ヨンデリス点滴静注用 0.25 mg

ヨンデリス点滴静注用 1 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.4　薬物動態試験の概要文

大鵬薬品工業株式会社

目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 7
2.6.4.1 まとめ 7
2.6.4.2 分析法 9
2.6.4.2.1 生物分析法 9
2.6.4.2.2 ^{14}C 標識トラベクテジン 11
2.6.4.3 吸収 12
2.6.4.3.1 血漿中濃度 12
2.6.4.4 分布 20
2.6.4.4.1 *In Vitro* 分布試験 20
2.6.4.4.2 *In Vivo* 分布試験 21
2.6.4.4.3 血漿蛋白結合及び血球への分布 24
2.6.4.4.4 胎盤移行 25
2.6.4.5 代謝 26
2.6.4.5.1 *In Vitro* 代謝 26
2.6.4.5.2 *In Vivo* 代謝プロファイル 30
2.6.4.5.3 酵素誘導及び阻害 31
2.6.4.6 排泄 32
2.6.4.6.1 ラットにおける排泄試験 32
2.6.4.6.2 マウスにおける排泄試験 32
2.6.4.6.3 乳汁中排泄 33
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 33
2.6.4.7.1 血漿蛋白結合の相互作用 33
2.6.4.7.2 代謝に基づく相互作用 33
2.6.4.7.3 薬剤トランスポーター 34
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 34
2.6.4.9 考察及び結論 34
2.6.4.10 図表 37
2.6.4.11 参考文献 37

図一覧

図 2.6.4.2.1-1 トラベクテジン（$C_{39}H_{43}N_3O_{11}S$）の化学構造 9
図 2.6.4.2.2-1 ^{14}C-トラベクテジン 11
図 2.6.4.3.1.1-1 雄性ラットにおける総放射能（TR）及びトラベクテジン未変化体（UD）の血漿中濃度推移 13
図 2.6.4.3.1.2.1-1 トラベクテジン 50 μg/kg を雌雄のラットに 3 週間ごとに 3 時間持続静脈内投与した際の 3 回目投与におけるトラベクテジンの血漿中濃度推移 15

図 2.6.4.3.1.2.2-1　トラベクテジン 50 μg/kg を雌雄のサルに 3 週間ごとに 3 時間持続静脈内投与した際の 3 回目投与におけるトラベクテジンの血漿中濃度推移 17
図 2.6.4.4.2-1　雄性ラットに ^{14}C-トラベクテジン 61 μg/kg を単回急速静脈内投与後の放射能の組織/血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ 比 22
図 2.6.4.4.2-2　非移植及び MCF7（ヒト乳癌細胞株）の担癌ヌードマウスに 200 μg/kg の ^{14}C-トラベクテジンを単回急速静脈内投与した際の各組織の組織/血漿 $AUC_{0\text{-}96\,h}$ 比 23
図 2.6.4.5.1-1　ヒト（男）及びサル（雄）の 12000×g 上清画分で ^{14}C-トラベクテジン（5 μmol/L）をインキュベーションした後のラジオクロマトグラムの比較 27
図 2.6.4.5.1-2　ヒト及びサルの肝 12000×g 上清画分におけるトラベクテジンの *in vitro* 推定代謝経路 29

表一覧

表 2.6.4.2.1-1　マウス，ラット及びサルの血漿中トラベクテジン及びその代謝物 ET-729 の LC/MS/MS 分析法の特性値 10
表 2.6.4.3.1.1-1　雌雄のマウス及び雄性ラットにトラベクテジンを単回静脈内投与した際の薬物速度論的パラメータ 13
表 2.6.4.3.1.1-2　雌雄のマウスにトラベクテジン及び ET-729 をそれぞれ単回静脈内投与した際の薬物速度論的パラメータ 14
表 2.6.4.3.1.2.1-1　トラベクテジン 50 μg/kg を雌雄のラットに 3 時間又は 24 時間かけて単回持続静脈内投与した際の平均曝露量（C_{max}，$AUC_{0\text{-}t}$） 14
表 2.6.4.3.1.2.1-2　[redacted]トラベクテジン 50 μg/kg を雌雄のラットに 3 時間かけて単回持続静脈内投与した際の平均曝露量（C_{max}，AUC） 15
表 2.6.4.3.1.2.1-3　トラベクテジンをラットにそれぞれ 2.5～50 μg/kg（雌）及び 10～75 μg/kg（雄）の用量範囲で 3 時間持続静脈内投与を単回及び反復投与した際のトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ 16
表 2.6.4.3.1.2.2-1　トラベクテジンの 3 時間又は 24 時間持続静脈内投与を単回及び 3 週間ごとに反復した際のサルにおけるトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ 18
表 2.6.4.3.1.2.2-2　トラベクテジンの 3 時間持続静脈内投与を単回及び反復した際のサルにおけるトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ（1） 19
表 2.6.4.3.1.2.2-3　トラベクテジンの 3 時間持続静脈内投与を単回及び反復した際のサルにおけるトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ（2） 20
表 2.6.4.4.2-1　ラットに ^{14}C-トラベクテジン 80 μg/kg を単回急速静脈内投与後 7 日における組織中から回収された放射能（% of dose） 22
表 2.6.4.4.2-2　雄性の野生型及び *mdr1a/1b*(-/-)マウスの血漿及び選択された組織における放射能の組織/血漿 $AUC_{0\text{-}96h}$ 比と *mdr1a/1b*(-/-)/野生型の比 24
表 2.6.4.4.3-1　ヒト及び各動物種における血漿蛋白結合率と血液/血漿中濃度比 25

表 2.6.4.4.4-1 妊娠ラットに ^{14}C-トラベクテジンを 61 µg/kg で単回急速静脈内投与した後の母動物及び胎児の組織中放射能濃度 26
表 2.6.4.5.1-1 ヒト及びサルの肝 12000×g 上清画分における ^{14}C-トラベクテジン代謝の比較 28

略号一覧表

略号	内容
AGP	alpha1-acid glycoprotein：α1-酸性糖蛋白
AP	apical side：頂端側
AUC	area under the concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$/AUC_{0-inf}	area under the concentration-time curve from time 0 up to infinity：投与 0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the concentration-time curve from time 0 up to the time at the last observable concentration：投与 0 時間から最終測定可能な濃度の時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性蛋白質
BSEP	bile salt export pump：胆汁酸トランスポーター
BL	basolateral side：基底側
CAR	constitutive androstane receptor：構成的アンドロスタン受容体
cDNA	complementary DNA：相補的デオキシリボ核酸
CL	total body clearance：全身クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中薬物濃度
CYP	cytochrome P450：チトクローム P450
GLP	good laboratory practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HILIC	hydrophilic interaction liquid chromatography：親水性相互作用クロマトグラフィー
HPLC	high performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
HPLC-UV	high performance liquid chromatography with ultraviolet detection：紫外線検出器による高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	inhibitory concentration 50：50%阻害濃度
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry：（国際純正・応用化学連合）
J&JPRD	Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development
K_i	inhibition constant：阻害定数
LC/MS	liquid chromatography coupled to mass spectrometry：液体クロマトグラフィー・質量分析法
LC/MS/MS	liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析
LLOQ	lower limit of quantification：定量下限
MDR1	human Multiple drug resistance 1 (human P-gp)：ヒト P 糖蛋白
MRP2	multidrug resistance-associated protein 2：多剤耐性関連蛋白質 2
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide：メチルチアゾールテトラゾリウム
NA	not available：該当なし

略号	内容
NADP	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate : ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NC	not calculated：算出せず
NZW	new Zealand white：ニュージーランドホワイト
P-gp	P-glycoprotein：P 糖蛋白
QC	quality control：品質管理
SXR	steroid and xenobiotic receptor：ステロイド及び生体異物受容体
$t_{1/2}$	terminal elimination half-life：最終相の消失半減期
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
UD	unchanged drug：未変化体
UDPGA	uridine diphosphate glucuronic acid：ウリジン二リン酸グルクロン酸
UGT	uridine diphosphate-glucuronosyl transferase : ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_z	volume of distribution related to the terminal-phase elimination rate constant：最終相における見かけの分布容積
Vd_{ss}	volume of distribution at steady state：定常状態分布容積
wt	wild type：野生型

※表中の「ET-743」,「R279741」,「Trabectedin」はいずれも「トラベクテジン」を示す.

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

トラベクテジン静脈内投与による *in vivo* 試験は，マウス（CD1），BALB/c ヌードマウス（非移植及び MCF7 乳癌移植），FVB マウス［野生型（wt）及び *mdr1a/1b*(-/-)］，ラット（Fischer 344 及び SD），イヌ（ビーグル）及びサル（カニクイ）を用いて実施した．BALB/c ヌードマウス及び FVB［wt 及び *mdr1a/1b*(-/-)］マウスを除いて，動物種及び系統は非臨床の毒性及び薬理試験と同一種及び系統を使用した．^{14}C 標識化合物を用いた *in vivo* 試験を除いて，薬物動態及びトキシコキネティクス（TK）試験では，特に明記していない限り[redacted]を用いた製剤を静脈内投与した．

主要な TK 試験と酵素誘導及び阻害に関する *ex vivo* 試験については，経済協力開発機構の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した．

マウス，ラット及びサルに単回静脈内投与した場合，トラベクテジンの血漿中濃度推移は多相性を示して消失し，明らかな性差を認めなかった．持続静脈内投与の終了時に最高血漿中薬物濃度（C_{max}）に到達した後，血漿中濃度は急速に減少し，その後緩除な消失を示した．動物における全身クリアランス（CL）は肝血流量と比較して 1/3 程度から高い値であり，また最終相における見かけの分布容積（V_z）又は定常状態における分布容積（Vd_{ss}）は大きく，広範囲の組織に分布していることを示した．最終相の消失半減期（$t_{1/2}$）は長く，サルでは約 2～10 日の範囲であった．反復投与時の薬物動態は，ラット及びサルで，単回投与時と大きな差が無く，また，両動物種とも，血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）値が投与時期に依存していないことが示され，最大耐量（MTD）までの曝露量は用量に依存して増加した．ヒトのトラベクテジンの薬物動態は，これらの動物と類似しており，肝血流量の半分程度の CL，大きな Vd_{ss}，長い $t_{1/2}$ を示した．

ラットに ^{14}C-トラベクテジンの単回静脈内投与後，血漿中放射能濃度は最初に急速に減少し，その後緩除な消失を示した．血漿中の放射能に占めるトラベクテジンの割合は小さく，代謝物が多いことを示唆した．放射能の組織への分布は速やかで，脳及び精巣組織を除く大部分の組織へと広範囲に分布した．組織中の放射能はピークに達した後，緩除に減少した．最も高い放射能を認めたのは消化管内容物及び肝臓であった．次いで脾臓，肺，腺組織，リンパ節，骨髄及び腎臓で高かった．単回静脈内投与後に組織中放射能の低下が緩除であったこと，^{14}C-トラベクテジンの投与後 7 日間においても雄 17.00%，雌 42.10%の放射能が屍体中に残存していたことから，トラベクテジン及び（又は）その代謝物の消失が遅いことを示しており，これは雄より雌のラットで顕著であった．担癌ヌードマウスでは，放射能は筋肉より乳腺及び乳腺に移植した MCF7（ヒト乳癌細胞株）腫瘍に高く分布し，滞留した．また，反復投与後のサルでは，肝臓，腎臓及び骨髄中のトラベクテジン濃度は血漿中濃度より高かった．

In vitro 実験の結果から，トラベクテジンは P 糖蛋白（P-gp）の基質であることが示された[1]．P-gp ノックアウト［*mdr1a/1b*(-/-)］マウスによる実験では，脳中の放射能濃度は wt と比較して 13 倍高かった．また，精巣，小腸，心臓などの放射能濃度も有意に高かった．更に，未変化体の濃度は *mdr1a/1b*(-/-)マウスの脳及び精巣で高かったが，血漿又は肝臓では違いはなかった．これらのデータは，トラベクテジン及びその代謝物の組織内分布に対する P-gp の関与を示唆した．

トラベクテジンの *in vitro* 血漿蛋白結合率は検討したすべての動物種で高く，90～99%の範囲であった．ヒトにおける血漿蛋白結合率は，97.28～97.77%であり，10～100 ng/mL の濃度範囲にお

いて濃度依存性を認めなかった．*In vitro* におけるトラベクテジンの血液/血漿中濃度比は，各動物種で 0.69～1.51 の範囲（ヒトでは 0.89）であり，血球に一部が分布していることを示唆した．

妊娠ラットに ^{14}C-トラベクテジンを単回静脈内投与後の放射能は胎盤を通過して胎児に移行することが明らかとなった．

種々の動物種より調製した肝試料を用いたトラベクテジンの *in vitro* 代謝試験では，多くの代謝物の生成を認めた．^{14}C-トラベクテジンの *in vitro* 代謝プロファイルは，ヒトとサルが最も類似しており，ラットやイヌを含む他の動物種とは明らかに異なっていた．ヒトでの代謝物のすべてについてサルでも認めた．同定された代謝物は，N-脱メチル体（ET-729），O-脱メチル体，酸素付加を伴ったものと伴わないカルボン酸体，1 個又は 2 個の酸素付加体，脂肪族開環体及び 1 個又は 2 個の酸素付加を伴った脱メチル体であった．臨床濃度で，チトクローム P450（CYP）3A4 はトラベクテジンを代謝する主要な CYP 分子種であることを示した．ウリジン二リン酸グルクロン酸（UDPGA）を添加したサル及びヒトの肝ミクロソームでは，トラベクテジンはグルクロン酸抱合を受けなかった．

ET-729 は，マウスの血漿中の主要代謝物であった．ラットの胆汁中では，トラベクテジン及び ET-729 の排泄率は極めて低かったが, 雌性ラットの胆汁では雄よりも 5 倍高い量の ET-729 を検出した．更に，ラットの胆汁中にはトラベクテジンのグルクロン酸抱合体が確認された．

ヒトでは, トラベクテジンは代謝されやすかった. 数種類の代謝物が同定できたものの, *in vitro* で同定された代謝物は ET-729 を除きいずれも *in vivo* では同定されなかった．更に，トラベクテジンを投与した患者の尿及び糞中には，トラベクテジンのグルクロン酸抱合体を認めなかった．

トラベクテジンを反復投与したラット及びサルの肝臓を用いた *ex vivo* 試験において, いずれの CYP 分子種についても酵素活性の誘導は認めなかったが, 数種の代謝活性は両動物種で低下した．

雄性ラットでは，放射能の排泄は遅く，^{14}C-トラベクテジン単回静脈内投与後 7 日間において放射能は糞中に 71.01%，尿中へ 2.01%排泄され，体内残存率は 17.00%であった．雄性ラットと比較して, 雌性ラットは更に遅い排泄を示し, 投与後 7 日に投与量の 42.10%が体内に残存していた．胆管カニューレを施した雄性ラットにおける，^{14}C-トラベクテジン投与後の 48 時間までの放射能の胆汁中排泄は 44%であり，上述の糞中放射能排泄が多いことと一致した．マウスでも，^{14}C-トラベクテジン投与後の放射能は主として糞中に排泄された．特に，wt と *mdr1a/1b*(-/-)マウスとの間で尿中，糞中における総排泄量の差を認めず，トラベクテジン及び（又は）代謝物の排泄における P-gp の寄与は少ないことを示唆した．

ヒトにおける ^{14}C-トラベクテジン投与後の放射能は投与後 17 日までに，糞中に 57.6%, 尿中に 5.80%排泄され, 動物の結果と同様に糞中排泄が主であった. 尿及び糞中の未変化体は微量であり，トラベクテジンは *in vivo* において容易に代謝されることを確認した．

In vitro の蛋白結合実験の結果，アルブミン及び α1-酸性糖蛋白（AGP）と結合する典型的な薬剤はその臨床濃度ではトラベクテジンの非結合率に影響を与えなかったことから，*in vivo* ではこれらの薬剤により蛋白結合したトラベクテジンの置換現象が生じる可能性は低いことを示唆した．血漿蛋白結合した薬剤のトラベクテジンによる置換についても，結合する血漿蛋白質の生理的濃度と比べて血漿中トラベクテジン濃度が低いことから，その可能性は低いと考えた．

In vitro 代謝の結果から，トラベクテジンの臨床濃度では，CYP3A4 がトラベクテジンの肝代謝に寄与する主要な CYP 分子種であることを示した．そこで，臨床において，トラベクテジンと CYP3A 誘導剤又は阻害剤をそれぞれ併用投与した結果, 血漿中トラベクテジン濃度がそれぞれ減少又は増加した．一方，主要な CYP 分子種の酵素活性に対するトラベクテジンの *in vivo* での阻害

は，*in vitro* で推定された最低阻害定数（K_i）値（約 0.75 μmol/L）が，癌患者における C_{max} 値（10 ng/mL 又は 13 nmol/L 未満）を大きく超えていることから，可能性は低いと考えた．

ヒト初代培養肝細胞では，10 nmol/L のトラベクテジンにより主要なヒト CYP の mRNA の明らかな上昇は認めず，誘導を引き起こす可能性は低いと考えられた．

また，トラベクテジンの臨床濃度で *in vitro* 試験においてステロイド及び生体異物受容体（SXR）が拮抗されることから[2]，SXR に調節された代謝（例えば CYP3A4，UGT1A1）に対してトラベクテジンが *in vivo* で影響を及ぼす可能性については，現時点では否定できない．

mdr1a/1b(-/-)マウスでの組織分布の結果から，P-gp 阻害剤/誘導剤がヒトにおけるトラベクテジン及び（又は）その代謝物の体内分布に影響を及ぼす可能性については否定できない．P-gp 又は他のトランスポーター［例えば多剤耐性関連蛋白質 2（MRP2），胆汁酸トランスポーター（BSEP），乳癌耐性蛋白質（BCRP）など］に及ぼすトラベクテジンの影響は，現在のところ検討されていない．

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　生物分析法

トラベクテジンは，Ecteinascidin 743，ET-743，R279741，RWJ-680581，又は JNJ-17027907-AAA と表記する．その化学名（IUPAC）は，
(1'*R*,6*R*,6a*R*,7*R*,13*S*,14*S*,16*R*)-5-(acetyloxy)-3',4',6,6a,7,13,14,16-octahydro-6',8,14-trihydroxy-7',9-dimethoxy-4,10,23-trimethyl-spiro[6,16-(epithiopropanoxymethano)-7,13-imino-12*H*-1,3-dioxolo[7,8]isoquino[3,2-*b*][3]benzazocine-20,1'(2'*H*)-isoquinolin]-19-one
である（図 2.6.4.2.1-1　）．

トラベクテジンの分子量は 761.84 である．

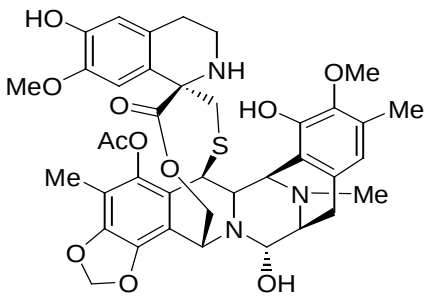


図 2.6.4.2.1-1　トラベクテジン（$C_{39}H_{43}N_3O_{11}S$）の化学構造

マウスの血漿については，液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC/MS/MS）法が[redacted]で開発された．血漿 200 μL を用いるこの方法の定量範囲は，トラベクテジン及び ET-729 のいずれも 0.01～5 ng/mL であった．固相抽出（3M Empore C18 抽出ディスク）により 2 種の分析対象物及び安定同位体標識した内部標準物質（トラベクテジン-d_6）を血漿から抽出し，5 μm Zorbax SB-C18　2.1 mm I.D.×50 mm カラム（Agilent）でクロマトグラフィー分離を行った．移動相は酢酸アンモニウム（0.005 mol/L）/メタノール（A/B，v/v）を 0.2 mL/min の流量で流し，2 分間でメタノールを 40%から 70%に変化させるグラジエント法で分析した．検出は Turbo Ionspray 付きタンデム質量分析（Sciex API4000）を用いて陽イオンモードで行った．トラベクテジン，ET-729 及び内部標準物質は，それぞれ m/z 744.2→495.4，730.3→479.3 及び 750.2→253.3 の質量トランジションでモニターした．両分析対象物の品質管理（QC）

サンプルから得られた分析法の真度及び精度は（表 2.6.4.2.1-1），理論値の 85～115%［定量下限（LLOQ では 80～120%）］の範囲内及び変動係数は 15%（LLOQ では 20%）以内であった．

表 2.6.4.2.1-1　マウス，ラット及びサルの血漿中トラベクテジン及びその代謝物 ET-729 の LC/MS/MS 分析法の特性値

Matrix	Range (ng/mL)	Sample Volume (µL)	Inter-Batch Accuracy (%)	Inter-Batch Precision (% C.V.)
Mouse plasma[a)]				
Trabectedin	0.01-5	200	99.0-106.8	4-9
ET-729[b)]	0.01-5	200	94.8-106.5	3-10
Rat plasma [c)]: trabectedin	0.05-100	200	96.8-105.7	2.0-6.4
Monkey plasma[d)]: trabectedin	0.02-40	500	96.5-105.1	1.1-12.9
Monkey tissue homogenates[e)]: trabectedin	0.2-200 (ng/g)	50 (mg)	98.3-105.0	2.5-6.8

a) 第 4.2.2.1.1 項 試験報告書 No.[redacted] 本文及び Table 6
b) *N*-demethylated-trabectedin
c) 第 4.2.2.1.1 項 試験報告書 No.[redacted]本文及び Table 1-2
d) 第 4.2.2.1.1 項 試験報告書 No.[redacted]本文及び Table 1-2
e) 第 4.2.2.1.1 項 試験報告書 No.[redacted]本文及び Table 1

ラット及びサルの血漿については，LC/MS/MS 法が[redacted]で開発され，バリデーションが実施された．定量範囲はラットの血漿では 0.05～100 ng/mL（血漿 200 µL を使用），サルの血漿では 0.02～40 ng/mL（血漿 500 µL を使用）であった．これらの測定法では，固相抽出（Varian Bond Elut Certify カラム）によりトラベクテジン及び安定同位体標識した内部標準物質（トラベクテジン-d_3）を血漿から抽出した．分析対象物は，5 µm Zorbax Rx-C18　2.1 mm I.D.×150 mm カラム（Agilent）で分離した．移動相は酢酸アンモニウム（5 µmol/L，0.004%ギ酸を添加）/メタノール（20/80, v/v）とし，流量は 0.2 mL/min とした．検出は Turbo Ionspray 付きタンデム質量分析（Sciex API3000）によって陽イオンモードで行った．トラベクテジン及び内部標準物質は，それぞれ m/z 744.3→495.0 及び 747.3→496.0 をモニターした．バリデーションデータを表 2.6.4.2.1-1 に示した．分析法の選択性は，ブランク，内部標準物質を添加したブランク及び 6 つの個体別の血漿に LLOQ の濃度のトラベクテジンをスパイクした試料を分析することによって評価した．

マウス，ラット及びサル血漿からの抽出試料は，オートサンプラー中室温保存で 7 日間安定であった．トラベクテジンはメタノール溶液として，－20°C で保存した場合では 6 ヶ月間，冷蔵庫では 1 ヶ月間，また室温暗所及び曝光した場合では 3 日間安定であった．トラベクテジンはラット及びサルの血漿中では，室温で 4 時間及び 3 回の凍結融解後にも安定であった．－20°C で長期保存した場合，ラット及びサルの血漿中ではそれぞれ 175 日間及び 417 日間安定であった．トラベクテジンはラットの血漿中では，－70°C で少なくとも 129 日間まで安定であった．トラベクテジンはラット及びサルの血液中では，氷冷して 2 時間保存した場合に安定であった．一方，室温又は 37°C で 2 時間保存した場合では，サル又はラットの血液中の安定性は基準を満たさなかった．したがって，採取した血液はその後の処理を進めるまで氷冷保存した．

サルの組織ホモジネート（肝臓，腎臓，筋肉及び骨髄）については，LC/MS/MS 法が[redacted]で開発され，バリデーションが行われた．定量範囲はいずれの組織も 0.2～200 ng/g であった．組織に酢酸を 1：10 比で加えホモジナイズした後，メタノールを用いて蛋白質を沈殿させ，上清から固相抽出法により測定対象物を抽出した．最終抽

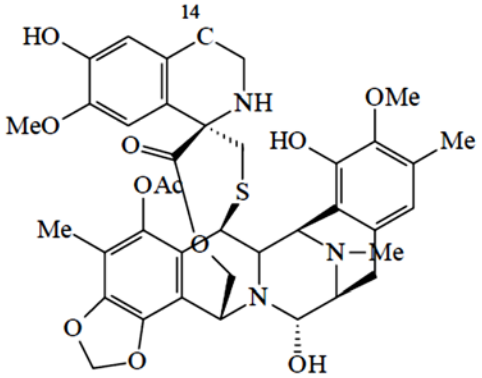
出物は，親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）分析カラムに接続した逆相トラッピングカラムを用いるカラムスイッチングの方法で分析した．検出は上述のラット及びサルの血漿の方法に従った．バリデーションでは，分析法の真度及び精度を，4 濃度（LLOQ，低，中及び高）の QC サンプルについて測定し，これらは基準の範囲内にあった（表 2.6.4.2.1-1）．トラベクテジンはホモジネート中では，3 回の凍結融解後及び氷冷して 4 時間まで安定であった．試料抽出物中のトラベクテジンは，オートサンプラー中に室温で 6 日間まで安定であった．

また，平衡透析法を用いた蛋白結合実験で得られた緩衝液側及び血漿側から採取した試料中濃度は上述のラット及びサルの血漿の分析方法で定量した．

マウス，ラット及びサルにおける主要な薬物動態及び TK 試験では，上記のバリデートされた LC/MS/MS 法を用いて薬物濃度を測定した．更に，トラベクテジンを投与したサルから得られた肝臓，腎臓，筋肉及び骨髄試料中のトラベクテジン濃度についても，バリデートされた LC/MS/MS 法を用いて測定した．

2.6.4.2.2　^{14}C標識トラベクテジン

^{14}C 標識トラベクテジン（^{14}C-トラベクテジン）は，フェノール部分のメタ位で，メトキシ基に関してパラ位であるベンジル位の 2 環式テトラヒドロイソキノリン環構造を ^{14}C で標識した（図 2.6.4.2.2-1）．^{14}C は分子の環状構造内に導入されていることから，この標識体は代謝的に安定であると考えられた．また，この ^{14}C 標識体を *in vitro* の代謝試験と *in vivo* の分布及び代謝/排泄試験に用いた．



第 5.3.3.3.1 項 ET-A-013-01 CSR ANNEX 2 Final Report [redacted] Appendix 1

図 2.6.4.2.2-1　^{14}C-トラベクテジン

薬物動態試験で用いた分析方法の概略を以下に示した．

- SD ラット及び FVB マウスにおける放射能の組織内分布は，切除した組織及び器官の放射能を定量測定した．
- 生体試料中の放射能は，シンチレーションカクテルを用いて液体シンチレーションカウンターによって測定した．採取した生体試料の処理は，以下の様にした．
  - 血漿及び尿などは直接測定した．
  - 抽出後の糞又はホモジナイズ後の大部分の組織及び器官はサンプルオキシダイザーで燃焼後に測定した．
  - 血液，胆汁，糞中残留物及び一部の組織は可溶化剤による溶解後に測定した．
- マスバランスは，各試料又はプールした試料に含まれる放射能の回収率に基づき評価した．

・ グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体の検出では，胆汁試料を直接分析し，更にβ-グルクロニダーゼ及び（又は）アリル-スルファターゼによる加水分解後に分析した．代謝物は紫外線検出器による高速液体クロマトグラフィー（HPLC-UV）検出を用い，標準物質とのコクロマトグラフィー法によって同定した．トラベクテジン代謝物の構造の確認及び（又は）解析は，液体クロマトグラフィー・質量分析（LC/MS）法及び LC/MS/MS 法を用いて行った．

2.6.4.3 吸収

本剤の臨床投与経路は静脈内であることから，トラベクテジンの薬物動態を明らかにすることを目的とした非臨床試験はすべて静脈内投与法で実施した．

特に明記していない限り，[redacted]トラベクテジン（[redacted]を用いた製剤）を使用して，すべての非臨床薬物動態試験を実施した．^{14}C-トラベクテジンは，リン酸緩衝液で pH 4 にし，微量のエタノールを添加した溶媒を投与基剤として *in vivo* 試験を行った．

2.6.4.3.1 血漿中濃度

本剤を単回急速静脈内投与後のトラベクテジンの血漿中濃度はマウス及びラットで評価し，更に持続静脈内投与後の血漿中濃度はラット，サルで評価した．

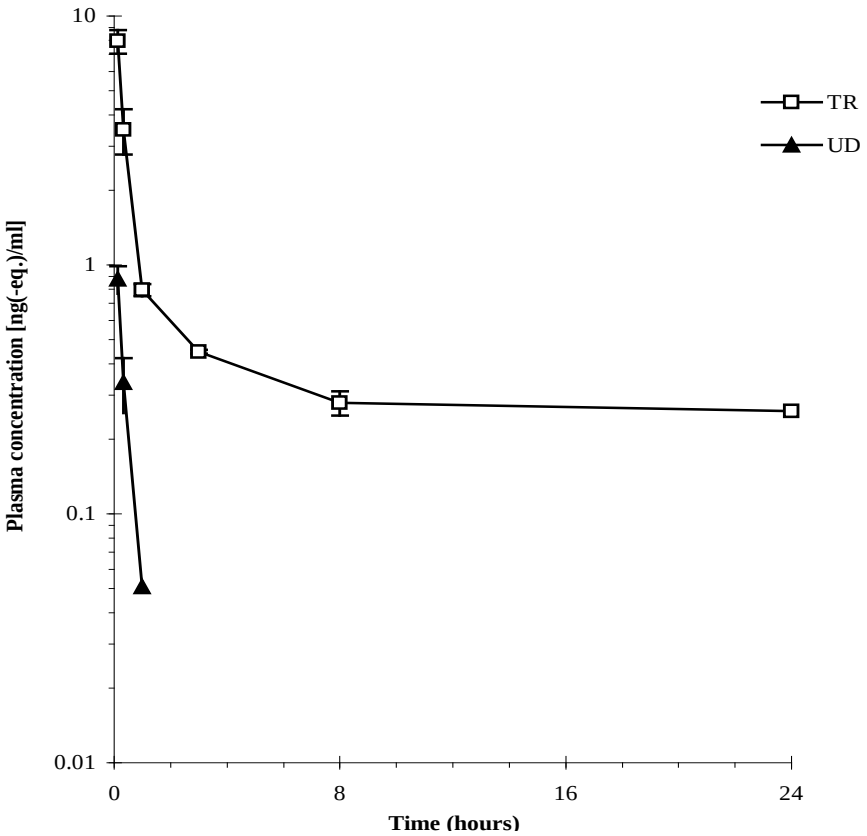
2.6.4.3.1.1 単回急速静脈内投与後の血漿中濃度

単回急速静脈内投与後のトラベクテジンの薬物動態を雌雄のマウス又は雄のラットを用いた 2 つの試験で検討した．

マウスでは，静脈内投与後の血漿中濃度推移は多相性に消失する薬物動態を示した．血漿中濃度は投与後の最初の 15 分間は急速に減少した後，緩除な消失を示した．200 μg/kg を急速静脈内投与後では，少なくとも投与後 72 時間まで血漿中のトラベクテジンを定量可能であった（LLOQ = 0.01 ng/mL）．マウスではトラベクテジンの血漿中薬物動態に性差はみられなかった．血液/血漿中濃度比が約 1 であることを考慮し（第 2.6.4.4.3 項），マウスにおけるトラベクテジンの CL は約 1.8 L/h/kg であり，これはマウスの肝血流量の約 1/3 であった．推定された V_z は，体内総水分量（約 0.6 L/kg）より 30 倍程度大きく，広範囲の組織に分布することを示した（第 4.2.2.2.1 項）．

雄性ラットに ^{14}C-トラベクテジン 61 μg/kg を急速静脈内投与後，血漿中未変化体濃度は，投与直後から投与後 1 時間に LLOQ（0.05 ng/mL）未満になるまで急速に減少し，単一の消失相のみを認めた（図 2.6.4.3.1.1-1）．本試験では最終消失相が認められなかったことから，最終相での消失速度定数を用いた薬物速度論的パラメータは得られなかった（第 4.2.2.2.2 項）．

表 2.6.4.3.1.1-1 に，これらの 2 つの試験から得られた薬物速度論的パラメータを示した．



投与量：61 µg/kg（Mean±SD, n=3）第 4.2.2.2.2 項 試験報告書 No.[redacted] Figure 5-1 抜粋

図 2.6.4.3.1.1-1　雄性ラットにおける総放射能（TR）及び
トラベクテジン未変化体（UD）の血漿中濃度推移

表 2.6.4.3.1.1-1　雌雄のマウス及び雄性ラットにトラベクテジンを単回静脈内投与した際の薬物速度論的パラメータ

Species (strain)	Sex	Dose (µg/kg)	$AUC_{(0-\infty)}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	V_Z L/kg	CL (L/h/kg)
Mouse (CD-1)[a] (n=3)	Male	200	92.3	21.1	20.9	2.18
	Female	200	140.2	20.3	13.4	1.45
Rat (Sprague-Dawley)[b] (n=3)	Male	61	(0.376)*	(0.245)*	(49.4)*	(162)*

* Estimates of AUC, CL and Vd_{ss} values are considered not reliable because the terminal elimination phase was not characterized in this study. The $t_{1/2}$-value (14.7 min) corresponds to the distribution phase, not to the terminal elimination phase

a) 第 4.2.2.2.1 項 試験報告書 No.[redacted] Table 8 抜粋

b) 第 4.2.2.2.2 項 試験報告書 No.[redacted] Table 5-3 抜粋

トラベクテジンの代謝物である ET-729 を雄及び雌のマウスに 80 µg/kg で単回急速静脈内投与し，ET-729 自体の薬物動態を検討した．ET-729 の多相性に消失する血漿中濃度推移，全身クリアランス, 大きい V_Z はトラベクテジンと類似していた. また, 性差を認めなかった（第 4.2.2.2.1 項）.

表 2.6.4.3.1.1-2 に，マウスにおける ET-729 の薬物速度論的パラメータをトラベクテジンと比較して示した.

表 2.6.4.3.1.1-2　雌雄のマウスにトラベクテジン及び ET-729 をそれぞれ単回静脈内投与した際の薬物速度論的パラメータ

Compound Dosed	Compound Measured	Sex	Dose (μg/kg)	$AUC_{(0-\infty)}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	V_Z (L/kg)	CL (L/h/kg)
Trabectedin	Trabectedin	Male	200	92.3	21.1	20.9	2.18
		Female	200	140.2	20.3	13.4	1.45
ET-729	ET-729	Male	80	71.4	39.6	31.8	1.01
		Female	80	67.3	18.3	15.4	1.19

第 4.2.2.2.1 項 試験報告書 No. [redacted] Table 8 改変

2.6.4.3.1.2　持続静脈内投与後の血漿中濃度

ラット及びサルに持続静脈内投与したトラベクテジンの薬物動態を検討した．TK 評価は，ラット及びサルにおける単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験と合わせて行った．これらの毒性試験では，トラベクテジンを 3 時間又は 24 時間持続静脈内投与した．

2.6.4.3.1.2.1　ラット

ラットの単回投与毒性試験では，投与時間の違い及び原薬の違い（[redacted]トラベクテジン）による薬物動態を比較した．両試験では，サテライト群の TK 動物でサンプリングを行なった．

雄性及び雌性ラットに 3 時間又は 24 時間持続静脈内投与したときの TK データ（n=2 又は 4 匹/性/投与群）では，それぞれの静脈内投与の投与初期及び終了時に得られた血漿中濃度は雄と雌で類似していた．投与終了後 4 時間における血漿中濃度はほとんどが LLOQ（0.05 ng/mL）未満であった．3 時間又は 24 時間持続静脈内投与では類似した投与 0 時間から最終測定可能な濃度の時間までの AUC（AUC_{0-t}）となり，個体変動を考慮すると，顕著な性差を認めなかった（第 4.2.3.1.5 項）．この試験から得られた関連する TK パラメータを表 2.6.4.3.1.2.1-1 に要約した．

表 2.6.4.3.1.2.1-1　トラベクテジン 50 μg/kg を雌雄のラットに 3 時間又は 24 時間かけて単回持続静脈内投与した際の平均曝露量（C_{max}，AUC_{0-t}）

Duration of Infusion (h)	Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)
3	Male	0.804	1.72
	Female	0.994	2.94
24	Male	0.131	2.76
	Female	0.188	3.74

第 4.2.3.1.5 項 試験報告書 No. [redacted] Table 5-2 改変

[redacted]トラベクテジンから調製した製剤を投与した後の TK 試料を 2 匹/性/投与群から採取し，トラベクテジンの血漿中濃度推移を比較した．50 μg/kg のトラベクテジンを 3 時間かけて持続静脈内投与した．血漿中トラベクテジン濃度は，投与終了後に急速に減少し，投与開始から 24 時間後に LLOQ（0.05 ng/mL）未満になった．更に，[redacted]トラベクテジン投与後の血漿中濃度推移には明らかな差を認めなかった（C_{max} 及び AUC_{0-5h} 値が類似）．また，性差も認めなかった（第 4.2.3.7.6.1 項）．表 2.6.4.3.1.2.1-2 に，この試験の TK パラメータを示した．

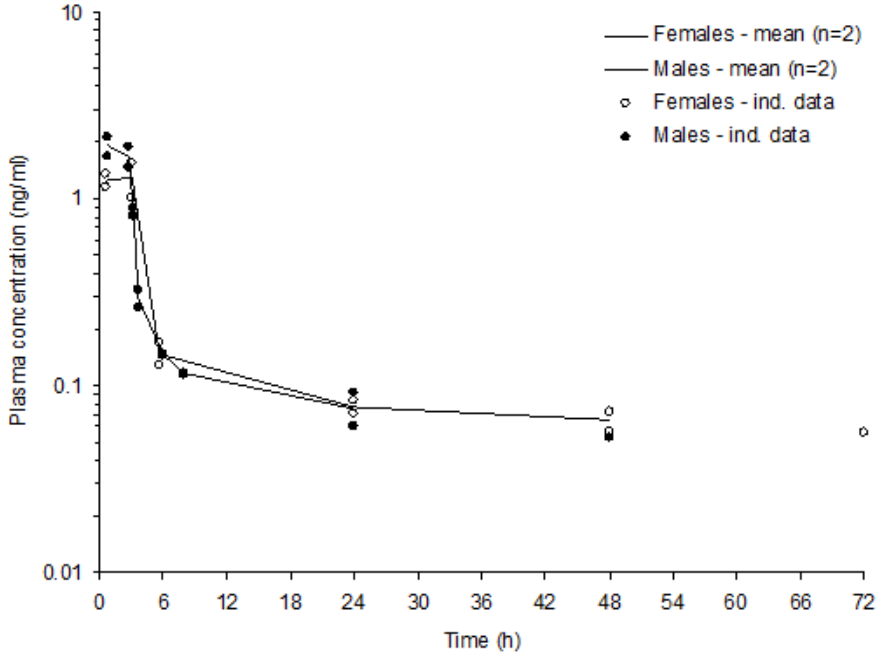
表 2.6.4.3.1.2.1-2 [redacted]トラベクテジン 50 μg/kg を雌雄のラットに 3 時間かけて単回持続静脈内投与した際の平均曝露量（C_{max}，AUC）

Drug Substance Source	Sex	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}5h}$ (ng·h/mL)
[redacted]	Male	1.35	2.24
	Female	0.924	1.90
[redacted]	Male	1.07	2.35
	Female	1.14	2.16

n = 2,
第 4.2.3.7.6.1 項 試験報告書 No.[redacted] Table TK1 抜粋

また，2.5 μg/kg～75 μg/kg の用量を 3 時間持続静脈内投与した際の血漿中濃度推移を，初回投与後（サイクル 1）と，更に 3 週間ごとに 2 回投与し 3 回目の投与後（サイクル 3）で比較検討した．

C_{max} は，ほとんどの場合，投与終了時に認められ，投与終了後に血漿中濃度は急速に減少した．高用量のトラベクテジン投与後の血漿中濃度推移では，この初期の急速な減少に続いて，緩やかな消失を認めた（図 2.6.4.3.1.2.1-1）．50 μg/kg では，雌雄で類似した曝露量であり，性差を認めなかった．また，初回と 3 回目投与との間で顕著な差を認めず，3 週間ごとの間欠投与では投与時期の影響を受けないことを示唆した（第 4.2.3.7.6.2 項）．



第 4.2.3.2.3 項 試験報告書 No.[redacted] Figure A3-1 抜粋及び改変

図 2.6.4.3.1.2.1-1　トラベクテジン 50 μg/kg を雌雄のラットに 3 週間ごとに 3 時間持続静脈内投与した際の 3 回目投与におけるトラベクテジンの血漿中濃度推移

トラベクテジンの曝露量は，検討した用量範囲では用量に依存して増加した（雄：10～75 μg/kg，雌：2.5～50 μg/kg）（第 2.6.5.4.1 項）．本試験の TK パラメータを表 2.6.4.3.1.2.1-3 に要約した．

表 2.6.4.3.1.2.1-3　トラベクテジンをラットにそれぞれ 2.5～50 μg/kg（雌）及び 10～75 μg/kg（雄）の用量範囲で 3 時間持続静脈内投与を単回及び反復投与した際のトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ

Cycle[a)]	Sex	Dose (μg/kg)	C_{max} (ng/mL)	AUC[b)] (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
1	Male[c)]	10	0.947	0.910	-
		25	0.814	2.15	-
		50	1.63	4.76	-
		75	2.00	5.97	-
1	Female[c)]	2.5	0.154	-	-
		10	0.483	0.634	-
		25	0.481	1.23	-
		50	1.30	3.30	-
3	Male[c)]	10	0.351	0.635	-
		25	1.25	2.21	-
		50	1.92	7.43	21
		75	NA	NA	-
3	Female[c)]	2.5	NC	NC	-
		10	0.302	0.740	-
		25	1.01	2.15	-
		50	1.29	8.55	-

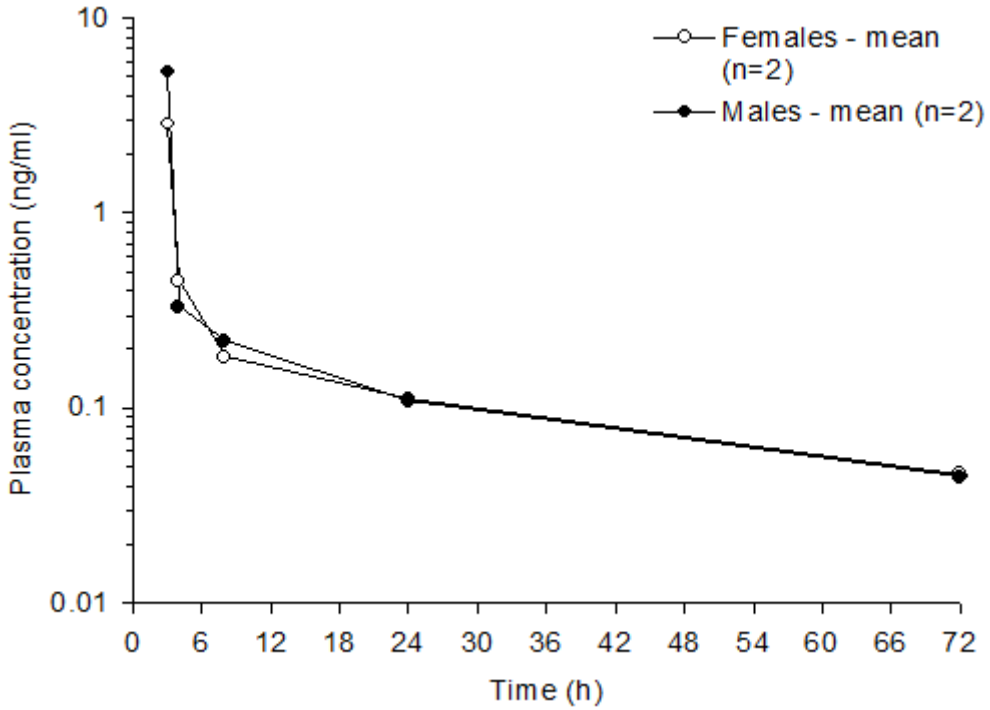
a) Single i.v. infusions of trabectedin were given every 3 weeks (= a cycle)
b) AUC values noted are expressed as AUC_{0-t}
c) n = 2
- = could not be estimated from the data
NA = not available (all animals died before the third dose administration); NC = not calculated (all measured plasma concentrations were below the LLOQ [0.05 ng/mL])

第 4.2.3.2.3 項 試験報告書 No. [redacted] Table 5-2 及び Table 5-3 改変

2.6.4.3.1.2.2　サル

サルにおけるトラベクテジンの持続静脈内投与後の TK を 3 つの毒性試験で検討した.

最初の用量設定試験は，第 1 群から第 3 群のサルに，異なる投与量（25 μg/kg，50 μg/kg 及び 75 μg/kg）を 3 週間ごとの 3 時間投与を 3 回実施した．4 回目の投与では，投与量をそれぞれ 120 μg/kg, 75 μg/kg 及び 100 μg/kg に増量した. 第 4 群の動物には 3 週間ごとの 3 回の投与時に, 75 μg/kg を 24 時間投与し，4 回目の投与時では 100 μg/kg を 24 時間投与した．毒性試験の動物で TK のサンプリングを行った（n=1 又は 2 匹/性/投与群）．血漿中濃度推移は多相性に消失する薬物動態を示し，性差はみられなかった（図 2.6.4.3.1.2.2-1）．血漿中トラベクテジン濃度は，投与終了時から急速に減少した後，緩除な消失を示した.



第 4.2.3.2.6 項 試験報告書 No. [redacted] Figure 5-2 抜粋

図 2.6.4.3.1.2.2-1　トラベクテジン 50 µg/kg を雌雄のサルに 3 週間ごとに 3 時間持続静脈内投与した際の 3 回目投与におけるトラベクテジンの血漿中濃度推移

表 2.6.4.3.1.2.2-1　トラベクテジンの 3 時間又は 24 時間持続静脈内投与を単回及び 3 週間ごとに反復した際のサルにおけるトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ

Cycle[a)]	Sex	Dose (μg/kg)	C_{max} (ng/mL)		$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)[b)]		$t_{1/2}$ (h)		CL (L/h/kg)		Vd_{ss} (L/kg)	
			3h	24h	3h	24h	3h	24h	3h	24h	3h	24h
1	M[c)]	25	0.783	-	7.79	-	41	-	3.21	-	142	-
		50	2.80	-	22.7	-	77	-	2.20	-	161	-
		75	3.24	-	30.3	-	74	-	2.47	-	176	-
		75	-	1.76	-	51.6	-	109	-	1.45	-	106
1	F[c)]	25	0.824	-	10.9	-	81	-	2.28	-	197	-
		50	6.80	-	28.2	-	77	-	1.78	-	80.7	-
		75	2.58	-	26.9	-	96	-	2.79	-	287	-
		75	-	1.04	-	-	-	-	-	-	-	-
3	M[c)]	25	0.792	-	6.80	-	48	-	3.68	-	193	-
		50	5.29	-	-	-	173	-	-	-	-	-
		75	1.66	-	24.3	-	63	-	3.09	-	230	-
		75	-	1.75	-	-	-	-	-	-	-	-
3	F[c)]	25	0.987	-	11.3	-	83	-	2.21	-	200	-
		50	2.86	-	-	-	229	-	-	-	-	-
		75	1.38	-	27.1	-	231	-	2.77	-	534	-
		75	-	1.66	-	-	-	-	-	-	-	-
4	M[c)]	120	4.27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		75	3.66	-	34.9	-	92	-	2.15	-	212	-
		100	-	-	-	-	62	-	-	-	-	-
		100	-	0.835	-	30.5		81	-	3.28	-	292
4	F[c)]	120	5.68	-	84.0	-	137	-	1.43	-	219	-
		75	5.08	-	33.5	-	99	-	2.24	-	171	-
		100	5.62	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		100	-	1.21	-	49.7	-	74	-	2.01	-	167

a) Dose cycles given on Days 1, 23, 43 and 64; no toxicokinetic sampling was performed during the second cycle (Day 23)
b) $AUC_{0\text{-}7d}$ after repeated dose administration (Week 11) in the groups receiving weekly infusion
c) n = 1 or mean of n = 2

- = not available

第 4.2.3.2.6 項 試験報告書 No. [redacted] Table 5-1，Table 5-2 及び Table 5-3 抜粋

CL（1.43～3.68 L/h/kg）は肝血流量と比較して半分程度から高い値であり，また Vd_{ss}（80.7～534 L/kg）は体内総水分量より明らかに大きく，トラベクテジンは組織によく分布することを示した．$t_{1/2}$ は約 2～10 日の範囲であり，血漿中濃度の定量下限の影響で $t_{1/2}$ 算出に用いることができる測定時点数が個体ごとで異なったため幅広い値になったと考えた．全体として，血漿中トラベクテジン濃度はサイクル 1 とサイクル 3 でよく類似しており，明らかな性差はみられなかった．曝露量［投与 0 時間から無限大時間まで外挿した AUC（$AUC_{0\text{-}inf}$）値］は，検討した用量範囲では用量に依存して増加していると推察した（表 2.6.4.3.1.2.2-1）．

サルにおける 2 回目の用量設定毒性試験では，トラベクテジンの TK を 3 サイクルの投与後に検討した（表 2.6.4.3.1.2.2-2）．各投与サイクルは，10 μg/kg，20 μg/kg 又は 30 μg/kg 用量で 3 時間持続静脈内投与を 1 週間ごとに 3 回する期間（3 週間）と，その後の 1 週間の回復期間から成り

立っており，各投与サイクルの累積用量はそれぞれ 30 µg/kg，60 µg/kg 又は 90 µg/kg であった．別の 1 つの群には 4 サイクルの投与を行い，各投与サイクルは 70 µg/kg 用量の 3 週間ごと 3 時間の持続静脈内投与とした．この試験より得られた CL（1.75～2.87 L/h/kg），大きな見かけ上の Vd_{ss}（94.4～160 L/kg），長い $t_{1/2}$（約 2～6 日），性差がないこと，反復投与により影響を受けない薬物動態，用量に応じた曝露量の増加などの結果は，それまでの試験結果と同様であることを確認した（第 4.2.3.2.8 項）．

表 2.6.4.3.1.2.2-2　トラベクテジンの 3 時間持続静脈内投与を単回及び反復した際のサルにおけるトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ（1）

Cycle	Sex	Dose (µg/kg)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)[a)]	$t_{1/2}$ (h)	CL (L/h/kg)	Vd_{ss} (L/kg)
Three cycles, each cycle: 3-h infusion weekly for 3 weeks followed by 1 week of rest (=a cycle)							
1	Male[c)]	10[b)]	0.396	-	-	-	-
		20[b)]	0.945	8.64	60	2.32	137
		30[b)]	1.48	-	149	-	-
	Female[c)]	10[b)]	0.399	-	-	-	-
		20[b)]	0.589	-	73	-	-
		30[b)]	1.83	12.9	-	2.32	125
3	Male[c)]	10[b)]	0.403	3.49	63	2.87	-
		20[b)]	1.10	10.5	49	1.90	-
		30[b)]	1.85	-	-	-	-
	Female[c)]	10[b)]	0.666	4.18	85	2.39	-
		20[b)]	1.17	11.2	74	1.79	-
		30[b)]	3.41	15.9	138	1.89	-
Four cycles, each cycle: 3-h infusion every 3 weeks (=a cycle)							
1	Male[c)]	70	2.63	29.6	61	2.37	160
	Female[c)]	70	5.29	31.6	42	2.21	121
4	Male[c)]	70	3.95	36.2	64	1.94	132
	Female[c)]	70	6.19	40.0	45	1.75	94.4

a) $AUC_{0\text{-}7d}$ after repeated dose administration (Week 11) in the groups receiving weekly infusion
b) cumulative doses per cycle were 360, 720, and 1080 µg/m^2, respectively
c) n = 1 or mean of n = 2
第 4.2.3.2.8 項 試験報告書 No.[redacted] Table 5-2，Table 5-3，Table 5-4 及び Table 5-5 抜粋

また，トラベクテジンの TK をサルの反復投与毒性試験でも検討した．この試験では，雌雄のサルに[redacted]トラベクテジン（[redacted]を用いた製剤）の 0 µg/kg，25 µg/kg，50 µg/kg 及び 65 µg/kg の用量で 3 週間ごとに 3 時間持続静脈内投与を 6～8 サイクル実施することにしていたが，50 µg/kg 及び 65 µg/kg の動物が死亡したことから，これらの動物の投与は 4 回投与後に中止した．追加した 35 µg/kg 投与群を開始し，6 サイクルにわたって投与した（第 2.6.6.3.4.4 項）．初回投与後及び最終投与後の 25 µg/kg 及び 35 µg/kg 投与群は血漿のみを，それ以外の投与群は血漿及び組織中（肝臓，骨髄，腎髄質及び筋肉）のトラベクテジン濃度を測定した．

この試験から得られた，CL（1.96～3.10 L/h/kg），大きな Vd_{ss}（82.9～147 L/kg），長い $t_{1/2}$（約 2～3 日），顕著な性差がないなどの結果もそれまでの結果と同様であった（表 2.6.4.3.1.2.2-3）．トラベクテジンを最高 4 サイクルまで投与した以前の反復投与試験結果とは対照的に，この試験の一部の動物は 6～8 サイクルの投与後に全身曝露量（AUC 値）の減少を示した（第 2.6.5.4.4 項）．

