定代謝物	91291.36	59510.07	52251.22

代謝物分析は 3 例の組織をまとめて分析試料とした

未同定代謝物濃度はすべての未同定代謝物の合計を示す

M2, M3, M4, M5, M6 の濃度は全て BLQ であった

BLQ: 定量下限未満

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.5.2 ラット経口投与後の代謝物

(1) ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を経口投与した後の代謝物の割合

[!資料 4.2.2.4-1]

雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を 3mg/kg の投与量で単回経口投与した際の血漿、尿及び糞中代謝物を HPLC-RAD 法で測定した。血漿中の代謝物ピークはその多くが既知代謝物であり、存在割合の大きい代謝物として M5(18.9～27.9%)及び M3(14.9～27.4%)を認めた(表 2.6.4.5-3)。尿中の代謝物は血漿と同様であったが、糞中の代謝物には未同定代謝物を多く認めた。尿及び糞の脱抱合反応(β -グルクロニダーゼ/アシルスルファターゼ酵素処理)後のプロファイルは脱抱合反応していない結果と同様であり(表 2.6.4.5-4 及び表 2.6.4.5-5)、抱合体代謝物は存在しなかった。

表 2.6.4.5-3 雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後の血漿中代謝物の総放射能に対する割合

代謝物	総放射能に対する割合(%)				
	0.5 時間	1 時間	2 時間	4 時間	6 時間
リパスジル	11.3	8.5	6.1	-	-
M1	1.6	1.9	1.8	3.8	-
M2	6.6	6.5	4.1	3.5	7.9
M3	14.9	17.1	20.4	27.4	17.1
M4	7.7	5.8	2.3	-	-
M5	19.5	23.2	23.4	27.9	18.9
M6	6.2*	1.4	2.5	-	-

*: 隣接する未同定代謝物との合算ピーク
3 例の血漿試料をまとめて分析試料とした
-: 100cpm 未満

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-4 雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後の尿中代謝物の総放射能に対する割合

代謝物	総放射能(0-24 時間)に対する割合(%)					
	酵素処理なし			酵素処理あり		
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3
リパスジル	6.3*	6.1*	3.3	5.4*	5.4*	1.8
M1	7.5	11.1	10.0	6.7	10.3	9.1
M2	4.5	3.6	2.7	3.9	3.4	2.1
M3	16.4	19.1	30.4	14.8	18.1	27.5
M4	5.5	5.2	3.8	6.9	5.8	4.5
M5	27.8	25.0	23.1	30.3	26.0	24.4
M6	6.8*	2.0	3.6*	1.6	7.8*	1.6

*: 隣接する未同定代謝物との合算ピーク

酵素処理: β -グルクロニダーゼ/アシルスルファターゼ

表 2.6.4.5-5 雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後の糞中代謝物の総放射能に対する割合

代謝物	総放射能(0-24 時間)に対する割合(%)					
	酵素処理なし			酵素処理あり		
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3
リパスジル	4.4	6.6	4.6	4.5	6.2	15.0*
M1	9.4	10.0	7.8	9.9	9.1	9.3
M2	5.6	9.2	7.9	5.9	8.8	9.3
M3	1.9	1.7	1.2	2.3	1.8	1.3
M6	3.7	3.1	9.8*	10.6*	2.9	3.0

*: 隣接する未同定代謝物との合算ピーク

酵素処理: β -グルクロニダーゼ/アシルスルファターゼ

(2) ラットにリパスジル塩酸塩水和物を経口投与した後の血漿中代謝物濃度測定

[!資料 4.2.2.4-2]

リパスジル塩酸塩水和物を雄性及び雌性ラットに 1, 3 及び 10mg/kg の投与量で単回経口投与後のリパスジル及びその代謝物(M1, M2, M3, M4, M5, M6)の血漿中濃度を測定した(表 2.6.4.5-6 及び表 2.6.4.5-7)。雄性ラットでは M5, 雌性ラットでは M2 の濃度が高く性差も認めたが, 雌雄ラットにリパスジル塩酸塩水和物を無毒性量 (!2.6.6.3.7)で経口投与した時の代謝物の曝露量は臨床第 I 相頻回・反復投与試験でリパスジル塩酸塩水和物点眼液 0.8%を反復点眼した時[!資料 4.2.2.4-3, 4.2.2.4-4]の曝露量よりも大きく上回り, 代謝物の安全性は担保されていると考えられた。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-6 雄性ラットにリパスジル塩酸塩水和物を単回経口投与した後の
血漿中代謝物濃度

代謝物	1mg/kg		3mg/kg		10mg/kg	
	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng · hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng · hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng · hr/mL)
リパスジル	28.846 ±8.560	16.71 ±3.93	265.012 ±168.690	240.71 ±118.33	2109.150 ±312.966	3066.59 ±840.30
M1	11.040 ±1.670	8.94 ±3.51	25.136 ±6.759	46.35 ±13.41	98.451 ±31.322	325.89 ±86.62
M2	14.269 ±3.072	11.56 ±2.33	85.383 ±38.778	101.58 ±48.85	528.744 ±182.215	1144.00 ±539.19
M3	43.965 ±13.820	61.93 ±22.10	98.834 ±67.335	203.97 ±86.06	402.449 ±200.508	1288.29 ±526.07
M4 ¹⁾	21.931 ±2.242	10.04 ±4.89	154.555 ±79.617	126.54 ±59.83	591.340 ±35.326	1085.30 ±184.79
M5	73.287 ±11.630	79.76 ±15.82	288.766 ±110.314	505.76 ±183.27	930.442 ±108.631	2744.21 ±674.15
M6	-	-	5.974 ±4.005	6.18 ±6.59	22.092 ±15.693	51.79 ±43.89

平均値±標準偏差(n=3)

-: 非算出

1): 試験終了後の品質分析において純度低下を認めたため、M4 定量濃度値は参考値とした

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-7 雌性ラットにリパスジル塩酸塩水和物を単回経口投与した後の
血漿中代謝物濃度

代謝物	1mg/kg		3mg/kg		10mg/kg	
	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng · hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng · hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng · hr/mL)
リパスジル	120.778 ±18.013	84.14 ±8.60	632.074 ±105.332	560.20 ±126.05	2347.057 ±467.117	3229.47 ±722.95
M1	23.792 ±4.583	28.07 ±3.58	34.018 ±14.690	75.48 ±27.04	112.302 ±30.756	300.79 ±34.47
M2	95.662 ±15.648	185.65 ±25.53	333.344 ±16.045	857.45 ±116.96	1101.153 ±145.461	4841.69 ±1924.85
M3	37.941 ±10.354	64.20 ±10.50	75.570 ±34.604	175.17 ±66.67	194.420 ±173.315	560.95 ±358.25
M4 ¹⁾	33.712 ±4.266	25.66 ±7.92	113.597 ±8.684	144.46 ±23.85	276.009 ±22.727	663.88 ±194.75
M5	14.606 ±2.380	39.35 ±5.21	46.188 ±1.427	182.52 ±4.06	168.225 ±63.842	836.13 ±446.52
M6	6.610 ±3.381	8.66 ±6.40	14.957 ±6.791	39.45 ±15.74	46.246 ±10.461	213.25 ±84.68

平均値±標準偏差(n=3)

1): 試験終了後の品質分析において純度低下を認めたため、M4 定量濃度値は参考値とした

2.6.4.5.3 ヒトに点眼後の代謝物

[!資料 4.2.2.4-3, 4.2.2.4-4]

臨床第 I 相頻回・反復投与試験でのリパスジル塩酸塩水和物点眼液を点眼した後の血漿及び尿を用いて、ヒトでの代謝物を検索した。臨床試験で測定対象とした M1 及び M2 のほか、M6 の存在を確認した。M6 の存在量は血漿中には極めてわずかであり、Step5(0.8%)における Cmax は点眼 1 回目で 0.0000~0.2149ng/mL、点眼 13 回目で 0.0000~0.2398ng/mL であった。M6 は尿中にはリパスジルより多く存在し、最終点眼後 48 時間までの%TotalAe は Step5(0.8%)において 1.40~3.44%であった。その他の代謝物は確認できなかった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.5.4 ヒト，サル，イヌ，ウサギ及びラット肝 S9 での代謝

[!資料 4.2.2.4-5]

(1) 各種動物肝 S9 での代謝固有クリアランス

ヒト及び各種動物の肝 S9(蛋白濃度 1mg protein/mL)を用いて ^{14}C -リパスジル塩酸塩 (3 $\mu\text{mol/L}$)の代謝試験を実施した。未変化体の減衰から代謝固有クリアランスを算出した(表 2.6.4.5-8)。補酵素(NRS: NADPH-regenerating system)添加条件下では，CLint はウサギ，サル，ヒト，ラット，イヌの順で大きく，NRS 非添加条件下ではサル，ヒト，ウサギでリパスジルの代謝を認めた。

表 2.6.4.5-8 ヒト及び動物肝 S9 を用いた ^{14}C -リパスジルの代謝固有クリアランス

動物種	系統・性	CLint($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$)	
		NRS 添加	NRS 非添加
ヒト	Mix gender	38.0	30.3
サル	Cynomolgus・雄	42.1	32.4
イヌ	Beagle・雄	6.35	-
ウサギ	New Zealand・雄	67.7	3.31
ラット	Sprague Dawley・雄	10.6	-

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素)

-: 非算出

(2) 各種肝 S9 での代謝物生成

ヒト及び各種動物の肝 S9(蛋白濃度 1mg protein/mL)を用いて ^{14}C -リパスジル塩酸塩 (3 $\mu\text{mol/L}$)の代謝試験を実施した際の代謝物生成は種差が大きかった。ヒトでは M1 への代謝活性が高く，その他の代謝物として M2, M4 及び M6 の生成をわずかに認めた。動物の中ではサルが最もヒトに類似し，M2, M4 及び M6 への代謝活性はヒトよりも高かったが，M1 への代謝活性は低かった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

(3) 阻害剤を用いた代謝酵素の推定

ヒト肝 S9(蛋白濃度 1mg protein/mL)を用いて阻害剤(100 μ mol/L)存在下, 14 C-リパスジル塩酸塩(3 μ mol/L)の代謝試験(NRS 非添加, 60 分間)を実施した。その際のリパスジル及び代謝物の存在割合を図 2.6.4.5-1 に示した。阻害剤非添加のコントロールではリパスジルは主に M1 へ代謝され, わずかに M2 も認めた。キサンチンオキシダーゼの阻害剤であるアロプリノールの添加では, 代謝の阻害は認めなかったが, アルデヒドオキシダーゼの阻害剤であるメナジオンの添加により代謝物の生成量が減少し阻害効果を認めた。さらにアルデヒドオキシダーゼの強力な阻害剤であるラロキシフェンの添加では完全に代謝が阻害され代謝物を認めなかった。

また, アルデヒドオキシダーゼの単一発現系を用いた 14 C-リパスジル塩酸塩(3 μ mol/L)の代謝試験では M1 の生成を確認した。

これらの結果, NRS 非添加条件下での代謝反応はアルデヒドオキシダーゼが主に M1 への代謝に関与していることが示唆された。

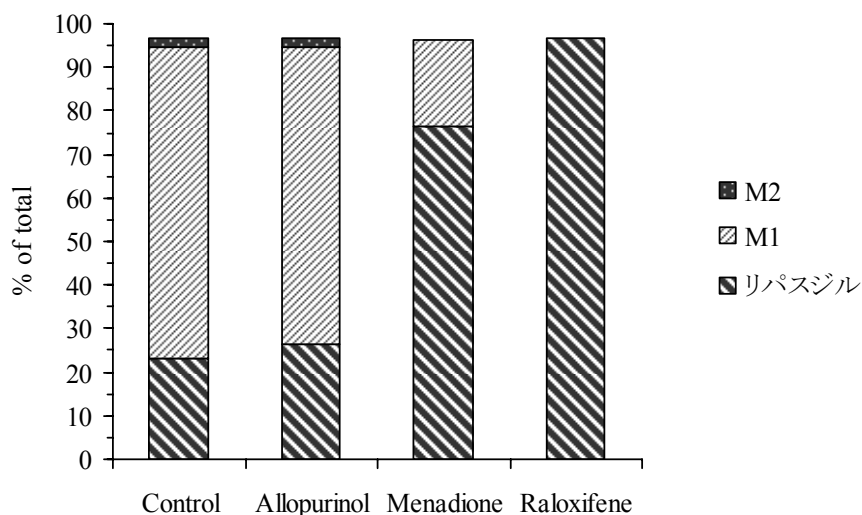


図 2.6.4.5-1 阻害剤存在下におけるヒト肝 S9 代謝のリパスジル及び代謝物の存在割合

2.6.4.5.5 ヒト, サル, イヌ, ウサギ及びラット凍結肝細胞での代謝

[!資料 4.2.2.4-5]

(1) 各種凍結肝細胞での代謝固有クリアランス

ヒト及び各種動物の凍結肝細胞(細胞濃度 1.5×10^5 cells/0.25mL)を用いて 14 C-リパスジル塩酸塩(5 μ mol/L)の代謝試験を実施した。未変化体の減衰から代謝固有クリアランスを算出した(表 2.6.4.5-9)。ヒトの凍結肝細胞は個体別の 3 ロット, 動物の凍結肝細胞は 3 個体プールの細胞を用いたが, ヒトの CLint は細胞間差を認め, 動物の CLint はウサギ, サル, イヌ, ラットの順で大きかった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-9 ヒト及び動物凍結肝細胞を用いた ^{14}C -リパスジルの代謝固有クリアランス

動物種	系統・性	CLint($\mu\text{L}/\text{min}/10^6\text{cells}$)
ヒト	男	63.6
ヒト	男	4.19
ヒト	女	17.0
サル	Cynomolgus・雄	45.3
イヌ	Beagle・雄	7.11
ウサギ	New Zealand・雄	46.7
ラット	Sprague Dawley・雄	5.86

(2) 各種凍結肝細胞での代謝物生成

ヒト及び各種動物の凍結肝細胞(細胞濃度 $1.5 \times 10^5\text{cells}/0.25\text{mL}$)を用いて ^{14}C -リパスジル塩酸塩($5\mu\text{mol/L}$)の代謝試験を実施した。代謝物生成は種差が大きかった。ヒトでは M1 への代謝活性が高く、その他の代謝物として M2, M3, M4 及び M6 の生成をわずかに認めた。動物の中ではサルが最もヒトに類似し、M1 への代謝活性が高かったが、M6 への代謝活性はヒトよりも高かった。その他、イヌ、ウサギ及びラットの凍結肝細胞で評価したが、いずれも肝 S9 の結果と類似する代謝物の生成を確認した。

2.6.4.5.6 ヒト肝 S9 及び代謝酵素単発現系を用いた代謝速度

[!資料 4.2.2.4-6]

(1) ヒト肝 S9 での代謝固有クリアランスと代謝物生成

ヒト肝 S9(蛋白濃度 0.5mg protein/mL)を用いて、リパスジル塩酸塩水和物及び代謝物($3\mu\text{mol/L}$)の代謝試験を実施した。未変化体の減衰から代謝固有クリアランスを算出した(表 2.6.4.5-10)。リパスジルの CLint と比較し、代謝物の CLint は低値であった。

リパスジルの基質とした際には、M1 及び M2 への代謝反応は NRS 添加系及び非添加系で経時的に増加し、M4 への代謝反応は NRS 添加系でわずかに確認された。M2 を基質にした際には、M6 への代謝反応は NRS 添加系及び非添加系で経時的に増加した。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-10 ヒト肝 S9 を用いたリパスジル及び代謝物の代謝固有クリアランス

基質	CLint($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$)	
	NRS 添加	NRS 非添加
リパスジル	37.8	30.8
M1	1.30	-
M2	10.8	4.14
M3	1.36	-
M4	4.22	3.72
M5	-	-
M6	-	-

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素)

-: 非算出

(2) 代謝酵素単発現系での代謝固有クリアランスと代謝物生成

ヒト CYP 単一発現系(CYP 含有濃度 $50\text{pmol}/\text{mL}$)を用いて、リパスジル塩酸塩水和物及び代謝物($3\mu\text{mol}/\text{L}$)の代謝試験を実施した。未変化体の減衰から代謝固有クリアランスを算出した(表 2.6.4.5-11)。CYP でのリパスジルの減衰は少ないものの、分子種の中では CYP3A4 及び CYP3A5 の CLint が最も高い値であった。

リパスジルを基質とした際の M2 及び M4 への代謝反応の各 CYP 分子種における生成速度を表 2.6.4.5-12 に示した。リパスジルは CYP3A4 及び CYP3A5 により M2 へ代謝され、CYP2C8, CYP3A4 及び CYP3A5 により M4 へ代謝されることが示された。なお、基質としてリパスジル以外を用いた際は代謝物の生成を認めなかった。

また、ヒトアルデヒドオキシダーゼ単一発現系(蛋白濃度 $0.5\text{mg protein}/\text{mL}$)を用いて、リパスジル塩酸塩水和物($3\mu\text{mol}/\text{L}$)の代謝試験を実施した際の CLint は $3.22\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$ であった。

表 2.6.4.5-11 ヒト CYP 単一発現系を用いたリパスジル及び代謝物の代謝固有クリアランス

基質	CLint($\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmol CYP}$)							
	1A2	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	3A4	3A5
リパスジル	-	0.0286	0.0384	-	0.0354	0.0634	0.135	0.250
M1	0.0131	-	0.0258	-	0.0174	0.0284	0.108	0.0386
M2	-	-	-	-	0.0320	-	0.402	0.214
M3	-	-	-	-	-	-	0.0414	0.0248
M4	-	-	-	-	-	-	0.0676	0.132
M5	-	-	-	-	-	-	-	0.0338
M6	-	-	-	-	-	-	-	0.0332

-: 非算出

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-12 ヒト CYP 単一発現系を用いたリパスジルの代謝物生成速度

CYP 分子種	代謝物生成速度(pmol/min/pmol CYP)	
	M2	M4 ¹⁾
コントロール	0	0
1A2	0	0
2B6	0	0
2C8	0	0.0835 ± 0.0003
2C9	0	0
2C19	0	0
2D6	0	0
3A4	0.0441 ± 0.0001	0.1617 ± 0.0026
3A5	0.0576 ± 0.0012	0.2265 ± 0.0071

平均値±標準偏差(n=3)

1): 試験終了後の品質分析において純度低下を認めたため、M4 定量濃度値は参考値とする

(3) ヒト肝 S9 及びヒトアルデヒドオキシダーゼ単一発現系での酵素速度論解析

ヒト肝 S9(蛋白濃度 0.5mg protein/mL)を用いて、リパスジル(1.56~100μmol/L)から M1 及び M2 への代謝反応(反応時間 30 分)、M2(1.56~100μmol/L)から M6 への代謝反応(反応時間 30 分)及びヒトアルデヒドオキシダーゼ単一発現系(蛋白濃度 0.5mg protein/mL)を用いてリパスジル(1.56~100μmol/L)から M1 への代謝反応(反応時間 20 分)を評価した。酵素速度論解析のパラメータを表 2.6.4.5-13 に示した。Vmax/Km の値よりリパスジルから M1 が主要な代謝であり、アルデヒドオキシダーゼの Km 値が同等であることから本酵素が主要代謝酵素であることが示唆された。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.5-13 ヒト肝 S9 及びヒトアルデヒドオキシダーゼ単一発現系を用いた代謝

酵素	NRS	基質	代謝物	Km ($\mu\text{mol/L}$)	Vmax ($\text{pmol/min/mg protein}$)	Vmax/Km ($\mu\text{L/min/mg protein}$)
S9	+	リパスジル	M1	4.80	334.32	69.7
	-			5.53	357.47	64.6
S9	+	リパスジル	M2	44.58	54.79	1.23
	-			116.78	81.06	0.694
S9	+	M2	M6	26.72	215.01	8.05
	-			29.11	205.73	7.07
AO	-	リパスジル	M1	3.32	28.02	8.44

S9: ヒト肝 S9

AO: ヒトアルデヒドオキシダーゼ

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素); +: 添加 -: 非添加

2.6.4.5.7 推定代謝経路

代謝試験の結果から推定されるリパスジルの代謝経路を図 2.6.4.5-2 に示した。リパスジルの代謝経路は、ヒトでは主にアルデヒドオキシダーゼによりイソキノリン環 1 位の水酸化体である M1 へ代謝され、またわずかに CYP3A4/3A5 及びアルデヒドオキシダーゼによりホモピペラジン環 5 位の酸化体である M2 へ代謝され、続けてアルデヒドオキシダーゼにより M6(イソキノリン環 1 位の水酸化及びホモピペラジン環 5 位の酸化体)へと代謝されることが示された。

また、リパスジルは CYP2C8、CYP3A4/3A5 によりホモピペラジン環ニトロニド体である M4 へ代謝され、その他イソキノリン環 N-オキシド体である M3 及び M2 を経由して M5(ホモピペラジン環 5 位の酸化及びイソキノリン環 N-オキシド体)へ代謝される経路が推察された。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

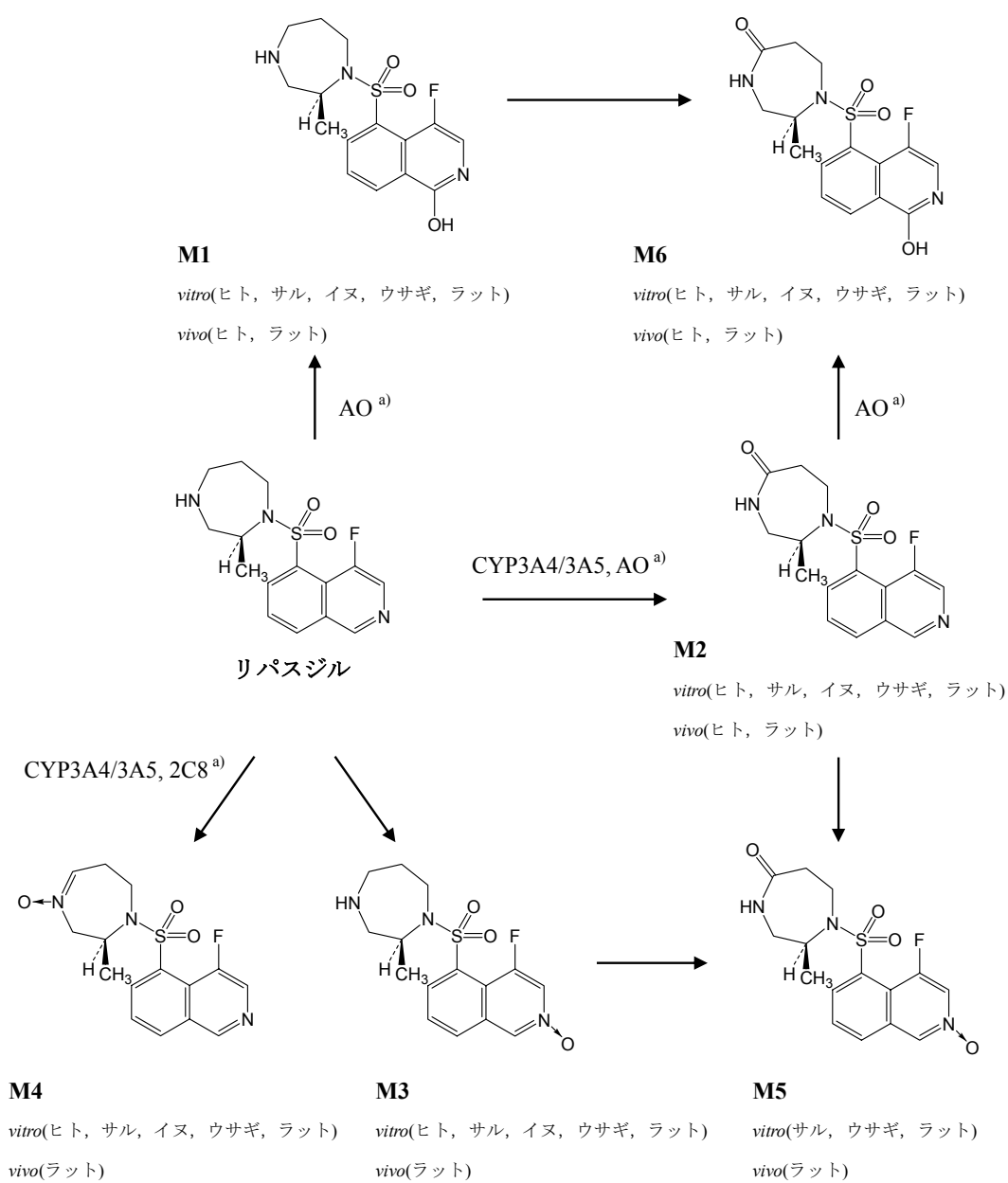


図 2.6.4.5-2 リパスジルの推定代謝経路

vitro: *in vitro* 試験で認められた代謝物, ()内は認められた動物種

vivo: *in vivo* 試験で認められた代謝物, ()内は認められた動物種

a) 関与するヒト代謝酵素, AO: アルデヒドオキシダーゼ

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.5.8 肝薬物代謝酵素の誘導

[!資料 4.2.2.4-7]

ヒト凍結肝細胞(3 ロット)を用い、0.0032～10 μ mol/L(6 濃度)のリパスジル塩酸塩水和物で2日間処理した後、各種 CYP 分子種(CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4)の特異的マーカー反応を行い、生成するマーカー代謝物量を測定した。CYP3A4 については、マーカー代謝活性阻害による誘導能への影響が懸念されたため、mRNA 測定による相対発現量の算出を併せて実施した。

CYP1A2 について、マーカー代謝活性(フェナセチン *O*-脱エチル化)から算出した誘導倍率は、それぞれ、Lot IPH: 0.94～1.42, Lot VRS: 1.01～1.48 及び Lot IZT: 0.80～0.99 であった(表 2.6.4.5-14)。CYP2B6 について、マーカー代謝活性(ブプロピオン水酸化)から算出した誘導倍率は、それぞれ、Lot IPH: 0.98～1.10, Lot VRS: 1.08～1.32 及び Lot IZT: 0.97～1.36 であった(表 2.6.4.5-15)。CYP3A4 について、マーカー代謝活性(テストステロン 6 β -水酸化)から算出した誘導倍率は、それぞれ、Lot IPH: 0.90～1.09, Lot VRS: 0.75～1.01 及び Lot IZT: 0.57～0.98 であり、一部高濃度側で代謝活性阻害作用を認めた(表 2.6.4.5-16)。CYP3A4 について、mRNA 相対発現量からの誘導倍率は、それぞれ、Lot IPH: 1.01～5.57, Lot VRS: 0.93～1.99 及び Lot IZT: 0.94～1.68 であり、陽性対照と比較して明らかに低い倍率であった(表 2.6.4.5-17)。

以上の結果、0.0032～10 μ mol/L のリパスジルによる CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 に対する明らかな誘導作用を認めなかった。

表 2.6.4.5-14 ヒト凍結肝細胞を用いたリパスジルの CYP1A2 誘導評価
(酵素活性: フェナセチン *O*-脱エチル化)

添加化合物	添加濃度 (μ mol/L)	誘導倍率		
		Lot: IPH	Lot: VRS	Lot: IZT
Omeprazole	50	6.98 \pm 0.77	21.00 \pm 0.82	12.59 \pm 1.33
	0.0032	0.98 \pm 0.00	1.01 \pm 0.04	0.99 \pm 0.11
リパスジル	0.016	0.94 \pm 0.11	1.04 \pm 0.06	0.98 \pm 0.03
	0.08	1.07 \pm 0.03	1.02 \pm 0.12	0.88 \pm 0.09
	0.4	1.09 \pm 0.08	1.01 \pm 0.11	0.80 \pm 0.12
	2	1.12 \pm 0.08	1.25 \pm 0.10	0.92 \pm 0.08
	10	1.42 \pm 0.07	1.48 \pm 0.08	0.89 \pm 0.08

平均値 \pm 標準偏差(n=3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

**表 2.6.4.5-15 ヒト凍結肝細胞を用いたリパスジルの CYP2B6 誘導評価
(酵素活性: プロピオン水酸化)**

添加化合物	添加濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	誘導倍率		
		Lot: IPH	Lot: VRS	Lot: IZT
Phenobarbital	2000	7.63 ± 0.61	28.33 ± 4.86	5.95 ± 0.08
リパスジル	0.0032	1.06 ± 0.05	1.30 ± 0.15	0.97 ± 0.13
	0.016	0.98 ± 0.07	1.27 ± 0.05	1.01 ± 0.08
	0.08	1.05 ± 0.13	1.19 ± 0.13	1.12 ± 0.07
	0.4	1.01 ± 0.17	1.30 ± 0.14	1.24 ± 0.03
	2	0.99 ± 0.03	1.32 ± 0.09	1.32 ± 0.03
	10	1.10 ± 0.05	1.08 ± 0.08	1.36 ± 0.17

平均値 \pm 標準偏差(n=3)

**表 2.6.4.5-16 ヒト凍結肝細胞を用いたリパスジルの CYP3A4 誘導評価
(酵素活性: テストステロン 6 β -水酸化)**

添加化合物	添加濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	誘導倍率		
		Lot: IPH	Lot: VRS	Lot: IZT
Rifampicin	25	12.85 ± 1.37	20.83 ± 0.92	6.16 ± 0.29
リパスジル	0.0032	1.09 ± 0.06	1.01 ± 0.02	0.94 ± 0.07
	0.016	1.09 ± 0.05	0.93 ± 0.06	0.98 ± 0.06
	0.08	1.09 ± 0.04	0.91 ± 0.04	0.90 ± 0.03
	0.4	0.95 ± 0.06	0.84 ± 0.04	0.87 ± 0.05
	2	0.90 ± 0.01	0.84 ± 0.06	0.75 ± 0.01
	10	0.96 ± 0.10	0.75 ± 0.10	0.57 ± 0.04

平均値 \pm 標準偏差(n=3)

表 2.6.4.5-17 ヒト凍結肝細胞を用いたリパスジルの CYP3A4 誘導評価(mRNA)

添加化合物	添加濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	誘導倍率		
		Lot: IPH	Lot: VRS	Lot: IZT
Rifampicin	25	90.77 ± 21.81	16.73 ± 2.67	61.09 ± 5.96
リパスジル	0.0032	1.47 ± 0.22	0.97 ± 0.14	1.27 ± 0.23
	0.016	1.01 ± 0.05	1.24 ± 0.26	1.21 ± 0.29
	0.08	1.61 ± 0.35	0.93 ± 0.32	0.94 ± 0.35
	0.4	1.70 ± 0.42	1.18 ± 0.21	1.18 ± 0.26
	2	2.28 ± 0.36	1.20 ± 0.04	1.58 ± 0.28
	10	5.57 ± 0.59	1.99 ± 0.10	1.68 ± 0.49

平均値 \pm 標準偏差(n=3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.5.9 反応性代謝物

[!資料 4.2.2.4-8]

ヒト肝ミクロゾーム, ヒト肝 S9(蛋白濃度 1mg protein/mL)及び HRP(peroxidase, from horseradish)/H₂O₂ の各種酵素源を用い, リパスジル塩酸塩水和物(10 µmol/L)及び陽性対照(クロザピン及びアブラクロニジン, 10 µmol/L)を GSH(還元型グルタチオン)存在下 37°C でインキュベーションし, 反応性代謝物のグルタチオン付加体を検索した。

陽性対照の未変化体及びその代謝物のグルタチオン付加体のピークを認めたが, リパスジル及びその代謝物のグルタチオン付加体のピークを認めなかった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 尿・糞・呼気中排泄

- (1) ラットにおけるリパスジル塩酸塩水和物を単回経口及び静脈内投与した時の尿・糞中未変化体排泄率

[!資料 4.2.2.2-1]

リパスジル塩酸塩水和物を雄性及び雌性ラットに 1, 3 及び 10mg/kg の投与量で単回経口投与後 72 時間までの尿及び糞中への未変化体排泄率を表 2.6.4.6-1 に示した。雄性及び雌性ラットの尿中には未変化体として 0.570~3.55%及び 3.91~4.35%が、糞中には 0.324~0.693%及び 0.190~0.246%が排泄された。リパスジル塩酸塩水和物を雌雄ラットに 1mg/kg の投与量で単回静脈内投与後 72 時間までの尿及び糞中への未変化体排泄率を表 2.6.4.6-2 に示した。雄性及び雌性ラットの尿中には未変化体として 5.65%及び 6.30%が、糞中には 0.212%及び 0.215%が排泄された。経口及び静脈内投与ともに未変化体としての排泄は少なかった。

表 2.6.4.6-1 雌雄ラットにリパスジル塩酸塩水和物を単回経口投与した後の尿・糞中未変化体排泄率

動物	投与量 (mg/kg)	排泄率(%)	
		尿	糞
雄性ラット	1	0.570 ± 0.160	0.324 ± 0.076
	3	2.32 ± 0.16	0.378 ± 0.201
	10	3.55 ± 1.05	0.693 ± 0.158
雌性ラット	1	3.92 ± 1.94	0.190 ± 0.043
	3	4.35 ± 1.15	0.246 ± 0.177
	10	3.91 ± 1.11	0.218 ± 0.103

平均値±標準偏差(n=3)

表 2.6.4.6-2 雌雄ラットにリパスジル塩酸塩水和物を単回静脈内投与した後の尿・糞中未変化体排泄率

動物	投与量 (mg/kg)	排泄率(%)	
		尿	糞
雄性ラット	1	5.65 ± 0.73	0.212 ± 0.144
雌性ラット	1	6.30 ± 1.24	0.215 ± 0.125

平均値±標準偏差(n=3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

(2) ラットにおける ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口及び静脈内投与した時の尿、糞及び呼気中放射能排泄率

[!資料 4.2.2.2-2]

^{14}C -リパスジル塩酸塩を雄性ラットに 3mg/kg の投与量で単回経口投与した際の放射能排泄率を図 2.6.4.6-1 に示した。投与した放射能の排泄は速く、尿中総排泄量の 94～96%が投与後 24 時間以内に排泄され、糞中総排泄量の 96～97%が 48 時間以内に排泄された。投与後 168 時間までに投与放射能の 43.80%が尿中に、42.10%が糞中に、3.60%が呼気中に排泄され、尿あるいは糞中に排泄された放射能由来のケージ洗浄液中には 5.68%が存在した。 ^{14}C -リパスジル塩酸塩を雄性ラットに 1mg/kg の投与量で単回静脈内投与した際の放射能排泄率を図 2.6.4.6-2 に示した。放射能の排泄は速く、尿中総排泄量の 90%が投与後 24 時間以内に排泄され、糞中総排泄量の 94%が 48 時間以内に排泄された。投与後 168 時間までに投与放射能の 39.15%が尿中に、49.45%が糞中に、3.32%が呼気中に排泄され、尿あるいは糞中に排泄された放射能由来のケージ洗浄液中には 2.99%が存在した。未変化体の排泄率が低いことから、尿及び糞中には多くが代謝物として排泄されることが示唆された。

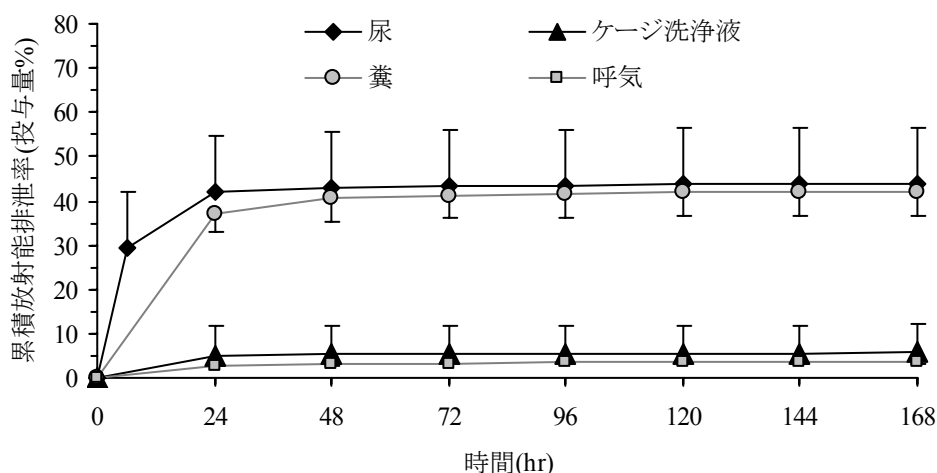


図 2.6.4.6-1 雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後の尿、糞及び呼気中累積放射能排泄率

平均値±標準偏差(n=3)

(原著データより作図)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

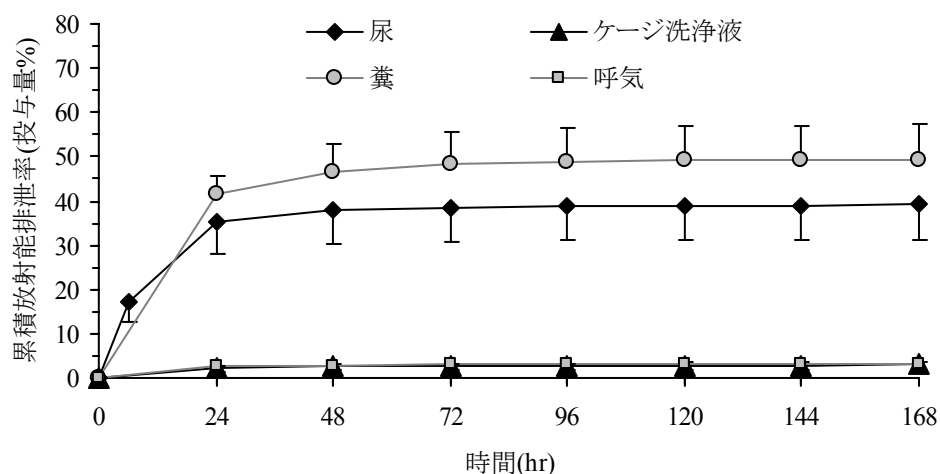


図 2.6.4.6-2 雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回静脈内投与した後の尿、糞及び呼気中累積放射能排泄率
 平均値 \pm 標準偏差(n=3)
 (原著データより作図)

- (3) ウサギにおけるリパスジル塩酸塩水和物点眼液を単回片眼点眼及び静脈内投与時の尿・糞中未変化体排泄率

[!資料 4.2.2.2-3]

リパスジル塩酸塩水和物点眼液 1.0%(50 μL)を雄性白色ウサギに単回片眼点眼した際の投与後 72 時間までの尿及び糞中への未変化体排泄率を表 2.6.4.6-3 に示した。尿中には未変化体として 1.66%が、糞中には 0.417%が排泄された。リパスジル塩酸塩水和物を雄性白色ウサギに 1, 3 及び 10mg/kg の投与量で単回静脈内投与後 72 時間までの尿及び糞中への未変化体排泄率を表 2.6.4.6-4 に示した。尿中には未変化体として 0.616~0.826%が、糞中には 0.238~0.797%が排泄された。未変化体としての排泄は少なく、多くが代謝物として排泄されることが示唆された。

表 2.6.4.6-3 雄性白色ウサギにリパスジル塩酸塩水和物点眼液 1.0%を単回片眼点眼した後の尿・糞中未変化体排泄率

動物	排泄率(%)	
	尿	糞
雄性白色ウサギ	1.66 \pm 2.13	0.417 \pm 0.152

平均値 \pm 標準偏差(n=3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.6-4 雄性白色ウサギにリパスジル塩酸塩水和物を単回静脈内投与した後の
尿・糞中未変化体排泄率

動物	投与量 (mg/kg)	排泄率(%)	
		尿	糞
雄性白色ウサギ	1	0.616 ± 0.305	0.797 ± 0.153
	3	0.672 ± 0.065	0.413 ± 0.285
	10	0.826 ± 0.242	0.238 ± 0.176

平均値±標準偏差(n=3)

2.6.4.6.2 胆汁中排泄

[!資料 4.2.2.2-2]

胆管カニューレを処置した雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を 3mg/kg の投与量で単回経口投与した際の放射能排泄率を図 2.6.4.6-3 に示した。投与後 48 時間までに投与放射能の 45.98%が尿中に、38.91%が胆汁中に、9.84%が糞中に排泄された。

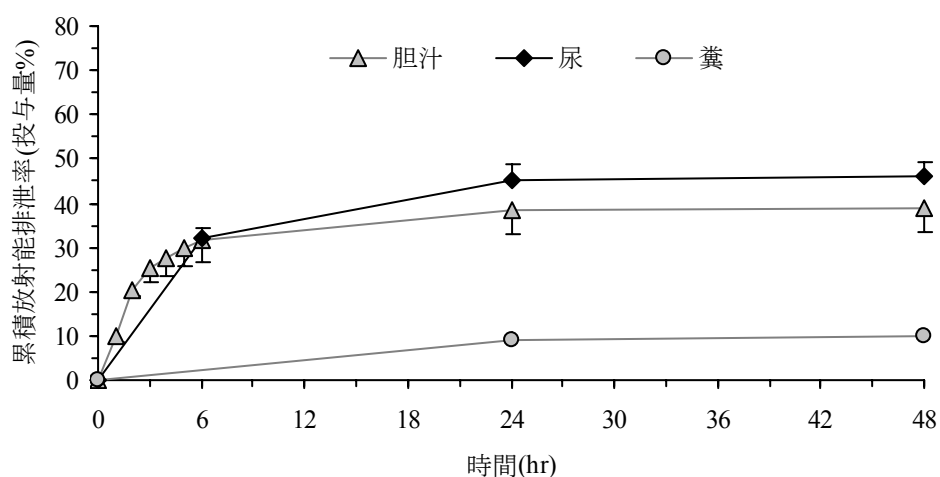


図 2.6.4.6-3 胆管カニューレ処置した雄性ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を
単回経口投与した後の胆汁，尿及び糞中累積放射能排泄
平均値±標準偏差(n=3)
(原著データより作図)

2.6.4.6.3 乳汁中排泄

[!資料 4.2.2.5-1]

出産 13～14 日目の授乳期ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を 3mg/kg の投与量で単回経口投与した際の乳汁及び血漿中放射能濃度推移を図 2.6.4.6-4 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4.6-5 に示した。乳汁中放射能は投与後 0.63 時間に最高濃度 1011ng eq./mL を示した後、11.32 時間の $t_{1/2}$ で消失し、投与後 72 時間には 4.1ng eq./mL に減少した。 ^{14}C -リパスジル由来の放射能は乳汁中に移行することを確認したが、その濃度は血漿中濃度の低下に対応して消失し、蓄積性はないと推察された。また、乳汁中の未変化体及び代謝物(M1 及び M2)を検索した結果、乳汁中には血漿中と同様の代謝物を認めた(表 2.6.4.6-6)。