表 2.6.4.3.1.2.2-3　トラベクテジンの 3 時間持続静脈内投与を単回及び反復した際のサルにおけるトラベクテジンの平均薬物速度論的パラメータ（2）

Cycle	Sex	Dose (μg/kg)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (L/h/kg)	Vd_{ss} (L/kg)
Cycle: 3-h infusion every 3 weeks							
1	Male	25	1.70 ± 0.184	12.3 ± 2.44	45.1 ± 17.7	2.08 ± 0.396	82.9 ± 20.9
1		35	2.50 (2.24, 2.75)*	--	--	--	--
1		50	2.96 ± 0.807	23.3 ± 4.76	63.7 ± 4.53	2.21 ± 0.460	131 ± 32.5
1		65	3.71 ± 0.795	28.8 ± 2.73#	53.0 ± 8.39#	2.27 ± 0.232#	116 ± 25.5#
1	Female	25	2.09 ± 0.445	12.9 ± 1.69	60.1 ± 16.4	1.96 ± 0.239	92.5 ± 26.4
1		35	1.99 ± 2.25	13.1 ± 5.61	36.7 ± 15.4	3.10 ± 1.56	116 ± 71.5
1		50	3.76 ± 1.07	25.0 ± 4.13	84.1 ± 12.6	2.04 ± 0.349	147 ± 29.9
1		65	5.23 ± 1.19	31.5 ± 4.74#	70.9 ± 14.5#	2.10 ± 0.278#	121 ± 30.3#
8	Male	25	0.0881 ± 0.0183	--	--	--	--
6		35	1.94 (0.0878, 3.80)*	--	--	--	--
8	Female	25	0.987 (0.233, 1.74)*	--	--	--	--
6		35	1.85 (3.60, 0.103)*	--	--	--	--

Results presented as mean ± standard deviation or mean (n=2).　* = individual values for mean of n=2
n = 3/sex/group for 25, 35 and 50 μg/kg; n = 5/sex/group for 65 μg/kg, #: n = 4
n = 2/ Cycle 1 (Male, 35 μg/kg), Cycle 6 (Male and Female, 35 μg/kg), Cycle 8 (Female, 25 μg/kg)
-- = parameter could not be estimated accurately

第 4.2.3.2.10 項 試験報告書 No. [redacted] Table TK-1.1～TK1.6

2.6.4.3.1.3　ヒトの薬物動態との比較

トラベクテジンを点滴静注した癌患者について，トラベクテジンの薬物動態を検討した（第 2.7.2 項）．トラベクテジンの C_{max} を点滴静注の終了直前に認め，その後，多相性の推移を示し減少した．母集団の薬物動態パラメータの推定値は，中心コンパートメントからの線形消失するマルチコンパートメントモデルを用いた母集団薬物動態解析で得られた（第 2.7.2.3.2 項）．ヒトにおいて推定されたトラベクテジンの CL は肝血流量の約半分に相当する 31.5 L/h であり，また Vd_{ss} は大きかった（5000 L 以上）．消失相 $t_{1/2}$（γ 相）は 181 時間（すなわち 7.5 日）と推定された．以上のように，これらの臨床薬物動態データから，ヒトにおけるトラベクテジンの血漿中薬物動態は非臨床での各動物種の結果に類似していた（表 2.7.2.3.2-1）．非臨床の各動物種とヒトにおける曝露量の比較を毒性試験の概要文（第 2.6.6.9 項）に示した．

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　*In Vitro*分布試験

トラベクテジンが薬剤（排出）トランスポーターである P-gp の基質であるか否かを検討するために *in vitro* 試験を行った[1]．試験では，ブタ腎臓近位尿細管由来の上皮細胞（LLC-PK1）とイヌ腎臓尿細管上皮細胞由来の細胞（MDCK）及び，それらの細胞にマウス P 糖蛋白（*mdr1a*）及び（又は）ヒト P 糖蛋白（MDR1）を安定発現させた細胞の単層膜を用いて ^{14}C-トラベクテジンの輸送を検討した．更に，これらの細胞株における ^{14}C-トラベクテジンの細胞内への蓄積を検討した．これらの試験では，強力かつ特異的な P-gp 阻害剤として LY335979 を用いた．

膜透過輸送を検討するために，LLC-PK1 細胞と *mdr1a* 又は MDR1 遺伝子を導入した LLC-PK1 細胞を微多孔性ポリカーボネートメンブランフィルターの上に播種し，3 日間培養した．^{14}C-トラベクテジン（218 nmol/L 又は 166 ng/mL）を単層の頂端側（AP）又は基底側（BL）に添加し，AP から BL への輸送又は BL から AP への輸送をそれぞれ測定した．MDCK 細胞と MDR1 を発現さ

せた MDCK 細胞を用いて同様の試験を行った．その結果は，LLC-PK1 細胞と MDCK 細胞と比べて *mdr1a* 及び MDR1 を発現したそれぞれの細胞では，BL→AP 輸送が AP→BL 輸送より大きかった．また，LY335979 を 5 µmol/L 添加すると，この方向性輸送が完全に阻害された．

更に, 細胞内への蓄積を検討するために, LLC-PK1 細胞, *mdr1a* 又は MDR1 を発現した LLC-PK1 細胞に ^{14}C-トラベクテジン（218 nmol/L）を加えて培養した．培養後に，細胞を洗浄し，溶解した後, 放射能を測定した. その結果, LLC-PK1 細胞と比べて, *mdr1a* 又は MDR1 を発現した LLC-PK1 細胞ではいずれも，トラベクテジンの細胞内への蓄積が大きく減少した．一方，LY335979 の 5 µmol/L を添加すると，LLC-PK1 細胞に類似した細胞内蓄積を認めた．これらの結果は，膜透過試験の結果と一致しており，トラベクテジンは P-gp の基質であることが明らかとなった．トラベクテジンが P-gp の機能や他の薬剤トランスポーターに影響を及ぼす可能性については，これまでのところ検討されていない.

Synold らは，トラベクテジンの臨床濃度での *in vitro* 試験において，トラベクテジンが， SXR の機能に拮抗することを報告した．彼らの実験では，トラベクテジンが，誘導剤による SXR を介したヒト肝細胞の CYP3A4 及び MDR1 活性化を阻害しているが，一方，構成的アンドロスタン受容体（CAR）を介した転写活性には影響を与えていないことが示されている [2].

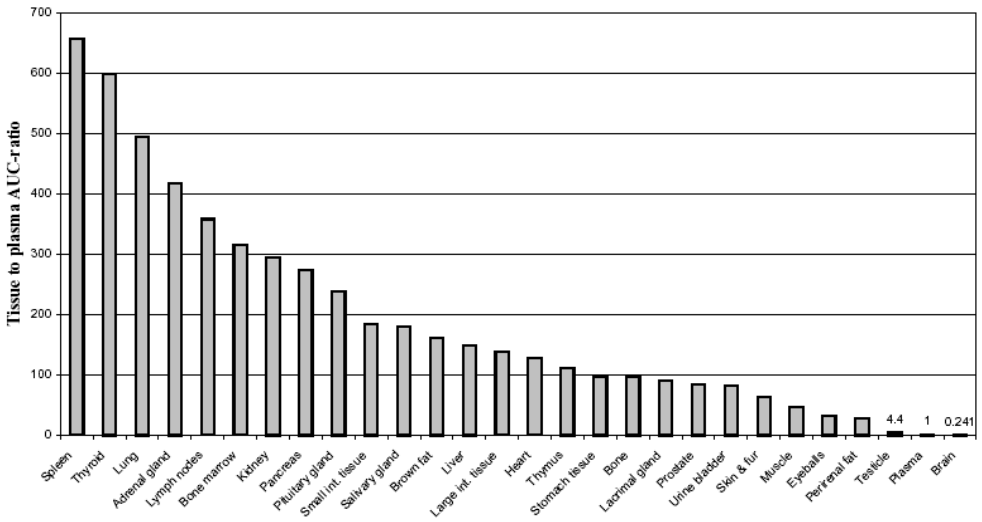
Maliepaard らは，乳癌耐性蛋白質（BCRP）を高発現しているトポテカン選択的な耐性 T8 細胞株では，非耐性株と比べて，トラベクテジンの細胞毒性が変化していなかったことを報告した．この結果は，トラベクテジンがこの輸送蛋白質の基質ではないことを強く示唆した [3].

2.6.4.4.2　*In Vivo*分布試験

ラットにおける ^{14}C-トラベクテジンの組織内分布を検討するために，雄性ラットに ^{14}C-トラベクテジン 61 µg/kg の単回急速静脈内投与を行った．^{14}C-トラベクテジン及びその代謝物由来の放射能及び未変化体の血漿中濃度，更に採取した組織内の放射能濃度を測定した（第 4.2.2.2.2 項）．血漿中では，放射能は最初に未変化体の濃度と平行して減少した後，緩除に減少した（図 2.6.4.3.1.1-1）．投与後 24 時間には，放射能濃度はそれらの初期値の約 3%に減少した．血漿中の未変化体濃度/放射能濃度比はほとんどのサンプリング時点において低かった.

大部分の組織では，静脈内投与後 7 分で最高放射能濃度に達し，トラベクテジンとその代謝物は速やかに分布することを示した．その後，組織内の最高放射能濃度は緩除に減少した．胸腺，下垂体及びリンパ節では，48 時間後に初めて放射能は最高濃度に達した．最も高いレベルの放射能は消化管内容物及び肝臓で認められ，ピーク時点では，投与量のそれぞれ 35%及び 15%に相当した．また，高濃度の放射能が脾臓，肺，腺組織，リンパ節，骨髄及び腎臓でも認められ，放射能の組織/血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ 比は 200 以上であった（図 2.6.4.4.2-1）.

消化管，唾液腺，褐色脂肪，肝臓，心臓，骨及び胸腺の放射能の組織/血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ 比は約 100～180 であった．涙腺，前立腺，膀胱，皮膚及び被毛，筋肉，眼球及び腎臓周囲脂肪の放射能の $AUC_{0\text{-}24h}$ 値は，血漿中の値の約 26～90 倍であった．精巣の放射能の $AUC_{0\text{-}24h}$ 値は，血漿中の値の 4.4 倍であった．脳の値は，2 つの時点（7 分及び 1 時間）で定量限界を上回っていた．これらのラットの組織内分布データに基づくと，トラベクテジンとその代謝物は末梢組織に速やかに広範囲に分布したが，精巣組織及び特に脳への放射能の分布は少なかった（第 4.2.2.2.2 項）.



第 4.2.2.2.2 項 試験報告書 No. [redacted] Figure 5-5

図 2.6.4.4.2-1　雄性ラットに ^{14}C-トラベクテジン 61 μg/kg を単回急速静脈内投与後の放射能の組織/血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ 比

ラットに ^{14}C-トラベクテジン（80 μg/kg）を単回急速静脈内投与し，尿及び糞中への排泄パターンを検討した際に，投与後 7 日目の一部の組織中放射能量を測定した（表 2.6.4.4.2-1）．投与後 7 日に，放射能は主として屍体及び皮膚から回収され，次いで消化管及び肝臓の順であった．以上のラットにおける 2 つの分布試験の結果から，^{14}C-トラベクテジンの急速静脈内投与後に組織における放射能の残存を認めた．また，放射能の残存は，雄より雌で顕著であった．

表 2.6.4.4.2-1　ラットに ^{14}C-トラベクテジン 80 μg/kg を単回急速静脈内投与後 7 日における組織中から回収された放射能（% of dose）

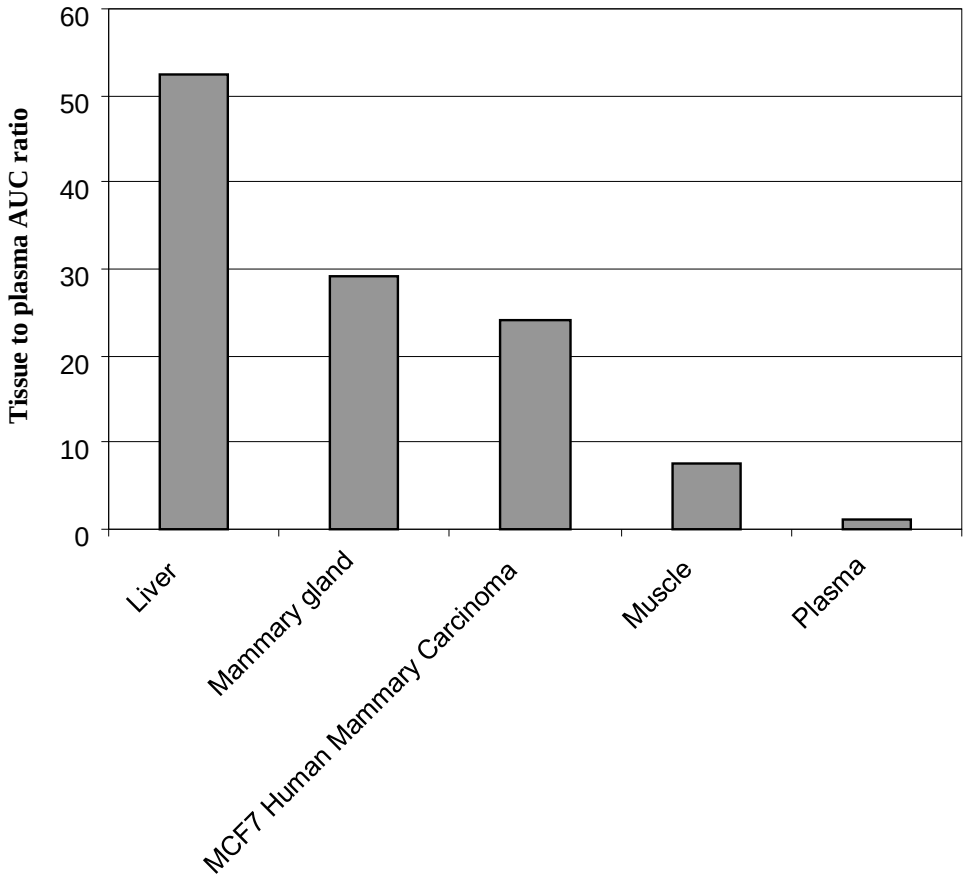
Sex	GI Tract	Liver	Brain	Kidneys	Lungs	Skin	Residual Carcass
Male	2.05	1.50	<LLOQ	0.43	0.31	4.12	8.59
Female	4.87	4.86	<LLOQ	1.27	1.02	7.36	22.73

Note: More than 90% of administered radioactivity was accounted for when values for urine and feces were included.　GI: Gastrointestinal

第 4.2.2.3.1 項 試験報告書 No. [redacted] Table 4 抜粋

腫瘍組織内への ^{14}C-トラベクテジン及びその代謝物由来放射能の分布は，非移植及び MCF7（ヒト乳癌細胞株）の担癌マウスに 200 μg/kg の ^{14}C-トラベクテジンを単回急速静脈内投与して検討した．放射能は血漿に加え，乳腺及び乳腺に移植した腫瘍，肝臓及び筋肉について測定した．放射能の最高濃度は投与後 1 時間で認められ，トラベクテジンとその代謝物はこれらの組織に速やかに分布することを示した．放射能の血漿中濃度は C_{max} に達した後は急速に減少し，その後，緩除な消失を示した．投与後 24 時間では，放射能濃度はそれらの 0 時間外挿値（C_0）の約 1.4%に減少した．ラットと同様に，血漿中の放射能濃度に対する未変化体濃度の比はすべての時点において低かった．非移植乳腺組織及び乳腺に移植した腫瘍は，血漿及び筋肉と比較して高い曝露量（$AUC_{0\text{-}96h}$ 値）であった（図 2.6.4.4.2-2　）．このことから，トラベクテジン及び（又は）その代謝物は筋肉よりも乳腺及び乳腺に移植した腫瘍内に効率的に分布し，長時間残存した．非移植の乳腺組織と乳腺に移植した腫瘍組織の放射能濃度に顕著な差を認めなかった（第 4.2.2.3.2 項）．ラ

ットと同様に，マウスの血漿及び組織における放射能濃度の減少は緩やかであり，マウスにおいても静脈内投与後のトラベクテジン及び（又は）その代謝物が組織に長時間残存した．



第 4.2.2.3.2 項 試験報告書 No. [redacted] Table 4 より作成

図 2.6.4.4.2-2　非移植及び MCF7（ヒト乳癌細胞株）の担癌ヌードマウスに 200 μg/kg の ^{14}C-トラベクテジンを単回急速静脈内投与した際の各組織の組織/血漿 $AUC_{0\text{-}96\ h}$ 比

サルにおける反復投与毒性試験において，反復投与後に毒性発現臓器（骨髄，肝臓，腎髄質及び筋肉）におけるトラベクテジン濃度を測定した（第 4.2.3.2.10 項）．反復投与後の各時点で組織を採取したが，トラベクテジン濃度を定量できたのは数匹のわずかな組織のみであった．肝臓中濃度は，雄では 0.204～1.85 ng/g（n=3），雌では 0.505 ng/g（n=1）であった．腎臓中濃度は，雄では定量下限値（LLOQ=0.2 ng/g）未満で，雌では 0.236 及び 1.24 ng/g（n=2）であった．骨髄中濃度は，雄では 0.372～1.88 ng/g（n=3），雌では 0.214～0.374 ng/g（n=3）であった．すべての動物において，筋肉中トラベクテジンは定量できなかった（LLOQ=0.2 ng/g）．これらの組織データは少なかったため，用量相関又は性差の情報は得られなかった．得られた組織/血漿中濃度比は，肝臓では 7.85～73.4，腎臓では 11.5～27.1，骨髄では 5.11～68.6 であり，組織内濃度は血漿中濃度より約 5～70 倍高いことを示した（第 4.2.3.2.10 項）．

^{14}C-トラベクテジンの組織内分布に及ぼす P-gp の影響を，雄の FVB［wt 及び *mdr1a/1b*(-/-)］マウスを使用して検討した．これらの動物に ^{14}C-トラベクテジンの 150 µg/kg を単回急速静脈内投与し，血漿中及び組織中放射能を測定した（第 4.2.2.3.3 項）．wt 及び *mdr1a/1b*(-/-)マウスでは，血漿中放射能濃度推移は類似し，また算出した組織/血漿中放射能の AUC 比より，wt 及び *mdr1a/1b*(-/-)マウスのいずれも放射能が各組織に広く分布することを示した．組織/血漿中放射能の AUC 比は，wt マウスの脳を除く他の組織では常に 1 以上であり，その範囲は，wt では 2.2～1498，*mdr1a/1b*(-/-)では 4.0～1015 であった（表 2.6.4.4.2-2）．大部分の組織の放射能濃度は，最初は急速に減少した後，緩除な消失を示した． P-gp が存在しないことによる組織内分布への影響は *mdr1a/1b*(-/-)の脳及び精巣で顕著で，wt に比べ AUC 比がそれぞれ 13 倍及び 2 倍増加した．また，小腸及び心臓でも有意な増加を認めた．腎臓での減少は有意であるが小さく，トラベクテジンとその代謝物の排泄における腎臓の役割は小さい（尿中排泄率が低い）ことから，腎臓への分布の変動はトラベクテジン体内挙動に影響を与えないものと考えられた．

表 2.6.4.4.2-2　雄性の野生型及び *mdr1a/1b*(-/-)マウスの血漿及び選択された組織における放射能の組織/血漿 $AUC_{0\text{-}96h}$ 比と *mdr1a/1b*(-/-)/野生型の比

Organ	Wild-Type Tissue/Plasma $AUC_{0\text{-}96h}$ ratio	*mdrla/lb*(-/-) Tissue/Plasma $AUC_{0\text{-}96h}$ ratio	*mdrla/lb*(-/-)/ Wild-Type Ratio
Plasma	1.0	1.0	1.1
Brain	0.51	5.9	13.2[c)]
Muscle	5.6	6.8	1.4
Small Intestine	22.8	28.7	1.4[b)]
Liver	32.8	29.1	1.0
Gallbladder	1498	1015	0.77
Kidneys	27.0	20.2	0.85[a)]
Heart	12.4	15.4	1.4[b)]
Testes	2.2	4.0	2.1[b)]

a) $p<0.05$
b) $p<0.01$
c) $p<0.001$
n = 4
第 4.2.2.3.3 項 試験報告書 No. [redacted] Appendix 5 抜粋

また，未変化体濃度を血漿，脳，精巣，腎，肺，心臓及び肝臓で定量した．血漿中トラベクテジン濃度は投与後急速に減少した後，緩除な消失を示した．wt マウスと *mdr1a/1b*(-/-)マウスとの間で血漿中トラベクテジン濃度の差は認められなかった．トラベクテジンの AUC は血漿中放射能の AUC に比較し，約 10%とわずかであった．また，組織中放射能においてもトラベクテジンの占める割合は低かった．wt マウスでは脳中にトラベクテジンを検出しなかったが，*mdr1a/1b*(-/-)マウスでは脳中放射能の 1%未満と低いものの検出された．wt マウスの精巣では，トラベクテジン濃度は低く，投与後 7 分で測定されたのみであるが，*mdr1a/1b*(-/-)マウスでは精巣中放射能の約 1%を占めた．肝臓のトラベクテジン濃度は *mdr1a/1b*(-/-)マウスと wt マウスで類似しており，未変化体は肝臓中放射能濃度の 2%であった．これらのことから，トラベクテジンとその代謝物の体内動態において P-gp が関与すると考えられた．

2.6.4.4.3　　血漿蛋白結合及び血球への分布

トラベクテジンの血漿蛋白結合は，マウス（雌雄），ラット（雌雄），ウサギ（雌），イヌ（雄），サル（雄）及び健康成人（男性）から得られた血漿を用い *in vitro* 平衡透析法により検討した（第 4.2.2.3.4 項）．トラベクテジン濃度は 13 nmol/L（10 ng/mL，ヒトのみ）及び 130 nmol/L（100 ng/mL）

とした．また，精製したヒト血漿蛋白画分であるアルブミン及び AGP に対するトラベクテジンの結合性を生理的な蛋白質濃度で検討した．

トラベクテジンの血漿蛋白結合率はヒトを含め，検討したすべての動物種で高く，90～99%の範囲であった（表 2.6.4.4.3-1）．ヒトでの結合率は 13 nmol/L で 97.77%，130 nmol/L で 97.28%であり，薬物濃度に依存しなかった．

表 2.6.4.4.3-1　ヒト及び各動物種における血漿蛋白結合率と血液/血漿中濃度比

Animal species (sex)[a]	Mouse Male	Mouse Female	Rat Male	Rat Female	Dog Male	Rabbit Female	Monkey Male	Human Male
Plasma protein binding	98.91%	98.78%	95.29%	94.91%	98.95%	89.99%	94.42%	97.28%
Free fraction	1.09%	1.22%	4.72%	5.09%	1.05%	10.01%	5.60%	2.73%
Blood-to-plasma ratio	0.73	0.69	1.51	1.46	0.69	1.50	NA	0.89

a) CD-1 mice, Sprague-Dawley rats, Beagle dogs, NZW rabbits, Cynomolgus monkeys, healthy volunteers

Note: Only the data generated at 130 nmol/L or 100 ng/mL are presented. In man, 97.77% was bound at 13 nmol/L (10 ng/mL).
NA = not available

第 4.2.2.3.4 項 試験報告書 No. [redacted] Table 5-1 及び Table 5-2 抜粋

また，蛋白結合検討と同じ動物種（サルを除く）の全血を用いて，トラベクテジン濃度 130 nmol/L の条件でトラベクテジンの血球移行性を検討した．血液/血漿中濃度比は各動物種を通して 0.69～1.51 の範囲であり，雌性マウス及び雄性イヌが最も低く，雄性ラットが最も高かった．生理学的濃度のアルブミン及び AGP において，トラベクテジンの結合率はアルブミンで 86.03%，AGP では 50 mg/dL で 90.06%，100 mg/dL で 96.67%であった（第 4.2.2.3.4 項）．

トラベクテジンのヒト血漿蛋白質に対する結合率は，トラベクテジン濃度 4 nmol/L（3 ng/mL）における *in vitro* 限外濾過法によっても検討され，平衡透析法と同様の 94.2%が得られている（第 4.2.2.3.5 項）．

2.6.4.4.4　胎盤移行

妊娠ラットに ^{14}C-トラベクテジンを 61 µg/kg で単回急速静脈内投与した後，0.5，1，2，8 及び 24 時間での放射能の組織分布を検討した（第 4.2.2.3.6 項）．投与後 0.5 時間の母動物の血漿及び血液中の放射能濃度は，それぞれ 3.73 及び 6.56 ng eq./mL であり，その後徐々に消失した．胎児中放射能濃度は投与 2 時間以降で母獣血液中濃度よりも高く推移し 24 時間においてもほとんど減少しなかった．胎児の組織において，血液，脳，心臓及び腎臓中放射能濃度はすべての採取時間において定量下限以下であったが，肺及び肝臓では母獣血液よりも高く，投与後 24 時間においてもほとんど減少しなかった（表 2.6.4.4.4-1）．

以上の結果より，投与された ^{14}C-トラベクテジン由来の放射能が胎盤を通過して胎児への移行が明らかとなった．

表 2.6.4.4.4-1　妊娠ラットに ^{14}C-トラベクテジンを 61 µg/kg で単回急速静脈内投与した後の母動物及び胎児の組織中放射能濃度

Tissue	Radioactivity concentration（ng eq. of Trabectedin/g or mL）				
	0.5 h	1 h	2 h	8 h	24 h
Maternal plasma	3.73±0.56	2.45±0.38	1.44±0.22	0.633±0.102	ND
Maternal blood	6.56±1.15	4.45±0.59	2.88±0.14	ND	ND
Placenta	60.8±8.1 (0.11±0.01)[a)]	57.0±3.3 (0.10±0.01)[a)]	59.5±7.8 (0.10±0.01)[a)]	49.1±2.7 (0.09±0.01)[a)]	38.4±4.0 (0.08±0.02)[a)]
Amnion	25.2±4.3	30.6±3.1	36.5±12.1	40.6±6.2	36.6±11.3
Amniotic fluid	ND	ND	ND	ND	ND
Fetus	1.86±0.61 (0.01±0.01)[a)]	2.48±0.36 (0.02±0.01)[a)]	2.56±0.45 (0.02±0.00)[a)]	2.35±0.75 (0.02±0.01)[a)]	2.48±0.15 (0.02±0.01)[a)]
Fetal blood	ND	ND	ND	ND	ND
Fetal brain	ND	ND	ND	ND	ND
Fetal heart	ND	ND	ND	ND	ND
Fetal lung	2.55±0.46	3.21±0.58	3.22±0.49	3.80±0.62	3.17±0.24
Fetal liver	4.61±0.31	5.13±0.69	6.73±1.26	6.21±0.79	7.04±1.11
Fetal kidney	ND	ND	ND	ND	ND

（mean±SD，n=3），ND: not detected，a) 胎児 1 匹あたりの放射能（% of dose）
第 4.2.2.3.6 項 試験報告書 No. [redacted] Table 1，Table 3 抜粋

2.6.4.5　代謝

トラベクテジンの代謝に関する検討の大部分は *in vitro* で実施した．*In vivo* 試験で同定された代謝物の数は少ないためトラベクテジンの代謝における動物種間の比較は主として *in vitro* データに基づいて行った．