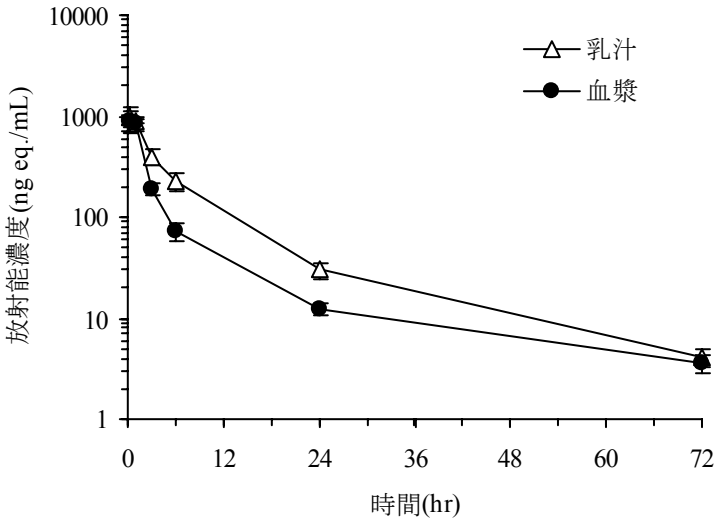


図 2.6.4.6-4 授乳期ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後の
乳汁及び血漿中放射能濃度
平均値±標準偏差(n=4)

表 2.6.4.6-5 授乳期ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後の
乳汁及び血漿中薬物動態パラメータ

パラメータ	乳汁	血漿
Cmax (ng eq./mL)	1011 ± 189	935 ± 194
tmax (hr)	0.63 ± 0.43	0.63 ± 0.43
t _{1/2} (hr)	11.32 ± 1.20	14.58 ± 2.62

平均値±標準偏差(n=4)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.6-6 授乳期ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を単回経口投与した後の
乳汁及び血漿中代謝物の総放射能に対する割合

化合物	乳汁中代謝物存在割合(%総放射能)			
	0.25 時間	1 時間	3 時間	6 時間
リパスジル	68.11	26.92	10.38	16.94
M1	3.11	10.45	9.43	10.06
M2	16.92	27.82	17.24	6.70
化合物	血漿中代謝物存在割合(%総放射能)			
	0.25 時間	1 時間	3 時間	6 時間
リパスジル	38.86	26.84	18.70	19.24
M1	2.99	3.68	3.70	7.06
M2	19.91	25.01	25.29	20.89

4 例の乳汁及び血漿試料をまとめて分析試料とした

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 CYP に対する阻害作用(*in vitro*)

[!資料 4.2.2.6-1]

0.04, 0.2, 1, 5 及び 25 μ mol/L のリパスジル塩酸塩水和物及びその主要代謝物である M1 の各種 CYP 分子種(CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4/5)に対する阻害作用について、ヒト肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 試験にて検討した(表 2.6.4.7-1)。リパスジルの存在下で濃度依存的な活性阻害を認めた CYP 分子種は CYP2D6 及び CYP3A4/5 だった。デキストロメトルファン *O*-脱メチル化活性に対するリパスジルの IC₅₀ 値は 5.1 μ mol/L(競合阻害群)及び 3.8 μ mol/L(プレインキューベーション群)であり、テストステロン 6 β -水酸化活性に対するリパスジルの IC₅₀ 値は 14 μ mol/L(プレインキューベーション群)だった。その他の酵素活性についてはほとんど阻害作用を示さなかった。

表 2.6.4.7-1 リパスジル及び M1 の CYP 活性に対する阻害作用

分子種	代謝反応	プレイン キューベ ション	リパスジル		M1	
			IC ₅₀ (μ mol/L)	最大阻害 (%)	IC ₅₀ (μ mol/L)	最大阻害 (%)
CYP1A2	フェナセチン	なし	>25	4.9	>25	-1.6
	<i>O</i> -脱エチル化	あり	>25	6.4	>25	2.2
CYP2C8	パクリタキセル	なし	>25	11.7	>25	7.8
	6 α -水酸化	あり	>25	8.5	>25	1.9
CYP2C9	ジクロフェナク	なし	>25	8.7	>25	-0.1
	4'-水酸化	あり	>25	4.1	>25	2.6
CYP2C19	<i>S</i> -メフェニトイン	なし	>25	7.4	>25	4.2
	4'-水酸化	あり	>25	6.8	>25	3.5
CYP2D6	デキストロメトルフ ァン <i>O</i> -脱メチル化	なし	5.1	73.6	>25	-1.0
		あり	3.8	76.7	>25	3.6
CYP3A4/5	テストステロン	なし	>25	11.0	>25	7.6
	6 β -水酸化	あり	14	60.5	>25	21.5
CYP3A4/5	ミダゾラム	なし	>25	14.4	>25	3.8
	1'-水酸化	あり	>25	49.9	>25	24.3

2.6.4.7.2 アルデヒドオキシダーゼに対する阻害作用(*in vitro*)

[!資料 4.2.2.6-2]

0.00064~10 μ mol/L のリパスジル塩酸塩水和物存在下にて、マーカー基質であるフタラジン(終濃度 2 μ mol/L)をヒト肝サイトゾルと共にインキュベーションし、生成するマーカー代謝物である 1-フタラジンを定量することによりアルデヒドオキシダーゼに対する阻害作用について *in vitro* 試験にて検討した。リパスジル存在下ではアルデヒドオキシダーゼ活性の濃度依存的な阻害を認め、リパスジルの IC₅₀ 値は 1.4 μ mol/L であった。陽性対照阻害剤として用いたメナジオン及びラロキシフェンの IC₅₀ 値は、それぞれ 0.12 μ mol/L 及び 0.0012 μ mol/L であった。

2.6.4.7.3 ウサギにおける併用点眼時の眼内濃度

[!資料 4.2.2.6-3]

雄性有色ウサギにリパスジル塩酸塩水和物点眼液 0.4%(50 μ L)及びザラカム配合点眼液(0.005%ラタノプロスト・0.5%チモロールマレイン酸塩配合点眼液, 50 μ L)を単独若しくは併用点眼した際の角膜中リパスジル濃度(図 2.6.4.7-1), 眼房水中リパスジル濃度(図 2.6.4.7-1), 水晶体中リパスジル濃度(図 2.6.4.7-2), 眼房水中チモロール濃度(図 2.6.4.7-3)及び眼房水中ラタノプロスト酸濃度(図 2.6.4.7-3)を測定した。薬物動態パラメータを表 2.6.4.7-2 に示した。単独及び併用点眼時に薬物動態パラメータの差はほとんどないと考えられ、リパスジル塩酸塩水和物点眼液とザラカム配合点眼液を併用点眼した時、相互に眼内動態へはほとんど影響しないと推察された。

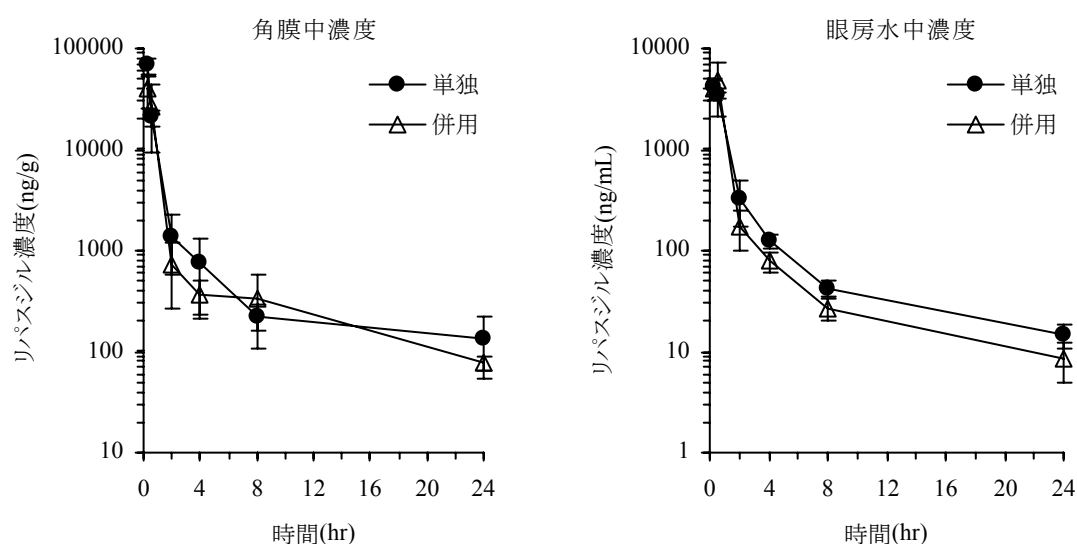


図 2.6.4.7-1 雄性有色ウサギにリパスジル塩酸塩水和物点眼液 0.4%及びザラカムを単独若しくは併用点眼した後の角膜中及び眼房水中リパスジル濃度
平均値 \pm 標準偏差(3 例 6 眼)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

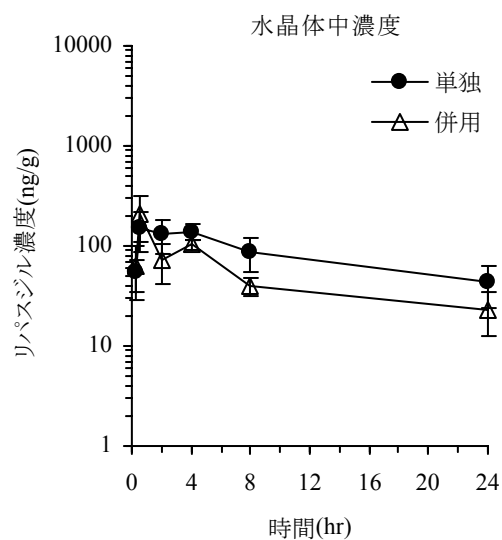


図 2.6.4.7-2 雄性有色ウサギにリパスジル塩酸塩水和物点眼液 0.4%及びザラカムを単独若しくは併用点眼した後の水晶体中リパスジル濃度
 平均値±標準偏差(3 例 6 眼)

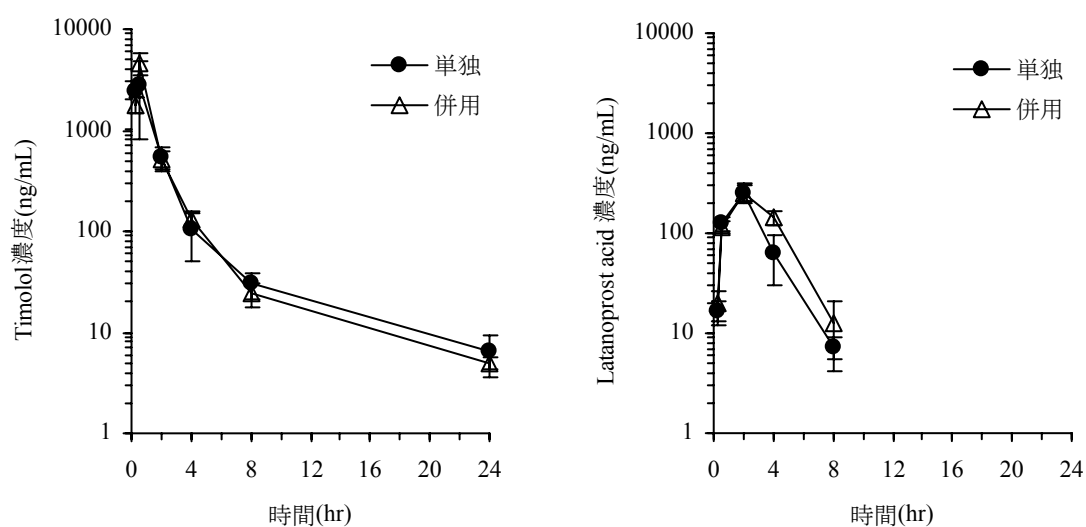


図 2.6.4.7-3 雄性有色ウサギにザラカム及びリパスジル塩酸塩水和物点眼液 0.4%を単独若しくは併用点眼した後の眼房水中チモロール及びラタノプロスト酸濃度
 平均値±標準偏差(3 例 6 眼)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 2.6.4.7-2 雄性有色ウサギにリパスジル塩酸塩水和物点眼液 0.4%及びザラカムを単独若しくは併用点眼した後の眼組織中薬物動態パラメータ

測定対象	組織	グループ	tmax (hr)	Cmax (ng/mL or g)	t _{1/2} (hr)	AUC _{0-t} (ng · hr/mL or g)	AUC _{0-inf} (ng · hr/mL or g)
リパスジル	角膜	単独	0.25	68135.4	7.44	43277	44729
		併用	0.25	39778.9	8.57	39327	40290
リパスジル	眼房水	単独	0.25	4126.39	7.21	5537	5688
		併用	0.50	4714.43	7.02	6022	6110
リパスジル	水晶体	単独	0.50	154.37	13.03	2040	2860
		併用	0.50	210.99	11.84	1217	1615
Timolol	眼房水	単独	0.42	2823.76	5.50	4613	4664
		併用	0.42	4642.61	4.72	6015	6048
Latanoprost acid	眼房水	単独	1.92	253.92	-	758	-
		併用	1.92	255.97	-	1005	-

-: 非算出

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当する試験なし。

2.6.4.9 考察及び結論

ウサギに点眼後のリパスジルは点眼部位より角膜を經由して眼房水、その後内部組織へと移行することが示唆された。眼内移行は速やかであり、そのため薬効発現時間は速い[!資料 4.2.1.1-4]と考えられた。

ラットにリパスジル塩酸塩水和物を 1, 3, 10mg/kg の投与量で単回経口投与した際の血漿中未変化体の Cmax 及び AUC はいずれも用量比以上の増加を認めたが、¹⁴C-リパスジル塩酸塩を 1, 3, 10mg/kg の投与量で単回経口投与した際の血漿中放射能濃度の Cmax 及び AUC の用量相関性は良好であった。この要因として、未変化体の t_{1/2} が用量依存的に増加しており、代謝が関与する飽和又は自己阻害のため、未変化体及び代謝物の存在割合が用量により異なることが考えられた。経口投与時にも速やかに吸収され循環血に移行し、吸収率は 84～86%と高い値であったが、未変化体の消失は速かった。

一般に、点眼した薬物はそのほとんどが鼻涙管を通り経口投与と同様の経路での移行となるが、ウサギにリパスジル塩酸塩水和物点眼液を点眼後のリパスジルの循環血への移行は速やかであり、BA も 95.8%と高い値であった。ウサギに 1, 3, 10mg/kg の投与量でリパスジル塩酸塩水和物を静脈内投与した際の CL は用量依存的に低下を示し、ラット経口投与時の t_{1/2} が用量依存的な増加と同様の現象が確認された。

組織分布でもリパスジルの移行性は速やかであり、白色ラットに ¹⁴C-リパスジル塩酸塩を 3mg/kg の投与量で経口投与した際には 15 分後にほとんどの組織で最も高い放射能濃度を示した。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

白色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液を点眼した際の眼部オートラジオグラムでは、水晶体での放射能は点眼後 4 時間が最高濃度であったが、水晶体を除く眼組織で点眼後 15 分に最高濃度を示し、眼球内移行性は良好であった。後眼部である網膜・脈絡膜にも到達を確認した。有色ウサギではメラニンを含む組織の放射能分布は白色ウサギと同様であり、メラニンを含む虹彩・毛様体及び網膜・脈絡膜には高濃度に分布し、消失も緩やかであった。有色ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を 1mg/kg の投与量で単回静脈内投与した際にはメラニンを含む眼球ぶどう膜などからの消失は緩やかであった。これは合成メラニンとの *in vitro* 試験より、リパスジルがメラニンと結合するためと考えられたが、リパスジルのメラニンとの親和性はクロロキンの 10 分の 1 以下であり、緩衝液で解離することも確認された。

有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液を 1 日 2 回 7 日間反復点眼した際にメラニン含有組織では放射能濃度の増大を認めたが、緩やかであるものの消失も確認しており、メラニンとの結合は可逆的であると考えられた。

リパスジルのヒト、イヌ、ウサギ及びラットの血漿蛋白結合率は 35.3~59.8%とそれほど高くない値であり、構成蛋白であるヒト血清アルブミン及び酸性糖タンパクと結合している。

妊娠ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を経口投与した際の全身オートラジオグラムでは、放射能は胎盤を介し胎児に移行し、胎児の肝臓や消化管内容物に分布を確認したが、母体の血液と比較すると低いことから胎児への移行は少ないと考えられた。

有色ウサギに ^{14}C -リパスジル塩酸塩点眼液を点眼した際の角膜、眼房水及び虹彩・毛様体中には代謝物として M1 のみを認めた。ウサギにおいて眼局所で M1 への代謝を確認したが、存在割合はリパスジルよりも明らかに低く、リパスジルが薬効本体であることを示している。

リパスジルの代謝物としては M1, M2, M3, M4, M5 及び M6 が同定され、ラットに ^{14}C -リパスジル塩酸塩を経口投与した際の血漿中代謝物ピークはその多くが既知代謝物であった。尿中には血漿と同様の代謝物を認めたが、糞中には未同定代謝物も多く認めた。脱抱合処理による変化がないことからグルクロン酸抱合及び硫酸抱合の抱合体代謝物としての存在はないと考えられた。

ヒトの臨床での代謝物はその多くが M1 であり、わずかに M2 及び M6 を確認した。

リパスジル塩酸塩水和物を雌雄ラットに 1, 3, 10mg/kg の投与量で経口投与後の血漿中未変化体及び代謝物濃度を測定した結果、いずれの代謝物濃度もラットの無毒性用量ではヒトにおける曝露量を上回り、代謝物の安全性を担保したと考えられた。

ヒト、サル、イヌ、ウサギ及びラットの肝 S9 及び凍結肝細胞を用いた ^{14}C -リパスジル塩酸塩の代謝試験では、未変化体の減衰及び代謝物生成プロファイルには種差があり、ヒトでは M1 への代謝活性が高かった。この *in vitro* での結果は *in vivo* での血漿中代謝物プロファイルを反映していた。ヒト、サル及びウサギの肝 S9 では補酵素 NADPH 生成系の非添加条件でも代謝を認めたが、ヒト肝 S9 を用いた ^{14}C -リパスジル塩酸塩の代謝では特異的阻害剤及び単一酵素発現系により、アルデヒドオキシダーゼの関与が示された。本酵素活性は種差が大きく¹⁾、代謝の種差の要因と考えられた。ヒトではリパスジルはアルデヒドオキシダーゼを主要代謝酵素として M1 へと代謝さ

2.6.4 薬物動態試験の概要文

れることが示唆された。

ヒト肝 S9 を用いた各代謝物の代謝固有クリアランスはリパスジルと比較して低値であったことから、ヒトではさらなる代謝を受けずに各代謝物として排泄されていると考えられた。ヒト CYP 単一発現系及びアルデヒドオキシダーゼ単一発現系の代謝試験結果と合わせ、リパスジルはアルデヒドオキシダーゼにより主に M1 へ代謝され、アルデヒドオキシダーゼ、CYP3A4 及び CYP3A5 により M2 へ代謝され、CYP2C8、CYP3A4 及び CYP3A5 により M4 へ代謝されることが示された。さらに、M2 はアルデヒドオキシダーゼにより M6 へ代謝されることが示唆された。

ヒト肝ミクロゾーム、ヒト肝 S9 及び HRP/H₂O₂ の各種酵素源を用い、グルタチオントラッピング法により反応性代謝物を検索したが、リパスジル及びその代謝物のグルタチオン付加体のピークを認めなかったことから、ヒトで反応性代謝物が生成する可能性は低いと考えられた。

¹⁴C-リパスジル塩酸塩を雄性ラットに経口投与した際には、投与放射能の 43.80%が尿中に、42.10%が糞中に、3.60%が呼気中に排泄された。¹⁴C-リパスジル塩酸塩を雄性ラットに静脈内投与した際には、投与放射能の 39.15%が尿中に、49.45%が糞中に、3.32%が呼気中に排泄された。ラットにリパスジル塩酸塩水和物を投与した結果より、未変化体としての排泄は少なく、尿及び糞中に排泄された放射能の多くは代謝物であることが示唆された。

授乳期ラットに ¹⁴C-リパスジル塩酸塩を経口投与した際には、放射能は乳汁中に移行することが確認され、リパスジルが授乳中の女性に投与された場合は乳児も曝露される可能性が示唆された。リパスジルの主要代謝酵素であるアルデヒドオキシダーゼの乳幼児での発現は低い²⁾ことから、乳児では長時間の曝露が懸念されたが、乳汁中濃度は血漿中濃度の低下に伴って消失し、点眼投与ではヒト血漿中濃度は低いことから乳児への曝露は低いと考えた。

ヒト肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 試験ではリパスジルは CYP2D6 阻害作用を示し、IC₅₀ 値は 5.1µmol/L(競合阻害群)及び 3.8µmol/L(プレインキュベーション群)であった。また、リパスジルはプレインキュベーション群で CYP3A4/5 阻害作用を示し、IC₅₀ 値は 14µmol/L であった。さらに、ヒト肝サイトゾルを用いた *in vitro* 試験においてリパスジルはアルデヒドオキシダーゼ阻害作用を示し、IC₅₀ 値は 1.4µmol/L であった。臨床試験におけるリパスジル塩酸塩水和物点眼液を点眼した後のヒト血漿中 C_{max} は 0.4%反復点眼で 1.977nmol/L(!資料 2.7.2.2.2.2)であることから、臨床使用上では代謝酵素阻害を介した循環血液中での薬物相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。

ヒト凍結肝細胞を用いた *in vitro* 酵素誘導評価において、0.0032～10µmol/L のリパスジル曝露時の誘導倍率は陽性対照と比較し明らかに低い倍率であったことから、上記ヒト血漿中 C_{max} と比較するとリパスジルによる CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用はないことが示唆された。

有色ウサギにリパスジル塩酸塩水和物点眼液 0.4%及びザラカム配合点眼液(0.005%ラタノプロスト・0.5%チモロールマレイン酸塩配合点眼液)を単独若しくは併用点眼した際の眼内濃度はほとんど変わらないことが示唆され、併用点眼した際の眼内濃度への影響はほとんどないものと考えられた。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.10 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.4.11 参考文献

- 1) Sahi J, Khan KK and Black CB. Aldehyde oxidase activity and inhibition in hepatocytes and cytosolic fractions from mouse, rat, monkey and human. Drug Metabolism Letters. 2008; 2(3): 176-183
- 2) Tayama Y, Miyake K, Sugihara K, et al. Development changes of aldehyde oxidase activity in young Japanese children. Clinical Pharmacology and Therapeutics. 2007; 81(4): 567-572

グラナテック点眼液 0.4%

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

2.6.5

薬物動態試験概要表

興和株式会社

2.6.5 薬物動態試験概要表

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表	3
2.6.5.1 薬物動態試験: 一覧表	3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験	8
2.6.5.3 薬物動態試験: 吸収: 単回投与	14
2.6.5.4 薬物動態試験: 吸収: 反復投与	19
2.6.5.5 薬物動態試験: 分布	20
2.6.5.6 薬物動態試験: たん白結合	30
2.6.5.7 薬物動態試験: 妊娠又は授乳動物における試験	32
2.6.5.8 薬物動態試験: その他の分布試験	35
2.6.5.9 薬物動態試験: 代謝: <i>in vivo</i>	41
2.6.5.10 薬物動態試験: 代謝: <i>in vitro</i>	52
2.6.5.11 薬物動態試験: 推定代謝経路	64
2.6.5.12 薬物動態試験: 薬物代謝酵素の誘導／阻害	65
2.6.5.13 薬物動態試験: 排泄	66
2.6.5.14 薬物動態試験: 排泄: 胆汁中	71
2.6.5.15 薬物動態試験: 薬物相互作用	72
2.6.5.16 薬物動態試験: その他	76

2.6.5 薬物動態試験概要表

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

一覧表(1/5)

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量又は 添加終濃度 ¹⁾	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
(1) 吸収							
眼組織への吸収	リパスジル塩酸塩水和物 点眼液	有色ウサギ(雄)	点眼	0.4%(50μL)	Kowa	095	! 4.2.2.6-3
単回投与後の血漿中濃度	リパスジル塩酸塩水和物	ラット(雌雄)	経口	1, 3, 10mg/kg	Kowa	018	! 4.2.2.2-1
			静脈内	1mg/kg			
単回投与後の血漿中放射能濃度	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	1, 3, 10mg/kg	056	056	! 4.2.2.2-2
			静脈内	1mg/kg			
単回投与後の血漿中濃度	リパスジル塩酸塩水和物	白色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL)	Kowa	033	! 4.2.2.2-3
			静脈内	1, 3, 10mg/kg			
(2) 分布							
単回投与後の組織内濃度	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	3mg/kg	056	056	! 4.2.2.2-2
全身オートラジオグラフィ	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	白色ラット(雄)	経口	3mg/kg	Kowa	036	! 4.2.2.3-1
			静脈内	1mg/kg	Kowa	035	! 4.2.2.3-2
		有色ラット(雄)	静脈内	1mg/kg	Kowa	035	! 4.2.2.3-2
眼部オートラジオグラフィ	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	白色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL)	Kowa	020	! 4.2.2.3-3
		有色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL)			

Kowa: 興和株式会社,

1) リパスジルとして

2.6.5 薬物動態試験概要表

一覧表(2/5)

試験の種類		被験物質	試験系	投与方法	投与量又は 添加終濃度 ¹⁾	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
(2) 分布								
眼組織内濃度(単回)		¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	有色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL)	■	■449	! 4.2.2.3-4
眼組織内濃度(反復)		¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	有色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL), 1日2回 7日間			
蛋白結合	血漿	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ヒト, イヌ, ウ サギ, ラット	<i>in vitro</i>	10, 100, 1000ng/mL	Kowa	■007	! 4.2.2.3-5
	構成蛋白	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ヒト血清アルブ ミン, ヒトα ₁ -酸 性糖蛋白	<i>in vitro</i>	10, 100, 1000ng/mL			
血球移行	<i>in vitro</i>	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ヒト, イヌ, ウ サギ, ラット	<i>in vitro</i>	10, 100, 1000ng/mL	Kowa	■007	! 4.2.2.3-5
	単回投与	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	3mg/kg	■	■056	! 4.2.2.2-2
メラニン親和性		リパスジル塩酸塩水和 物, M1, M2, クロロキ ン	合成メラニン	<i>in vitro</i>	0.39~100μmol/L	Kowa	■088	! 4.2.2.3-7
角膜透過性		リパスジル塩酸塩水和 物点眼液	ヒト, サル, イ ヌ, ウサギ	<i>in vitro</i>	1%	■, Kowa	■0■7, ■100	! 4.2.2.3-8 ! 4.2.2.3-9
水晶体蛋白結合		リパスジル塩酸塩水和 物	ヒト, サル, イ ヌ, ウサギ	<i>in vitro</i>	10, 100, 1000ng/mL	■, Kowa	■0■6, ■099	! 4.2.2.3-10 ! 4.2.2.3-11

Kowa: 興和株式会社, ■: ■, ■: ■

1) リパスジルとして

2.6.5 薬物動態試験概要表

一覧表(3/5)

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量又は 添加終濃度 ¹⁾	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
(2) 分布							
胎盤・胎児移行性	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	妊娠ラット	経口	3mg/kg	Kowa	████038	! 4.2.2.3-6
(3) 代謝							
眼組織中代謝物(単回)	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	有色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL)	████	████-449	! 4.2.2.3-4
眼組織中代謝物(反復)	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	有色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL), 1日2回 7日間	████	████-449	! 4.2.2.3-4
血漿中代謝物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	3mg/kg	Kowa	████118	! 4.2.2.4-1
	リパスジル塩酸塩水和物	ラット(雌雄)	経口	1, 3, 10mg/kg	Kowa	████064	! 4.2.2.4-2
	リパスジル塩酸塩水和物点眼液	ヒト	点眼	0.05～0.8%, 1日2回7日間	Kowa	████001, ████088	! 4.2.2.4-3 ! 4.2.2.4-4
尿中代謝物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	3mg/kg	Kowa	████118	! 4.2.2.4-1
	リパスジル塩酸塩水和物点眼液	ヒト	点眼	0.05～0.8%, 1日2回7日間	Kowa	████001, ████088	! 4.2.2.4-3 ! 4.2.2.4-4
糞中代謝物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	3mg/kg	Kowa	████118	! 4.2.2.4-1
肝 S9 を用いた代謝	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ヒト, サル, イヌ, ウサギ, ラット	<i>in vitro</i>	3μmol/L	Kowa	████080	! 4.2.2.4-5
凍結肝細胞を用いた代謝	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ヒト, サル, イヌ, ウサギ, ラット	<i>in vitro</i>	5μmol/L	Kowa	████080	! 4.2.2.4-5

Kowa: 興和株式会社, ██████████ | ██████████

1) リパスジルとして

2.6.5 薬物動態試験概要表

一覧表(4/5)

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量又は 添加終濃度 ¹⁾	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
(3) 代謝							
代謝速度	リパスジル塩酸塩水和物、代謝物	ヒト肝 S9	<i>in vitro</i>	3μmol/L, 1.56～100μmol/L	Kowa	████146	! 4.2.2.4-6
代謝分子種	リパスジル塩酸塩水和物、代謝物	ヒト CYP 発現系, ヒトアルデヒドオキシダーゼ発現系	<i>in vitro</i>	3μmol/L, 1.56～100μmol/L	Kowa	████146	! 4.2.2.4-6
酵素誘導	リパスジル塩酸塩水和物	ヒト凍結肝細胞	<i>in vitro</i>	0.0032～10μmol/L	████	████448	! 4.2.2.4-7
反応性代謝物	リパスジル塩酸塩水和物、クロザピン、アブラクロニジン塩酸塩	ヒト肝ミクロゾーム、ヒト肝 S9, HRP/H ₂ O ₂	<i>in vitro</i>	10μmol/L	Kowa	████053	! 4.2.2.4-8
(4) 排泄							
尿・糞中排泄	リパスジル塩酸塩水和物	ラット(雌雄)	経口	1, 3, 10mg/kg	Kowa	████018	! 4.2.2.2-1
			静脈内	1mg/kg			
		白色ウサギ(雄)	点眼	1%(50μL)	Kowa	████033	! 4.2.2.2-3
			静脈内	1, 3, 10mg/kg			
尿・糞・呼気中排泄	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	3mg/kg	████	████056	! 4.2.2.2-2
			静脈内	1mg/kg			
胆汁中排泄	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	ラット(雄)	経口	3mg/kg	████	████056	! 4.2.2.2-2
乳汁中排泄	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	授乳期ラット	経口	3mg/kg	Kowa	████092	! 4.2.2.5-1

Kowa: 興和株式会社, █████: █████, █████: █████ | █████

1) リパスジルとして

2.6.5 薬物動態試験概要表

一覧表(5/5)

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量又は 添加終濃度 ¹⁾	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
(5) 薬物動態学的薬物相互作用							
CYP に対する阻害作用	リパスジル塩酸塩水和物, M1	ヒト肝ミクロゾーム	<i>in vitro</i>	0.04～25μmol/L	■	■447	! 4.2.2.6-1
アルデヒドオキシダーゼに対する阻害作用	リパスジル塩酸塩水和物	ヒト肝サイトゾル	<i>in vitro</i>	0.00064～10μmol/L	■	■031	! 4.2.2.6-2
併用眼内濃度	リパスジル塩酸塩水和物点眼液, ザラカム配合点眼液	有色ウサギ(雄)	点眼	リパスジル: 0.4%(50μL) ザラカム配合点眼液(ラタノプロスト 0.005%及びチモロール 0.5%): 50μL	Kowa	■095	! 4.2.2.6-3

Kowa: 興和株式会社, ■: ■■■■■■ | ■■■■■■

1) リパスジルとして

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

分析方法及びバリデーション試験(1/6)

動物種/系統		ラット/Sprague Dawley	ラット/Sprague Dawley	ラット/Sprague Dawley
試料		血漿	尿	糞ホモジネート
使用量		0.2mL	0.5mL	1g
測定対象		リパスジル	リパスジル	リパスジル
前処理		固相抽出	固相抽出	固相抽出
測定方法		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
定量範囲		5～12500ng/mL	2～5000ng/mL	1～2500ng/g
定量限界		5ng/mL	2ng/mL	1ng/g
同時再現性 (3 濃度, n=5)	真度	-8.4～-7.0%	-7.0～2.8%	-1.2～11.0%
	精度	3.4～11.8%	4.4～4.6%	3.3～5.4%
日差再現性 (3 濃度, n=5)	真度	-4.8～6.2%	-3.0～2.0%	-3.4～9.0%
	精度	3.4～12.2%	2.2～7.6%	1.8～9.9%
オートサンプラー中安定性(2 濃度, n=3)		48 時間	48 時間	48 時間
凍結融解安定性(2 濃度, n=3)		3 回	3 回	3 回
長期保存安定性(2 濃度, n=3)		5 週間	5 週間	5 週間
実施施設		興和株式会社	興和株式会社	興和株式会社
試験番号		006	006	006
CTD 記載箇所		! 4.2.2.1-1	! 4.2.2.1-1	! 4.2.2.1-1

2.6.5 薬物動態試験概要表

分析方法及びバリデーション試験(2/6)

動物種/系統		ウサギ/Japanese White	ウサギ/Japanese White	ウサギ/Japanese White
試料		血漿	尿	糞ホモジネート
使用量		0.5mL	0.5mL	1g
測定対象		リパスジル	リパスジル	リパスジル
前処理		固相抽出	固相抽出	固相抽出
測定方法		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
定量範囲		2～2000ng/mL	2～2000ng/mL	1～1000ng/g
定量限界		2ng/mL	2ng/mL	1ng/g
同時再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-7.1～15.5%	-13.6～13.1%	-11.4～7.8%
	精度	1.9～6.2%	2.2～4.3%	2.4～4.3%
日差再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-7.5～8.9%	-10.1～10.9%	-8.0～6.3%
	精度	5.3～7.1%	3.3～3.5%	5.6～12.6%
オートサンプラー中安定性(2 濃度, n=3)		48 時間	48 時間	48 時間
凍結融解安定性(2 濃度, n=3)		3 回	3 回	3 回
長期保存安定性(2 濃度, n=3)		4 週間	4 週間	4 週間
実施施設		興和株式会社	興和株式会社	興和株式会社
試験番号		023	023	023
CTD 記載箇所		! 4.2.2.1-2	! 4.2.2.1-2	! 4.2.2.1-2

2.6.5 薬物動態試験概要表

分析方法及びバリデーション試験(3/6)

動物種/系統		-	ウサギ/NZW など	ウサギ/NZW など
試料		メラニン遠心分離上清 (代替: リン酸緩衝液)	角膜透過性試験の透過液 (代替: PBS)	水晶体ホモジネート (代替: 10%イヌ血漿)及び超遠心分離上清(代替: PBS)
使用量		0.4mL	0.2mL	0.2mL
測定対象		リパスジル, M1, M2, クロロキン	リパスジル, M1	リパスジル, M1
前処理		遠心分離	固相抽出	固相抽出
測定方法		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
定量範囲		0.5～100ng/tube	0.5～100ng/tube	0.5～100ng/tube
定量限界		0.5ng/tube	0.5ng/tube	0.5ng/tube
同時再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-8.3～6.6%	-9.6～6.6%	-9.6～6.6%
	精度	1.1～6.9%	0.6～6.3%	0.6～6.3%
日差再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-9.7～4.8%	-9.4～7.1%	-9.4～7.1%
	精度	2.0～4.8%	0.9～6.3%	0.9～6.3%
オートサンプラー中安定性(2 濃度, n=3)		48 時間	72 時間	72 時間
凍結融解安定性(2 濃度, n=3)		-	3 回	3 回
長期保存安定性(2 濃度, n=3)		-	1 ヶ月	1 ヶ月
実施施設		興和株式会社	興和株式会社	興和株式会社
試験番号		059	133	133
CTD 記載箇所		! 4.2.2.1-3	! 4.2.2.1-4	! 4.2.2.1-4

-: 実施せず

NZW: New Zealand White

2.6.5 薬物動態試験概要表

分析方法及びバリデーション試験(4/6)

動物種/系統		ラット/Sprague Dawley	ヒト(<i>in vitro</i>)
試料		血漿	ヒト肝 S9 反応液
使用量		0.1mL	0.25mL
測定対象		リパスジル, M1, M2, M3, M4, M5, M6	リパスジル, M1, M2, M3, M4, M5, M6
前処理		除蛋白	除蛋白
測定方法		LC-MS/MS	LC-MS/MS
定量範囲		2.5~1000ng/mL (M2 は 1/2 濃度, M4 は 2 倍濃度)	2.5~1000ng/tube (M2 は 1/2 濃度, M4 は 2 倍濃度)
定量限界		2.5ng/mL (M2 は 1/2 濃度, M4 は 2 倍濃度)	2.5ng/tube (M2 は 1/2 濃度, M4 は 2 倍濃度)
同時再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-8.2~13.3%	-4.6~5.9%
	精度	0.8~7.7%	1.1~5.2%
日差再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-7.1~7.6%	-6.3~3.1%
	精度	1.4~7.2%	1.5~7.2%
オートサンプラー中安定性(2 濃度, n=3)		24 時間	48 時間
凍結融解安定性(2 濃度, n=3)		3 回	-
長期保存安定性(2 濃度, n=3)		2 週間	-
実施施設		興和株式会社	興和株式会社
試験番号		048	146
CTD 記載箇所		! 4.2.2.1-5	! 4.2.2.4-6

-: 実施せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

分析方法及びバリデーション試験(5/6)

動物種/系統		ウサギ/Dutch	ウサギ/Dutch	ウサギ/Dutch
試料		眼房水 (代替: PBS)	角膜溶解液 (代替: 10%ウサギ血漿)	水晶体ホモジネート (代替: 10%ウサギ血漿)
使用量		0.1mL	0.5mL	0.5mL
測定対象		リパシジル, チモロール, ラタノプロスト酸	リパシジル	リパシジル
前処理		固相抽出	固相抽出	固相抽出
測定方法		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
定量範囲		0.25～100ng/tube	0.25～100ng/tube	0.25～100ng/tube
定量限界		0.25ng/tube	0.25ng/tube	0.25ng/tube
同時再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-12.7～3.8%	-2.3～3.8%	-2.3～3.8%
	精度	1.2～14.4%	1.2～2.3%	1.2～2.3%
日差再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-9.5～2.8%	-0.8～2.8%	-0.8～2.8%
	精度	1.9～8.6%	1.9～3.0%	1.9～3.0%
オートサンプラー中安定性(2 濃度, n=3)		48 時間	48 時間	48 時間
凍結融解安定性(2 濃度, n=3)		3 回	3 回	3 回
長期保存安定性(2 濃度, n=3)		4 週間	4 週間	4 週間
実施施設		興和株式会社	興和株式会社	興和株式会社
試験番号		035	035	035
CTD 記載箇所		! 4.2.2.1-6	! 4.2.2.1-6	! 4.2.2.1-6

2.6.5 薬物動態試験概要表

分析方法及びバリデーション試験(6/6)

動物種		ヒト	ヒト
試料		血漿	尿
使用量		1mL	1mL
測定対象		M6	M6
前処理		固相抽出	固相抽出
測定方法		LC-MS/MS	LC-MS/MS
定量範囲		0.1～50ng/mL	0.5～100ng/mL
定量限界		0.1ng/mL	0.5ng/mL
同時再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-15.9～-1.6%	-8.6～-0.5%
	精度	2.9～4.6%	2.3～8.6%
日差再現性 (4 濃度, n=5)	真度	-9.9～0.8%	-9.8～1.5%
	精度	3.9～7.9%	8.1～11.7%
オートサンプラー中安定性(2 濃度, n=3)		72 時間	72 時間
凍結融解安定性(2 濃度, n=3)		3 回	3 回
長期保存安定性(2 濃度, n=3)		12 ヶ月	12 ヶ月
実施施設		興和株式会社	興和株式会社
試験番号	バリデーション	032	032
	長期保存安定性	012	012
CTD 記載箇所	バリデーション	! 4.2.2.1-7	! 4.2.2.1-7
	長期保存安定性	! 4.2.2.1-8	! 4.2.2.1-8

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.3 薬物動態試験: 吸収: 単回投与

吸収: 単回投与(1/5)

(1) 眼組織への吸収(ウサギ点眼)

動物種/系統	ウサギ/Dutch	投与量	50μL/eye
性別(雄/雌)/動物数	雄/18(3/時点)	試料	角膜, 眼房水, 水晶体
食餌条件	非絶食	試料採取時点	投与後 0.25, 0.5, 2, 4, 8, 24 時間
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液	測定対象物質	リパスジル
投与形態	点眼剤	測定法	LC-MS/MS
投与方法	両眼に点眼	試験番号	095
投与液濃度	0.4%	CTD 記載箇所	! 4.2.2.6-3
結果(平均濃度より算出, 3 例/6 眼)			
薬物動態パラメータ	角膜	眼房水	水晶体
t _{max} (hr)	0.25	0.25	0.50
C _{max} (ng/g or ng/mL)	68135.4	4126.39	154.37
t _{1/2} (hr)	7.44	7.21	13.03
AUC _{0-t} (ng · hr/g or ng · hr/mL)	43277	5537	2040
AUC _{0-inf} (ng · hr/g or ng · hr/mL)	44729	5688	2860

2.6.5 薬物動態試験概要表

吸収: 単回投与(2/5)

(2) ラット血漿中未変化体濃度(経口投与)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley					
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	雄/3	雄/3	雌/3	雌/3	雌/3
食餌条件	絶食	絶食	絶食	絶食	絶食	絶食
投与薬物	リパスジル塩酸 塩水和物	リパスジル塩酸 塩水和物	リパスジル塩酸 塩水和物	リパスジル塩酸 塩水和物	リパスジル塩酸 塩水和物	リパスジル塩酸 塩水和物
投与形態	精製水	精製水	精製水	精製水	精製水	精製水
投与方法	経口	経口	経口	経口	経口	経口
投与液濃度	0.333mg/mL	1mg/mL	3.33mg/mL	0.333mg/mL	1mg/mL	3.33mg/mL
投与量	1mg/kg	3mg/kg	10mg/kg	1mg/kg	3mg/kg	10mg/kg
試料	血漿	血漿	血漿	血漿	血漿	血漿
試料採取時点	投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6 時間					
測定対象物質	リパスジル	リパスジル	リパスジル	リパスジル	リパスジル	リパスジル
測定法	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
試験番号	018					
CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-1					
結果(平均値±標準偏差): 薬物動態パラメータ						
tmax (min)	14.9 ± 0.1	15.0 ± 0.1	25.5 ± 9.0	11.8 ± 5.7	15.0 ± 0.1	15.5 ± 0.4
Cmax (ng/mL)	72.9 ± 18.5	487 ± 155	2850 ± 811	186 ± 34	740 ± 121	2790 ± 128
t _{1/2} (min)	30.9 ± 9.0	38.4 ± 6.4	54.2 ± 17.7	30.1 ± 0.8	35.6 ± 8.3	66.6 ± 5.2
AUC _{0-t} (ng・min/mL)	3010 ± 992	24500 ± 10900	305000 ± 65000	6460 ± 870	35600 ± 10200	238000 ± 5030
AUC _{0-inf} (ng・min/mL)	3370 ± 990	25100 ± 10600	309000 ± 68600	6860 ± 950	36300 ± 9790	241000 ± 4580
BA (%)	11.7	29.2	108	24.7	43.5	86.7