2.6.4.5.1　*In Vitro*代謝

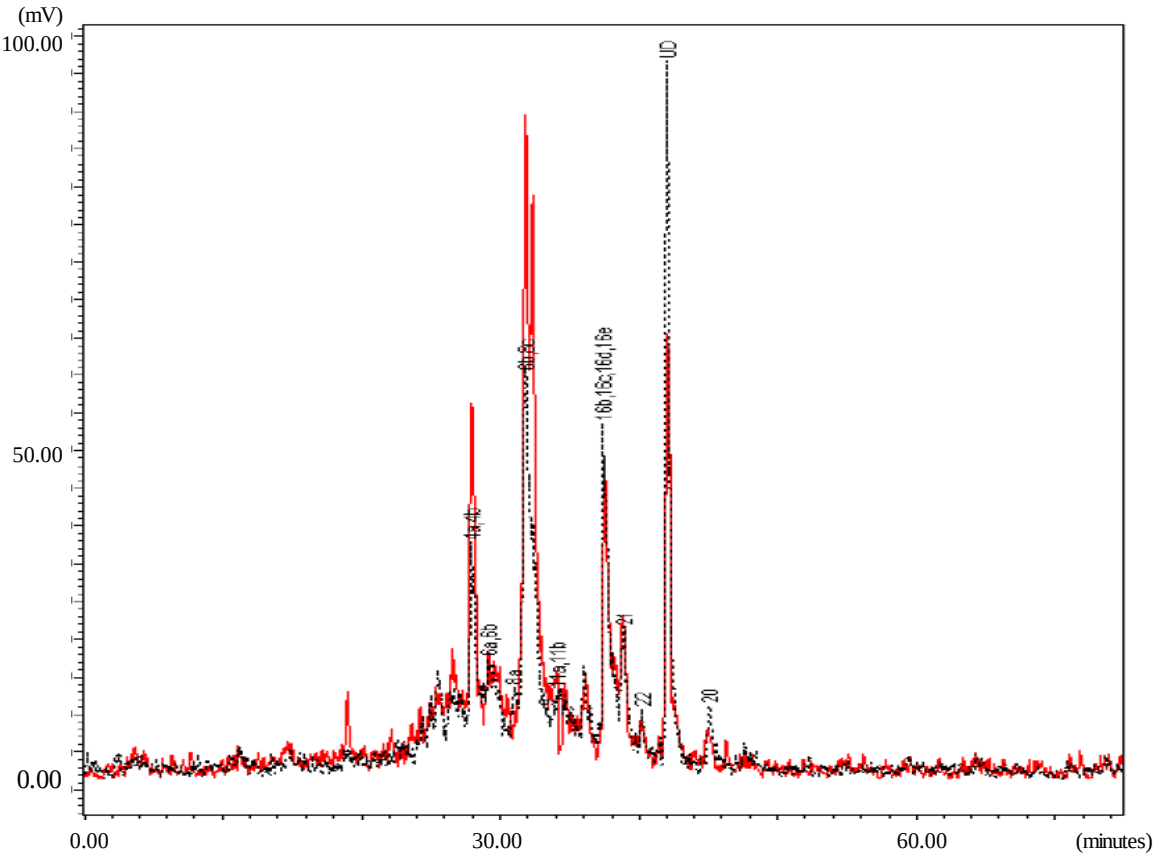
最初の *in vitro* 試験（第 4.2.2.4.1 項）では，トラベクテジンの安全性評価で使用するのに最も適切な動物種を確認することを目的とした．この試験では，トラベクテジンの代謝を雌雄のマウス, 雌雄のラット, 雌のウサギ, 雄のイヌ, 雄のサル及びヒト（男性）の肝から調製した試料（12000×g 上清画分及びミクロソーム画分）及び血液で検討した．各動物種の肝臓の 12000×g 上清画分又はミクロソームに Glucose-6-phosphate（1.0 mg/mL），glucose-6-phosphate dehydrogenase（0.5 unit/mL）及び nicotinamide adenine dinucleotide phosphate（NADP）（0.25 mg/mL）と ^{14}C-トラベクテジン（1.57 及び 30 µmol/L）を添加し，120 分間インキュベーションした．同じ動物種の血液に 2 µmol/L の ^{14}C-トラベクテジンを添加し，ラット及びマウスは 0，30，90 及び 120 分間，イヌ，サル，ウサギ及びヒトは 0，30，60 及び 120 分間インキュベーションした．インキュベーション後に，試料を処理し，標準物質との HPLC コクロマトグラフィー及び LC/MS/MS によって主要な代謝物を同定した．

1.57 µmol/L 濃度では，各動物種の肝試料（12000×g 上清画分及びミクロソーム画分）との 120 分間のインキュベーションにより，トラベクテジンは，雌性ラット及び雌性マウスを除きほぼ完全に代謝された．30 µmol/L では，トラベクテジンは完全には代謝されず（26.6～77.5%の残存），雌性ラット及び雌性マウスで残存率が高かった．生成される代謝物の数からみると，各動物種においてトラベクテジンは代謝されやすく, また顕著な種差を認めた. Radio-HPLC 分析の結果から，肝試料を用いたトラベクテジンの *in vitro* 代謝は，ヒトとサルが最も類似しており，ラットやイヌを含む他の動物種とは明らかに異なると考えられた．血液では，検討した動物種のいずれにおいても代謝物は生成されなかった（第 4.2.2.4.1 項）.

肝試料を用いた *in vitro* 試験（第 4.2.2.4.2 項）を行い，トラベクテジンのヒトとサルにおける代謝が類似していることを確認するとともに，ヒト及びサルの主要な代謝経路及び代謝物を詳細

に解明した．ヒト（男性）及び雄のサルの肝臓から得られた 12000×g の上清画分に ^{14}C-トラベクテジンを添加し，120 分間反応させた．この試験では，高感度 LC/MS/MS 装置（QTOF Ultima High Resolution Mass Spectrometer）を使用するとともに，^{14}C-トラベクテジンの 5 µmol/L 濃度を選択し，条件を最適化することによって主要代謝物の同定が容易になった．更に，トラベクテジン及び（又は）その代謝物の分解を最小限に抑えるために，試料を解凍直後に処理した．主要代謝物の同定は試料と標準物質との HPLC コクロマトグラフィー及び LC/MS/MS を用いた（第 4.2.2.4.2 項）．

肝試料を用いた *in vitro* 試験結果では，ヒト及びサルのラジオクロマトグラムの放射能ピークが重なり合い（図 2.6.4.5.1-1），ヒト及びサルの肝試料によって生成された各主要代謝物の LC/MS/MS 分析結果がほぼ一致した．



ヒト（破線），雄性カニクイザル（実線）

第 4.2.2.4.2 項 試験報告書 No. [redacted] Figure 5-4 改変

図 2.6.4.5.1-1　ヒト（男）及びサル（雄）の 12000×g 上清画分で ^{14}C-トラベクテジン（5 µmol/L）をインキュベーションした後のラジオクロマトグラムの比較

ヒト及びサルの肝細胞画分で同定された代謝物には以下のものが含まれる。

- N-脱メチル体［代謝物 8b（ET-729）］
- O-脱メチル体（代謝物 16c）
- カルボン酸体（代謝物 8a）
- 一酸化されたカルボン酸体（代謝物 16e）
- 一酸化体（代謝物 11a）及び二酸化体（代謝物 16b）
- 脂肪族開環体（代謝物 9）

・　一酸化された脱メチル体（代謝物 4b 及び 6a）又は二酸化された脱メチル体で，代謝物 4a 及び 8c，又は代謝物 16d 及び 6b

トラベクテジン自身がグルクロン酸抱合を受ける可能性を検討する試験を行った．ミクロソームへの pore-forming peptide であるアラメチシンの存在下及び非存在下で UDPGA を添加したヒト及びサルの肝ミクロソームに ^{14}C-トラベクテジン（5 µmol/L）を加え，120 分間反応させた．トラベクテジンは *in vitro* ではグルクロン酸抱合を受けなかった．

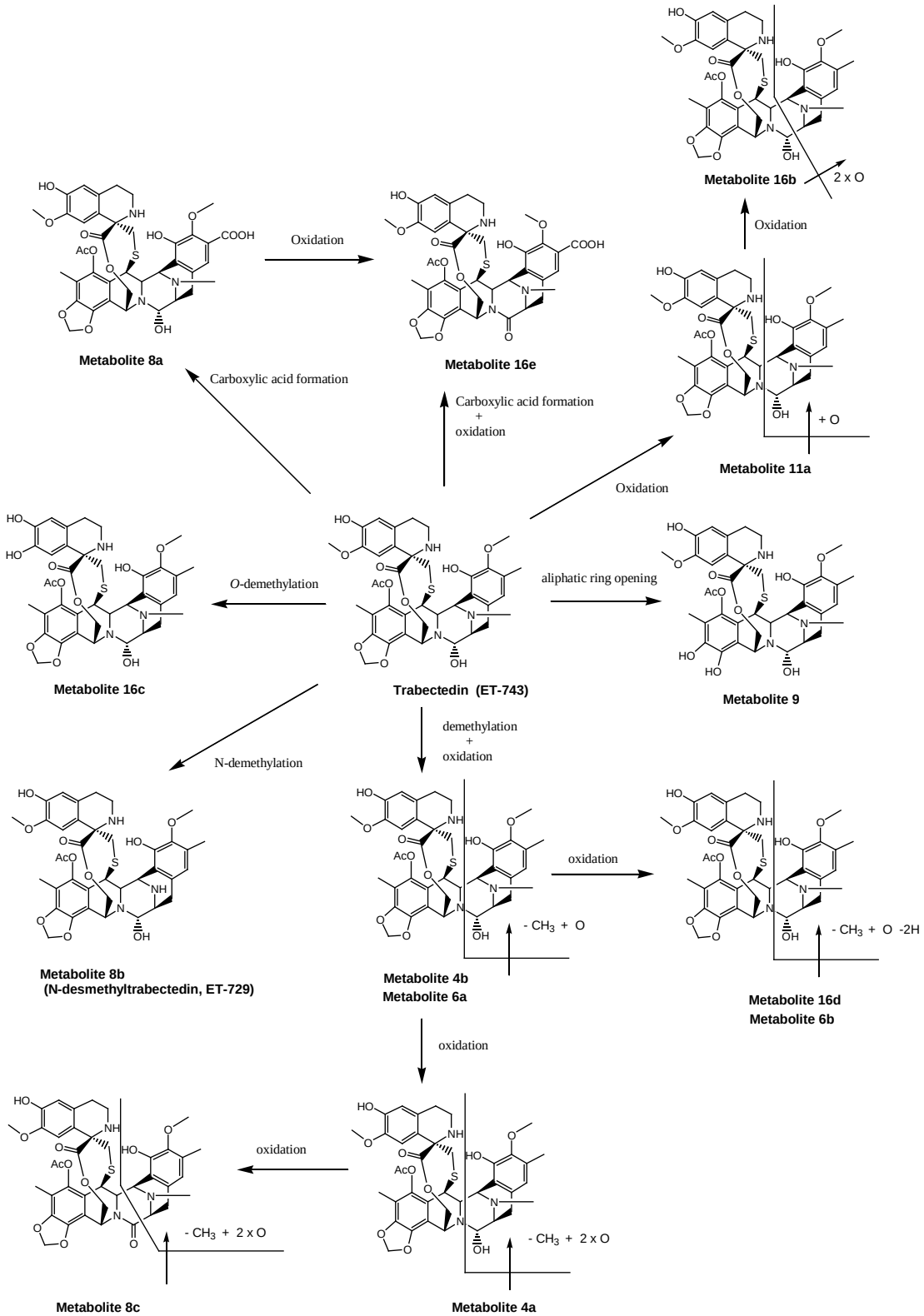
肝 12000×g 上清画分を用いた *in vitro* 試験から推定された代謝経路を図 2.6.4.5.1-2 に，ヒトとサルの種差の比較を表 2.6.4.5.1-1 に示した．これらの比較から，最適な実験条件下では，ヒトの *in vitro* 代謝物はすべてサルにおいても生成されることが明らかとなった．

表 2.6.4.5.1-1　ヒト及びサルの肝 12000×g 上清画分における ^{14}C-トラベクテジン代謝の比較

In vitro metabolic profiling in liver 12000×g supernatant fractions					
Code	ID	Metabolic Step	Id. Method	Human	Cynomolgus Monkey
4a		Demethylation + di-oxidation	LC-MS	√	√
4b		Demethylation + mono-oxidation	LC-MS	√	√
	Relative amount of 4a+4b [(1)]			++	++
6a		Demethylation + mono-oxidation	LC-MS	√	√
6b		Demethylation + di-oxidation	LC-MS	√	√
	Relative amount of 6a+6b [(1)]			+	+
8a		Carboxylic acid formation	LC-MS	√	√
8b	R307685 (ET-729)	*N*-demethylation	Co-chromatography, LC-MS	√	√
8c		Demethylation + di-oxidation	LC-MS	√	√
9		Aliphatic ring opening	LC-MS	√	√
	Relative amount of 8a+8b+8c+9 [(1)]			+++	+++
11a		Mono-oxidation	LC-MS	√	√
	Relative amount of 11a+11b [(1), (2)]			+	+
16b		Di-oxidation	LC-MS	√	√
16c		*O*-demethylation	LC-MS	√	√
16d		Demethylation + di-oxidation	LC-MS	√	√
16e		Carboxylic acid formation + mono-oxidation	LC-MS	√	√
	Relative amount of 16b+16c+16d+16e [(1)]			++	++
UD	R279741 (ET-743)	-	Co-chromatography, LC-MS	√	√
	Relative amount of R279741 (ET-743) [(1)]			++	++

[(1)] relative amounts are expressed as + (1.0-5.0%), ++ (>5.0-15%), +++ (>15%)
[(2)] 11b is a chemical degradant, UD: unchanged drug

第 4.2.2.4.2 項 試験報告書 No. [redacted] 本文の表及び Table 5-1 改変



第 4.2.2.4.2 項 試験報告書 No. [redacted] Figure 5-7 改変

図 2.6.4.5.1-2　ヒト及びサルの肝 12000×g 上清画分におけるトラベクテジンの *in vitro* 推定代謝経路

また，^{14}C-トラベクテジンの代謝をラット（雌雄），マウス（雄），サル（雄）及びヒト（男性及び女性）の肝細胞の初代培養で検討した．肝細胞に ^{14}C-トラベクテジン（マウス，雌性ラット，サル：0.03，0.3，1，3，10，30，100，300 nmol/L 及び 2 μmol/L，雄性ラット，ヒト：1，10，100 nmol/L 及び 2 μmol/L）を加え，8 時間及び 24 時間インキュベーションした．

その結果，代謝物の生成は 2 µmol/L 濃度でのみ明らかであったが，これはメチルチアゾールテトラゾリウム（MTT）アッセイによる評価では明らかな細胞毒性を示す濃度であった．代謝物 ET-729（代謝物 8b）及び ET-759A（カルボニル誘導体及びトラベクテジンの分解で生じた可能性がある生成物，第 3.2.S.3.2 項）を，ヒト及びサル肝細胞との反応で検出した．また，両ピークはマウス肝細胞でも検出したが，雌雄のラットの肝細胞では ET-729 のみを検出した．肝試料を用いた最初の *in vitro* 試験と同様に，トラベクテジン及び代謝物の分解産物をすべての動物種で認めた（第 4.2.2.4.3 項）．

ヒトの肝試料を用いてトラベクテジン代謝に関与する CYP 分子種を検討した．Reid らは，ヒト CYP の相補的デオキシリボ核酸（cDNA）を組み込み，ヒト CYP を発現させたヒトリンパ芽球様細胞とトラベクテジン［50 µmol/L（38.1 µg/mL）］を 30 分間インキュベーションした後に残存するトラベクテジン濃度を測定した．その結果，トラベクテジンは CYP2C9，2D6，2E1 及び 3A4 によって代謝されるが，CYP1A1，1B1，1A2，2A6，2B6，2C8 及び 2C19 ではほとんど代謝されないことを報告している [4]．

更にトラベクテジン代謝に関与する CYP をより詳細に検討した．まず，^{14}C-トラベクテジン濃度 5 µmol/L（3.81 µg/mL）でヒト CYP 発現 *E. coli* 膜画分と 120 分間インキュベーションした．得られたラジオクロマトグラムから，CYP1A2，2A6，2B6，2C8，2C9，2C18，2D6，2E1，3A4 及び 3A5 との反応後に，トラベクテジンの消失とこれに伴った代謝物の生成が認められた．CYP1B1，2C19 及び 4A11 では代謝物の生成は認めなかった．

次いで，臨床濃度のトラベクテジンを用い，代謝に関与している主要な CYP 分子種の同定を行った．プールしたヒト肝ミクロソームをトラベクテジン濃度 13 nmol/L（10 ng/mL）で最長 20 分間インキュベーションさせた後，高感度 LC/MS/MS 法により残存するトラベクテジン濃度を定量した．また，CYP1A2，2A6，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6，2E1 及び 3A4 に対する選択的な化学的阻害剤及び阻害抗体を用いて検討した．これらの試験の結果，トラベクテジン代謝は CYP3A4 に対する選択的な阻害抗体及び選択的な化学的 CYP3A 阻害剤（ケトコナゾール及びトロレアンドマイシン）によってのみ，完全に阻害された．このことは，トラベクテジンの臨床濃度では，CYP3A4 がトラベクテジンの代謝に関与する主たる分子種であることを強く示唆している（第 4.2.2.4.2 項）．Brandon らは数種の CYP によってトラベクテジンが代謝されるが，治療域の濃度では CYP3A4 が主要な分子種であることを報告している [5]．

2.6.4.5.2　*In Vivo*代謝プロファイル

ラットにおいて，^{14}C-トラベクテジン投与後の放射能の排泄は主に糞中であった（第 4.2.2.3.1 項及び第 4.2.2.5.1 項）．これはトラベクテジン及び代謝物が胆汁中に排泄されることを示唆している．そこで，ラットの胆汁に含まれる代謝物について検討した． 胆管カニューレを施した雌雄のラットに 80 µg/kg の ^{14}C-トラベクテジンを単回急速静脈内投与し，胆汁を採取した（第 4.2.2.4.4 項）．胆汁試料を β-グルクロニダーゼ及び（又は）アリルスルファターゼによって加水分解し，標準物質とのコクロマトグラフィーにより代謝物を同定した．

胆汁試料のラジオクロマトグラムから，多くの代謝物を検出し，雌雄のラットの胆汁中には N-脱メチル体（ET-729，代謝物 8b），トラベクテジンの代謝物ではなく化学的分解生成物の可能性があるカルボニル体（ET-759A），未変化体（トラベクテジン）を同定した．ET-759A は，雄性ラットより雌性ラットの胆汁中に多かった．胆汁試料と β-グルクロニダーゼ及び（又は）アリル

スルファターゼとの反応では，雌雄のラットの胆汁中にトラベクテジンのグルクロン酸抱合体が少量存在することが認められた.

Reid らの試験では，胆管カニューレを施した雌雄の Fischer 344 ラットにトラベクテジン 250 μg/kg を単回静脈内投与し，投与後 2 時間の胆汁中代謝物を測定した．胆汁中のトラベクテジンと ET-729 の排泄率は雌雄のいずれも投与量の 2%未満であったが，雌性ラットによる ET-729 の胆汁中排泄率（投与量の 1.05%）は，雄性ラット（投与量の 0.19%）より 5 倍多かった [4].

マウスで行った薬物動態及び TK 試験では, 血漿中におけるトラベクテジンの代謝物（ET-729）の有無について検討した.

マウスでは, ET-729 が血漿中の主要代謝物であった. 200 μg/kg の単回静脈内投与後では, ET-729 の曝露量（$AUC_{0-\infty}$値）はトラベクテジンの曝露量に類似し, 性差を認めなかった（第 4.2.2.2.1 項）.

2.6.4.5.3　　酵素誘導及び阻害

2 つの *ex vivo* 試験をラット及びサルで行い，肝酵素活性及び発現量に及ぼすトラベクテジンの誘導又は阻害能を評価した.

ラットに，トラベクテジン無投与対照群，10 μg/kg，25 μg/kg，50 μg/kg 及び 75 μg/kg 用量（雄）又は無投与群，2.5 μg/kg，10 μg/kg，25 μg/kg 及び 50 μg/kg 用量（雌）を 3 週間ごとに 3 時間持続静脈内投与で 3 回投与した毒性試験の動物（n=4 匹/性）から，肝ミクロソームを調製しアニリン水酸化（CYP2E1），N-エチルモルヒネ N-脱メチル化（CYP3A），7-ペントキシレゾルフィン O-脱アルキル化（CYP2B）, 7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化（CYP1A）, ラウリン酸水酸化（CYP4A）及びサイロキシン（T4）グルクロン酸抱合活性を測定した（第 2.6.5.12.1 項）.

トラベクテジン投与により雌雄のラットのいずれも肝臓の相対重量が増加し，肝ミクロソームの蛋白質及び CYP 含量が減少した．トラベクテジンは測定した酵素活性のいずれにも誘導作用を示さなかった．トラベクテジン投与によりアニリン水酸化，N-エチルモルヒネ N-脱メチル化，ラウリン酸ヒドロキシル化反応などを含んだいくつかの酵素活性に対し影響しないか又は阻害作用を及ぼした．これらの酵素活性は最大でそれぞれのコントロールの値の 20%まで低下したが，明らかな性差及び投与量との相関は認められなかった. 最も強い阻害作用を, 雄性ラットの 10 μg/kg, 50 μg/kg 及び 75 μg/kg 用量と雌性ラットの 2.5 μg/kg 及び 25 μg/kg 用量で認めた．サイロキシングルクロン酸抱合活性は，主として雄性ラット（コントロールの 20%まで低下）及び雌性ラット（コントロールの 50%まで低下）の低用量で低下した．7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル活性の低下（コントロールの 80%）を，2.5 μg/kg 用量の雌性ラットのみで認め，また 7-ペントキシレゾルフィン O-脱アルキル化活性の低下（それぞれコントロールの 60%及び 50%）を雄性ラットの 50 μg/kg 及び 75 μg/kg 用量で認めた（第 4.2.2.4.5 項）.

同様の *ex vivo* 阻害・誘導試験をサルで行った．この試験では，サルの反復静脈内投与毒性試験で得られた肝臓ミクロソームを用い，CYP 代謝活性に及ぼすトラベクテジンの影響を検討した．雌雄各 2 頭のサルに 3 週間ごとに 1 回の 3 時間又は 24 時間の持続静脈内投与（1 サイクル）を合計 4 サイクル実施した. 3 時間持続投与した動物には, トラベクテジンをサイクル 3 まで 25 μg/kg, 50 μg/kg 及び 75 μg/kg を投与した後，サイクル 4 に 120 μg/kg，75 μg/kg 及び 100 μg/kg を投与した. 24 時間持続投与した動物には, サイクル 3 まで 75 μg/kg を投与した後, サイクル 4 に 100 μg/kg を投与した．肝ミクロソームは，最終投与後 2～7 日に各投与群の雌雄各 1 匹から採取した肝臓, 並びに, 最終投与後 12～25 日に各投与群の残りのサルから採取した肝臓からミクロソームを調製し，蛋白質量，総 CYP 量及び 7-メトキシレゾルフィン O-脱メチル化（CYP1A），クマリン 7-水酸

化（CYP2A），テストステロン 16β-水酸化（CYP2B），トルブタミドメチル水酸化（CYP2C），S-メフェニトイン 4'-水酸化（CYP2C），クロルゾキサゾン 6-水酸化（CYP2E），テストステロン 6β-水酸化（CYP3A）及びミダゾラム 1'-水酸化（CYP3A）活性を測定した（第 4.2.2.4.6 項）．

これらの検討では，トラベクテジンによる肝 CYP 分子種の誘導を全く認めなかった．また，CYP1A，CYP2A，CYP2C，CYP3A などを含む多くの CYP 酵素活性は，サルにおけるトラベクテジンの反復投与後にそれぞれのコントロール値の 10%まで低下した．更に，酵素活性低下の大きさと，性別，用量，投与時間又は肝臓採取時間との間に明らかな相関を認めなかった．

このサルの CYP 活性の低下を再確認するための検討を行った．この試験では，無投与対照群，25 μg/kg 及び 35 μg/kg をそれぞれ 8 サイクル及び 6 サイクル投与した反復投与毒性試験に用いた雌雄のサルから肝臓を採取した．これらの分析結果から，肝ミクロソームの蛋白質量及び総 CYP 量に及ぼす有意な影響は認められなかった．更に，肝ミクロソームの CYP 酵素活性の誘導は認められなかったが，25 μg/kg 及び 35 μg/kg の投与ではミクロソームの CYP による 7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化（CYP1A）及びテストステロン 6β-水酸化活性（CYP3A）の有意な低下を認めた．

2.6.4.6　排泄

2.6.4.6.1　ラットにおける排泄試験

雌雄の SD ラット（4 匹/性）に ^{14}C-トラベクテジンの 80 μg/kg を単回静脈内投与し尿及び糞を 7 日間採取した．また屍体中の残存放射能を測定した．投与後 7 日までの糞中放射能排泄率は，雄で 71.01%，雌で 43.39%であり，尿中排泄率は雄で 2.01%，雌で 4.76%（排泄された総放射能の 2.7%及び 9.3%）であった．屍体中残存率は雄で 17.00%，雌で 42.10%であった．屍体及び排泄物中の放射能の回収率は雌雄ともに約 90%であった．これらの結果から，ラットにおける主排泄経路は糞中であること，放射能の排泄は極めて遅いこと及び雌は雄と比較して糞中排泄率が少なく体内残存率が高いという性差の存在が確認された（第 4.2.2.3.1 項及び第 4.2.2.5.1 項）．

トラベクテジン静脈内投与後の胆汁中排泄を検討するために，胆管カニューレを施した雌雄の SD ラット（n=3 又は 4 匹/性）に ^{14}C-トラベクテジン 80 μg/kg を単回静脈内投与し，投与後 48 時間までの胆汁中放射能を測定した．0～48 時間までの胆汁中放射能排泄率は雄及び雌でそれぞれ約 44%及び 20%であった．この結果から，トラベクテジン及び（又は）その代謝物は主として胆汁を介して糞中に排泄されることが確認され，雌性ラットに比べて雄性ラットの糞中排泄率が 2 倍高い結果と一致していた（第 4.2.2.5.2 項）．

Reid らは，雌雄の Fischer 344 ラットにトラベクテジンを 250 μg/kg で単回急速静脈内投与したとき，投与後 2 時間までの胆汁中へのトラベクテジン及びその N-脱メチル体（ET-729）を合わせた総排泄率は，投与量の 2%未満であり，ET-729 の胆汁中排泄は雌で 1.05%であり，雄の 0.19%より 5 倍多かったことを報告している [4]．

2.6.4.6.2　マウスにおける排泄試験

雄の FVB wt マウス及び *mdr1a/1b(-/-)*マウスに ^{14}C-トラベクテジン 150 μg/kg を単回静脈内投与した際の，投与後 4 日間の尿及び糞中放射能排泄率から，^{14}C-トラベクテジン及び代謝物の排泄に及ぼす P-gp の影響を検討した．糞中排泄率は wt マウスで投与量の 70.6±13.9%，*mdr1a/1b*(-/-)マウスで投与量の 75.4±2.3%であった．総排泄率はそれぞれ 72.9±13.1%及び 77.6±2.5%であり，

主排泄経路はいずれにおいても糞中であった．尿中排泄率はそれぞれ投与量の 2.3±1.3%及び 2.2±0.9%であった．

なお，尿中，糞中又は総排泄量では，wt と *mdr1a/1b*(-/-)マウスとの間で差を認めなかった（第 4.2.2.3.3 項）．

2.6.4.6.3　乳汁中排泄

トラベクテジンの乳汁中排泄を評価するための試験は実施していない．

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1　血漿蛋白結合の相互作用

トラベクテジンの血漿蛋白結合率は高いことから［ヒト血漿では 97.28%（表 2.6.4.4.3-1）］，アルブミン（結合部位 I，II，III 及び IV）及び AGP のリガンドである典型的な薬剤による血漿蛋白と結合したトラベクテジンとの置換現象について *in vitro* で検討した．

この試験では，3 ng/mL のトラベクテジンを含むヒト血漿試料に，臨床濃度でのバルプロ酸，セフタジジム，クロキサシリン，ジアゼパム，エリスロマイシン，ワルファリン，タモキシフェン，ジギトキシン，オンダンセトロン，パラセタモール，ジクロフェナック，アセチルサリチル酸，プロプラノロール及びフェニトインを加え，インキュベーションした．トラベクテジンの血漿蛋白結合率を限外濾過法により測定した．その結果，フェニトインの 400 µmol/L とインキュベーションした場合にはトラベクテジンの非結合率が増加した．それ以外では，トラベクテジンの非結合率は変化しないことが明らかになり，臨床においてトラベクテジンの血漿蛋白結合が置換される可能性は低いことが示唆された（第 4.2.2.3.5 項）．

逆に，トラベクテジンが，蛋白結合した他の薬剤を置換する現象については検討していない．しかし，トラベクテジンの血漿中濃度はアルブミンや AGP の生理的濃度と比較して低いことから，そのような相互作用の可能性は低いと考えられた．

2.6.4.7.2　代謝に基づく相互作用

トラベクテジンは CYP によって代謝され，その代謝に係わっている主要な CYP 分子種は CYP3A4 であることが明らかとなった（第 2.6.4.5.1 項）．実際，臨床において，トラベクテジンと CYP3A 誘導剤又は阻害剤を併用投与すると，血漿中トラベクテジン濃度がそれぞれ減少又は増加した（第 2.7.2.2.2.6 項及び第 2.7.2.2.2.7 項）．

CYP によって代謝される他の薬剤との相互作用の可能性について，様々な CYP プローブ基質の代謝に及ぼすトラベクテジンの影響を検討した．

トラベクテジン存在下（0.001～5 µmol/L）及び非存在下で各 CYP の典型的なプローブ基質をヒト肝ミクロソームとインキュベーションし，代謝活性を測定した．更に，時間依存的阻害作用の確認のため，トラベクテジンとヒト肝ミクロソームが共存する 30 分間のプレインキュベーション時間を設定した（第 4.2.2.6.1 項及び第 4.2.2.6.2 項）．

CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP2E1 活性に対するトラベクテジンによる阻害の 50%阻害濃度（IC_{50}）は，すべての分子種において，最高濃度である 5 µmol/L 以上と高いことが推定された．CYP3A4 の阻害の IC_{50} は，テストステロン 6β-水酸化又はニフェジピン酸化活性で評価した場合には算出できず，5 µmol/L 以上と推定されたが，ミダゾラム 1-水酸化活性によって評価した場合では 1.5 µmol/L であった．また，トラベクテジン

は時間依存的阻害作用によって上記の CYP 活性を阻害しないことが明らかとなった（第 4.2.2.6.1 項）.