BA はリパスジルを 1mg/kg の投与量で静脈内投与した際の AUC_{0-inf} を用い算出した

2.6.5 薬物動態試験概要表

吸収: 単回投与(3/5)

(3) ラット血漿中放射能濃度(経口投与)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	ラット/Sprague Dawley	ラット/Sprague Dawley
性別(雄/雌)/動物数	雄/6(グループ 1 及び 2 で各 3)	雄/6(グループ 1 及び 2 で各 3)	雄/6(グループ 1 及び 2 で各 3)
食餌条件	絶食	絶食	絶食
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩
投与形態	精製水	精製水	精製水
投与方法	経口	経口	経口
投与液濃度	0.25mg/mL	0.75mg/mL	2.5mg/mL
投与量	1mg/kg	3mg/kg	10mg/kg
比放射能	2.0GBq/mmol	2.0GBq/mmol	2.0GBq/mmol
試料	血漿	血漿	血漿
試料採取時点	グループ 1: 投与後 15, 45 分, 2, 4, 8, 24, 72 時間, グループ 2: 投与後 30 分, 1, 3, 6, 12, 48 時間		
測定対象物質	放射能	放射能	放射能
測定法	LSC	LSC	LSC
試験番号	056		
CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-2		
結果(平均濃度より算出): 薬物動態パラメータ			
tmax (hr)	0.5	0.25	0.5
Cmax (μg eq./mL)	0.315	1.36	3.27
t _{1/2} (hr)	33.9	29.1	35.4
AUC _{0-t} (μg eq.・hr/mL)	1.22	3.64	12.24
AUC _{0-inf} (μg eq.・hr/mL)	1.37	3.94	13.42
F (%)	86	86	84

F: 見かけの吸収率; AUC_{0-inf}を経口投与時と静脈内投与時(1mg/kg)で比較して算出した

2.6.5 薬物動態試験概要表

吸収: 単回投与(4/5)

(4) ラット血漿中未変化体及び放射能濃度(静脈内投与)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley		ラット/Sprague Dawley	ラット/Sprague Dawley
性別(雄/雌)/動物数	雄/3		雌/3	雄/6(グループ 1 及び 2 で各 3)
食餌条件	絶食		絶食	絶食
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物		リパスジル塩酸塩水和物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩
投与形態	生理食塩液		生理食塩液	生理食塩液
投与方法	静脈内		静脈内	静脈内
投与液濃度	1mg/mL		1mg/mL	0.5mg/mL
投与量	1mg/kg		1mg/kg	1mg/kg(比放射能: 2.0GBq/mmol)
試料	血漿		血漿	血漿
試料採取時点	投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6 時間			グループ 1: 投与後 5, 15, 45 分, 2, 4, 8, 24, 72 時間; グループ 2: 投与後 10, 30 分, 1, 3, 6, 12, 48 時間
測定対象物質	リパスジル	リパスジル	リパスジル	放射能
測定法	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LSC
試験番号	018			056
CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-1			! 4.2.2.2-2
結果(平均値±標準偏差もしくは平均濃度より算出): 薬物動態パラメータ				
t _{1/2}	α: 10.4 ± 3.7min, β: 47.1 ± 10.3min		α: 16.9 ± 7.5min, β: 82.3 ± 34.9min	
AUC _{0-t}	-		-	
AUC _{0-inf}	28700 ± 2170 ng・min/mL		27800 ± 5390 ng・min/mL	
CL	35.0 ± 2.6 mL/min/kg		36.8 ± 6.6 mL/min/kg	
V _{ss}	1620 ± 228 mL/kg		1910 ± 426 mL/kg	

-: 算出せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

吸収: 単回投与(5/5)

(5) ウサギ血漿中未変化体濃度(点眼及び静脈内投与)

動物種/系統	ウサギ/Japanese White	ウサギ/Japanese White	ウサギ/Japanese White	ウサギ/Japanese White
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	雄/3	雄/3	雄/2
食餌条件	非絶食	非絶食	非絶食	非絶食
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液	リパスジル塩酸塩水和物	リパスジル塩酸塩水和物	リパスジル塩酸塩水和物
投与形態	点眼剤	生理食塩液	生理食塩液	生理食塩液
投与方法	片眼に点眼	静脈内	静脈内	静脈内
投与液濃度	1.0%	1mg/mL	3mg/mL	10mg/mL
投与量	50μL/eye	1mg/kg	3mg/kg	10mg/kg
試料	血漿	血漿	血漿	血漿
試料採取時点	投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6 時間			
測定対象物質	リパスジル	リパスジル	リパスジル	リパスジル
測定法	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
試験番号	033			
CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-3			
結果(平均値±標準偏差もしくは平均値): 薬物動態パラメータ - : 算出せず 静脈内投与の tmax は中央値(範囲)を記載				
tmax (min)	6.26 ± 2.03	6.00(5.43-7.40)	5.02(4.96-6.24)	5.29(5.07-5.50)
Cmax (ng/mL)	63.9 ± 16.6	-	-	-
t1/2 (min)	24.9 ± 5.9	α: 9.81 ± 3.89; β: 32.2 ± 5.5	α: 15.4 ± 2.2; β: 44.7 ± 8.0	α: 27.6; β: 88.5
AUC0-t (ng・min/mL)	2080 ± 951	-	-	-
AUC0-inf (ng・min/mL)	2180 ± 950	9350 ± 1630	35400 ± 8020	165000
BA (%)	95.8 ± 41.4	-	-	-
CL (mL/min/kg)	-	109 ± 18	87.7 ± 19.4	64.4
Vss (mL/kg)	-	3130 ± 802	2800 ± 785	2850

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

該当する試験なし。

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.5 薬物動態試験: 分布

分布(1/10)

(1) ラット単回経口投与後の組織内濃度

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	投与量	3mg/kg(比放射能: 2.0GBq/mmol)		
性別(雄/雌)/動物数	雄/15(3/時点)	試料	組織		
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 0.25, 4, 24, 72, 168 時間		
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能		
投与形態	精製水	測定法	LSC		
投与方法	経口投与	試験番号	056		
投与液濃度	0.75mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-2		
結果(平均値±標準偏差)					
組織	放射能濃度(μg eq./g tissue)				
	15 分	4 時間	24 時間	72 時間	168 時間
血漿	1.20 ± 0.13	0.138 ± 0.017	0.026 ± 0.006	0.009 ± 0.001	0.003 ± 0.000
血液	0.947 ± 0.125	0.116 ± 0.011	0.029 ± 0.006	0.017 ± 0.001	0.012 ± 0.002
血球	0.541 ± 0.090	0.082 ± 0.008	0.035 ± 0.006	0.029 ± 0.001	0.027 ± 0.004
大動脈	1.41 ± 0.09	0.166 ± 0.034	0.039 ± 0.011	0.030 ± 0.004	0.012 ± 0.010
大静脈	1.52 ± 0.25	0.221 ± 0.103	0.035 ± 0.034	0.025 ± 0.022	ND
脳	0.256 ± 0.022	0.027 ± 0.005	0.008 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001
脊髄	0.517 ± 0.361	0.040 ± 0.007	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.003	0.010 ± 0.001
眼	0.270 ± 0.054	0.049 ± 0.002	0.013 ± 0.006	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
心臓	1.15 ± 0.11	0.120 ± 0.011	0.023 ± 0.008	0.014 ± 0.001	0.008 ± 0.001
腎臓	10.6 ± 2.6	1.29 ± 0.17	0.337 ± 0.015	0.173 ± 0.008	0.070 ± 0.009

ND: 検出されず

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(2/10)

(1) ラット単回経口投与後の組織内濃度(続き)

試験番号: 056

CTD 記載箇所: !4.2.2.2-2

結果(平均値±標準偏差)					
組織	放射能濃度(μg eq./g tissue)				
	15 分	4 時間	24 時間	72 時間	168 時間
膀胱尿	4.68 ± 1.86	1.30 ± 0.79	0.025 ± 0.009	0.018 ± 0.004	0.009 ± 0.001
肝臓	14.3 ± 2.1	4.05 ± 0.02	1.38 ± 0.07	0.621 ± 0.017	0.179 ± 0.014
肺	2.46 ± 0.16	0.355 ± 0.029	0.114 ± 0.042	0.040 ± 0.007	0.016 ± 0.003
脾臓	2.38 ± 0.22	0.194 ± 0.012	0.043 ± 0.008	0.026 ± 0.001	0.015 ± 0.001
副腎	2.23 ± 0.35	0.391 ± 0.057	0.058 ± 0.004	0.040 ± 0.009	0.019 ± 0.001
ハーダー腺	1.78 ± 0.11	0.288 ± 0.040	0.142 ± 0.016	0.041 ± 0.007	0.011 ± 0.002
涙腺	2.05 ± 0.19	0.465 ± 0.110	0.033 ± 0.007	0.016 ± 0.001	0.010 ± 0.002
リンパ節	1.57 ± 0.13	0.399 ± 0.078	0.045 ± 0.001	0.026 ± 0.004	0.013 ± 0.002
睪臓	3.42 ± 0.46	0.319 ± 0.034	0.034 ± 0.003	0.021 ± 0.003	0.012 ± 0.001
下垂体	2.06 ± 0.23	0.283 ± 0.028	0.062 ± 0.004	ND	ND
唾液腺	2.42 ± 0.37	0.408 ± 0.062	0.031 ± 0.006	0.018 ± 0.002	0.011 ± 0.001
胸腺	0.879 ± 0.127	0.135 ± 0.012	0.032 ± 0.011	0.017 ± 0.001	0.009 ± 0.001
甲状腺	2.02 ^{a)}	0.275 ± 0.037	0.065 ± 0.013	0.029 ± 0.003	ND
前立腺	0.802 ± 0.060	0.181 ± 0.058	0.030 ± 0.010	0.014 ± 0.001	0.007 ± 0.001
精巣	0.242 ± 0.030	0.141 ± 0.014	0.025 ± 0.006	0.009 ± 0.002	0.005 ± 0.001
大腿骨	0.369 ± 0.041	0.097 ± 0.047	0.018 ± 0.003	0.011 ± 0.002	0.008 ± 0.001
骨髓	1.67 ± 0.25	0.212 ± 0.021	0.037 ± 0.032	0.022 ± 0.003	ND

ND: 検出されず

a): 平均値

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(3/10)

(1) ラット単回経口投与後の組織内濃度(続き)

試験番号: ■■■056 CTD 記載箇所: !4.2.2.2-2

結果(平均値±標準偏差)					
組織	放射能濃度(μg eq./g tissue)				
	15 分	4 時間	24 時間	72 時間	168 時間
褐色脂肪	1.17 ± 0.42	0.172 ± 0.012	0.068 ± 0.030	0.048 ± 0.008	0.025 ± 0.006
被膜脂肪	0.382 ± 0.052	0.058 ± 0.010	0.036 ± 0.012	0.046 ± 0.012	0.032 ± 0.004
骨格筋	0.630 ± 0.042	0.106 ± 0.012	0.015 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.007 ± 0.001
皮膚	0.722 ± 0.082	0.128 ± 0.011	0.026 ± 0.002	0.024 ± 0.001	0.014 ± 0.002
胃壁	44.1 ± 6.2	0.835 ± 0.270	0.047 ± 0.014	0.022 ± 0.003	0.011 ± 0.001
小腸壁	7.96 ± 0.56	8.01 ± 5.71	0.101 ± 0.043	0.024 ± 0.000	0.012 ± 0.002
大腸壁	3.58 ± 0.75	5.69 ± 1.86	0.247 ± 0.194	0.027 ± 0.003	0.012 ± 0.001

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(4/10)

(2) ラット全身オートラジオグラフィー(経口)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley
性別(雄/雌)/動物数	雄/6(1 匹/時点)
食餌条件	絶食
投与薬物	^{14}C -リパスジル塩酸塩
投与形態	精製水
投与方法	経口
投与液濃度	0.75mg/mL
投与量	3mg/kg
比放射能	0.675GBq/mmol(理論値)
試料	凍結切片
試料採取時点	投与後 15 分, 1, 4, 24, 72, 168 時間
測定対象物質	放射能
測定法	全身オートラジオグラフィー
試験番号	036
CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-1
結果	放射能は速やかに全身に分布し、大部分の組織で投与後 15 分に最高濃度を示した後、経時的に減少した。投与後 15 分には、胆汁、膀胱尿、胃内容物、小腸内容物、腎盂に著しく高濃度の放射能が分布し、以下、肝臓、腎臓髓質外帯、腎臓皮質、腎臓髓質内帯、副腎髓質、脾臓、下垂体、顎下腺、赤脾髄(脾臓)、副腎皮質外帯、胃粘膜、舌下腺、副腎皮質内帯、耳下腺、包皮腺、松果体、眼窩外涙腺、甲状腺、門脈血、ハーダー腺、肺、舌腺、口蓋腺、骨髓、白脾髄(脾臓)、心筋、脈絡叢、胸腺髓質、褐色脂肪に血液中濃度を上回る放射能が認められた。その後、ほとんどの部位で減少し、投与後 168 時間には、肝臓、篩骨、腎臓髓質外帯にわずかな放射能が認められ、腎臓皮質、褐色脂肪、副腎、脾臓、結腸内容物、白色脂肪、肺、腎臓髓質内帯、腎盂に極めてわずかな放射能分布が認められた。

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(5/10)

(3) ラット全身オートラジオグラフィー(静脈内)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	ラット/Long Evans
性別(雄/雌)/動物数	雄/7(1 匹/時点)	雄/6(1 匹/時点)
食餌条件	絶食	絶食
投与薬物	^{14}C -リパスジル塩酸塩	^{14}C -リパスジル塩酸塩
投与形態	生理食塩液	生理食塩液
投与方法	静脈内	静脈内
投与液濃度	1mg/mL	1mg/mL
投与量	1mg/kg	1mg/kg
比放射能	2.07GBq/mmol	2.07GBq/mmol
試料	凍結切片	凍結切片
試料採取時点	投与直後, 投与後 15 分, 1, 6, 24, 72, 168 時間	投与直後, 投与後 1, 24, 72, 168, 336 時間
測定対象物質	放射能	放射能
測定法	全身オートラジオグラフィー	全身オートラジオグラフィー
試験番号	035	
CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-2	
結果	<p>白色ラット(SD)では, 放射能は投与直後から全身に分布し, 大部分の組織が投与後 15 分に最高濃度を示した後, 経時的に減少した。投与直後の分布は, 胃内容物に最も高い分布が認められ, 以下, 副腎, 腎臓, 胆汁, 顎下腺, 甲状腺, 松果体, 脾臓, 下垂体, 肺, 胃粘膜, 小腸粘膜, 舌腺, 包皮腺, 舌下腺, 心筋, 骨格筋, 口蓋腺, 眼窩外涙腺, ハーダー腺, 脈絡叢, 肝臓において血液中濃度を上回った。投与後 168 時間には, 肝臓, 筋骨, 腎臓, 消化管内容物, 肺に極めてわずかな放射能が認められた。有色ラット(Long Evans)では, メラニンを含有しない組織への放射能分布は白色ラットとおおむね同様であったが, メラニンを含有する眼球のぶどう膜, 皮膚, 脳底部, 横静脈洞, 後頭骨と小脳との間への分布は, 投与直後に最高濃度に達し, その後経時的にわずかずつ減少するものの投与後 336 時間でも高い放射能が認められた。</p>	

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(6/10)

(4) ウサギ眼部オートラジオグラフィー(点眼)

動物種/系統	ウサギ/Japanese White	ウサギ/Dutch
性別(雄/雌)/動物数	雄/6(1 匹/時点)	雄/6(1 匹/時点)
食餌条件	非絶食	非絶食
投与薬物	^{14}C -リパスジル塩酸塩	^{14}C -リパスジル塩酸塩
投与形態	点眼剤	点眼剤
投与方法	片眼に点眼	片眼に点眼
投与液濃度	1.0%	1.0%
投与量	50 μL /eye	50 μL /eye
比放射能	2.07GBq/mmol	2.07GBq/mmol
試料	凍結切片	凍結切片
試料採取時点	投与後 15 分, 1, 4, 24, 72, 168 時間	投与後 15 分, 1, 24, 72, 168, 336 時間
測定対象物質	放射能	放射能
測定法	眼部オートラジオグラフィー	眼部オートラジオグラフィー
試験番号	020	
CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-3	
結果	<p>白色ウサギ(JW)では放射能は水晶体を除く眼組織で、点眼後 15 分に最高濃度を示しており眼内移行性は良好であった。点眼側と非点眼側を比較すると、涙腺はおおむね同程度の濃度を示したが、眼球の各組織では点眼側が高濃度を示した。網膜・脈絡膜には、点眼後 15 分及び 1 時間で明確な分布が認められた。</p> <p>有色ウサギ(Dutch)ではメラニンを含む組織の放射能分布は白色ウサギと同様であった。メラニンを含む虹彩、毛様体及び網膜・脈絡膜の放射能分布は白色ウサギに比べ高濃度であり消失も緩やかであった。</p>	

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(7/10)

(5) 有色ウサギ単回点眼後の眼組織内濃度

動物種/系統	ウサギ/Dutch	比放射能	0.414GBq/mmol(理論値)				
性別(雄/雌)/動物数	雄/21(3/時点)	試料	組織				
食餌条件	非絶食	試料採取時点	投与後 0.25, 1, 6, 24, 72, 168, 336 時間				
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能				
投与形態	点眼剤	測定法	燃焼法				
投与方法	両眼に点眼	試験番号	■449				
投与液濃度	1.0%	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-4				
投与量	50μL/eye						
結果(平均値±標準偏差, 3 例/片眼を測定)							
組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)						
	0.25 時間	1 時間	6 時間	24 時間	72 時間	168 時間	336 時間
血液	276.48 ± 52.69	128.87 ± 29.70	10.63 ± 1.22	4.92 ¹⁾	6.24 ± 0.43	6.12 ± 0.39	3.17 ²⁾
角膜	42545.12 ± 10731.59	13939.25 ± 4170.35	1647.78 ± 1138.87	1016.67 ± 396.23	233.80 ± 112.59	210.77 ± 72.12	78.80 ± 43.60
眼房水	5187.69 ± 764.67	1697.22 ± 438.93	177.73 ± 86.29	58.27 ± 41.64	9.78 ± 4.53	10.78 ± 6.23	5.74 ²⁾
虹彩・毛様体	40332.87 ± 22269.52	82078.55 ± 17871.07	29181.38 ± 8856.74	22081.94 ± 5016.87	12388.83 ± 1692.46	12551.81 ± 1843.16	6551.73 ± 1987.96
水晶体	206.54 ± 171.32	386.34 ± 174.38	195.29 ± 75.62	87.15 ± 19.24	20.29 ± 3.62	6.04 ± 2.08	2.58 ± 1.17

1): 値は 2 例の平均値

2): 各値は個体値

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(8/10)

(5) 有色ウサギ単回点眼後の眼組織内濃度(続き)

試験番号: ■■■449 CTD 記載箇所: !4.2.2.3-4

結果(平均値±標準偏差, 3 例/片眼を測定)							
組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)						
	0.25 時間	1 時間	6 時間	24 時間	72 時間	168 時間	336 時間
硝子体	176.00 ± 83.70	55.35 ± 12.14	28.65 ± 16.00	8.11 ± 0.50	14.68 ± 10.39	6.95 ± 3.09	2.68 ± 1.71
網膜・脈絡膜	5617.66 ± 3101.39	6375.70 ± 1239.40	4116.71 ± 2838.11	2593.55 ± 293.91	1447.62 ± 250.80	2210.04 ± 353.01	1814.19 ± 163.71
結膜	2475.06 ± 545.58	1625.96 ± 731.34	580.22 ± 535.20	563.10 ± 258.32	107.42 ± 30.91	232.44 ± 107.20	66.75 ± 74.42
瞬膜	3703.86 ± 151.26	1520.28 ± 686.18	228.56 ± 199.09	320.52 ± 136.14	248.56 ± 221.35	68.05 ± 17.56	59.44 ¹⁾
強膜(前眼部)	4795.21 ± 1137.68	2195.77 ± 1184.64	1670.28 ± 1183.57	395.35 ± 81.72	197.62 ± 59.37	159.76 ± 24.26	127.69 ± 26.04
強膜(後眼部)	366.66 ± 63.19	330.41 ± 223.78	80.15 ± 45.37	91.84 ± 85.77	69.33 ± 23.60	47.59 ± 9.62	20.24 ± 4.57
視神経	346.51 ± 83.25	BLQ	BLQ	154.18 ²⁾	BLQ	60.88 ²⁾	BLQ
涙液	41525.64 ± 24434.89	34389.72 ± 19598.72	12311.63 ± 19875.53	3783.59 ± 4146.54	1842.43 ¹⁾	1163.12 ± 507.38	529.23 ²⁾

1): 各値は 2 例の平均値

2): 各値は個体値

BLQ: 定量下限未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(9/10)

(6) 有色ウサギ反復点眼投与後の眼組織内濃度

動物種/系統	ウサギ/Dutch	比放射能	0.420GBq/mmol(理論値)				
性別(雄/雌)/動物数	雄/21(3/時点)	試料	組織				
食餌条件	非絶食	試料採取時点	投与後 0.25, 1, 6, 24, 72, 168, 336 時間				
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能				
投与形態	点眼剤	測定法	燃焼法				
投与方法	両眼に点眼, 1 日 2 回(10 時間間隔)7 日間	試験番号	449				
投与液濃度	1.0%	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-4				
投与量	50μL/eye						
結果(平均値±標準偏差, 3 例/片眼)							
組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)						
	0.25 時間	1 時間	6 時間	24 時間	72 時間	168 時間	336 時間
血液	241.15 ± 38.60	146.61 ± 14.11	44.30 ± 4.84	30.40 ± 3.13	20.97 ± 2.81	15.24 ± 0.31	8.33 ± 1.10
角膜	121986.13 ± 42495.65	17878.78 ± 4626.91	7745.62 ± 4634.26	1847.54 ± 845.11	1187.81 ± 193.29	493.14 ± 126.91	222.63 ± 63.76
眼房水	10232.89 ± 3276.35	2448.48 ± 890.85	301.94 ± 86.71	134.55 ± 68.85	43.16 ± 22.85	13.46 ± 4.87	BLQ
虹彩・毛様体	239129.98 ± 61499.29	159149.23 ± 15124.36	126511.89 ± 25017.57	158434.80 ± 46477.19	67819.95 ± 3809.55	51970.75 ± 12989.11	45214.62 ± 3004.15
水晶体	570.35 ± 34.99	804.82 ± 345.14	302.97 ± 72.40	251.41 ± 40.45	69.10 ± 10.28	21.59 ± 1.08	23.28 ± 14.95

BLQ: 定量下限未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

分布(10/10)

(6) 有色ウサギ反復点眼投与後の眼組織内濃度(続き)

試験番号: ■449 CTD 記載箇所: !4.2.2.3-4

結果(平均値±標準偏差)							
組織	放射能濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)						
	0.25 時間	1 時間	6 時間	24 時間	72 時間	168 時間	336 時間
硝子体	132.57 ± 47.71	80.41 ± 10.34	39.47 ± 13.77	53.79 ± 21.27	26.48 ± 5.95	18.93 ± 7.05	15.77 ± 6.64
網膜・脈絡膜	19098.63 ± 5264.86	19744.80 ± 5697.88	12278.63 ± 2803.47	38297.21 ± 13828.59	18160.61 ± 1687.16	14513.74 ± 1962.25	7003.91 ± 4089.58
結膜	10637.80 ± 7373.93	2023.05 ± 729.23	3144.10 ± 2506.86	1340.44 ± 1180.62	1439.38 ± 261.97	651.27 ± 594.17	177.77 ± 97.82
瞬膜	4509.14 ± 2066.65	1216.79 ± 132.79	969.49 ± 853.92	872.05 ± 899.01	551.50 ± 468.16	79.80 ± 36.86	82.34 ± 5.70
強膜(前眼部)	4165.66 ± 728.87	2847.89 ± 1211.54	1879.82 ± 611.77	993.38 ± 601.71	647.29 ± 59.58	621.81 ± 313.86	587.64 ± 31.35
強膜(後眼部)	1077.79 ± 429.37	701.14 ± 161.97	432.78 ± 100.43	697.11 ± 398.78	239.80 ± 64.43	272.63 ± 65.21	165.83 ± 55.16
視神経	380.06 ± 139.55	157.76 ± 39.25	77.86 ¹⁾	BLQ	337.90 ¹⁾	BLQ	BLQ
涙液	448562.31 ± 246596.32	38531.93 ± 8683.53	7209.77 ± 4699.77	3601.89 ¹⁾	1497.29 ± 1018.61	987.73 ± 247.63	718.02 ²⁾

1): 各値は 2 例の平均値

2): 各値は個体値

BLQ: 定量下限未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.6 薬物動態試験: たん白結合

たん白結合(1/2)

(1) 血漿蛋白結合(*in vitro*)

試験系	in vitro		比放射能	2.0GBq/mmol
試験方法	平衡透析法(37℃, 6 時間)		試料	血漿及び緩衝液
血漿	ヒト, イヌ, ウサギ, ラット血漿		測定対象物質	放射能
例数	3 例(ヒト以外はプール血漿使用)		測定法	LSC
添加薬物	14C-リパスジル塩酸塩		試験番号	007
試験濃度	10, 100, 1000ng/mL		CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-5
結果(平均値±標準偏差)				
動物種/系統		蛋白結合率(%)		
		10ng/mL	100ng/mL	1000ng/mL
ヒト	No.1	59.8 ± 1.7	56.9 ± 1.8	58.0 ± 0.3
	No.2	56.4 ± 1.4	55.6 ± 1.2	55.8 ± 0.4
	No.3	56.4 ± 1.9	56.8 ± 1.9	55.4 ± 2.6
イヌ/Beagle		43.1 ± 0.9	42.5 ± 1.4	41.8 ± 0.6
ウサギ/Japanese White		41.9 ± 1.9	41.3 ± 1.3	41.2 ± 0.6
ラット/Sprague Dawley		35.3 ± 0.8	36.7 ± 0.1	35.9 ± 1.6

2.6.5 薬物動態試験概要表

たん白結合(2/2)

(2) 結合蛋白種(*in vitro*)

試験系	in vitro	比放射能	2.0GBq/mmol
試験方法	平衡透析法(37℃, 6 時間)	試料	蛋白溶液及び緩衝液
蛋白溶液	ヒト血清アルブミン(HSA, 40mg/mL)	測定対象物質	放射能
	ヒト酸性糖タンパク(α ₁ -AGP, 1mg/mL)	測定法	LSC
例数	3 例	試験番号	007
添加薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-5
試験濃度	10, 100, 1000ng/mL		
結果(平均値±標準偏差)			
蛋白種	蛋白結合率(%)		
	10ng/mL	100ng/mL	1000ng/mL
4% HSA	22.7 ± 0.8	19.7 ± 0.7	20.3 ± 0.3
0.1% α ₁ -AGP	30.4 ± 2.4	30.3 ± 0.4	27.6 ± 0.8

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

妊娠又は授乳動物における試験(1/3)

(1) 胎盤・胎児移行性

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	投与量	3mg/kg
性別(雄/雌)/動物数	雌/5(1 匹/時点)	比放射能	0.694GBq/mmol(理論値)
妊娠日数	妊娠 18 日目	試料	凍結切片
食餌条件	非絶食	試料採取時点	投与後 15 分, 1, 4, 24, 72 時間
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能
投与形態	精製水	測定法	全身オートラジオグラフィー
投与方法	経口	試験番号	038
投与液濃度	1.5mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-6
結果	<p>投与した放射能は母体及び胎児のほとんどの臓器・組織・体液で、最初の検討時間である投与 15 分後に最高濃度に達した後、経時的に減少した。投与 15 分後の母体では小腸内容物、胃内容物、胆汁、膀胱尿に著しく高濃度の放射能が分布し、以下、腎盂、肝臓、腎臓髄質外帯、腎臓皮質、腎臓髄質内帯、唾液腺、眼窩外涙腺、膵臓、脾臓、下垂体、ハーダー腺、甲状腺、卵黄嚢、副腎、松果体、骨髄、乳腺、胸腺、卵巣、肺に血液中濃度を上回る放射能が認められた。胎児では肝臓で若干高濃度を示したが、放射能濃度は母体の血液中濃度を下回り、他の部位は肝臓よりも低濃度でおおむね同程度の濃度を示した。投与 72 時間後の母体では腎臓髄質外帯、肝臓、大腸内容物、腎臓皮質、小腸内容物、篩骨、卵黄嚢、膀胱尿、腎臓髄質内帯、脾臓、肺、褐色脂肪、ハーダー腺、眼窩外涙腺、甲状腺に血液中濃度を上回る放射能が認められた。胎児では消化管内容物に母体の血液中濃度を上回る放射能が検出されたが、他の部位ではほとんど消失した。</p>		

2.6.5 薬物動態試験概要表

妊娠又は授乳動物における試験(2/3)

(2) 乳汁移行性

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	
性別(雄/雌)/動物数	雌/4	
出産後日数	出産 13～14 日目	
食餌条件	非絶食	
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	
投与形態	精製水	
投与方法	経口	
投与液濃度	0.75mg/mL	
投与量	3mg/kg	
比放射能	0.695GBq/mmol(理論値)	
試料	血漿, 乳汁	
試料採取時点	投与後 15 分, 1, 3, 6, 24, 72 時間	
測定対象物質	放射能	
測定法	LSC	
試験番号	092	
CTD 記載箇所	! 4.2.2.5-1	
結果(平均値±標準偏差): 薬物動態パラメータ		
	乳汁	血漿
tmax (hr)	0.63 ± 0.43	0.63 ± 0.43
Cmax (ng eq./mL)	1011 ± 189	935 ± 194
t _{1/2} (hr)	11.32 ± 1.20	14.58 ± 2.62

2.6.5 薬物動態試験概要表

妊娠又は授乳動物における試験(3/3)

(2) 乳汁移行性(続き)

試験番号: 092

CTD 記載箇所: !4.2.2.5-1

試料	血漿, 乳汁			
試料測定時点	投与後 15 分, 1, 3, 6 時間			
測定対象物質	放射能			
測定法	HPLC-RLG			
結果(4 例をまとめて分析): 代謝物分析				
乳汁中代謝物	総放射能に対する割合(%)			
	0.25 時間	1 時間	3 時間	6 時間
リパスジル	68.11	26.92	10.38	16.94
M1	3.11	10.45	9.43	10.06
M2	16.92	27.82	17.24	6.70
血漿中代謝物	総放射能に対する割合(%)			
	0.25 時間	1 時間	3 時間	6 時間
リパスジル	38.86	26.84	18.70	19.24
M1	2.99	3.68	3.70	7.06
M2	19.91	25.01	25.29	20.89

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.8 薬物動態試験: その他の分布試験

その他の分布試験(1/6)

(1) 血球移行性(*in vitro*)

試験系	in vitro		比放射能	2.0GBq/mmol
試験方法	37℃ で 30 分間インキュベーション		試料	血液及び血漿
血液	ヒト, イヌ, ウサギ, ラット血液		測定対象物質	放射能
例数	3 例(ヒト以外はプール血漿使用)		測定法	LSC
添加薬物	14C-リパスジル塩酸塩		試験番号	007
試験濃度	10, 100, 1000ng/mL		CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-5
結果(平均値±標準偏差)				
動物種/系統		血球移行率(%)		
		10ng/mL	100ng/mL	1000ng/mL
ヒト	No.1	40.6 ± 2.7	45.8 ± 4.1	45.4 ± 2.9
	No.2	39.6 ± 3.5	39.8 ± 1.3	38.8 ± 2.6
	No.3	42.5 ± 1.1	37.7 ± 1.8	38.3 ± 1.5
イヌ/Beagle		47.5 ± 6.7	50.3 ± 3.1	52.2 ± 2.5
ウサギ/Japanese White		50.9 ± 2.8	48.4 ± 1.0	47.6 ± 0.5
ラット/Sprague Dawley		48.9 ± 1.9	49.4 ± 1.6	48.0 ± 1.0

2.6.5 薬物動態試験概要表

その他の分布試験(2/6)

(2) 血球移行性(*in vivo*)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	比放射能	2.0GBq/mmol
性別(雄/雌)/動物数	雄/15(3/時点)	試料	血液及び血漿
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 0.25, 4, 24, 72, 168 時間
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能
投与形態	精製水	測定法	LSC
投与方法	経口投与	試験番号	056
投与液濃度	0.75mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-2
投与量	3mg/kg		
結果(平均値±標準偏差)			
時間	血球移行率(%)		
15 分	22 ± 1		
4 時間	28 ± 1		
24 時間	47 ± 3		
72 時間	65 ± 3		
168 時間	86 ± 2		

2.6.5 薬物動態試験概要表

その他の分布試験(3/6)

(3) メラニン親和性試験

試験系	in vitro				試料			遠心上清(非結合分画)		
方法	合成メラニン(終濃度 100μg/mL)と37°C で3 時間インキュベーション				測定対象物質			リパスジル, M1, M2, クロロキン		
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物, M1, M2, クロロキン				測定法			LC-MS/MS		
試験濃度	0.39～100μmol/L				試験番号			088		
例数	3 例				CTD 記載箇所			! 4.2.2.3-7		
結果(平均値): 結合率及び解離率										
化合物		濃度(μmol/L)								
		0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
リパスジル	結合率(%)	82.48	78.33	73.67	70.10	62.11	56.04	49.46	40.48	31.53
	解離率(%)	12.20	15.58	18.06	21.90	25.29	28.66	31.49	34.48	40.86
M1	結合率(%)	85.38	81.34	78.80	74.40	66.86	60.55	55.18	43.80	33.42
	解離率(%)	9.64	12.51	14.73	18.74	22.22	26.10	29.17	33.58	41.83
M2	結合率(%)	10.33	11.37	6.47	5.99	5.86	7.26	5.54	3.57	2.55
	解離率(%)	71.04	57.85	99.50	93.49	85.52	63.34	59.42	84.53	107.31
クロロキン	結合率(%)	93.58	96.12	96.07	96.38	97.30	97.48	98.10	96.46	91.74
	解離率(%)	-	-	1.36	1.39	1.00	0.86	0.73	1.13	3.40

-: 非算出

2.6.5 薬物動態試験概要表

その他の分布試験(4/6)

(3) メラニン親和性試験(続き)

試験番号: 088 CTD 記載箇所: !4.2.2.3-7

結果(平均値): パラメータ				
化合物	n ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ melanin)	Kb(1/K) ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	K ($\text{L}/\mu\text{mol}$)	n/Kb (L/mg melanin)
リパスジル	0.498	37.1	0.0269	0.0134
M1	0.486	27.7	0.0361	0.0175
M2	0.0364	40.0	0.0250	0.000911
クロロキン	1.38	2.94	0.340	0.470

n: メラニン 1mg 当たりに結合する最大薬物分子数

Kb: 結合定数の逆数

K: 結合定数

n/Kb: メラニン結合ポテンシャル

2.6.5 薬物動態試験概要表

その他の分布試験(5/6)

(4) 角膜透過性(*in vitro*)

試験系	<i>in vitro</i>	試料	角膜透過液
試験方法	角膜をセルに挟み(有効面積 0.64cm ²), 透過する薬物量を測定	試験温度	約 34°C
角膜	ヒト, サル, イヌ, ウサギの摘出角膜	試料採取	20 分毎, 140 分まで
例数	3 例(ヒトは 1 例)	測定対象物質	リパスジル, M1
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液(1.0%)	測定法	LC-MS/MS
ドナー側	点眼液を 50μL と緩衝液を 50μL	試験番号	07, 100
レセプター側	緩衝液を 1.5mL/hr の流速で流す	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-8, ! 4.2.2.3-9
結果(平均値±標準偏差)			
動物種/系統	摘出眼の状態	Kp (×10 ⁻⁶ cm/sec)	Lag-time (min)
ヒト	DMEM 中 4°C で 5 日間	6.81	40.5
サル/Cynomolgus	新鮮	6.44 ± 1.21	51.4 ± 3.6
イヌ/Beagle	新鮮	2.91 ± 0.20	52.6 ± 2.6
ウサギ/New Zealand White	新鮮	5.96 ± 1.83	37.7 ± 0.8

Kp: 角膜透過定数

2.6.5 薬物動態試験概要表

その他の分布試験(6/6)

(5) 水晶体蛋白結合(*in vitro*)

試験系	<i>in vitro</i>	遠心条件	300,000g×200 分, 4℃
試験方法	10%水晶体ホモジネートと薬物をインキュベーション後に超遠心分離	試料	蛋白溶液と遠心上清
水晶体	ヒト, サル, イヌ, ウサギの摘出水晶体	測定対象物質	リパスジル, M1
例数	3 例(ヒトは 1 例)	測定法	LC-MS/MS
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物	試験番号	000006, 0000099
試験濃度	10, 100, 1000ng/mL (ヒト及びサルは 100ng/mL)	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-10, !4.2.2.3-11
結果(平均値±標準偏差)			
動物種/系統	摘出眼の状態	リパスジル濃度 (ng/mL)	水晶体蛋白結合率 (%)
ヒト	DMEM 中 4℃ で 5 日間	100	27.91
サル/Cynomolgus	新鮮	100	23.55 ± 1.92
イヌ/Beagle	新鮮	10	24.82 ± 4.53
		100	25.63 ± 1.08
		1000	20.31 ± 4.18
ウサギ/New Zealand White	新鮮	10	23.82 ± 4.17
		100	20.13 ± 7.11
		1000	17.88 ± 5.87
ウサギ/Dutch	新鮮	10	24.36 ± 3.05
		100	18.85 ± 1.35
		1000	17.55 ± 0.39

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.9 薬物動態試験: 代謝: *in vivo*

代謝: *in vivo*(1/11)

(1) 眼組織中代謝物(単回点眼)

動物種/系統	ウサギ/Dutch	比放射能	0.414GBq/mmol(理論値)	
性別(雄/雌)/動物数	雄/9 (3/時点)	試料	眼組織	
食餌条件	非絶食	試料採取時点	投与後 1, 6, 24 時間	
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能	
投与形態	点眼剤	測定法	LSC, HPLC-RAD	
投与方法	両眼に点眼	試験番号	■449	
投与液濃度	1.0%	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-4	
投与量	50μL/eye			
結果(3 例/片眼をまとめて分析)				
眼組織	化合物	濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)		
		1 時間	6 時間	24 時間
角膜	リパスジル	6504.87	540.75	241.10
	M1	1770.67	221.31	BLQ
	未同定代謝物	5533.97	628.68	393.44
眼房水	リパスジル	1752.90	59.91	BLQ
	M1	172.79	23.65	BLQ
	未同定代謝物	189.55	67.82	32.52
虹彩・毛様体	リパスジル	54460.13	30057.99	14022.57
	M1	1723.42	1948.81	1245.37
	未同定代謝物	21895.62	11242.94	6579.08

未同定代謝物濃度はすべての未同定代謝物の合計を示す M2, M3, M4, M5, M6 の濃度は全て BLQ であった
BLQ: 定量下限未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(2/11)

(2) 眼組織中代謝物(反復点眼)

動物種/系統	ウサギ/Dutch	比放射能	0.420GBq/mmol(理論値)	
性別(雄/雌)/動物数	雄/9 (3/時点)	試料	眼組織	
食餌条件	非絶食	試料採取時点	投与後 1, 6, 24 時間	
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能	
投与形態	点眼剤	測定法	LSC, HPLC-RAD	
投与方法	両眼に点眼, 1 日 2 回(10 時間間隔)7 日間	試験番号	■449	
投与液濃度	1.0%	CTD 記載箇所	! 4.2.2.3-4	
投与量	50μL/eye			
結果(3 例/片眼をまとめて分析)				
眼組織	化合物	濃度(ng eq./g 又は ng eq./mL)		
		1 時間	6 時間	24 時間
角膜	リパスジル	6845.08	6907.00	907.62
	M1	866.25	252.31	19.64
	未同定代謝物	7008.39	4884.77	796.12
眼房水	リパスジル	1858.38	434.90	60.86
	M1	98.55	47.37	BLQ
	未同定代謝物	77.77	22.71	27.60
虹彩・毛様体	リパスジル	89182.61	58480.87	46775.05
	M1	14000.24	14813.10	11084.71
	未同定代謝物	91291.36	59510.07	52251.22

未同定代謝物濃度はすべての未同定代謝物の合計を示す

M2, M3, M4, M5, M6 の濃度は全て BLQ であった

BLQ: 定量下限未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(3/11)

(3) ラット血漿中代謝物

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	比放射能	1.62GBq/mmol(理論値)		
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	試料	血漿		
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 0.5, 1, 2, 4, 6 時間		
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能		
投与形態	精製水	測定法	HPLC-RAD		
投与方法	経口	試験番号	■■■■118		
投与液濃度	1mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-1		
投与量	3mg/kg				
結果(3 例をまとめて分析)					
代謝物	総放射能に対する割合(%)				
	0.5 時間	1 時間	2 時間	4 時間	6 時間
リパスジル	11.3	8.5	6.1	-	-
M1	1.6	1.9	1.8	3.8	-
M2	6.6	6.5	4.1	3.5	7.9
M3	14.9	17.1	20.4	27.4	17.1
M4	7.7	5.8	2.3	-	-
M5	19.5	23.2	23.4	27.9	18.9
M6	6.2*	1.4	2.5	-	-

*: 隣接する未同定代謝物との合算ピーク

-: 100cpm 未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(4/11)

(4) ラット血漿中代謝物濃度測定

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	投与量	1, 3, 10mg/kg			
性別(雄/雌)/動物数	雄/9	試料	血漿			
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6, 8 時間			
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物	測定対象物質	リパスジル, M1, M2, M3, M4, M5, M6			
投与形態	精製水	測定法	LC-MS/MS			
投与方法	経口	試験番号	064			
投与液濃度	0.333, 1, 3.33mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-2			
結果(平均値±標準偏差)						
代謝物	1mg/kg		3mg/kg		10mg/kg	
	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng・hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng・hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng・hr/mL)
リパスジル	28.846±8.560	16.71±3.93	265.012±168.690	240.71±118.33	2109.150±312.966	3066.59±840.30
M1	11.040±1.670	8.94±3.51	25.136±6.759	46.35±13.41	98.451±31.322	325.89±86.62
M2	14.269±3.072	11.56±2.33	85.383±38.778	101.58±48.85	528.744±182.215	1144.00±539.19
M3	43.965±13.820	61.93±22.10	98.834±67.335	203.97±86.06	402.449±200.508	1288.29±526.07
M4 ¹⁾	21.931±2.242	10.04±4.89	154.555±79.617	126.54±59.83	591.340±35.326	1085.30±184.79
M5	73.287±11.630	79.76±15.82	288.766±110.314	505.76±183.27	930.442±108.631	2744.21±674.15
M6	-	-	5.974±4.005	6.18±6.59	22.092±15.693	51.79±43.89