患者の総トラベクテジン（結合及び非結合型）の C_{max} は，1～10 ng/mL（0.0013～0.013 µmol/L）の範囲であること，また競合阻害を仮定した場合，CYP3A4 に対する最低 Ki 値は約 0.75 µmol/L と推定されたことから考え，臨床において CYP 酵素活性に対しトラベクテジンが阻害を示す可能性は低いと考えられた.

ヒト初代培養肝細胞を用いてトラベクテジンによるヒト CYP の誘導能を検討した（第 4.2.2.6.3 項）．2 人のドナーから得られた肝細胞をトラベクテジン存在下で 50 時間培養した．典型的な誘導剤（メチルコラントレン，フェノバルビタール及びリファンピシン）を陽性対照とした．培養後，各 CYP の mRNA を測定した．細胞毒性は光学顕微鏡観察により評価した．トラベクテジン濃度は 1, 5 及び 10 nmol/L（それぞれ 0.76, 3.81 及び 7.62 ng/mL に相当）で行った. 5 及び 10 nmol/L で軽度の細胞毒性を認めた（第 4.2.2.6.3 項）.

CYP1A1（10 nmol/L で約 5 倍の mRNA 値の増加）を除き，主要な CYP mRNA（CYP1A2，2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 及び 3A5）のいずれも，最高濃度であるトラベクテジンの 10 nmol/L まで明らかな増加は認められなかった．これらの *in vitro* 試験結果から，トラベクテジンは主要なヒト CYP について誘導を引き起こす可能性は低いと考えられた.

一方，トラベクテジンの臨床濃度で *in vitro* 試験において SXR が拮抗されることから [2]，SXR に調節された代謝（例えば CYP3A4，UGT1A1）に対してトラベクテジンが *in vivo* で影響を及ぼす可能性については，現時点では否定できない.

2.6.4.7.3　薬剤トランスポーター

In vitro 及び *in vivo* 試験の結果から，トラベクテジンは P-gp の基質であることが明らかとなった（第 2.6.4.4.1 項）．したがって，現時点では，P-gp の阻害薬又は誘導薬との併用投与（例えばシクロスポリンによる P-gp 機能の阻害）によって，トラベクテジン及び（又は）その代謝物の体内分布が変化する可能性は否定できない．P-gp 又は MRP2，BSEP，BCRP などの他の薬剤トランスポーターの基質である薬剤の輸送に及ぼすトラベクテジンの影響については，検討されていない.

Synold らによる *In vitro* 試験で示されたトラベクテジンの SXR 拮抗作用 [2] を考慮すると（第 2.6.4.4.1 項），併用薬が SXR に調節されたトランスポーター（例えば MDR1，MRP2）によって輸送されている場合，その体内動態に対してトラベクテジンが *in vivo* で影響を及ぼす可能性については，現在のところ否定できない.

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

この項で報告すべき追加の薬物動態試験はない.

2.6.4.9　考察及び結論

マウス，ラット及びサルのトラベクテジン持続静脈内投与後のトラベクテジン C_{max} は投与終了時にみられた．その後，血漿中濃度は極めて急速に減少した後，緩除な消失を示し，多相性の血漿中濃度推移を示した．これらの動物種のいずれにおいてもトラベクテジンの血漿中濃度推移に性差は認められなかった.

マウスでは，トラベクテジンの CL は約 1.8 L/h/kg で，V_z は 17.15 L/kg と大きく，広範囲の組織に分布することが示唆された．マウスにおいてトラベクテジンの代謝物である N-脱メチル体（ET-729）を静脈内投与した場合の ET-729 の血漿中薬物動態は，トラベクテジンと類似していた.

ラットに[redacted]トラベクテジンを含む製剤を静脈内投与した後のトラベクテジンの血漿中濃度推移に原薬による差は認められなかった．更に，3 時間又は 24 時間の持続静脈内投与後の曝露量（AUC 値）は雌雄間で類似していた．ラットでは，2.5 µg/kg～75 µg/kg の用量範囲の曝露量は用量に依存して増加した．トラベクテジンの血漿中濃度推移は単回及び反復投与（サイクルごと間欠投与）で類似し，反復投与による影響を受けなかった．

サルでは，CL は 1.43～3.68 L/h/kg であり，また Vd_{ss} は 80.7～534 L/kg と大きかった．最終相の $t_{1/2}$ は約 2～10 日の範囲であった．サルにおいても，血漿中薬物動態は反復投与による影響はなく，また曝露量は用量依存的に増加した．

雄性ラットに ^{14}C-トラベクテジンを単回静脈内投与後では，血漿中総放射能濃度の減少は最初に急速であり，未変化体の消失と同様であった．放射能濃度は，このような初期の急速な減少に続き，緩除な消失を示した．すべての採取時点で，血漿中未変化体/総放射能濃度比は低く，代謝物が多いことが示唆された．トラベクテジンとその代謝物は，末梢組織に急速に広範囲に分布したが，脳及び精巣組織への分布は少なかった．高濃度の放射能が，脾臓，肺，大部分の腺組織，リンパ節，骨髄及び腎臓で認められた．ピーク時間後に，組織中の放射能濃度は徐々に減少し，血漿中総放射能濃度推移と類似していた．最も高い放射能量は消化管内容物及び肝臓で認められた．

^{14}C-トラベクテジン単回静脈内投与 1 週間後における，ラットの体内からの放射能の回収率から，トラベクテジン及び（又は）その代謝物が組織内に長く残存することが確認された．これは雄性ラットに比べて雌性ラットで顕著であった．

更に，ヌードマウスでは，放射能は乳腺及び乳腺に移植した MCF7（ヒト乳癌細胞株）腫瘍に，筋肉より高く分布し，長く残存した．反復投与したサルでは，肝臓，腎臓及び骨髄中のトラベクテジン濃度は血漿中濃度より高かった．

In vitro 経細胞膜輸送及び細胞内取り込み試験から，トラベクテジンは P-gp の基質であることが明らかとなった．*mdr1a/1b*(-/-)マウスの *in vivo* 試験データでは，P-gp を発現している器官（特に脳，更に精巣，小腸，心臓など）の放射能濃度が有意に増加した．これらの結果から，トラベクテジン及び（又は）その代謝物の組織分布に P-gp が関与していることが示唆された．

トラベクテジンの *in vitro* 血漿蛋白結合率は検討したすべての動物種において高く，90%（雌性ウサギ）から 99%（雌雄のマウス及び雄性イヌ）であった．ヒトの血漿蛋白結合率は 97.28～97.77%であり，10～100 ng/mL の薬物濃度範囲で変動しなかった．血漿蛋白質の生理的濃度では，トラベクテジンはアルブミンと AGP に結合した．血液/血漿中濃度比は，検討した動物種において 0.69（雌性マウス及び雄性イヌ）から 1.51（雄性ラット）であった．ヒトでは 0.89 であった．これらの血球移行性試験結果から，トラベクテジンは血球にも分布することが示された．

In vitro 試験からトラベクテジンには多くの代謝物が存在し，ヒトの肝臓によるトラベクテジンの代謝はサルに最も類似し，ラットやイヌを含む他の動物種とは異なっていることが明らかとなった．ヒトの肝試料により *in vitro* で生成したすべての代謝物はサルにおいても生成され，N-脱メチル体（ET-729），O-脱メチル体，一酸化を伴ったものと伴わないカルボン酸体，一酸化体又は二酸化体，脂肪族開環体及び一酸化又は二酸化を伴った脱メチル体を生成する代謝経路が同定された．一方，トラベクテジンは *in vitro* ではグルクロン酸抱合されなかった．ヒト及びサルの初代培養肝細胞ではトラベクテジンの代謝は小さく，代謝物の明かな生成は細胞毒性を示す濃度である 2 µmol/L でのみ認められた．ヒト及びサルの肝細胞では，微量のカルボニル体（ET-759A）及び ET-729 のみが認められた．

In vitro 反応では多くの CYP 分子種によってトラベクテジンが代謝された．しかし，臨床で得られる低い濃度では，トラベクテジン代謝に関与する主たる分子種は CYP3A4 であった．

マウスの血漿では, ET-729 濃度は未変化体濃度と同程度であり, 主要な血漿中代謝物であった．ヒトの血漿では検出せず，ET-729 が主要な血漿中代謝物ではないことが示された．

ET-729 を雌雄のラットの胆汁中にも認めた．雌雄ともに存在量は極めて低かったが，雄よりも雌で多かった. 更に, 胆汁中の ET-759A は, 雄性ラットより雌性ラットで多かった. なお, ET-759A は代謝物ではなく，化学的分解生成物である可能性が考えられた．ラットの胆汁中には少量のトラベクテジンのグルクロン酸抱合体が検出された．

トラベクテジンを 3 週間ごとに 3 サイクル投与したラット及び 4 サイクル投与したサルの毒性試験から得られた *ex vivo* の肝臓では，主要な P450 酵素活性に対する誘導作用は認められなかった．

ラットに ^{14}C-トラベクテジンを単回静脈内投与後の放射能の排泄は遅かった．放射能は主として糞中に排泄され, 尿中排泄率は投与量の 2.01～4.76%とわずかであった. 雄性ラットと比較して，雌性ラットでの排泄は遅く，単回静脈内投与後 7 日においても投与した放射能の 42%がまだ体内に残存していた. ^{14}C-トラベクテジン投与後のラットにおける胆汁中放射能排泄率は雌よりも雄で多く，雄の糞中放射能排泄率が雌より多い結果と一致していた．

^{14}C-トラベクテジンを投与した雄性 FVB マウスでも放射能は主として糞中に排泄された. 尿中, 糞中及び総排泄率において，雄の wt マウスと *mdr1a/1b*(-/-)マウスの間で差は認められなかったことから，トラベクテジン及びその代謝物の胆汁排泄（胆汁を介した糞排泄）における P-gp の寄与は少ないと考えられた．

ラットにおけるトラベクテジンと ET-729 を合わせた胆汁中排泄率は雌雄ともに低かったが, ET-729 の胆汁中排泄量は雌が雄性ラットより 5 倍多かった．

In vitro 試験結果から, 血漿蛋白結合したトラベクテジンの他の薬剤による置換現象が生じる可能性は低いと考えられた．血漿蛋白質の生理的濃度と比べてトラベクテジンの血漿中濃度は低いことから，血漿蛋白結合した他の薬剤のトラベクテジンによる置換現象が生じる可能性も低いと考えられた．

CYP3A4 はヒトのトラベクテジン代謝に係わる主要な分子種であり，臨床においてトラベクテジンと CYP3A 誘導剤又は阻害剤を併用投与した結果, 血漿中トラベクテジン濃度は, それぞれ減少又は増加した（第 2.7.2.2.2.6 項及び第 2.7.2.2.2.7 項）．

CYP3A4 によるミダゾラムの 1-水酸化代謝を除いて（IC_{50}：1.5 µmol/L），トラベクテジンによる他の CYP 分子種の阻害の IC_{50} はすべて 5 µmol/L 以上と高いことが推定された．CYP3A4 に対する推定された最も低い K_i 値（約 0.75 µmol/L）は，癌患者の血漿中 C_{max} 値（典型的には 10 ng/mL 又は 13 nmol/L 未満）に比べ非常に高いことから，*in vivo* においてトラベクテジンが CYP 酵素活性を阻害する可能性は低いと考えられた．トラベクテジンが時間依存的阻害作用を示す結果は認められなかった．

ヒト初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 試験では，10 nmol/L までのトラベクテジンとの培養によって CYP1A1 を除き，いずれの主要な CYP 分子種の mRNA も増加することは無く，主要なヒト CYP 分子種に対しトラベクテジンが誘導を引き起こす可能性は低いと考えられた．

トラベクテジンは P-gp の基質であることから，現時点では，P-gp 阻害剤又は誘導剤の併用投与によって，トラベクテジン及び（又は）その代謝物の体内分布が影響を受ける可能性は否定で

きない．P-gp 又は MRP2，BSEP，BCRP などの他の薬剤トランスポーターの基質である薬剤の輸送に及ぼすトラベクテジンの影響については検討していない．

In vitro において臨床濃度のトラベクテジンは，SXR の機能と拮抗することが報告されている[2]．このオーファン核内受容体は，いくつかの第 I 相（例えば CYP3A4）及び第 II 相（UGT）酵素，更に薬剤トランスポーター（P-gp，MRP2 など）の調節因子であると考えられている．この *In vitro* 結果の臨床的意義は現在不明であり，トラベクテジン投与によって SXR の（部分的）制御を受けている酵素及び（又は）トランスポーターが *in vivo* で影響を受ける可能性については否定できない．

2.6.4.10　図表

補足の表は本文内の概要の適切な箇所に含めており，また追加情報を薬物動態試験の概要表（第 2.6.5 項）に示した．

2.6.4.11　参考文献

1. Beumer J-H, Buckle T, Ouwehand M, Franke NE, Lopez-Lazaro L, Schellens JH, et al. Trabectedin (ET-743, Yondelis™) is a substrate for P-glycoprotein, but only high expression of P glycoprotein confers the multidrug resistance phenotype. Invest New Drugs. 2006;25:1-7.（第 4.3.52 項）
2. Synold TW, Dussault I, Forman BM. The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux. Nat Med. 2001;7:584-590.（第 4.3.53 項）
3. Maliepaard M, van Gastelen M, Faircloth GT, Jimeno JM, Beijnen JH Schellens JH. Novel marine derived anticancer agents ET-743, Aplidine, Spisulosine (ES-285) and Kahalalide F are not transported by the breast cancer resistance protein. Document ID No.: EDMS-PSDB-4697518; Proceedings of the AACR 2001;42:4352.（第 4.3.54 項）
4. Reid JM, Kuffel MJ, Ruben SL, Morales JJ, Rinehart KL, Squillace DP, et al. Rat and human liver cytochrome P-450 Isoform Metabolism of Ecteinascidin 743 does not predict gender-dependent toxicity in humans. Clin Cancer Res. 2002;8:2952-2962.（第 4.3.55 項）
5. Brandon EF, Meijerman I, Klijn JS, den Arend D, Sparidans RW, Lázaro LL, et al. In-vitro cytotoxicity of ET-743 (trabectedin, Yondelis), a marine anti-cancer drug, in the Hep G2 cell line: influence of cytochrome P450 and phase II inhibition, and cytochrome P450 inductions. Anticancer Drugs. 2005;16:935-943.（第 4.3.56 項）

ヨンデリス点滴静注用 0.25 mg

ヨンデリス点滴静注用 1 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.5　薬物動態試験の概要表

大鵬薬品工業株式会社

目次

2.6.5　薬物動態試験の概要表 4
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表 4
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験 10
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与 11
2.6.5.3.1　単回静脈内投与後の血漿中濃度（A） 11
2.6.5.3.2　単回静脈内投与後の血漿中濃度（B） 12
2.6.5.3.3　単回静脈内投与後の血漿中濃度（C） 13
2.6.5.3.4　単回静脈内投与後の血漿中濃度（D） 14
2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与 15
2.6.5.4.1　反復静脈内投与後の血漿中濃度（A） 15
2.6.5.4.2　反復静脈内投与後の血漿中濃度（B） 17
2.6.5.4.3　反復静脈内投与後の血漿中濃度（C） 20
2.6.5.4.4　反復静脈内投与後の血漿中濃度（D） 22
2.6.5.5　薬物動態試験：分布 23
2.6.5.5.1　組織分布（A） 24
2.6.5.5.2　組織分布（B） 26
2.6.5.5.3　組織分布（C） 27
2.6.5.5.4　組織分布（D） 29
2.6.5.6　薬物動態試験：蛋白結合 31
2.6.5.6.1　血漿蛋白結合及び血球移行（A） 31
2.6.5.6.2　血漿蛋白結合及び血球移行（B） 32
2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 33
2.6.5.7.1　胎盤通過試験 33
2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験 34
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 34
2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 35
2.6.5.10.1　*In Vitro* 代謝（A） 35
2.6.5.10.2　*In Vitro* 代謝（B） 38
2.6.5.10.3　*In Vitro* 代謝（C） 39
2.6.5.10.4　トラベクテジンの代謝に関与する CYP 分子種の同定 42
2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路 44
2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 44
2.6.5.12.1　薬物代謝酵素の誘導及び阻害（A） 44
2.6.5.12.2　薬物代謝酵素の誘導及び阻害（B） 46
2.6.5.12.3　薬物代謝酵素の誘導及び阻害（C） 48
2.6.5.13　薬物動態試験：排泄 49
2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中 50
2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用 51
2.6.5.15.1　薬物相互作用（A） 51

2.6.5.15.2 薬物相互作用（B）.....52
2.6.5.15.3 薬物相互作用（C）.....53
2.6.5.16 薬物動態試験：その他.....53

※ 概要表中の「ET-743」,「R279741」,「Trabectedin」はいずれも 「トラベクテジン」を示す.

薬物動態試験の概要表

1.1.1.1 薬物動態試験：一覧表

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses $\mu g/m^2$ ($\mu g/kg$)	Batch No.	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Absorption	CD1 Mice (m/f)	i.v. bolus (sterile water)	R279741 600 (200) ET-729[b] 240 (80)	01D13[a]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.1
	Sprague-Dawley Rats (m)	i.v. bolus (0.8% ethanol, 9 μg/mL ammonium acetate, 0.58 mg/mL sodium dihydrogen phosphate)	366 (61)	ETR-003[c]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.2
	Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. infusion: 3 h or 24 h (sterile water for injection)	300 (50)	01L13[a]	Yes	[redacted]	[redacted][e]	4.2.3.1.5
	Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. infusion: 3 h (sterile water for injection)	300 (50)	01L13[a] 02J15[d]	Yes	[redacted]	[redacted][f]	4.2.3.7.6.1
	Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. infusion: 3 h 3 cycles (every 3 weeks) (sterile water for injection)	15 (2.5) f. only 60 (10) 150 (25) 300 (50) 450 (75) m. only	01D13[a]	Yes	[redacted]	[redacted][g]	4.2.3.2.3

a) [redacted] R279741 ([redacted] formulation)
b) ET-729 is the *N*-desmethyl metabolite of R279741
c) ^{14}C-R279741
d) [redacted] R279741 ([redacted] formulation)
e) Companion toxicokinetics report for data from Study No. [redacted]. Single infusion administered for 3 or 24 hours.
f) Single infusion administered for 3 hours
g) Companion toxicokinetics report for data from Study No. [redacted]. Single infusion administered for 3 hours once every 3 weeks for total of 3 infusions. Samples collected after 1st and 3rd infusion.

f = female; m = male Note: Dose conversion to $\mu g/m^2$: multiply μg/kg by 3 for mice or 6 for rats.

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses $\mu g/m^2$ ($\mu g/kg$)	Batch No.	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Absorption	Cynomolgus Monkeys (m/f)	i.v. infusion: 4 (3 h) cycles[a] or 4 (24 h) cycles[b] (sterile water for injection)	Cycles 1, 2, 3 Gp 2: 300 (25)[a] Gp 3: 600 (50)[a] Gp 4: 900 (75)[a] Gp 5: 900 (75)[b] Cycle 4 Gp 2: 1440 (120)[a] Gp 3: 900 (75)[a] Gp 4: 1200 (100)[a] Gp 5: 1200 (100)[b]	01L13[c]	No	[redacted]	[redacted][d),e]	4.2.3.2.6
	Cynomolgus Monkeys (m/f)	i.v. infusion: 3[f] or 4[g] (3 h) cycles (water for injection)	120 (10)[f] 240 (20)[f] 360 (30)[f] 840 (70)[g]	02A31[c]	Yes	[redacted]	[redacted][e),h]	4.2.3.2.8
	Cynomolgus Monkeys (m/f)	i.v. infusion: 4-8 cycles (3 h, Q3W) (water for injection)	300 (25) 420 (35) 600 (50) 780 (65)	4M102[i]	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.10

a) 4 cycles: 3 cycles (3-hour infusion) every 3 weeks, followed by a higher dose in Cycle 4 (Week 9)
b) 4 cycles: 3 cycles (24-hour infusion) every 3 weeks, followed by a higher dose in Cycle 4 (Week 9)
c) [redacted] R279741 ([redacted] formulation)
d) Companion toxicokinetics report for data from Study No. [redacted]. Single infusion administered for 3 or 24 hours once every 3 weeks (i.e., a cycle) for 3 or 4 cycles.
e) Samples collected after the first administration of Cycle 1 or after last administration of Cycles 3 and 4.
f) Single 3-hour infusion once a week for 3 weeks (3 infusions/cycle; dose/cycle = 0, 360, 720, 1080 $\mu g/m^2$); cycle repeated 3 times.
g) Single 3-hour infusion once every 3 weeks (1 infusion/cycle; dose/cycle = 840 $\mu g/m^2$); cycle repeated 4 times.
h) Companion toxicokinetics report for data from Study No. [redacted]. Single 3-hour infusion administered once a week for 3 weeks (3 cycles) or once every 3 weeks (4 cycles).
i) [redacted] R279741 ([redacted] formulation)

f = female; m = male; Gp = Group; Q3W = administered once every 3 weeks Note: Dose conversion to $\mu g/m^2$: multiply $\mu g/kg$ by 12 for monkeys.

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses μg/m^2 (μg/kg)	Batch No.	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Distribution	Sprague-Dawley Rats (m)	i.v. bolus (0.8% ethanol, 9 μg/mL ammonium acetate, 0.58 mg/mL sodium dihydrogen phosphate)	366 (61)	ETR-003[a)]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.2
	Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. bolus (0.05 mol/L phosphate buffer, pH 4 + ethanol [98.8:1.2, v/v])	480 (80)	ETR-006[a)]	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.1
	Balb/c nude Mice (f)	i.v. bolus (77 μg/mL ammonium acetate, 0.4 mg/mL disodium hydrogen phosphate and traces of ethanol)	600 (200)	ETR-008[a)]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.2
	FVB wild –type (WT) and P-gp knock out Mice (m/f)	i.v. bolus (NS)	450 (150)	NS[a)]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.3
	CD-1 Mice (m/f), Sprague-Dawley Rats (m/f), New Zealand White Rabbits (f), Beagle Dogs (m), Cynomolgus Monkeys (m), Human (m)	*In vitro* protein binding and blood distribution	10 and 100 ng/mL	EXTE_3112_207_1	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.4
	Human	*In vitro* plasma protein binding interaction	3 ng/mL	WKSTD-19 WKSTD-21	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.5
	Sprague-Dawley Rats (f) Days 18 of pregnant	i.v. bolus (0.8% ethanol, 9 μg/mL ammonium acetate, 0.58 mg/mL sodium dihydrogen phosphate)	366 (61)	1695VM086F1[a)]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.6

a) ^{14}C-R279741

f = female; m = male; NS = not specified Note: Dose conversion to μg/m^2: multiply μg/kg by 3 for mice or 6 for rats.

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses $\mu g/m^2$ ($\mu g/kg$)	Batch No.	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Metabolism	Liver subcellular fractions: Albino Swiss Mice (m/f), Sprague-Dawley Rats (m/f), Albino Rabbits (f), Beagle Dogs (m), Cynomolgus Monkeys (m), Human (m/f)	*In vitro*	1.57 μmol/L 30 μmol/L	1703[a)]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.1
	Cynomolgus Monkey (m), human hepatic subcellular fractions + heterologously expressed human CYPs	*In vitro* (DMSO)	5 μmol/L 13 nmol/L	1853[a)] EXTE_0101_748_5	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.2
	Hepatocytes primary cultures: CD1 Mice (m), Sprague-Dawley Rats (m/f), Cynomolgus Monkeys (m), Human (m/f)	*In vitro*	0.03 nmol/L - 2 μmol/L	NS	No	[redacted][b)]	[redacted]	4.2.2.4.3
	Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. bolus (0.05 mol/L phosphate buffer, pH 4 + ethanol [98.8:1.2, v/v])	480 (80)	ETR-006[a)]	No	[redacted]	[redacted][c)]	4.2.2.4.4

a) ^{14}C-R279741
b) Human hepatocyte incubations were performed at Advancell (Study [redacted])
c) Bile samples obtained from Study [redacted]

f = female; m = male; NS = not specified Note: Dose conversion to $\mu g/m^2$: multiply $\mu g/kg$ by 6 for rats.

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses μg/m^2 (μg/kg)	Batch No.	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Metabolism	*Ex vivo* inhibition/ induction: Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. infusion: 3 cycles (3 h, Q3W) (sterile water for injection; control = 0.9% saline)	15 (2.5) f. only 60 (10) 150 (25) 300 (50) 450 (75) m. only	01D13[a)]	Yes	[redacted]	[redacted][b)]	4.2.2.4.5
	Ex vivo inhibition/ induction: Cynomolgus Monkeys (m/f)	i.v. infusion: 4 (3 h) cycles[d)] or 4 (24 h) cycles[e)] (water for injection; control = 0.9% saline)	Cycles 1, 2, 3 Gp 1: 0 Gp 2: 300 (25)[d)] Gp 3: 600 (50)[d)] Gp 4: 900 (75)[d)] Gp 5: 900 (75)[e)] Cycle 4 Gp 1: 0 Gp 2: 1440 (120)[d)] Gp 3: 900 (75)[d)] Gp 4: 1200 (100)[d)] Gp 5: 1200 (100)[e)]	01L13[a)]	Yes	[redacted]	[redacted][c)]	4.2.2.4.6
	Ex vivo inhibition/induction: Cynomolgus Monkeys (m/f)	i.v. infusion: 6-8 cycles (3 h, Q3W) (water for injection)	300 (25) 420 (35)	4M102[f)]	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.7

a) [redacted] R279741 ([redacted] formulation)
b) Liver samples were obtained from Study No. [redacted]
c) Liver samples were obtained from Study No. [redacted]
d) 4 cycles: 3 cycles (3-hour infusion) every 3 weeks, followed by a higher dose in Cycle 4 (Week 9)
e) 4 cycles: 3 cycles (24-hour infusion) every 3 weeks, followed by a higher dose in Cycle 4 (Week 9)
f) [redacted] R279741 ([redacted] formulation)

f = female; m = male; Gp = group; Q3W = administered once every 3 weeks Note: Dose conversion to μg/m^2: multiply μg/kg by 6 for rats or 12 for monkeys.

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses μg/m^2 (μg/kg)	Batch No.	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Excretion	Sprague Dawley Rats (m/f)	i.v. bolus (0.05mol/L phosphate buffer, pH 4 + ethanol [98.8:1.2, v/v])	378 (63)	ETR-002[a)]	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.1
	Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. bolus (0.05 mol/L phosphate buffer, pH 4 + ethanol [98.8:1.2, v/v])	480 (80)	ETR-006[a)]	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.1
	Sprague-Dawley Rats (m/f)	i.v. bolus (0.05 mol/L phosphate buffer, pH 4 + ethanol [98.8:1.2, v/v])	480 (80)	ETR-006[a)]	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.2
	FVB wild –type (WT) and P-gp knock out Mice (m/f)	i.v. bolus (NS)	450 (150)	NS[a)]	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.3

a) ^{14}C-R279741

f = female; m = male; NS = not specified Note: Dose conversion to μg/m^2: multiply μg/kg by 3 for mice, 6 for rats.

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses $\mu g/m^2$ (μg/kg)	Batch No.	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Pharmacokinetic Drug Interactions	CD-1 Mice (m/f), Sprague-Dawley Rats (m/f), New Zealand White Rabbits (f), Beagle Dogs (m), Cynomolgus Monkeys (m), Human (m)	*In vitro* protein binding and blood distribution	10, 100 ng/mL	EXTE_3112_207_1	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.4
	Human	*In vitro* plasma protein binding interaction	3 ng/mL	WKSTD-19 WKSTD-21	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.5
	Human liver microsomes	*In vitro* (0.05 mol/L phosphate buffer, pH 4)	0.01 – 5 μmol/L	SETRTD-2	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.1
	Human cDNA expressed CYPs	*In vitro* CYP inhibition (NS)	0.001, 0.005, 0.05 μmol/L	522[a)]	No	[redacted]	[redacted][b)]	4.2.2.6.2
	Human hepatocytes	*In vitro* induction (NS)	1, 10, 100, 500 nmol/L	NS	No	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.3

a) [redacted] R279741 (unformulated)
b) Superseded by more applicable data on CYP inhibition ([redacted])

f = female; m = male; NS = not specified

1.1.1.2 分析方法及びバリデーション試験

第 2.6.4.2 項及び表 2.6.4.2.1-1 に概要を記載した.

1.1.1.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

1.1.1.3.1 単回静脈内投与後の血漿中濃度（A）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]			Location in CTD 4.2.2.2.1
Species	Mouse (CD1)			
Feeding Condition	Fed			
Vehicle/Formulation	Sterile water			
Route	Intravenous bolus			
Gender (m/f)/Number of Animals per time point	m/3	f/3	m/3	f/3
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a)]	600 (200)	600 (200)	240 (80)	240 (80)
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741 (ET-743)	R279741 (ET-743)	ET-729 [b)]	ET-729[b)]
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Mean Pharmacokinetic Parameters				
AUC $_{(0-\infty)}$ (ng × h/mL)	92.3	140.2	71.4	67.3
$t_{1/2,\beta}$ (h)	21.1	20.3	39.6	18.3
Clearance (L/h/kg)	2.18	1.45	1.01	1.19
Volume of Distribution related to the terminal-phase elimination rate constant (L/kg)	20.9	13.4	31.8	15.4
Additional Information				
200 μg/kg is 0.75×the maximum tolerated dose for mice.				

a) To obtain dose in μg/kg (for mice) divide dose expressed as μg/m^2 by 3
b) ET-729 is the *N*-desmethyl metabolite of R279741.
f = female; m = male

1.1.1.3.2 単回静脈内投与後の血漿中濃度（B）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]	Location in CTD 4.2.2.2.2
Species	Rat (Sprague-Dawley)	
Feeding Condition	Fed	
Vehicle/Formulation	0.8% ethanol, 9 μg/mL ammonium acetate, 0.58 mg/mL sodium dihydrogen phosphate, about 16 μg/mL ^{14}C- R279741	
Route	Intravenous bolus	
Gender (m/f)/Number of Animals	m/3 per time point	
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a)]	366 (61)	
Sample	Plasma	
Analyte	R279741	
Assay	LC/MS/MS	
Mean Pharmacokinetic Parameters		
AUC $_{(0-\infty)}$ (ng × h/mL)	0.376	
$t_{1/2}$ (h)	14.7 min (= 0.245 h)	
(Time for calculation –min)	20 – 60 min	
Clearance (L/h//kg)	162	
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	49.4	

Additional Information
Lower quantitation limit (LOQ) of assay = 0.05 ng/mL. Plasma collected at 7 and 20 minutes, 1, 3, 8, 24, 48 and 96 hours after i.v. administration. Concentrations of R279741 were below the LOQ at 3 hours post administration.

a) To obtain dose in μg/kg (for rats) divide dose expressed as μg/m^2 by 6
f = female; m = male

1.1.1.3.3 単回静脈内投与後の血漿中濃度（C）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted][a]			Location in CTD 4.2.3.1.5
Species	Rat (Sprague-Dawley)			
Feeding Condition	Fed			
Vehicle/Formulation	Sterile water for injection; 3.33 µg/mL		Sterile water for injection; 0.83 µg/mL	
Route	Intravenous bolus		Intravenous bolus	
Gender (m/f)/Number of Animals	m2	f:2	m:2	f:2
Dose µg/m^2 [b] (µg/kg)[c]	300 (50)	300 (50)	300 (50)	300 (50)
Duration of infusion (h)	3	3	24	24
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Mean Pharmacokinetic Parameters				
C_{max} (ng/mL)	0.804	0.994	0.131	0.188
T_{max} (h)	0.58	0.47	23.2	22.9
AUC (ng × h/mL)	1.72	2.94	2.76	3.74
(Time for calculation –h)	0-4	0-4	0-27	0-27
$t_{1/2}$[d] (h)	--	--	--	--

Additional Information

Single infusions of R279741 were administered continuously for 3 or 24 hours. Blood samples were collected at intervals after the infusion. Two of four animals per sex per group contributed blood for analysis at alternate bleedings through 24 hours after the infusion. At each bleeding period thereafter, all four animals contributed plasma for analysis of R279741. Therefore, pharmacokinetic parameters are calculated using two values (n = 2) per bleeding time point through 24 hours and n = 4 at 32, 48 and 72 hours after infusion.

a) FK4299 is the toxicokinetic portion of Exp No. [redacted]

b) To obtain dose in µg/kg (for rats) divide dose expressed as µg/m^2 by 6

c) The 50 µg/kg dose was the maximum tolerated dose determined in a previous dose range finding study (Exp No. [redacted]).

d) The variable levels of R279741 in plasma after infusion precluded calculation of $t_{1/2}$

f = female; m = male, -- = value could not be calculated

1.1.1.3.4 単回静脈内投与後の血漿中濃度（D）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]			Location in CTD 4.2.3.7.6.1
Species	Rat (Sprague-Dawley)			
Feeding Condition	Fed			
Vehicle/Formulation	[redacted] R279741 in physiological saline; 3.33 μg/mL		[redacted] R279741 in physiological saline; 3.33 μg/mL	
Route	Intravenous; 3 hour infusion		Intravenous; 3 hour infusion	
Gender (m/f)/Number of Animals	m:2	f:2	m:2	f:2
Dose $\mu g/m^{2}$ [a] ($\mu g/kg$)[b]	300 (50)	300 (50)	300 (50)	300 (50)
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Mean Pharmacokinetic Parameters				
C_{max} (ng/mL)	1.35	0.924	1.07	1.14
AUC (ng × h/mL)	2.24	1.90	2.35	2.16
(Time for calculation –h)	0-5	0-5	0-5	0-5
AUC (ng × h/mL)	2.82	--	2.69	--
(Time for calculation –h)	0-∞	0-∞	0-∞	0-∞
$t_{1/2}$ (h)	4.4	[c]	2.8	[c]
(Time for calculation –h)	4-7.33	--	4-5.33	--
Clearance (L/h/kg)	17.7	--	18.6	--
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	35.9	--	20.4	--

Additional Information
A single infusion of R279741 was administered continuously for 3 hours to groups of 4 male and 4 female rats. Blood samples were collected at intervals after the infusion. Two of four animals per sex per group contributed blood for analysis at each collection time point through 48 hours after the infusion. Therefore, pharmacokinetic parameters are calculated based on mean (n = 2) plasma concentrations.

a) To obtain dose in μg/kg (for rats) divide dose expressed as $\mu g/m^2$ by 6
b) The dose (50 μg/kg) was determined to be the maximum tolerated dose in Exp No. [redacted].
c) The variable levels of R279741 in plasma after infusion precluded calculation of $t_{1/2}$

-- = value could not be calculated
f = female; m = male

1.1.1.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

1.1.1.4.1 反復静脈内投与後の血漿中濃度（A）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted][a]							Location in CTD 4.2.3.2.3
Species	Rat (Sprague-Dawley)							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Sterile water for injection/0.9% saline							
Route	Intravenous infusion							
Gender (m/f)/Number of Animals	f:2	m:2	f:2	m:2	f:2	m:2	f:2	m:2
Dose μg/m^2 (μg/kg)[b]	15 (2.5)	60 (10)	60 (10)	150 (25)	150 (25)	300 (50)	300 (50)	450 (75)
Duration of Dosing	First 3 h infusion	First 3 h infusion	First 3 h infusion	First 3 h infusion	First 3 h infusion	First 3 h infusion	First 3 h infusion	First 3 h infusion
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C_{max} (ng/mL)	0.154	0.947	0.483	0.814	0.481	1.63	1.30	2.00
AUC[c] (ng × h/mL)	--	0.910	0.634	2.15	1.23	4.76	3.30	5.97
(Time for calculation –h)		0-4	0-4	0-6	0-4	0-8	0-8	0-8
AUC[d] (ng × h/mL)	--	0.750	0.634	1.86	1.23	4.07	2.96	5.07
(Time for calculation –h)		0-3.5	0-4	0-3.5	0-4	0-3.5	0-4	0-3.5
T_{max} (h)[e]	3.2	3.2	3.0	2.7	2.5	0.65	2.5	2.7

Additional Information
Single infusions of R279741 were administered once every three weeks (i.e. a cycle) for a total of three cycles. Blood samples were collected after the first and third infusion. Two of four animals per sex per group contributed blood for analysis at alternate bleedings through 24 hours after the first infusion. At each bleeding period thereafter, all four animals contributed plasma for analysis of R279741. Therefore, pharmacokinetic parameters are calculated using two values (n=2) per bleeding time point through 24 hours and n = 4 at 48 and 72 hours after infusion. $t_{1/2}$, CL and Vd_{ss} could not be estimated from the data.

a) FK4252 is the toxicokinetic portion of Toxicology Exp No. [redacted]
b) To obtain dose in μg/kg (for rats) divide dose expressed as μg/m^2 by 6
c) AUC_{0-t} calculated on times zero up to and including the last concentration above the LLOQ (Lower Limit of Quantitation)
d) AUC_{0-4} or $AUC_{0-3.5}$ calculated on times zero up to and including the first time point, i.e. at nominal time 4 h or 3.5 h, after the end of infusion
e) corrected nominal time
-- = not applicable, or could not be calculated
f = female; m = male

2.6.5.4.1 反復静脈内投与後の血漿中濃度（A）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]							Location in CTD 4.2.3.2.3
Species	Rat (Sprague-Dawley)							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Sterile water for injection/0.9% saline							
Route	Intravenous infusion							
Gender (m/f)/Number of Animals	f: 2	m: 2	f: 2	m: 2	f: 2	m: 2	f: 2	m: 2
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a)] infusion or cycle	15 (2.5)	60 (10)	60 (10)	150 (25)	150 (25)	300 (50)	300 (50)	450 (75)
Duration of Dosing	Third 3 h infusion	Third 3 h infusion	Third 3 h infusion	Third 3 h infusion	Third 3 h infusion	Third 3 h infusion	Third 3 h infusion	Third 3 h infusion
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C_{max} (ng/mL)	--	0.351	0.302	1.25	1.01	1.92	1.29	--
AUC[b)] (ng × h/mL)	--	0.635	0.740	2.21	2.15	7.43	8.55	--
(Time for calculation –h)		0-4	0-4	0-4	0-6	0-24	0-48	
AUC[c)] (ng × h/mL)	--	0.586	0.674	1.94	1.85	4.91	3.53	--
(Time for calculation –h)		0-3.5	0-3.5	0-3.5	0-3.5	0-3.5	0-6[d)]	
T_{max} (h)[e)]	--	2.7	2.6	3.2	3.1	0.73	3.1	--

Additional Information

Single infusions of R279741 were administered once every three weeks (i.e. a cycle) for a total of three cycles. Two of four animals per sex per group contributed blood for analysis at alternate bleedings through 24 hours after the first infusion. At each bleeding period thereafter, all four animals contributed plasma for analysis of R279741. Therefore, pharmacokinetic parameters are calculated using two values per bleeding time point through 24 hours and n = 4 at 48 and 72 hours after infusion. $t_{1/2}$, CL and Vdss could not be estimated from the data.

a) To obtain dose in μg/kg (for rats) divide dose expressed as μg/m^2 by 6

b) AUC_{0-t} calculated on times zero up to and including the last concentration above the LLOQ (Lower Limit of Quantitation)

c) $AUC_{0-3.5}$ or AUC_{0-6} calculated on times zero up to and including the first time point after the end of infusion

d) The first time point after the end of infusion was 6 h

e) corrected nominal time

-- = not applicable, or could not be calculated

f = female; m = male

1.1.1.4.2 反復静脈内投与後の血漿中濃度（B）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted][a]							Location in CTD 4.2.3.2.6
Species	Monkey, cynomolgus							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Sterile water for injection/0.9% saline							
Route	Intravenous infusion							
Gender (m/f)/Number of Animals	m:1	f:1	m:1	f:1	m:1	f: 1	m:1	f:1
Dose μg/m^2 (μg/kg)[b] infusion or cycle	300 (25)	300 (25)	600 (50)	600 (50)	900 (75)	900 (75)	900 (75)	900 (75)
Duration of Dosing	3 h infusion/1st Cycle		3 h infusion/1st Cycle		3 h infusion/1st Cycle		24 h infusion/1st Cycle	
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C_{max} (ng/mL)	0.783	0.824	2.80	6.80	3.24	2.58	1.76	1.04
AUC (ng × h/mL)	7.79	10.9	22.7	28.2	30.3	26.9	51.6	--
(Time for calculation –h)	0-∞	0-∞	0-∞	0-∞	0-∞	0-∞	0-∞	
$t_{1/2}$ (h)	41	81	77	77	74	96	109	--
(Time for calculation –h)	24-96	24-144	24-192	72-168	24-192	24-264	120-264	
Clearance (L/h/kg)	3.21	2.28	2.20	1.78	2.47	2.79	1.45	--
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	142	197	161	80.7	176	287	106	--

Additional Information
Single infusions of R279741 were administered once every three weeks (i.e. a cycle). Two animals per sex per group contributed blood for analysis at alternate bleedings through 144 hours after the first infusion. At each bleeding period thereafter, both animals contributed plasma for analysis of R279741. Pharmacokinetic values are calculated using one value per bleeding based on n = 1 or mean of n = 2.

a) [redacted] is the toxicokinetic portion of Toxicology Exp No. [redacted].
b) To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12.

-- = parameter could not be estimated accurately
f = female; m = male

2.6.5.4.2 反復静脈内投与後の血漿中濃度（B）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]						Location in CTD 4.2.3.2.6	
Species	Monkey, cynomolgus							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Sterile water for injection/0.9% saline							
Route	Intravenous infusion							
Gender (m/f)/Number of Animals	m:1	f:1	m:1	f:1	m:1	f:1	m:1	f:1
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a)] infusion or cycle	300 (25)	300 (25)	600 (50)	600 (50)	900 (75)	900 (75)	900 (75)	900 (75)
Duration of Dosing	3 h infusion/3rd Cycle		3 h infusion/3rd Cycle		3 h infusion/3rd Cycle		24 h infusion/3rd Cycle	
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C_{max} (ng/mL)	0.792	0.987	5.29	2.86	1.66	1.38	1.75	1.66
AUC (ng × h/mL)	6.80[b)]	11.3	--	--	24.3	27.1[b)]	--	--
(Time for calculation –h)	0-∞	0-∞			0-∞	0-∞		
$t_{1/2}$ (h)	48	83	173	229	63	231	--	--
(Time for calculation –h)	24-72	24-144	72-144	72-144	24-144	144-240		
Clearance (L/h/kg)	3.68	2.21	--	--	3.09	2.77	--	--
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	193	200	--	--	230	534	--	--

Additional Information
Single infusions of R279741 were administered once every three weeks (i.e. a cycle). Two animals per sex per group contributed blood for analysis at alternate bleedings after the 3rd infusion. Pharmacokinetic parameters are therefore based on n = 1 or mean of n = 2.

a) To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12
b) $AUC_{0-\infty}$ was extrapolated from AUC_{0-t} and was more than 25% greater than AUC_{0-t}.

-- = parameter could not be estimated accurately
f = female; m = male

2.6.5.4.2 反復静脈内投与後の血漿中濃度（B）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]							Location in CTD 4.2.3.2.6
Species	Monkey, cynomolgus							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Sterile water for injection/0.9% saline							
Route	Intravenous, infusion							
Gender (m/f)/Number of Animals	m:1	f:1	m:1	f:1	m:1	f:1	m:1	f:1
Dose 4th Cycle μg/m^2 (μg/kg)[a)] infusion or cycle	900 (75)[b)]	900 (75)[b)]	1200 (100)[c)]	1200 (100)[c)]	1440 (120)[d)]	1440 (120)[d)]	1200 (100)[e)]	1200 (100)[e)]
Duration of Dosing	3 h infusion/4th Cycle		3 h infusion/4th Cycle		3 h infusion/4th Cycle		24 h infusion/4th Cycle	
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C_{max} (ng/mL)	3.66	5.08	--	5.62	4.27	5.68	0.835	1.21
AUC (ng × h/mL)	34.9	33.5	--	--	--	84.0	30.5	49.7
(Time for calculation –h)	0-∞	0-∞				0-∞	0-∞	0-∞
$t_{1/2}$ (h)	92	99	62	--	--	137	81	74
(Time for calculation –h)	24-264	72-240	24-144			72-240	120-264	120-264
Clearance (L/h/kg)	2.15	2.24	--	--	--	1.43	3.28	2.01
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	212	171	--	--	--	219	292	167

Additional Information

Single infusions of R279741 were administered once every three weeks (i.e. a cycle). Two animals per sex per group contributed blood for analysis at alternate bleedings after the 4th infusion. Values are therefore based on n = 1 or mean of n = 2.

Plasma levels were <LLOQ at 408 or 432 h after the third infusion.

a) To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12
b) Animals received 3 cycles at 50 μg/kg (3 h) followed by a 4th cycle at 75 μg/kg (3 h)
c) Animals received 3 cycles at 75 μg/kg (3 h) followed by a 4th cycle at 100 μg/kg (3 h)
d) Animals received 3 cycles at 25 μg/kg (3 h) followed by a 4th cycle at 120 μg/kg (3 h)
e) Animals received 3 cycles at 75 μg/kg (24 h) followed by a 4th cycle at 100 μg/kg (24 h)

-- = parameter could not be estimated accurately
f = female; m = male

1.1.1.4.3 反復静脈内投与後の血漿中濃度（C）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]				Location in CTD 4.2.3.2.8			
Species	Monkey, cynomolgus							
Feeding Condition	Fasted							
Vehicle/Formulation	Sterile, physiological saline							
Route	Intravenous infusion							
"Cycle" (see "additional information")	1st	3rd	1st	3rd	1st	3rd	1st	4th
Gender (m/f)/Number of Animals	m/1	m/1	m/1	m/1	m/1	m/1	m/1	m/1
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a)]/infusion	120 (10)	120 (10)	240 (20)	240 (20)	360 (30)	360 (30)	840 (70)	840 (70)
Dose μg/m^2 (μg/kg)/cycle	360 (30)	360 (30)	720 (60)	720 (60)	1080 (90)	1080 (90)	840 (70)	840 (70)
Duration of Dosing	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C_{max} (ng/mL)	0.396	0.403	0.945	1.10	1.48	1.85	2.63	3.95
T_{max} (h)	2.83	2.83	2.83	2.83	1.0	2.83	2.83	2.83
AUC (ng × h/mL)	1.63	1.88	3.96	5.13	5.73	6.98	12.8	15.5
(Time for calculation –h)	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24
AUC (ng × h/mL)	1.63	3.49	8.64	10.5	8.9	14.0	29.6	36.2
(Time for calculation –h)	0-24	0-168	0-∞	0-168	0-96	0-96	0-∞	0-∞
$t_{1/2}$ (h)	--	63	60	49	149	--	61	64
(Time for calculation –h)		24-72	72-96	72-96	96-144		144-216	24-144
Clearance (L/h/kg)	--	2.87	2.32	1.90	--	--	2.37	1.94
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	--	--	137	--	--	--	160	132

Additional Information

Plasma samples were obtained from monkeys treated in an intermittent dose range-finding toxicology study, [redacted]. Three-hour infusions of 10, 20 or 30 μg/kg/infusion R279741 were administered once a week for three weeks followed by a one-week recovery (i.e. a cycle). This cycle of treatments was repeated for a total of three cycles. The 70 μg/kg/infusion group received a single 3 h infusion per week followed by two weeks of recovery (i.e. a cycle). This treatment was repeated for four cycles. For most sampling times/group/sex, one plasma concentration (n=1) was available.

Data presented in this table were collected after the first administration of cycle 1 or after the last administration of cycle 3 (cycle 4 in the high dose group)

a) To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12

-- = parameter could not be estimated accurately

f = female; m = male

2.6.5.4.3 反復静脈内投与後の血漿中濃度（C）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]						Location in CTD 4.2.3.2.8	
Species	Monkey, cynomolgus							
Feeding Condition	Fasted							
Vehicle/Formulation	Sterile water for injection/0.9% saline							
Route	Intravenous infusion							
"Cycle" (see "additional information")	1st	3rd	1st	3rd	1st	3rd	1st	4th
Gender (m/f)/Number of Animals	f:1	f:1	f:1	f:1	f:1	f:1	f:1	f:1
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a)]/infusion	120 (10)	120 (10)	240 (20)	240 (20)	360 (30)	360 (30)	840 (70)	840 (70)
Dose μg/m^2 (μg/kg)/cycle	360 (30)	360 (30)	720 (60)	720 (60)	1080 (90)	1080 (90)	840 (70)	840 (70)
Duration of Dosing	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C_{max} (ng/mL)	0.399	0.666	0.589	1.17	1.83	3.41	5.29	6.19
T_{max} (h)	2.83	1.0	1.0	2.83	2.83	1.0	2.83	2.83
AUC (ng × h/mL)	--	2.57	2.94	5.25	6.72	10.3	15.8	19.0
(Time for calculation –h)		0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24
AUC (ng × h/mL)	--	4.18	5.39	11.2	12.9	15.9	31.6	40.0
(Time for calculation –h)		0-168	0-168	0-168	0-∞	0-168	0-∞	0-∞
$t_{1/2}$ (h)	--	85	73	74	--	138	42	45
(Time for calculation –h)		24-72	48-96	96-144		96-144	144-216	144-216
Clearance (L/h/kg)	--	2.39	--	1.79	2.32	1.89	2.21	1.75
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	--	--	--	--	125	--	121	94.4

Additional Information

Plasma samples were obtained from monkeys treated in an intermittent dose range-finding toxicology study, [redacted]. Three-hour infusions of 10, 20 or 30 μg/kg/infusion R279741 were administered once a week for three weeks followed by a one-week recovery (i.e. a cycle). This cycle of treatments was repeated for a total of three cycles. The 70-μg/kg group received a single 3 h infusion per week followed by two weeks of recovery (i.e. a cycle). This treatment was repeated for four cycles. For most sampling times/group/sex, one plasma concentration (n = 1) was available.