-: 非算出

1): 試験終了後の品質分析で純度低下を認めたため, M4 定量濃度値は参考値とする

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(5/11)

(4) ラット血漿中濃度測定 (続き)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	投与量	1, 3, 10mg/kg			
性別(雄/雌)/動物数	雌/9	試料	血漿			
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6, 8 時間			
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物	測定対象物質	リパスジル, M1, M2, M3, M4, M5, M6			
投与形態	精製水	測定法	LC-MS/MS			
投与方法	経口	試験番号	064			
投与液濃度	0.333, 1, 3.33mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-2			
結果(平均値±標準偏差)						
代謝物	1mg/kg		3mg/kg		10mg/kg	
	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng・hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng・hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng・hr/mL)
リパスジル	120.778±18.013	84.14±8.60	632.074±105.332	560.20±126.05	2347.057±467.117	3229.47±722.95
M1	23.792±4.583	28.07±3.58	34.018±14.690	75.48±27.04	112.302±30.756	300.79±34.47
M2	95.662±15.648	185.65±25.53	333.344±16.045	857.45±116.96	1101.153±145.461	4841.69±1924.85
M3	37.941±10.354	64.20±10.50	75.570±34.604	175.17±66.67	194.420±173.315	560.95±358.25
M4 ¹⁾	33.712±4.266	25.66±7.92	113.597±8.684	144.46±23.85	276.009±22.727	663.88±194.75
M5	14.606±2.380	39.35±5.21	46.188±1.427	182.52±4.06	168.225±63.842	836.13±446.52
M6	6.610±3.381	8.66±6.40	14.957±6.791	39.45±15.74	46.246±10.461	213.25±84.68

1): 試験終了後の品質分析で純度低下を認めたため、M4 定量濃度値は参考値とする

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(6/11)

(5) ヒト血漿中代謝物

対象	ヒト(臨床試験残余試料)	関与臨床試験	K-115 点眼液第 I 相頻回・反復投与試験
性別(雄/雌)/例数	男性/8	試料	血漿
食餌条件	非絶食	試料採取時点	点眼前, 最終投与後 15 分, 1, 4 時間
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液	測定対象物質	代謝物の検索
投与形態	点眼剤	測定法	LC-MS 及び MS/MS
投与方法	両眼に点眼, 1 日 2 回, 計 13 回	試験番号	001
投与液濃度	0.8%	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-3
結果(8 例をまとめて分析)			
ヒト血漿中の代謝物としては M1 及び M6 の存在が確認され, その他の代謝物は認められなかった。			

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(7/11)

(6) ヒト血漿中代謝物濃度測定

対象	ヒト(臨床試験残余試料)		試料採取時点	1 回目投与前, 投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6, 9, 12 時間 3, 5, 7, 9, 11, 13 回目投与前 13 回目投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 24, 48 時間
性別(雄/雌)/例数	男性/8			
食餌条件	非絶食			
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液			
投与形態	点眼剤		測定対象物質	M6
投与方法	両眼に点眼, 1 日 2 回, 計 13 回		測定法	LC-MS/MS
投与液濃度	0.2, 0.4, 0.8%		試験番号	088
関与臨床試験	K-115 点眼液第 I 相頻回・反復投与試験		CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-4
試料	血漿			
結果 (M6 濃度)				
点眼		Cmax(ng/mL)	Tmax(hr)	AUC _{0-tau} (ng・hr/mL)
0.2%	点眼 1 回目	0.0000	-	0.00
	点眼 13 回目	0.0000	-	0.00
0.4%	点眼 1 回目	0.0000~0.1742	1.00	0.00~0.37
	点眼 13 回目	0.0000~0.1878	1.00	0.00~0.41
0.8%	点眼 1 回目	0.0000~0.2149	1.00	0.00~0.69
	点眼 13 回目	0.0000~0.2398	0.50~2.00	0.00~0.96

-: 非算出

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(8/11)

(7) ラット尿中代謝物

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	比放射能	1.62GBq/mmol(理論値)			
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	試料	尿			
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 0～24 時間			
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能			
投与形態	精製水	測定法	HPLC-RAD			
投与方法	経口	試験番号	118			
投与液濃度	1mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-1			
投与量	3mg/kg					
結果						
代謝物	総放射能(0～24 時間)に対する割合(%)					
	酵素処理なし			酵素処理あり		
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3
リパスジル	6.3*	6.1*	3.3	5.4*	5.4*	1.8
M1	7.5	11.1	10.0	6.7	10.3	9.1
M2	4.5	3.6	2.7	3.9	3.4	2.1
M3	16.4	19.1	30.4	14.8	18.1	27.5
M4	5.5	5.2	3.8	6.9	5.8	4.5
M5	27.8	25.0	23.1	30.3	26.0	24.4
M6	6.8*	2.0	3.6*	1.6	7.8*	1.6

*: 隣接する未同定代謝物との合算ピーク

酵素: β -glucuronidase/sulfatase

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(9/11)

(8) ヒト尿中代謝物

対象	ヒト(臨床試験残余試料)	関与臨床試験	K-115 点眼液第 I 相頻回・反復投与試験
性別(雄/雌)/例数	男性/8	試料	尿
食餌条件	非絶食	試料採取時点	点眼前, 最終投与後 0~12 時間, 12~24 時間
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液	測定対象物質	代謝物の検索
投与形態	点眼剤	測定法	LC-MS 及び MS/MS
投与方法	両眼に点眼, 1 日 2 回, 計 13 回	試験番号	001
投与液濃度	0.8%	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-3
結果(8 例をまとめて分析)			
ヒト尿中の代謝物としては M1 及び M6 の存在が確認され, その他の代謝物は認められなかった。			

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(10/11)

(9) ヒト尿中代謝物濃度測定

対象	ヒト(臨床試験残余試料)	試料採取時点	1 回目投与前, 投与後 0～24 時間 3, 5, 7, 9, 11 回目投与後 0～24 時間 13 回目投与後 0～12, 12～24, 24～36, 36～48 時間, 7 日後
性別(雄/雌)/例数	男性/8		
食餌条件	非絶食		
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液		
投与形態	点眼剤	測定対象物質	M6
投与方法	両眼に点眼, 1 日 2 回, 計 13 回	測定法	LC-MS/MS
投与液濃度	0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8%	試験番号	088
関与臨床試験	K-115 点眼液第 I 相頻回・反復投与試験	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-4
試料	尿		
結果 (M6 尿中排泄)			
点眼	Total Ae (μg)	% Total Ae (%)	
0.05%	9.310～24.140	1.82～4.72	
0.1%	16.893～66.479	1.65～6.51	
0.2%	52.689～111.850	2.58～5.47	
0.4%	42.396～267.099	1.04～6.53	
0.8%	114.512～280.934	1.40～3.44	

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vivo*(11/11)

(10) ラット糞中代謝物

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	比放射能	1.62GBq/mmol(理論値)			
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	試料	糞			
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 0～24 時間			
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能			
投与形態	精製水	測定法	HPLC-RAD			
投与方法	経口	試験番号	118			
投与液濃度	1mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-1			
投与量	3mg/kg					
結果						
代謝物	総放射能(0～24 時間)に対する割合(%)					
	酵素処理なし			酵素処理あり		
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3
リパスジル	4.4	6.6	4.6	4.5	6.2	15.0*
M1	9.4	10.0	7.8	9.9	9.1	9.3
M2	5.6	9.2	7.9	5.9	8.8	9.3
M3	1.9	1.7	1.2	2.3	1.8	1.3
M6	3.7	3.1	9.8*	10.6*	2.9	3.0

*: 隣接する未同定代謝物との合算ピーク

酵素: β -glucuronidase/sulfatase

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.10 薬物動態試験: 代謝: *in vitro*

代謝: *in vitro*(1/12)

(1) 肝 S9 を用いた代謝

試験系	in vitro		S9 蛋白濃度	1mg protein/mL					
試験方法	¹⁴ C-リパシジルを NADPH 生成系存在下もしくは非存在下, ヒト及び各種動物の肝 S9 と 37℃ でインキュベーションした。		試料	反応液					
			測定時間	0, 15, 30, 60 分					
			測定対象物質	放射能					
肝 S9	ヒト, サル, イヌ, ウサギ, ラット肝 S9		測定法	HPLC-RAD					
添加薬物	¹⁴ C-リパシジル塩酸塩		試験番号	080					
薬物濃度	3μmol/L		CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-5					
比放射能	2.0GBq/mmol								
結果									
動物種/系統	NRS	時間 (分)	総放射能に対する割合(%)						
			リパシジル	M1	M2	M3	M4	M5	M6
ヒト	+	0	97.6	-	-	-	-	-	-
		15	35.5	59.6	1.3	-	1.1	-	-
		30	23.2	70.7	2.0	-	1.0	-	-
		60	8.9	84.0	1.6	-	1.6	-	1.4
	-	15	40.3	56.5	-	-	-	-	-
		30	26.8	69.4	1.1	-	-	-	-
		60	14.3	80.9	1.5	-	-	-	1.4

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素), +: 添加, -: 非添加

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(2/12)

(1) 肝 S9 を用いた代謝(続き)

試験番号: 080 CTD 記載箇所: 4.2.2.4-5

結果									
動物種/系統	NRS	時間 (分)	総放射能に対する割合(%)						
			リパスジル	M1	M2	M3	M4	M5	M6
サル/Cynomolgus	+	0	97.8	-	-	-	-	-	-
		15	42.8	31.6	11.0	-	6.1	-	2.9
		30	19.7	41.6	14.2	1.4	7.8	-	6.2
		60	7.6	44.8	12.1	1.6	6.5	1.7	12.8
	-	15	52.2	45.1	-	-	-	-	-
		30	28.9	66.4	-	-	-	-	1.2
		60	13.7	82.2	-	-	-	-	1.1
イヌ/Beagle	+	0	95.8	-	-	-	-	-	1.0
		15	90.8	-	-	-	4.0	-	-
		30	83.4	-	1.2	-	7.9	-	-
		60	66.0	1.3	2.0	-	16.7	-	1.1
	-	15	94.1	-	-	-	-	-	-
		30	98.1	-	-	-	-	-	-
		60	95.3	-	-	-	-	-	-

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素), +: 添加, -: 非添加

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(3/12)

(1) 肝 S9 を用いた代謝(続き)

試験番号: 080

CTD 記載箇所: 14.2.2.4-5

結果									
動物種/系統	NRS	時間 (分)	総放射能に対する割合(%)						
			リパスジル	M1	M2	M3	M4	M5	M6
ウサギ/New Zealand White	+	0	94.1	-	-	-	-	-	-
		15	21.4	2.9	23.2	12.1	25.4	-	2.5
		30	6.2	3.0	23.3	16.8	24.0	-	5.4
		60	1.5	4.2	22.4	19.9	13.8	-	9.3
	-	15	88.6	6.1	-	-	-	-	1.0
		30	83.8	10.3	-	-	-	-	-
		60	77.0	17.5	-	-	-	-	-
ラット/Sprague Dawley	+	0	91.5	-	-	-	-	-	-
		15	76.0	1.2	4.6	2.0	7.1	1.4	-
		30	63.1	1.5	4.9	3.6	11.4	3.5	-
		60	48.4	3.0	5.5	6.1	14.2	8.0	-
	-	15	87.8	-	-	-	-	-	-
		30	88.4	-	-	-	-	-	1.0
		60	92.6	-	1.3	-	-	-	-

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素), +: 添加, -: 非添加

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(4/12)

(2) 阻害剤を用いた代謝酵素の推定

試験系	In vitro	薬物濃度	3μmol/L(リパスジル), 100μmol/L(阻害剤)		
試験方法	¹⁴ C-リパスジルの NADPH 生成系の非存在下, ヒト及び各種動物の肝 S9 と 37°C でインキュベーションした。	試料	反応液		
		測定時間	60 分		
		測定対象物質	放射能		
肝 S9	ヒト, サル, ウサギ肝 S9	測定法	HPLC-RAD		
蛋白濃度	1 mg protein/mL	試験番号	080		
添加薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩(比放射能: 2.0GBq/mmol)	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-5		
結果					
動物種/系統	阻害剤	総放射能に対する割合(%)			
		リパスジル	M1	M2	M6
ヒト	コントロール	23.1	71.6	1.8	-
	Allopurinol	26.3	68.4	1.9	-
	Menadione	76.6	19.7	-	-
	Raloxifene	96.8	-	-	-
サル/Cynomolgus	コントロール	23.5	71.9	-	-
	Allopurinol	35.2	61.2	-	-
	Menadione	80.2	16.4	-	-
	Raloxifene	81.5	15.7	-	1.1
ウサギ/New Zealand White	コントロール	82.6	13.6	-	-
	Allopurinol	85.2	11.5	-	-
	Menadione	96.2	-	-	-
	Raloxifene	95.5	1.8	-	-

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(5/12)

(3) ヒトアルデヒドオキシダーゼ発現系を用いた代謝

試験系	In vitro	薬物濃度	3μmol/L
試験方法	¹⁴ C-リパスジルを NADPH 生成系の非存在下，ヒトアルデヒドオキシダーゼ発現系と 37℃ でインキュベーションした。	試料	反応液
		測定時間	30 及び 60 分
		測定対象物質	放射能
発現系	ヒトアルデヒドオキシダーゼ	測定法	HPLC-RAD
蛋白濃度	0.25 mg protein/mL	試験番号	080
添加薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩 (比放射能: 2.0GBq/mmol)	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-5
結果			
発現系	時間 (分)	総放射能に対する割合(%)	
		リパスジル	M1M6
コントロール	30	97.4	-1.1
	60	97.1	-
アルデヒドオキシダーゼ	30	90.0	7.1-
	60	85.7	11.4-

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(6/12)

(4) 凍結肝細胞を用いた代謝

試験系	In vitro		細胞数	1.5×10 ⁵ cells/0.25mL					
試験方法	¹⁴ C-リパシジルをヒト及び各種動物の肝細胞と 37℃ でインキュベーションした。		試料	反応液					
			測定時間	0, 1, 2, 4 時間					
凍結肝細胞	ヒト, サル, イヌ, ウサギ, ラット凍結肝細胞		測定対象物質	放射能					
			測定法	HPLC-RAD					
添加薬物	¹⁴ C-リパシジル塩酸塩 (比放射能: 2.0GBq/mmol)		試験番号	080					
薬物濃度	5μmol/L		CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-5					
結果									
動物種/系統		時間 (時間)	総放射能に対する割合(%)						
			リパシジル	M1	M2	M3	M4	M5	M6
ヒト	No.1	0	97.5	-	-	-	-	-	-
		1	11.2	83.0	-	-	-	-	2.8
		2	1.0	91.8	-	-	-	-	3.9
		4	-	95.2	-	-	-	-	-
	No.2	0	97.6	-	-	-	-	-	-
		1	69.4	26.1	-	-	-	-	-
		2	61.5	29.9	1.7	2.2	-	-	1.5
		4	51.0	34.9	3.2	4.3	-	-	1.8

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(7/12)

(4) 凍結肝細胞を用いた代謝(続き)

試験番号: 080 CTD 記載箇所: 4.2.2.4-5

結果									
動物種/系統		時間 (時間)	総放射能に対する割合(%)						
			リパスジル	M1	M2	M3	M4	M5	M6
ヒト	No.3	0	97.5	-	-	-	-	-	1.0
		1	40.5	49.2	1.6	4.1	-	-	-
		2	20.6	62.8	2.6	6.9	-	-	2.9
		4	8.0	68.7	3.5	10.2	1.0	-	3.7
サル/Cynomolgus		0	96.6	-	-	-	-	-	-
		1	23.4	39.8	6.3	2.3	2.0	1.9	15.2
		2	3.7	46.6	3.5	2.9	1.7	4.5	24.6
		4	-	39.0	-	2.8	-	5.7	36.1
イヌ/Beagle		0	96.3	-	-	-	-	-	1.1
		1	68.4	-	10.1	-	6.4	-	-
		2	52.8	1.5	17.1	-	10.4	-	1.3
		4	33.9	1.2	25.3	1.1	15.2	-	-

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(8/12)

(4) 凍結肝細胞を用いた代謝(続き)

試験番号: 080 CTD 記載箇所: !4.2.2.4-5

結果								
動物種/系統	時間 (時間)	総放射能に対する割合(%)						
		リパスジル	M1	M2	M3	M4	M5	M6
ウサギ/New Zealand White	0	97.9	-	-	-	-	-	-
	1	20.6	5.4	14.1	17.7	8.4	-	8.4
	2	3.4	6.0	9.3	23.2	4.5	1.6	16.5
	4	-	4.5	3.6	26.4	-	1.4	22.5
ラット/Sprague Dawley	0	97.4	-	-	-	-	-	-
	1	74.2	1.2	7.8	3.3	2.7	2.5	-
	2	57.1	3.0	12.0	5.8	5.9	5.3	-
	4	41.6	3.3	16.0	8.3	7.4	7.8	-

-: 1.0%未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(9/12)

(5) ヒト肝 S9 での代謝固有クリアランスと代謝物生成

試験系	in vitro			薬物濃度	3μmol/L			
試験方法	リパスジル及び代謝物をヒト肝 S9 と 37°C でインキュベーションした。			蛋白濃度	0.5 mg protein/mL			
				試料	反応液			
肝 S9	ヒト肝 S9(プール, Mixed gender)			測定時間	0, 10, 20, 30, 60 分間			
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物, M1, M2, M3, M4, M5, M6			測定法	LC-MS/MS			
				試験番号	146			
				CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-6			
結果								
		リパスジル	M1	M2	M3	M4	M5	M6
CLint (μL/min/mg protein)	NRS 添加	37.8	1.30	10.8	1.36	4.22	-	-
	NRS 非添加	30.8	-	4.14	-	3.72	-	-
リパスジルの基質とした際には、M1 及び M2 への代謝反応は NRS 添加系及び非添加系で経時的に増加が認められ、M4 への代謝反応は NRS 添加系でわずかに確認された。M2 を基質にした際には、M6 への代謝反応は NRS 添加系及び非添加系で経時的に増加が認められた。								

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素)

-: 非算出

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(10/12)

(6) 代謝酵素単発現系での代謝固有クリアランスと代謝物生成

試験系	in vitro			薬物濃度	3μmol/L			
試験方法	リパスジル及び代謝物を NADPH 生成系の非存在下, ヒト CYP 発現系マイクロゾームと 37°C でインキュベーションした。			蛋白濃度	0.5 mg protein/mL (50 pmol CYP/mL)			
				試料	反応液			
発現系	ヒト CYP 発現系マイクロゾーム			測定時間	0, 20 分間			
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物, M1, M2, M3, M4, M5, M6			測定法	LC-MS/MS			
				試験番号	146			
				CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-6			
結果								
	CLint (μL/min/pmol CYP)							
	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4	CYP3A5
リパスジル	-	0.0286	0.0384	-	0.0354	0.0634	0.135	0.250
M1	0.0131	-	0.0258	-	0.0174	0.0284	0.108	0.0386
M2	-	-	-	-	0.0320	-	0.402	0.214
M3	-	-	-	-	-	-	0.0414	0.0248
M4	-	-	-	-	-	-	0.0676	0.132
M5	-	-	-	-	-	-	-	0.0338
M6	-	-	-	-	-	-	-	0.0332
リパスジルの基質にした際にのみ代謝物が認められ, リパスジルは CYP3A5 及び 3A4 により M2 へ代謝され, CYP3A5, 3A4 及び 2C8 により M4 へ代謝されることが示された。								

-: 非算出

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(11/12)

(7) ヒト肝 S9 及びヒトアルデヒドオキシダーゼでの酵素速度論解析

試験系	in vitro		蛋白濃度	0.5 mg protein/mL		
試験方法	各濃度のリパスジル及び代謝物をヒト肝 S9 及びヒトアルデヒドオキシダーゼと 37℃ でインキュベーションした。		試料	反応液		
			測定時間	アルデヒドオキシダーゼ: 20 分間, ヒト肝 S9: 30 分間		
酵素	ヒト肝 S9, ヒトアルデヒドオキシダーゼ		測定法	LC-MS/MS		
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物, M2		試験番号	146		
薬物濃度	1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μmol/L		CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-6		
結果						
酵素	NRS	基質	代謝物	Km (μmol/L)	Vmax (pmol/min/mg protein)	Vmax/Km (μL/min/mg protein)
ヒト肝 S9	+	リパスジル	M1	4.80	334.32	69.7
	-			5.53	357.47	64.6
ヒト肝 S9	+	リパスジル	M2	44.58	54.79	1.23
	-			116.78	81.06	0.694
ヒト肝 S9	+	M2	M6	26.72	215.01	8.05
	-			29.11	205.73	7.07
ヒトアルデヒドオキシダーゼ	-	リパスジル	M1	3.32	28.02	8.44

NRS: NADPH-regenerating system(補酵素); +: 添加 -: 非添加

Km: ミカエリス-メンテン定数

Vmax: 最大生成速度

2.6.5 薬物動態試験概要表

代謝: *in vitro*(12/12)

(8) グルタチオントラッピング法での反応性代謝物の検索

試験系	<i>in vitro</i>	GSH 濃度	5 mmol/L
試験方法	リパスジル及び陽性対照(クロザピン及びアプラクロニジン)を GSH 存在下で各酵素と 37°C でインキュベーションした。	測定時間	ヒト肝ミクロゾーム及びヒト肝 S9: 60 分間, HRP/H ₂ O ₂ : 30 分間
酵素	ヒト肝ミクロゾーム, ヒト肝 S9, HRP/H ₂ O ₂	試料	反応液
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物, クロザピン, アプラクロニジン塩酸塩	測定法	LC-MS/MS(精密質量)
薬物濃度	10 µmol/L	試験番号	053
蛋白濃度	1 mg protein/mL(ミクロゾーム及び S9)	CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-8
結果			
陽性対照の未変化体及びその代謝物のグルタチオン付加体のピークを認めたが, リパスジル及びその代謝物のグルタチオン付加体のピークを認めなかった。			

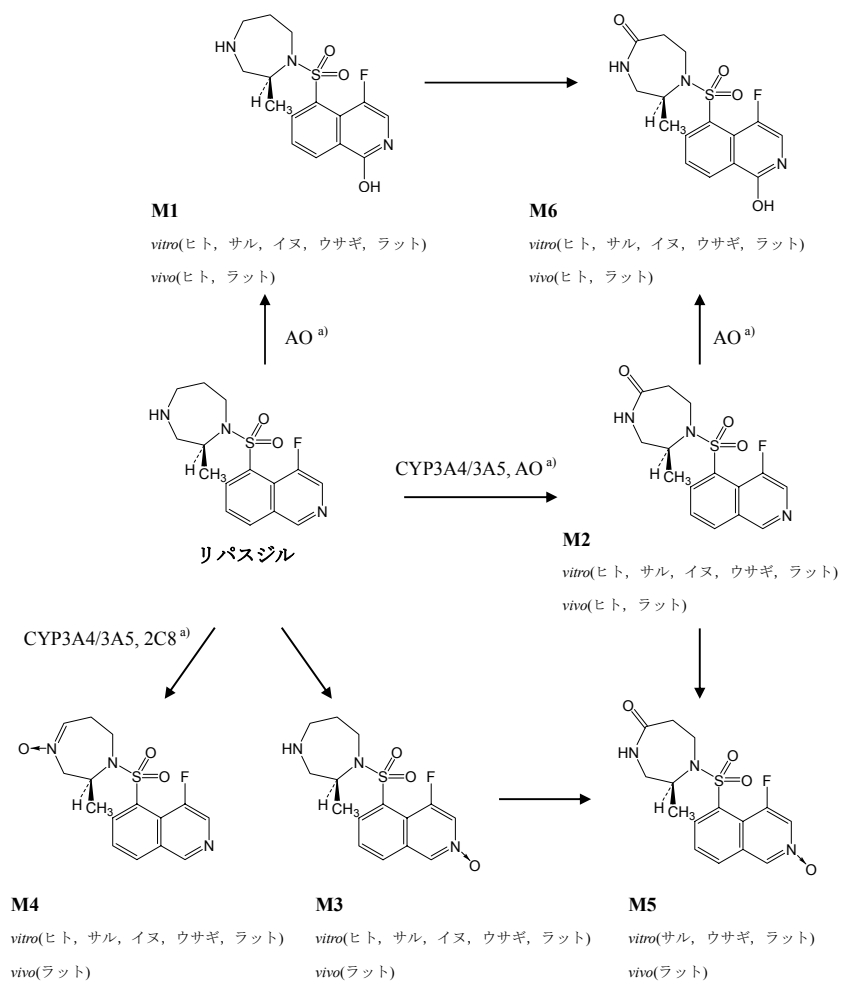
GSH: 還元型グルタチオン

HRP: Peroxidase, from horseradish(Type VI-A)

H₂O₂: 過酸化水素水

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路



vitro: *in vitro* 試験で認められた代謝物,

()内は認められた動物種

vivo: *in vivo* 試験で認められた代謝物,

()内は認められた動物種

a) 関与するヒト代謝酵素,

AO: アルデヒドオキシダーゼ

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.12 薬物動態試験: 薬物代謝酵素の誘導／阻害

試験系	in vitro			細胞数	0.15×10 ⁶ cells/200μL/well (播種時)				
試験方法	各濃度のリパスジルをヒト肝細胞と2日間処理した後, CYP1A2, 2B6, 3A4 のマーカー代謝活性及び 3A4 mRNA 測定した。			誘導日数	2 日間				
				マーカー代謝反応	1 時間				
				試料	反応液				
肝細胞	ヒト凍結肝細胞			測定法	LC-MS/MS 及びリアルタイム PCR				
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物			試験番号	■448				
薬物濃度	0.0032, 0.016, 0.08, 0.4, 2, 10 μmol/L			CTD 記載箇所	! 4.2.2.4-7				
結果 (平均値±標準偏差, n=3)									
分子種	測定項目	Lot.	誘導倍率						
			リパスジル (μmol/L)						陽性対照 ¹⁾
			0.0032	0.016	0.08	0.4	2	10	
CYP1A2	フェナセチン O-脱エチル化	IPH	0.98±0.00	0.94±0.11	1.07±0.03	1.09±0.08	1.12±0.08	1.42±0.07	6.98±0.77
		VRS	1.01±0.04	1.04±0.06	1.02±0.12	1.01±0.11	1.25±0.10	1.48±0.08	21.00±0.82
		IZT	0.99±0.11	0.98±0.03	0.88±0.09	0.80±0.12	0.92±0.08	0.89±0.08	12.59±1.33
CYP2B6	ブプロピオン 水酸化	IPH	1.06±0.05	0.98±0.07	1.05±0.13	1.01±0.17	0.99±0.03	1.10±0.05	7.63±0.61
		VRS	1.30±0.15	1.27±0.05	1.19±0.13	1.30±0.14	1.32±0.09	1.08±0.08	28.33±4.86
		IZT	0.97±0.13	1.01±0.08	1.12±0.07	1.24±0.03	1.32±0.03	1.36±0.17	5.95±0.08
CYP3A4	テストステロン 6β-水酸化	IPH	1.09±0.06	1.09±0.05	1.09±0.04	0.95±0.06	0.90±0.01	0.96±0.10	12.85±1.37
		VRS	1.01±0.02	0.93±0.06	0.91±0.04	0.84±0.04	0.84±0.06	0.75±0.10	20.83±0.92
		IZT	0.94±0.07	0.98±0.06	0.90±0.03	0.87±0.05	0.75±0.01	0.57±0.04	6.16±0.29
	mRNA	IPH	1.47±0.22	1.01±0.05	1.61±0.35	1.70±0.42	2.28±0.36	5.57±0.59	90.77±21.81
		VRS	0.97±0.14	1.24±0.26	0.93±0.32	1.18±0.21	1.20±0.04	1.99±0.10	16.73±2.67
		IZT	1.27±0.23	1.21±0.29	0.94±0.35	1.18±0.26	1.58±0.28	1.68±0.49	61.09±5.96

1): CYP1A2 は 50μmol/L オメプラゾール, CYP2B6 は 2000μmol/L フェノバルビタール, CYP3A4 は 25μmol/L リファンピシン

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.13 薬物動態試験: 排泄

排泄(1/5)

(1) ラット尿・糞中未変化体排泄(経口投与)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	投与量	1, 3, 10mg/kg			
性別(雄/雌)/動物数	雄/9, 雌/9	試料	尿, 糞			
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 0-24, 24-48, 48-72 時間			
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物	測定対象物質	リパスジル			
投与形態	精製水	測定法	LC-MS/MS			
投与方法	経口	試験番号	018			
投与液濃度	0.333, 1, 3.33mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-1			
結果(平均値±標準偏差)						
雌/雄	72 時間までの排泄率(% of dose)					
	1mg/kg		3mg/kg		10mg/kg	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞
雄性ラット	0.570 ± 0.160	0.324 ± 0.076	2.32 ± 0.16	0.378 ± 0.201	3.55 ± 1.05	0.693 ± 0.158
雌性ラット	3.92 ± 1.94	0.190 ± 0.043	4.35 ± 1.15	0.246 ± 0.177	3.91 ± 1.11	0.218 ± 0.103

2.6.5 薬物動態試験概要表

排泄(2/5)

(2) ラット尿，糞及び呼気中放射能排泄(経口投与)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	比放射能	2.0GBq/mmol	
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	試料	尿，糞，呼気，ケージ洗浄液	
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 168 時間まで 24 時間毎 (尿は最初の採取は 6 時間まで)	
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能	
投与形態	精製水	測定法	LSC	
投与方法	経口	試験番号	056	
投与液濃度	0.75 mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-2	
投与量	3 mg/kg			
結果(平均値±標準偏差)				
時間	累積放射能排泄率(% of dose)			
	尿	糞	ケージ洗浄液	呼気
0－6 時間	29.23 ± 12.81	-	-	-
0－24 時間	41.93 ± 12.62	37.04 ± 4.01	5.13 ± 6.44	2.87 ± 0.21
0－48 時間	42.94 ± 12.53	40.74 ± 5.34	5.29 ± 6.44	3.21 ± 0.28
0－72 時間	43.34 ± 12.59	41.34 ± 5.27	5.39 ± 6.46	3.36 ± 0.27
0－96 時間	43.55 ± 12.64	41.67 ± 5.30	5.43 ± 6.45	3.45 ± 0.25
0－120 時間	43.67 ± 12.64	41.85 ± 5.29	5.50 ± 6.42	3.53 ± 0.25
0－144 時間	43.75 ± 12.66	42.01 ± 5.28	5.52 ± 6.45	3.56 ± 0.24
0－168 時間	43.80 ± 12.66	42.10 ± 5.30	5.68 ± 6.65	3.60 ± 0.24

-: 測定せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

排泄(3/5)

(3) ラット尿・糞中未変化体排泄(静脈内投与)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	投与量	1 mg/kg
性別(雄/雌)/動物数	雄/3, 雌/3	試料	尿, 糞
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 0-24, 24-48, 48-72 時間
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物	測定対象物質	リパスジル
投与形態	生理食塩液	測定法	LC-MS/MS
投与方法	静脈内	試験番号	018
投与液濃度	1 mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-1
結果(平均値±標準偏差)			
雌/雄	72 時間までの排泄率(% of dose)		
	1mg/kg		
	尿	糞	
雄性ラット	5.65 ± 0.73	0.212 ± 0.144	
雌性ラット	6.30 ± 1.24	0.215 ± 0.125	

2.6.5 薬物動態試験概要表

排泄(4/5)

(4) ラット尿，糞及び呼気中放射能排泄(静脈内投与)

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	比放射能	2.0GBq/mmol	
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	試料	尿，糞，呼気，ケージ洗浄液	
食餌条件	絶食	試料採取時点	投与後 168 時間まで 24 時間毎 (尿は最初の採取は 6 時間まで)	
投与薬物	¹⁴ C-リパスジル塩酸塩	測定対象物質	放射能	
投与形態	生理食塩液	測定法	LSC	
投与方法	静脈内	試験番号	056	
投与液濃度	0.5 mg/mL	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-2	
投与量	1 mg/kg			
結果(平均値±標準偏差)				
時間	累積放射能排泄率(% of dose)			
	尿	糞	ケージ洗浄液	呼気
0 – 6 時間	17.14 ± 4.69	-	-	-
0 – 24 時間	35.33 ± 7.30	41.45 ± 4.29	2.32 ± 0.80	2.54 ± 0.20
0 – 48 時間	38.01 ± 7.82	46.38 ± 6.31	2.71 ± 0.91	2.90 ± 0.18
0 – 72 時間	38.59 ± 7.91	48.25 ± 7.49	2.87 ± 0.94	3.05 ± 0.19
0 – 96 時間	38.85 ± 7.87	48.87 ± 7.71	2.90 ± 0.95	3.14 ± 0.22
0 – 120 時間	38.99 ± 7.87	49.13 ± 7.73	2.92 ± 0.95	3.21 ± 0.23
0 – 144 時間	39.09 ± 7.88	49.30 ± 7.74	2.93 ± 0.95	3.26 ± 0.23
0 – 168 時間	39.15 ± 7.88	49.45 ± 7.83	2.99 ± 0.98	3.32 ± 0.21

-: 測定せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

排泄(5/5)

(5) ウサギ尿・糞中未変化体排泄(点眼及び静脈内投与)

動物種/系統	ウサギ/Japanese White	投与量	50μL/eye(点眼), 1, 3, 10mg/kg(静脈内)
性別(雄/雌)/動物数	雄/12	試料	尿, 糞
食餌条件	非絶食	試料採取時点	投与後 0-24, 24-48, 48-72 時間
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物	測定対象物質	リパスジル
投与形態	点眼剤(点眼), 生理食塩液(静脈内)	測定法	LC-MS/MS
投与方法	片眼に点眼(点眼), 静脈内投与(静脈内)	試験番号	033
投与液濃度	1.0%(点眼), 1, 3, 10mg/mL(静脈内)	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-3
結果(平均値±標準偏差)			
群	72 時間までの排泄率(% of dose)		
	尿	糞	
点眼	1.66 ± 2.13	0.417 ± 0.152	
1mg/kg 静脈内	0.616 ± 0.305	0.797 ± 0.153	
3mg/kg 静脈内	0.672 ± 0.065	0.413 ± 0.285	
10mg/kg 静脈内	0.826 ± 0.242	0.238 ± 0.176	

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.14 薬物動態試験: 排泄: 胆汁中

動物種/系統	ラット/Sprague Dawley	試料	胆汁, 尿, 糞
性別(雄/雌)/動物数	雄/3	試料採取時点	投与後 48 時間まで 24 時間毎 (胆汁は投与後 6 時間まで 1 時間毎, 尿は最初の採取は 6 時間まで)
食餌条件	絶食		
投与薬物	^{14}C -リパスジル塩酸塩		
投与形態	精製水	測定対象物質	放射能
投与方法	経口	測定法	LSC
投与液濃度	0.75 mg/mL	試験番号	056
投与量	3 mg/kg	CTD 記載箇所	! 4.2.2.2-2
比放射能	2.0GBq/mmol		
結果(平均値±標準偏差)			
時間	累積放射能排泄率(% of dose)		
	胆汁	尿	糞
0-1 時間	10.14 ± 1.56	-	-
0-2 時間	20.27 ± 1.40	-	-
0-3 時間	25.25 ± 2.94	-	-
0-4 時間	27.36 ± 4.02	-	-
0-5 時間	29.87 ± 4.03	-	-
0-6 時間	31.60 ± 4.85	32.07 ± 2.13	-
0-24 時間	38.40 ± 5.25	45.35 ± 3.26	9.19 ± 1.52
0-48 時間	38.91 ± 5.28	45.98 ± 3.32	9.84 ± 1.55

-: 測定せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.15 薬物動態試験: 薬物相互作用

薬物相互作用(1/4)

(1) CYP に対する阻害作用(*in vitro*)

試験系	<i>in vitro</i>	蛋白濃度	0.2 mg protein/mL		
試験方法	リパスジルもしくは M1 の存在下, 各 CYP 分子種の特異的な基質をヒト肝ミクロゾームとインキュベーションした。	試料	反応液		
		測定時間	インキュベーション後 1 時点(3~40 分間)		
		測定対象	特異的基質の代謝物		
肝ミクロゾーム	ヒト肝ミクロゾーム(プール, Mix gender)	測定法	LC-MS/MS		
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物, M1	試験番号	■447		
薬物濃度	0.04, 0.2, 1, 5, 25μmol/L	CTD 記載箇所	! 4.2.2.6-1		
結果 (プレインキュベーションなし)					
分子種	代謝反応	陽性対照物質	IC ₅₀ 値 (μmol/L)		
			リパスジル	M1	陽性対照物質
CYP1A2	フェナセチン <i>O</i> -脱エチル化	Fulvoxamine	>25	>25	0.16
CYP2C8	パクリタキセル 6α-水酸化	Quercetin	>25	>25	5.9
CYP2C9	ジクロフェナク 4'-水酸化	Sulfaphenazole	>25	>25	0.61
CYP2C19	<i>S</i> -メフェニトイン 4'-水酸化	<i>N</i> -3-Benxylnirvanol	>25	>25	0.35
CYP2D6	デキストロメトルファン <i>O</i> -脱メチル化	Quinidine	5.1	>25	0.081
CYP3A4/5	テストステロン 6β-水酸化	Ketoconazole	>25	>25	0.028
CYP3A4/5	ミダゾラム 1'-水酸化	Ketoconazole	>25	>25	0.033

基質最終濃度及びインキュベーション時間

フェナセチン: 75μmol/L 10 分間, パクリタキセル: 20μmol/L 10 分間, ジクロフェナク: 15μmol/L 5 分間, *S*-メフェニトイン: 40μmol/L 40 分間, デキストロメトルフアン: 6μmol/L 10 分間, テストステロン: 50μmol/L 10 分間, ミダゾラム: 8μmol/L 3 分間

2.6.5 薬物動態試験概要表

薬物相互作用(2/4)

(1) CYP に対する阻害作用(*in vitro*) (続き)

試験番号: ■■■447 CTD 記載箇所: !4.2.2.6-1

結果 (プレインキュベーション : 30 分間)				
分子種	代謝反応	陽性対照物質	IC ₅₀ 値 (μmol/L)	
			リパスジル	M1
CYP1A2	フェナセチン <i>O</i> -脱エチル化	Fulvoxamine	>25	>25
CYP2C8	パクリタキセル 6α-水酸化	Quercetin	>25	>25
CYP2C9	ジクロフェナク 4'-水酸化	Sulfaphenazole	>25	>25
CYP2C19	<i>S</i> -メフェニトイン 4'-水酸化	<i>N</i> -3-Benxylrivanol	>25	>25
CYP2D6	デキストロメトルフアン <i>O</i> -脱メチル化	Quinidine	3.8	>25
CYP3A4/5	テストステロン 6β-水酸化	Ketoconazole	14	>25
CYP3A4/5	ミダゾラム 1'-水酸化	Ketoconazole	>25	>25

基質最終濃度及びインキュベーション時間

フェナセチン: 75μmol/L 10 分間, パクリタキセル: 20μmol/L 10 分間, ジクロフェナク: 15μmol/L 5 分間, *S*-メフェニトイン: 40μmol/L 40 分間, デキストロメトルフアン: 6μmol/L 10 分間, テストステロン: 50μmol/L 10 分間, ミダゾラム: 8μmol/L 3 分間

2.6.5 薬物動態試験概要表

薬物相互作用(3/4)

(2) アルデヒドオキシダーゼに対する阻害作用(*in vitro*)

試験系	<i>in vitro</i>	蛋白濃度	0.025 mg protein/mL	
試験方法	リパスジルの存在下，マーカー基質であるフタラジン(2μmol/L)をヒト肝サイトゾルとインキュベーションした。	試料	反応液	
		測定時間	インキュベーション後 1 時点(2.5 分間)	
		測定対象	1-フタラジノン	
肝サイトゾル	ヒト肝サイトゾル(プール， Mix gender)	測定法	LC-MS/MS	
添加薬物	リパスジル塩酸塩水和物	試験番号	031	
薬物濃度	0.00064, 0.0032, 0.016, 0.08, 0.4, 2, 10μmol/L	CTD 記載箇所	! 4.2.2.6-2	
結果				
分子種	代謝反応	IC ₅₀ 値 (μmol/L)		
		リパスジル	陽性対照物質	
			Menadione	Raloxifene
Aldehyde Oxidase	Phtalazine oxidation	1.4	0.12	0.0012

2.6.5 薬物動態試験概要表

薬物相互作用(4/4)

(3) ウサギにおける併用点眼時の眼内濃度

動物種/系統	ウサギ/Dutch		投与液濃度	0.4%(リパスジル), ラタノプロスト 0.005%及びチモロー ル 0.5%(ザラカム配合点眼液)			
性別(雄/雌)/動物数	雄/54 (各群 18)						
食餌条件	非絶食						
投与薬物	リパスジル塩酸塩水和物点眼液, ザラカム配合点眼液(ラタノプロスト・チ モロールマレイン酸塩配合点眼液)		試料	角膜, 眼房水, 水晶体			
			試料採取時点	投与後 0.25, 0.5, 2, 4, 8, 24 時間			
			測定対象物質	リパスジル, Timolol, Latanoprost acid			
投与形態	点眼剤		測定法	LC-MS/MS			
投与方法	両眼に点眼, 併用は 5 分空ける		試験番号	095			
投与量	50μL/eye		CTD 記載箇所	! 4.2.2.6-3			
結果(平均値, 3 例/6 眼): 薬物動態パラメータ							
測定対象	組織		tmax (hr)	Cmax (ng/g or ng/mL)	t _{1/2} (hr)	AUC _{0-t} (ng・hr/g or ng・hr/mL)	AUC _{0-inf} (ng・hr/g or ng・hr/mL)
リパスジル	角膜	単独	0.25	68135.4	7.44	43277	44729
		併用	0.25	39778.9	8.57	39327	40290
	眼房水	単独	0.25	4126.39	7.21	5537	5688
		併用	0.50	4714.43	7.02	6022	6110
	水晶体	単独	0.50	154.37	13.03	2040	2860
		併用	0.50	210.99	11.84	1217	1615
Timolol	眼房水	単独	0.42	2823.76	5.50	4613	4664
		併用	0.42	4642.61	4.72	6015	6048
Latanoprost acid	眼房水	単独	1.92	253.92	-	758	-
		併用	1.92	255.97	-	1005	-

-: 非算出

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.16 薬物動態試験: その他

該当する試験なし。