Data presented in this table were collected after the first administration of cycle 1 or after the last administration of cycle 3 (cycle 4 in the high dose group)

a) To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12
-- = parameter could not be estimated accurately
f = female; m = male

1.1.1.4.4 反復静脈内投与後の血漿中濃度（D）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]					Location in CTD 4.2.3.2.10
Species	Monkey, cynomolgus					
Feeding Condition	NS					
Vehicle/Formulation	Sterile Water for Injection/0.9% Sodium Chloride, USP					
Route	Intravenous infusion (Central Catheter)					
"Cycle" (see "additional information")	1st	8th	1st	6th	1st	1st
Gender (m/f)/Number of Animals with TK sampling	m:3	m:3	m:3	m:3	m:3	m:5
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a)]/infusion	300 (25)	300 (25)[b)]	420 (35)	420 (35)[c)]	600 (50)[d)]	780 (65)[d)]
Dose μg/m^2 (μg/kg)/cycle	300 (25)	300 (25)	420 (35)	420 (35)	600 (50)	780 (65)
Duration of Dosing	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters						
C_{max} (ng/mL)	1.70 ± 0.184	0.0881 ± 0.0183[e)]	2.50[f)](2.24, 2.75)	1.94[e), f)] (0.0878, 3.80)	2.96 ± 0.807	3.71 ± 0.795
T_{max} (h)	1.50 ± 0.866	2.50 ± 0[e)]	2.50[f)] (2.50, 2.50)	73.4[e), f)] (144, 2.50)	2.00 ± 0.866	2.50 ± 0
AUC (ng × h/mL)	11.2 ± 1.40	2.99 ± 1.14[e)]	12.5[f)] (14.1, 11.0)	12.5[e), f)] (6.24, 18.7)	20.1 ± 4.36	25.3 ± 2.59
(Time for calculation –h)	0-144	0-144	0-144	0-144	0-144	0-144
AUC (ng × h/mL)	12.3 ± 2.44	--	--[g)]	--	23.3 ± 4.76	28.8 ± 2.73[h)]
(Time for calculation –h)	0-∞	--	--	--	0-∞	0-∞
$t_{1/2}$ (h)	45.1 ± 17.7	--	--	--	63.7 ± 4.53	53.0 ± 8.39[h)]
Clearance (L/h/kg)	2.08 ± 0.396	--	--	--	2.21 ± 0.460	2.27 ± 0.232[h)]
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	82.9 ± 20.9	--	--	--	131 ± 32.5	116 ± 25.5[h)]

Additional Information

The study was initiated with three-hour infusions of 25, 50, or 65 μg/kg/infusion R279741 administered once every three weeks (i.e. a cycle). Due to mortality in the 50 and 65 μg/kg/infusion groups, a 35-μg/kg/infusion group was added to the study. Data presented in this table were collected after the first administration of cycle 1 for each group and after the last administration for 25 and 35 μg/kg groups (the dose cycle is indicated at the top of each column heading).

a) To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12

b) 3 hour infusion once every 3 weeks for 8 cycles

c) 3 hour infusion once every 3 weeks with vehicle for 5 cycles followed by 6 cycles with R279741

d) 3 hour infusion once every 3 weeks for 4 cycles (plasma samples were not collected after the last cycle), followed by an 8-week recovery period

e) Repeated dose data may have been confounded by the inflammatory reaction at the site of injection and resulting secondary pathology

f) One animal had R279741 which were below the lower limit of quantification at all time points; these data were not included in the calculation of mean values

g) One animal had an extrapolated AUC of 36%

h)n=4

The data represents the mean ± standard deviation. The data in the parentheses show the individual value of two animals.

NS = not specified; -- = parameter could not be estimated accurately f = female; m = male

2.6.5.4.4 反復静脈内投与後の血漿中濃度（D）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]				Location in CTD 4.2.3.2.10	
Species	Monkey, cynomolgus					
Feeding Condition	NS					
Vehicle/Formulation	Sterile Water for Injection/0.9% Sodium Chloride, USP					
Route	Intravenous infusion (Central Catheter)					
"Cycle" (see "additional information")	1st	8th	1st	6th	1st	1st
Gender (m/f)/Number of Animals with TK sampling	f:3	f:3	f:3	f:2	f:3	f:5
Dose μg/m^2 (μg/kg)[a]/infusion	300 (25)	300 (25)[b]	420 (35)	420 (35)[c]	600 (50)[d]	780 (65)[d]
Dose μg/m^2 (μg/kg)/cycle	300 (25)	300 (25)	420 (35)	420 (35)	600 (50)	780 (65)
Duration of Dosing	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion	3 h infusion
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741	R279741
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters						
C_{max} (ng/mL)	2.09 ± 0.445	0.9865[e, f] (0.233, 1.74)	1.99 ± 2.25	1.85[e] (3.60, 0.103)	3.76 ± 1.07	5.23 ± 1.19
T_{max} (h)	2.00 ± 0.866	2.50[e, f] (2.50, 2.50)	2.00 ± 0.866	1.75[e] (1.00, 2.50)	2.50 ± 0	1.60 ± 0.822
AUC (ng × h/mL)	11.5 ± 0.945	7.34[e, f] (6.22, 8.46)	12.1 ± 5.91	8.41[e] (15.6, 1.23)	20.5 ± 3.51	27.6 ± 4.42
(Time for calculation –h)	0-144	0-144	0-144	0-144	0-144	0-144
AUC (ng × h/mL)	12.9 ± 1.69	--	13.1 ± 5.61	--	25.0 ± 4.13	31.5 ± 4.74[g]
(Time for calculation –h)	0-∞	--	0-∞	--	0-∞	0-∞
$t_{1/2}$ (h)	60.1 ± 16.4	--	36.7 ± 15.4	--	84.1 ± 12.6	70.9 ± 14.5[g]
Clearance (L/h/kg)	1.96 ± 0.239	--	3.10 ± 1.56	--	2.04 ± 0.349	2.10 ± 0.278[g]
Volume of Distribution at Steady State (L/kg)	92.5 ± 26.4	--	116 ± 71.5	--	147 ± 29.9	121 ± 30.3[g]

Additional Information

The study was initiated with three-hour infusions of 25, 50, or 65 μg/kg/infusion R279741 administered once every three weeks (i.e. a cycle). Due to mortality in the 50 and 65 μg/kg/infusion groups, a 35-μg/kg/infusion group was added to the study. Data presented in this table were collected after the first administration of cycle 1 for each group and after the last administration for 25 and 35 μg/kg groups (the dose cycle is indicated at the top of each column heading).

a) To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12

b) 3 hour infusion once every 3 weeks for 8 cycles

c) 3 hour infusion once every 3 weeks with vehicle for 5 cycles followed by 6 cycles with R279741

d) 3 hour infusion once every 3 weeks for 4 cycles (plasma samples were not collected after the last cycle), followed by an 8-week recovery period

e) Repeated dose data may have been confounded by the inflammatory reaction at the site of injection and resulting secondary pathology

f) One animal had R279741 which were below the lower limit of quantification at all time points; these data were not included in the calculation of mean values

g) n=4

The data represents the mean ± standard deviation. The data in the parentheses show the individual value of two animals.

NS = not specified; -- = parameter could not be estimated accurately f = female; m = male

1.1.1.5 薬物動態試験：分布

1.1.1.5.1 組織分布（A）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]	Location in CTD: 4.2.2.2.2
Species	Rat (Sprague-Dawley)	
Gender (m/f)/Number of Animals	m/3 per time point	
Feeding Condition	Fed	
Vehicle/Formulation	0.8% ethanol, 9 μg/mL ammonium acetate, 0.58 mg/mL sodium dihydrogen phosphate/16 μg/mL ^{14}C-R279741	
Route	Intravenous bolus	
Dose μg/m^2 (μg/kg)	366 (61)	
$AUC_{0-\infty}$ (ng × h/mL)	0.376 (UD)	
AUC ratio tissue: plasma	1.00	
Radionuclide	^{14}C	
Specific Radioactivity	2.67 MBq/mg	
	Mean Total Radioactivity	
Tissues/Organs	AUC_{0-24h} (μg-eq. × h/mL or g)[a)]	AUC_{0-24h} ratio tissue/plasma
Plasma	0.0108	1.00
Brain	NC	0.241[b)]
Eyeballs	0.343	31.8
Heart	1.38	128
Kidney	3.18	295
Urinary Bladder	0.884	81.8
Liver	1.61	149
Lungs	5.33	494
Pancreas	2.95	273
Spleen	7.09	656
Adrenal Glands	4.50	416
Lacrimal Glands	0.978	90.5
Lymph Nodes (mesenteric)	3.86	358
Pituitary Gland	2.58	239

a) AUC_{0-24} (ng × h/mL) based on total radioactivity
b) C_{7min}-ratio
NC = not calculated; UD = unchanged drug
Note: To obtain dose in μg/kg (for rats) divide dose expressed as μg/m^2 by 6
f = female; m = male

2.6.5.5.1 組織分布（A）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]		Location in CTD: 4.2.2.2.2
	Mean Total Radioactivity	
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg-eq. × h/g)	$AUC_{0\text{-}24h}$ ratio tissue/plasma
Tissues/Organs (Continued)		
Salivary Gland	1.95	180
Thymus	1.20	111
Thyroid	6.45	598
Prostate	0.916	84.8
Testes	0.048	4.4
Bone	1.04	96.4
Bone Marrow	3.40	315
Fat (brown)	1.75	162
Fat (perirenal)	0.300	27.8
Muscle	0.502	46.5
Skin and fur	0.677	62.7
Stomach Wall	1.06	97.8
Small Intestine Wall	2.00	185
Large Intestinal Wall	1.50	138

1.1.1.5.2 組織分布（B）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]	Location in CTD: 4.2.2.3.1
Species	Rat (Sprague-Dawley)	
Gender (m/f)/Number of Animals	m4/f4	
Feeding Condition	Fasted	
Vehicle/Formulation	NaH_2PO_4 50 mmol/L (pH 4) + ethanol (98.8:1.2, v/v)	
Route	Intravenous bolus	
Dose (μg/kg)	80 μg/kg (5 mL/kg)	
Radionuclide	^{14}C	
Specific Radioactivity	1.1 μCi/g formulation	
	% of Total Administered Radioactivity	
Sampling Time 168 hours (7 days)	Male	Female
Tissues/Organs		
GI Tract	2.05	4.87
Liver	1.50	4.86
Brain	BLQ	BLQ
Kidneys	0.43	1.27
Lungs	0.31	1.02
Skin	4.12	7.36
Carcass	8.59	22.73
Total Tissue Recovery	17.00	42.10

BLQ = below lower limit of quantification
f = female; m = male

1.1.1.5.3 組織分布（C）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]	Location in CTD: 4.2.2.3.2
Species	Mouse (Balb/c nude)	
Gender (m/f)/Number of Animals	f/3 per time point	
Feeding Condition	Fed	
Vehicle/Formulation	R279741 (80 µg/mL) in aqueous formulation containing 77 µg/mL ammonium acetate, 0.4 mg/mL disodium hydrogen phosphate and traces of ethanol	
Route	Intravenous bolus	
Dose µg/m^2 (µg/kg)	600 (200)	
Radionuclide	^{14}C	
Specific Radioactivity	59.4 µCi/mg (2.2 MBq/mg)	
Sampling Time	$AUC_{0\text{-}96h}$ (µg-eq. × h/g)	$AUC_{0\text{-}96h}$ ratio tissue/plasma
Tissues/Organs		
Plasma	0.143[a)]	1
Liver	7.498	52
Muscle	1.064	7
Mammary Gland	4.186	29
Tumor-bearing Mammary Gland	3.462	24
Femur	2.193	15
Additional Information		
Tissue concentrations were determined at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, and 96 h after dosing. Maximum concentration of total radioactivity was observed at 1-hour postdose, except in plasma (0.5 h- observed C_{max}).		

a) Plasma concentration at t = 0 hours was calculated to be 0.0553 µg-eq./g by linear regression on the data points from 0.5 to 2 hours

Note: To obtain dose in µg/kg (for mice) divide dose expressed as µg/m^2 by 3
f = female; m = male

2.6.5.5.3 組織分布（C）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]	Location in CTD: 4.2.2.3.2
Species	Mouse (Balb/c nude)	
Gender (m/f)/Number of Animals	f/3 per time point	
Feeding Condition	Fed	
Vehicle/Formulation	R279741 (80 μg/mL) in aqueous formulation containing 77 μg/mL ammonium acetate, 0.4 mg/mL disodium hydrogen phosphate and traces of ethanol	
Route	Intravenous bolus	
Dose μg/m^2 (μg/kg)	600 (200)	
Radionuclide	^{14}C	
Specific Radioactivity	59.4 μCi/mg (2.2 MBq/mg)	

	Mean Concentration of Total Radioactivity (μg-eq./g)							
Sampling Time (h)	0.5	1	2	4	8	24	48	96
Tissues/Organs								
Plasma	0.0323	0.0164	0.0056	0.0028	0.0016	0.0008	0.0006	0.0014
Liver	0.213	0.323	0.181	0.120	0.151	0.097	0.064	0.037
Muscle	0.015	0.031	0.019	0.010	0.012	0.014	0.009	0.011[a)]
Mammary Gland	0.068	0.069	0.036	0.035	0.039	0.038	0.045	0.049
Tumor-bearing Mammary Gland	0.038	0.063	0.044	0.018	0.029	0.041	0.033	0.041
Femur	0.028	0.075	0.056	0.039	0.043	0.036	0.017	0.008

Additional Information
Tissue concentrations were determined at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, and 96 h after dosing.
Maximum concentration of radioactivity from administered ^{14}C-R279741 for all tissues, except plasma, was observed at 1-hour postdose (bold numbers)

a) n = 2 (median value; one value below limit of quantification)

Note: To obtain dose in μg/kg (for mice) divide dose expressed as μg/m^2 by 3
f = female; m = male

1.1.1.5.4 **組織分布（D）**

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]						Location in CTD: 4.2.2.3.3
Species	Mouse {FVB wild-type (WT) and P-gp knockout (*mdr1a/1b*(-/-))}						
Gender (m/f)/ Number of Animals	m/4 each for WT and *mdr1a/1b*(-/-)						
Feeding Condition	Fed						
Route	Intravenous bolus						
Dose μg/m^2 (μg/kg)	450 (150)						
Radionuclide	^{14}C						
Specific Radioactivity	NS						
Sampling Time	7, 20 min, 1, 3, 8, 24, 48, 96 hours						
Tissues/Organs	WT $AUC_{0\text{-}96\ h}$ (μg-eq. × h/g)	SE	Tissue/plasma ratio	*mdr1a/1b*(-/-) $AUC_{0\text{-}96h}$ (μg-eq. × h/g)	SE	Tissue/plasma ratio	*mdr1a/1b*(-/-)/WT ratio
Plasma	0.371	0.055	1.0	0.420	0.039	1.0	1.1
Brains	0.188	0.019	0.51	2.48	0.09	5.9	13.2***
Muscle	2.07	0.09	5.6	2.88	0.46	6.8	1.4
Fat	7.33	1.12	19.8	6.58	0.84	15.7	0.90
Colon	74.8	5.1	202	85.6	5.2	204	1.14
Caecum	133.9	18.7	361	120.3	12.2	286	0.90
Small intestine	8.46	0.18	22.8	12.1	0.4	28.7	1.4**
Stomach	49.0	3.5	132	55.9	1.9	133	1.1
Liver	12.2	0.7	32.8	12.2	0.4	29.1	1.0
Gallbladder	555.1	123.7	1498	426.4	84.9	1015	0.77
Kidneys	9.99	0.28	27.0	8.47	0.35	20.2	0.85*

NS = not specified, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001
Note: To obtain dose μg/m^2 in (for mice) multiple doses expressed as μg/kg by 3
f = female; m = male

2.6.5.5.4 組織分布（D）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]						Location in CTD: 4.2.2.3.3
Species	Mouse {FVB wild-type (WT) and P-gp knock out (*mdr1a/1b*(-/-))}						
Gender (m/f)/ Number of Animals	m/4 each for WT and *mdr1a/1b*(-/-)						
Feeding Condition	Fed						
Route	Intravenous bolus						
Dose μg/m^2 (μg/kg)	450 (150)						
Radionuclide	^{14}C						
Specific Radioactivity	NS						
Sampling Time	7, 20 min, 1, 3, 8, 24, 48, 96 hours						
Tissues/Organs	WT $AUC_{0\text{-}96\ h}$ (μg-eq. × h/g)	SE	Tissue/ plasma ratio	*mdr1a/1b*(-/-) $AUC_{0\text{-}96\ h}$ (μg-eq. × h/g)	SE	Tissue/plasma ratio	*mdr1a/1b*(-/-)/WT ratio
Lungs	15.8	0.9	42.6	18.1	1.0	43.1	1.2
Spleen	36.2	1.1	97.6	30.1	3.3	71.6	0.83
Heart	4.61	0.19	12.4	6.46	0.19	15.4	1.4**
Thymus	71.3	6.9	192	73.3	9.2	175	1.0
Lymph nodes	99.06	22.92	267	127.9	8.0	304	1.3
Testes	0.802	0.045	2.2	1.68	0.07	4.0	2.1**
Epididymides	0.815	0.105	2.2	0.653	0.032	1.6	0.80
Adrenals	5.16	0.41	13.9	5.62	0.72	13.4	1.1
Bone	1.70	0.12	4.6	1.70	0.08	4.0	1.0
Skin	2.37	0.22	6.4	3.11	0.32	7.4	1.3
Pancreas	84.1	4.1	227	82.7	3.6	197	0.98

NS = not specified, ** $p<0.01$
f = female; m = male

1.1.1.6 薬物動態試験：蛋白結合

1.1.1.6.1 血漿蛋白結合及び血球移行（A）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]							Location in CTD: 4.2.2.3.4
Study System: Target Entity, Test System, and Method:	Plasma protein binding was studied by equilibrium dialysis of plasma samples from male and female mice, male and female Sprague-Dawley rats, female New Zealand White rabbits, male Beagle dogs, male Cynomolgus monkeys, and male humans, after fortification with unlabeled R279741. The distribution of R279741in blood of the different species, except the monkey, was also studied.							
Species	Mouse		Rat		Rabbit	Dog	Monkey	Human
	Male	Female	Male	Female	Female	Male	Male	Male
Concentration Tested	100 ng/mL	100 ng/mL	100 ng/mL	100 ng/mL	100 ng/mL	100 ng/mL	100 ng/mL	100 ng/mL[a)]
Plasma % Bound	98.91	98.78	95.29	94.91	89.99	98.95	94.42	97.28
Plasma % Free	1.09	1.22	4.72	5.09	10.01	1.05	5.60	2.73
Blood-to-Plasma Ratio	0.73	0.69	1.51	1.46	1.50	0.69	NA	0.89
Distribution to Plasma Water (%)	0.0086	0.0103	0.0185	0.0213	0.0419	0.0071	NA	0.0163
Distribution to Plasma Proteins (%)	0.7924	0.8365	0.3740	0.3955	0.3770	0.6705	NA	0.5793
Distribution to Blood Cells (%)	0.1990	0.1532	0.6076	0.5833	0.5812	0.3225	NA	0.4045

Additional Information
Means values were obtained using pooled plasma samples from rats and mice (n = 3) and plasma samples from individual rabbits, dogs, monkeys and humans (n = 3 except monkeys; n = 2). Two determinations were made on each plasma sample.
R279741 was more strongly bound to human α1-acid glycoprotein (90.06% to 96.67%) than to human serum albumin (86.03%) when both proteins were evaluated at their physiological concentrations.

a) Also tested at 10 ng/mL with comparable results (97.77% bound)

NA = not applicable

1.1.1.6.2 血漿蛋白結合及び血球移行（B）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]	Location in CTD: 4.2.2.3.5
Study System: Target Entity, Test System, and Method:	Study [redacted] – Ultrafiltration: After incubation for 60 minutes at 37 °C, R279741 in plasma was diffused through an ultrafiltration membrane and the ultrafiltrate was analyzed for concentration of test article using LC/MS/MS.
Species	Human[a)] (n = 9)
Concentration Tested (ng/mL)	3 ng/mL
Plasma % Bound	94.2
Plasma % Free	5.8
Blood-to-Plasma Ratio	NA
Distribution to Plasma Water (%)	NA
Plasma Proteins (%)	NA
Blood Cells (%)	NA
Additional Information In study [redacted], plasma spiked with R279741 was also incubated with various possible displacing compounds: acetylsalicylic acid, ceftazidime, cloxacillin, diazepam, diclofenac, digitoxin, erythromycin, ondansetron, paracetamol, phenytoin, propranolol, tamoxifen, valproic acid and warfarin. Clinically relevant concentrations of these drugs were not able to alter R279741's free fraction to a statistically significant extent.	

a) Gender not specified

NA = not applicable

1.1.1.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

1.1.1.7.1 胎盤通過試験

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]				Location in CTD: 4.2.2.3.6
Species	Rat (Sprague-Dawley)				
Gender (m/f)/Number of Animals	f (Day 18 of gestation):3 per time point				
Feeding Condition	Fed				
Vehicle/Formulation	R279741 (12.2 μg/mL) in aqueous formulation containing 9 μg/mL ammonium acetate, 0.58 mg/mL sodium dihydrogen phosphate and 0.8% ethanol.				
Route	Intravenous bolus				
Dose $\mu g/m^2$ (μg/kg)	366 (61)				
Radionuclide	^{14}C				
Specific Radioactivity	1.94 MBq/mg				
	Concentration of Total Radioactivity (ng-eq./mL or g)				
Sampling Time (hours)	0.5	1	2	8	24
Tissues/Organs					
Maternal plasma	3.73 ± 0.56	2.45 ± 0.38	1.44 ± 0.22	0.633 ± 0.102	ND
Maternal blood	6.56 ± 1.15	4.45 ± 0.59	2.88 ± 0.14	ND	ND
Placenta	60.8 ± 8.1	57.0 ± 3.3	59.5 ± 7.8	49.1 ± 2.7	38.4 ± 4.0
Amnion	25.2 ± 4.3	30.6 ± 3.1	36.5 ± 12.1	40.6 ± 6.2	36.6 ± 11.3
Amniotic fluid	ND	ND	ND	ND	ND
Fetus	1.86 ± 0.61	2.48 ± 0.36	2.56 ± 0.45	2.35 ± 0.75	2.48 ± 0.15
Fetal blood	ND	ND	ND	ND	ND
Fetal brain	ND	ND	ND	ND	ND
Fetal heart	ND	ND	ND	ND	ND
Fetal lung	2.55 ± 0.46	3.21 ± 0.58	3.22 ± 0.49	3.80 ± 0.62	3.17 ± 0.24
Fetal liver	4.61 ± 0.31	5.13 ± 0.69	6.73 ± 1.26	6.21 ± 0.79	7.04 ± 1.11
Fetal kidney	ND	ND	ND	ND	ND

(mean±SD, n=3) ND: not detected, Note: Dose conversion to $\mu g/m^2$: multiply μg/kg by 6
f = female; m = male

2.6.5.7.1 胎盤通過試験（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]				Location in CTD: 4.2.2.3.6
Species	Rat (Sprague-Dawley)				
Gender (m/f)/Number of Animals	f (Day 18 of gestation):3 per time point				
Feeding Condition	Fed				
Vehicle/Formulation	R279741 (12.2 μg/mL) in aqueous formulation containing 9 μg/mL ammonium acetate, 0.58 mg/mL sodium dihydrogen phosphate and 0.8% of ethanol.				
Route	Intravenous bolus				
Dose $\mu g/m^2$ (μg/kg)	366 (61)				
Radionuclide	^{14}C				
Specific Radioactivity	1.94 MBq/mg				
	Tissue Distribution of Total Radioactivity[a)] (% of dose)				
Sampling Time (hours)	0.5	1	2	8	24
Tissues/Organs					
Placenta	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.02
Amnion	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01
Amniotic fluid	NC	NC	NC	NC	NC
Fetus	0.01 ± 0 .01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
Fetal brain	NC	NC	NC	NC	NC
Fetal heart	NC	NC	NC	NC	NC
Fetal lung	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
Fetal liver	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.01 ± 0.00
Fetal kidney	NC	NC	NC	NC	NC

(mean±SD, n=3), a) Distribution ratio in one fetus were expressed. NC: not calculated, Note: Dose conversion to $\mu g/m^2$: multiply μg/kg by 6
f = female; m = male

1.1.1.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当なし.

1.1.1.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

該当なし.

1.1.1.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

1.1.1.10.1 *In Vitro*代謝（A）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]															Location in CTD: 4.2.2.4.1	
Study System	^{14}C-R279741 incubated with liver 12,000 *g* supernatant of indicated species at 1.57 or 30 μmol/L for 120 minutes[a)]															
Sex	Mouse				Rat				Rabbit		Dog		Monkey[b)]		Human	
	Male		Female		Male		Female		Female		Male		Male		Male + Female (pooled)	
Time (min)	120		120		120		120		120		120		120		120	
Concentration (μmol/L)	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30
Parent	7.1	53.7	47.6	77.5	1.7	26.6	19.1	68.8	--	38.3	4.3	61.7	1.5	57.3	5.0	65.6
1	3.7	2.0	1.7	--	17.1	5.3	1.8	--	12.2	--	3.1	--	--	--	4.1	--
2	--	--	--	--	25.5	3.7	--	--	4.1	--	2.8	--	9.0	--	6.5	--
3	--	--	--	--	16.7	5.2	--	--	5.0	--	--	--	6.5	--	2.6	--
4	8.4	T	--	--	9.9	5.6	2.8	--	14.9	--	8.3	--	T	T	--	--
5	22.2	4.6	4.2	--	--	--	6.8	--	8.3	--	10.8	--	--	--	5.5	T
6	--	--	--	--	--	--	--	--	2.4	--	--	--	8.3	--	4.5	--
7	4.7	--	--	--	--	--	--	--	4.3	--	3.3	--	--	--	--	--
8b	5.3	2.6	4.8	T	4.5	11.3	38.8	9.4	9.9	8.4	38.8	11.7	--	8.9	--	3.9
9	5.5	T	--	--	6.2	--	--	--	6.2	--	--	--	12.0	9.4	5.7	--
10[c)]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	5.7	--
11	--	--	--	--	--	--	--	--	6.6	--	--	--	6.1	T	5.3	--
12[d)]	3.1	T	4.7	3.2	5.5	13.1	7.4	T	--	9.7	11.0	T	--	2.7	--	1.8
13	--	--	--	--	--	--	--	--	1.9	--	2.5	--	7.2	--	8.1	--
13'[c)]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	2.5
14[d)]	8.7	4.8	7.4	T	T	6.4	9.7	T	T	2.2	11.0	4.4	--	5.7	--	3.0
15	3.7	9.7	7.6	T	--	--	T	--	--	--	--	--	--	--	--	--
16a, b, c	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	18.0	2.9	11.4	2.1
17[e)]	--	4.1	4.2	5.7	--	T	T	4.5	--	3.2	T	2.0	--	4.9	--	3.6
18	--	--	--	--	--	--	3.9	T	T	--	4.1	--	--	--	--	--
19[d)]	--	--	4.4	T	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
20[e)]	--	8.4	8.8	9.0	--	7.3	8.0	7.6	--	4.6	2.8	7.7	--	4.3	1.6	5.0
SUM	72.4	89.9	95.4	95.4	87.1	84.5	98.3	90.3	75.8	66.4	102.8	87.5	68.6	96.1	66.0	87.5

a) Values represent percentage of the injected sample radioactivity accounted for by Parent Drug or the various metabolites
b) Cynomolgus monkey
c) Compounds 10 and 13' are likely to be chemical degradants
d) Compounds 12, 14 and 19 may be chemical degradants
e) Compounds 17 and 20 are degradants

-- = Not detected (detection limit: 200 dpm); T = Not unequivocally detectable, or radioactivity ≤ 3% of the injected sample radioactivity

2.6.5.10.1 *In Vitro* 代謝（A）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]															Location in CTD: 4.2.2.4.1	
Study System:	^{14}C-R279741 incubated with hepatic microsomes of indicated species at 1.57 or 30 μmol/L for 120 minutes[a)]															
	Mouse				Rat				Rabbit		Dog		Monkey[b)]		Human	
Sex	Male		Female		Male		Female		Female		Male		Male		Male + Female (pooled)	
Time (min)	120		120		120		120		120		120		120		120	
Concentration (μmol/L)	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30	1.57	30
Parent	T	51.2	43.1	70.0	--	48.2	18.1	58.9	--	6.4	7.9	68.9	--	56.4	T	39.7
1	--	--	--	--	3.8	T	T	T	--	10.5	--	--	--	--	--	T
2	--	--	--	--	6.0	T	--	--	7.2	--	4.0	--	6.4	T	13.9	T
3	--	--	--	--	10.3	T	--	--	--	6.0	--	--	14.2	T	8.0	T
4	T	T	--	--	--	T	T	T	8.5	7.4	7.1	--	5.8	T	--	--
5	T	T	T	--	--	--	T	--	T	7.0	4.8	--	--	--	--	--
6	--	--	--	--	--	--	--	--	T	--	--	--	5.6	--	6.0	T
7	--	--	--	--	--	--	--	--	5.8	T	4.3	--	--	--	--	--
8b	T	2.6	1.9	T	--	T	3.7	3.3	14.2	26.1	23.1	7.3	T	4.2	--	T
9	T	T	--	--	--	T	--	--	T	--	14.1	--	5.4	--	5.0	--
10[c)]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
11	--	--	--	--	--	--	--	--	--	T	--	--	4.4	T	T	T
12[d)]	T	4.7	3.2	5.6	6.8	5.7	3.8	T	--	5.8	4.9	T	--	T	--	--
13	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	T	--	--	--	--	--
13'[c)]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
14[d)]	3.5	2.8	2.9	--	--	--	2.2	T	3.0	3.8	6.0	2.3	--	3.8	3.6	2.7
15	2.7	T	4.5	--	--	--	5.0	--	--	--	--	--	--	--	--	--
16 a, b, c	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	6.1	--	T	--
17[e)]	--	3.2	3.2	4.4	--	3.5	T	3.3	--	--	--	2.9	--	3.2	--	3.5
18	--	--	--	--	--	--	--	--	3.1	2.4	6.9	--	--	--	--	--
19[d)]	--	--	2.9	T	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
20[e)]	2.1	--	12.3	9.4	--	7.1	7.8	8.9	T	--	5.1	11.4	--	5.9	--	7.7
SUM	8.3	64.5	74.0	89.4	26.9	64.5	40.6	74.4	41.8	75.4	88.2	92.8	47.9	73.5	36.5	53.6

a) Values represent percentage of the injected sample radioactivity accounted for by Parent Drug or the various metabolites
b) Cynomolgus monkey
c) Compounds 10 and 13' are likely to be chemical degradants
d) Compounds 12, 14 and 19 may be chemical degradants
e) Compounds 17 and 20 are degradants

-- = Not detected (detection limit: 200 dpm); T = Not unequivocally detectable, or radioactivity ≤ 3% of the injected sample radioactivity

2.6.5.10.1 *In Vitro* 代謝（A）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.4.1

Study System: ^{14}C-R279741 (2 μmol/L) incubated in blood of indicated species for 0, 30, 90 and 120 minutes[a)]

Sex	Mouse Male				Mouse Female				Rat Male				Rat Female			
Time (min)	0	30	90	120	0	30	90	120	0	30	90	120	0	30	90	120
Parent	20.0	40.6	40.4	37.7	21.7	34.2	34.8	38.8	37.9	42.1	38.8	32.8	33.2	38.4	33.4	27.1
Degradant eluting at ± 34.7 min	5.1	6.9	6.4	5.8	1.4	5.5	4.4	3.3	2.8	1.5	1.6	1.0	3.5	1.6	2.7	1.5
Degradant eluting at ± 36.7 min	4.1	11.3	21.4	18.9	7.8	18.2	16.5	20.9	4.8	10.3	12.3	10.2	11.0	10.6	13.8	15.9
17[b)]	6.1	3.9	5.9	6.0	2.9	5.0	4.8	5.3	4.2	2.4	3.6	2.2	3.9	3.1	2.4	2.2
20[b)]	18.2	32.5	20.0	18.6	31.5	29.4	34.4	25.0	22.4	27.1	21.2	34.7	23.1	34.4	32.8	35.0
SUM	53.5	95.2	94.1	87.0	65.3	92.3	94.9	93.3	72.1	83.4	77.5	80.9	74.7	88.1	85.1	81.7

a) Values represent percentage of the injected sample radioactivity accounted for by Parent Drug or the various metabolites
b) Compounds 17 and 20 are degradants

Study System: ^{14}C-R279741 (2 μmol/L) incubated in blood (plasma for monkey[b)]) of indicated species for 0, 30, 60 and 120 minutes[a)]

Sex	Rabbit Female				Dog Male				Monkey[b)] Male				Human Not Specified			
Time (min)	0	30	60	120	0	30	60	120	0	30	60	120	0	30	60	120
Parent	32.4	23.7	27.9	16.1	26.0	31.2	25.8	22.2	22.6	35.5	38.9	24.4	28.1	16.9	25.3	22.4
Degradant eluting at ± 34.7 min	1.6	1.1	1.2	0.9	1.3	2.7	2.7	2.0	--	--	--	--	--	--	--	--
Degradant eluting at ± 36.7 min	20.4	15.4	10.1	11.2	6.3	13.1	13.0	9.5	20.0	18.5	21.0	20.2	11.8	7.2	6.5	5.4
17[c)]	4.6	4.1	1.7	4.0	5.4	3.0	3.1	3.2	1.6	1.7	1.7	2.0	4.9	2.6	2.7	3.3
20[c)]	38.1	52.2	50.3	60.7	42.5	43.6	49.1	55.9	46.0	36.7	29.9	41.4	34.8	62.2	52.9	58.0
SUM	97.1	96.5	91.2	92.9	81.5	93.6	93.7	92.8	90.2	92.4	91.5	88.0	79.6	88.9	87.4	89.1

a) Values represent percentage of the injected sample radioactivity accounted for by Parent Drug or the various metabolites
b) Cynomolgus monkey
c) Compounds 17 and 20 are degradants

-- = Not detected (detection limit: 200 dpm)

1.1.1.10.2 *In Vitro*代謝（B）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]		Location in CTD: 4.2.2.4.2
Study System:	^{14}C-R279741 incubated with liver 12,000 *g* supernatant of male Cynomolgus monkey and human at 5 µmol/L for 120 minutes[a)]	
	Monkey[b)]	Human
Sex	Male	Male+Female (pooled)
Time (min)	120	120
Concentration (µmol/L)	5 µmol/L	5 µmol/L
Parent	9.2	14.9
4a + 4b	8.4	8.0
6a + 6b	2.1	2.8
8a + 8b + 8c + 9	30.4	24.1
11a + 11b[c)]	2.3	2.9
16b + 16c + 16d + 16e	6.9	10.0
21[c)]	3.9	5.0
22[c)]	1.5	1.5
20[c)]	1.2	1.5
SUM	65.9	70.7

Additional Information
R279741 was not substantially metabolized via glucuronidation in liver microsomes of either species.

a) Values represent the percentage area of the radioactivity peaks accounted for by Parent Drug and by the various metabolites
b) Cynomolgus monkey
c) Chemical degradants (CN derivatives of parent drug and metabolites)

1.1.1.10.3 *In Vitro*代謝（C）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]										Location in CTD: 4.2.2.4.3	
Study System: Human		Hepatocyte Primary Culture BH-444 (female subject)[a)]					Hepatocyte Primary Culture BH-445 (male subject)[a)]				
Concentration			2 µmol/L		100 nmol/L			2 µmol/L		100 nmol/L	
Time (h)		0	8	24	8	24	0	8	24	8	24
Compound	Metabolic Step										
Parent		96.8	45.6	20.9	40.4	7.9	92.7	39.7	26.5	36.1	14.3
8b	N-demethylation	--	8.6	9.4	--	11.3	--	8.7	7.6	9.2	--
14	Oxidation	--	9.6	5.6	--	--	--	4.3	2.5	--	--
17		2.2	3.3	--	--	--	3.7	--	--	--	--
20		2.5	2.8	1.7	--	--	5.1	1.8	1.5	5.2	--
SUM		101.5	69.9	37.6	40.4	19.2	101.5	54.5	38.1	50.5	14.3

Additional Information

Metabolism of ^{14}C-R279741 was investigated in two preparations of human hepatocytes in primary cell culture (BH-444 and BH-445). A metabolic step is not identified for compounds 17 and 20 because these compounds are degradants since they were present in un-incubated (0 minute) samples and in incubates without hepatocytes.

Study System: Male Sprague-Dawley rat		Hepatocyte Primary Culture No. 2129[a)]					Hepatocyte Primary Culture No. 2130[a)]				
Concentration			2 µmol/L		100 nmol/L			2 µmol/L		100 nmol/L	
Time (h)		0	8	24	8	24	0	8	24	8	24
Compound	Metabolic Step										
Parent		78.8	46.9	22.1	73.4	28.6	98.6	45.9	32.0	55.2	24.7
8b	N-demethylation	--	3.0	2.9	--	--	--	4.0	5.2	--	--
12		--	11.5	13.1	11.1	10.6	--	16.4	18.3	15.0	10.2
17		3.0	0.5	--	--	--	2.6	--	--	--	--
20		15.0	6.2	4.4	--	13.9	6.5	9.7	8.8	18.7	9.9
SUM		96.8	68.1	42.5	84.5	53.1	107.7	76.0	64.3	88.9	44.8

Additional Information

Metabolism of ^{14}C-R279741 was investigated in two preparations of male Sprague-Dawley rat hepatocytes in primary cell culture (Nos. 2129 and 2130). A metabolic step is not identified for compounds 17 and 20 because these compounds are degradants since they were present in un-incubated (0 minute) samples and in incubates without hepatocytes.

a) Values represent the percentage of the injected sample radioactivity accounted for by Parent Drug or the various metabolites.

-- = Not detected (detection limit: 200 dpm)

2.6.5.10.3 *In Vitro* 代謝（C）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]										Location in CTD: 4.2.2.4.3
Study System: Female Sprague-Dawley rat		Hepatocyte Primary Culture No. 2134[a)]					Hepatocyte Primary Culture No. 2136[a)]				
Concentration		2 µmol/L			100 nmol/L		2 µmol/L			100 nmol/L	
Time (h)		0	8	24	8	24	0	8	24	8	24
Compound	Metabolic Step										
Parent		44.6	71.8	61.4	91.8	72.5	76.2	67.1	63.6	73.2	59.8
8b	N-demethylation	--	2.4	1.9	--	--	--	4.8	5.2	--	--
17		1.3	4.3	3.4	--	--	6.0	4.4	3.1	--	--
20		2.9	4.4	4.7	5.8	8.6	15.7	16.2	7.0	7.7	8.2
SUM		48.8	82.9	71.4	97.6	81.1	97.9	92.5	78.9	80.9	68.0

Additional Information

Metabolism of ^{14}C- R279741 was investigated in two preparations of female Sprague-Dawley rat hepatocytes in primary cell culture (Nos. 2134 and 2136). A metabolic step is not identified for compounds 17 and 20 because these compounds are degradants since they were present in un-incubated (0 minute) samples and in incubates without hepatocytes.

Study System: Male CD1 mouse		Hepatocyte Primary Culture No. 16[a)]					Hepatocyte Primary Culture No. 17[a)]				
Concentration		2 µmol/L			100 nmol/L		300 nmol/L			100 nmol/L	
Time (h)		0	8	24	8	24	0	8	24	8	24
Compound	Metabolic Step										
Parent		69.9	5.4	10.2	32.7	--	49.9	12.0	26.3	38.6	19.3
8b	N-demethylation	--	2.2	--	--	--	--	--	--	--	--
14	Oxidation	--	0.6	--	--	--	--	--	--	--	--
17		2.1	--	--	--	--	--	--	--	--	--
20		4.2	0.9	3.5	11.3	--	26.5	8.0	12.9	20.5	10.5
SUM		76.2	9.1	13.7	44.0	--	76.4	20.0	39.2	59.1	29.8

Additional Information

Metabolism of ^{14}C- R279741 was investigated in two preparations of male CD1 mouse hepatocytes in primary cell culture (Nos. 16 and 17). A metabolic step is not identified for compounds 17 and 20 because these compounds are degradants since they were present in un-incubated (0 minute) samples and in incubates without hepatocytes.

a) Values represent the percentage of the injected sample radioactivity accounted for by Parent Drug or the various metabolites.

-- = Not detected (detection limit: 200 dpm)

2.6.5.10.3 *In Vitro* 代謝（C）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]										Location in CTD: 4.2.2.4.3
Study System: Male Cynomolgus monkey		Hepatocyte Primary Culture No. 3[a)]					Hepatocyte Primary Culture No. 4[a)]				
Concentration		2 µmol/L			100 nmol/L		2 µmol/L			100 nmol/L	
Time (h)		0	8	24	8	24	0	8	24	8	24
Compound	Metabolic Step										
Parent		87.8	13.5	--	21.2	--	59.8	6.4	--	55.8	--
3		--	17.8	12.8	5.8	--	--	--	--	--	--
8b	N-demethylation	--	18.3	16.4	7.3	--	--	22.0	18.6	--	11.9
14	Oxidation	--	1.8	--	--	--	--	--	--	3.3	--
17		4.1	7.2	4.0	10.6	--	4.2	13.1	5.4	5.5	--
20		6.2	2.5	--	4.7	--	34.4	4.5	--	36.1	--
SUM		98.1	61.1	33.2	49.6	--	98.4	46.0	24.0	100.7	11.9

Additional Information

Metabolism of ^{14}C- R279741 was investigated in two preparations of male Cynomolgus monkey hepatocytes in primary cell culture (Nos. 3 and 4). A metabolic step is not identified for compounds 17 and 20 because these compounds are degradants since they were present in un-incubated (0 minute) samples and in incubates without hepatocytes.

a) Values represent the percentage of the injected sample radioactivity accounted for by Parent Drug or the various metabolites

-- = Not detected (detection limit: 200 dpm)

1.1.1.10.4 トラベクテジンの代謝に関与するCYP分子種の同定

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted]	Location in CTD: 4.2.2.4.2

Type of Study: Inhibition of R279741 Metabolism

Method: Inhibition of the metabolism of R279741 in human liver microsomes by diagnostic inhibitors was carried out at a R279741 concentration of 10 ng/mL (13 nmol/L). The amount of unchanged R279741 was determined by LC/MS/MS. For each inhibitor, the value represent the percentage of R279741, after 20 min incubation, of its initial value at 0 min incubation.

Inhibitor (concentration)	Cytochrome P450 Form Inhibited	R279741 remaining after 20 min of incubation, expressed as % of its corresponding 0 min value
Furafylline (10 μmol/L)	CYP1A2	4.17
8-methoxypsoralen (2.5 μmol/L)	CYP2A6	5.56
Trimethoprim (100 μmol/L)	CYP2C8	7.37
Sulphaphenazole (10 μmol/L)	CYP2C9	6.09
3-Benzyl-phenobarbital (1 μmol/L)	CYP2C19	8.75
Quinidine (3 μmol/L)	CYP2D6	4.23
Diethyldithiocarbamate (100 μmol/L)	CYP2E1/2A6	7.80
Ketoconazole (1 μmol/L)	CYP3A4	82.3
Troleandomycin (200 μmol/L)	CYP3A4	85.0

2.6.5.10.4 トラベクテジンの代謝に関与する CYP 分子種の同定（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.4.2

Type of Study: Inhibition of R279741 Metabolism

Method: Inhibition of the metabolism of R279741 in human liver microsomes by diagnostic inhibitory antibodies was carried out at a R279741 concentration of 10 ng/mL (13 nmol/L). The amount of unchanged R279741 was determined by LC/MS/MS. For each antibody, the value represent the percentage of R279741, after 20 min incubation, of its initial value at 0 min incubation.

Antibody	Antigen	R279741 remaining after 20 min of incubation, expressed as % of its corresponding 0 min value
MP1A2	CYP1A2	14.7
MP2A6	CYP2A6	16.8
MP2B6	CYP2B6	15.4
MP2C8	CYP2C8	15.0
MP2C9	CYP2C9	15.6
MP2C19	CYP2C19	14.3
MP2D6	CYP2D6	14.9
MP2E1	CYP2E1	16.8
Mab3A4	CYP3A4	73.9

Additional Information

At 5 µmol/L, metabolism of R279741 occurred in recombinant systems (*E. coli*) containing CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 or CYP3A5 but not in systems containing CYP1B1, CYP2C19 or CYP4A11

1.1.1.11 薬物動態試験：推定代謝経路

該当なし.

1.1.1.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

1.1.1.12.1 薬物代謝酵素の誘導及び阻害（A）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.4.5

Type of Study : Induction and/or inhibition of hepatic microsomal enzymes in the rat

Method: R279741 was administered to male (m) and female (f) Sprague-Dawley rats (n = 4) 3 times as a 3-hour intravenous infusion every 3 weeks at doses of 0, 2.5 (f), 10, 25, 50 and 75 (m) μg/kg. Liver microsomes were prepared from surviving rats and assayed for protein and cytochrome P450 content and for CYP isozyme activity. Assays were validated using hepatic microsomes prepared from male rats treated with known inducers. Values represent the ratio to control values.

Tabulated Results[a)]		P450 isozyme(s)	MALES				
			Control	60 μg/m^2 (10 μg/kg)	150 μg/m^2 (25 μg/kg)	300 μg/m^2 (50 μg/kg)	450 μg/m^2 [b)] (75 μg/kg)
Relative liver wt	(g liver/100 g BW)		2.26	1.3***	1.2*	1.6***	1.9
Microsomal protein	(mg/g liver)		18.33	0.7*	1.2	0.8	0.5
Cytochrome P450; Peak	(nm)		451.3	1.0	1.0**	1.0	1.0
	(nmol/mg protein)		0.580	0.4**	1.1	0.7*	0.4
Aniline hydroxylase	(nmol/min/mg protein)	CYP2E1	0.548	0.5*	1.2	0.8	0.3
N-Ethylmorphine *N*-demethylase	(nmol/min/mg protein)	CYP3A1 & 2	5.889	0.3*	0.9	0.5	--
7-Ethoxyresorufin *O*-deethylase	(nmol/min/mg protein)	CYP1A1 & 2	0.052	0.8	0.8	1.2	0.5
7-Pentoxyresorufin *O*-dealkylase	(nmol/min/mg protein)	CYP2B	0.028	0.8	1.2	0.6*	0.5
Lauric acid hydroxylase	(nmol/min/mg protein)	CYP4A1	1.191	0.4*	0.8	0.5	0.4
Thyroxine glucoronosyltransferase	(pmol/min/mg protein)		4.613	0.2***	0.8	0.8	0.4

Additional Information
Liver samples for analysis were obtained from rats 3 days after last infusion cycle in toxicology Exp No. [redacted]

a) For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control is shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).
b) n = 1

-- no measurable activity; BW = body weight; wt=weight
* $p \le 0.05$, ** $p \le 0.01$, *** $p \le 0.001$
Note: To obtain dose in μg/kg (for rats) divide dose expressed as μg/m^2 by 6

2.6.5.12.1 薬物代謝酵素の誘導及び阻害（A）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.4.5

Type of Study : Induction and/or inhibition of hepatic microsomal enzymes in the rat

Method: R279741 was administered to male (m) and female (f) Sprague Dawley rats (n = 4) 3 times as a 3-hour intravenous infusion every 3 weeks at doses of 0, 2.5 (f), 10, 25, 50 and 75 (m) μg/kg. Liver microsomes were prepared from surviving rats and assayed for protein and cytochrome P450 content and for CYP isozyme activity. Assays were validated using hepatic microsomes prepared from male rats treated with known inducers. Values represent the ratio to control values.

Tabulated Results[a)]		P450 isozyme(s)	Control	FEMALES 15 μg/m^2 (2.5 μg/kg)	60 μg/m^2 (10 μg/kg)	150 μg/m^2 (25 μg/kg)	300 μg/m^2 (50 μg/kg)
Relative liver wt	(g liver/100 g BW)		2.57	1.3***	1.1	1.5***	NA
Microsomal protein	(mg/g liver)		15.67	0.5***	0.6**	0.6*	NA
Cytochrome P450; Peak	(nm)		450.8	1.0	1.0	1.0	NA
	(nmol/mg protein)		0.398	0.5**	0.9	0.7	NA
Aniline hydroxylase	(nmol/min/mg protein)	CYP2E1	0.580	0.3**	0.8	0.3***	NA
N-Ethylmorphine *N*-demethylase	(nmol/min/mg protein)	CYP3A1 & 2	0.562	--	1.0	--	NA
7-Ethoxyresorufin *O*-deethylase	(nmol/min/mg protein)	CYP1A1 & 2	0.046	0.8*	1.2	1.0	NA
7-Pentoxyresorufin *O*-dealkylase	(nmol/min/mg protein)	CYP2B	0.018	0.8	1.0	0.8	NA
Lauric acid hydroxylase	(nmol/min/mg protein)	CYP4A1	0.955	0.3**	0.6	0.5*	NA
Thyroxine glucoronosyltransferase	(pmol/min/mg protein)		5.479	0.5*	0.7	0.8	NA

Additional Information
Liver samples for analysis were obtained from rats 3 days after last infusion cycle in toxicology Exp No. [redacted].

a) For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control is shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).

-- no measurable activity; NA = not available, no animals survived; BW = body weight; wt=weight
* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$
Note: To obtain dose in μg/kg (for rat) divide dose expressed as μg/m^2 by 6

1.1.1.12.2 薬物代謝酵素の誘導及び阻害（B）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.4.6

Type of Study : Hepatic Enzyme Activities

Method: Cynomolgus monkeys received 3- or 24-hour infusions of R279741 in cycles of 3 weekly infusions followed by one-week recovery. Liver samples were to be collected from one animal per sex per group at 6-7 days after the last infusion and 24-25 days after infusion. Because of toxicity, this schedule could not be kept (see liver sampling times below).

Experiment Design:

Treatment	Dose (Cycles 1-3)	(Cycle 4)	Liver sampled (Days after last infusion)
Group1 – 4 cycles, 3 h/infusion	saline	saline	Male 7 25 Female 6 24
Group2 – 4 cycles, 3 h/infusion	300 μg/m^2(25μg/kg)	1440 μg/m^2(120 μg/kg)	2 3 6 15
Group3 - 4 cycles, 3 h/infusion	600 μg/m^2(50 μg/kg)	900 μg/m^2(75 μg/kg)	7 16 6 24
Group4 - 4 cycles, 3 h/infusion	900 μg/m^2(75 μg/kg)	1200 μg/m^2(100 μg/kg)	7 18 7 16
Group5 - 4 cycles, 24 h/infusion	900 μg/m^2(75 μg/kg)	1200 μg/m^2(100 μg/kg)	7 25 7 12

Tabulated Results[a)]

Parameter		P450 isozyme	Hepatic enzyme activity Days 2-7 post infusion % of Relative Control									
			Control		Group 2		Group 3		Group 4		Group 5	
			Male	Female	Male[b)]	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Cytochrome P450 content	nmol/mg protein		1.00	1.34	1.6	0.9	1.3	0.8	1.1	1.0	0.8	1.0
7-Methoxyresorufin *O*-demethylase	pmol/min/mg protein	CYP1A	698	407	0.2	1.9	0.7	1.0	0.6	1.1	0.6	0.7
Coumarin 7-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP2A	1.74	1.99	0.1	0.4	0.7	0.5	0.5	0.4	0.7	1.0
Testosterone 16β-hydroxylase	pmol/min/mg protein	CYP2B	550	225	0.6	1.0	1.1	1.6	0.7	1.3	0.3	0.2
Tolbutamide methylhydroxylase	pmol/min/mg protein	CYP2C	141	146	0.3	0.8	1.0	0.7	1.0	1.1	0.4	0.7
S-mephenytoin 4'-hydroxylase	pmol/min/mg protein	CYP2C	294	133	0.2	0.9	0.8	1.2	0.9	1.9	0.5	1.2
Chlorzoxazone 6-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP2E	2.58	1.89	0.7	3.3	2.0	2.7	1.9	1.9	1.5	2.1
Testosterone 6β-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP3A	4.50	3.78	0.7	1.0	0.7	1.1	1.0	1.1	0.6	0.8
Midazolam 1'-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP3A	1.60	2.56	0.7	0.9	1.1	0.8	1.1	0.9	1.1	0.8

a) For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control are shown.

b) Mean of n = 2 for Group 2 males

Note: To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12

2.6.5.12.2 薬物代謝酵素の誘導及び阻害（B）（続き）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.4.6

Type of Study : Hepatic Enzyme Activities

Method: Cynomolgus monkeys received 3- or 24-hour infusions of R279741 in cycles of 3 weekly infusions followed by one-week recovery. Liver samples were to be collected from one animal per sex per group at 6-7 days after the last infusion and 24-25 days after infusion. Because of toxicity, this schedule could not be kept (see liver sampling times below)

Experiment Design:	Treatment	Dose (Cycles 1-3)	(Cycle 4)	Liver sampled (Days after last infusion)
Group1 –	4 cycles, 3 h/infusion	saline	saline	Male 7 25 Female 6 24
Group2 –	4 cycles, 3 h/infusion	300 μg/m^2(25 μg/kg)	1440 μg/m^2(120 μg/kg)	2 3 6 15
Group3 -	4 cycles, 3 h/infusion	600 μg/m^2(50 μg/kg)	900 μg/m^2(75 μg/kg)	7 16 6 24
Group4 -	4 cycles, 3 h/infusion	900 μg/m^2(75μg/kg)	1200 μg/m^2(100 μg/kg)	7 18 7 16
Group5 -	4 cycles, 24 h/infusion	900 μg/m^2(75 μg/kg)	1200 μg/m^2(100 μg/kg)	7 25 7 12

Tabulated Results[a)]

Parameter		P450 isozyme	Hepatic enzyme activity Days 12-25 post infusion % of Relative Control									
			Control		Group 2		Group 3		Group 4		Group 5	
			Male	Female	Male[b)]	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Cytochrome P450 content	nmol/mg protein		1.33	1.15		0.3	0.5	0.7	0.6	0.6	0.8	0.5
7-Methoxyresorufin *O*-demethylase	pmol/min/mg protein	CYP1A	554	256		0.8	0.5	1.5	1.5	1.6	0.6	0.3
Coumarin 7-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP2A	1.47	1.75		0.2	0.3	0.8	0.4	0.3	0.7	0.1
Testosterone 16β-hydroxylase	pmol/min/mg protein	CYP2B	375	225		0.4	1.0	1.9	0.7	1.1	0.8	0.9
Tolbutamide methylhydroxylase	pmol/min/mg protein	CYP2C	185	158		0.2	0.3	0.9	0.5	0.5	0.6	0.1
S-mephenytoin 4'-hydroxylase	pmol/min/mg protein	CYP2C	315	338		0.1	0.4	0.7	0.4	0.4	0.8	0.1
Chlorzoxazone 6-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP2E	4.31	5.41		0.5	1.0	0.4	0.7	0.5	0.6	0.4
Testosterone 6β-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP3A	4.45	2.95		0.5	0.5	0.7	0.6	0.6	0.7	0.6
Midazolam 1'-hydroxylase	nmol/min/mg protein	CYP3A	2.21	1.57		0.5	0.4	1.0	0.4	0.8	0.9	0.4

a) For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control is shown.

b) No males survived beyond Day 3 post infusion

Note: To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12

1.1.1.12.3 薬物代謝酵素の誘導及び阻害（C）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.4.7

Type of Study : Possible induction and/or inhibition of drug metabolizing enzymes by R279741 evaluated ex vivo in liver microsomes

Method: Microsomal fractions of livers from R279741 treated animals were isolated. Cynomolgus monkeys were treated with 0 (Control), 25 and 35 μg/kg/dose R279741 by intravenous infusion via an indwelling catheter for 3 hours, once every 3 weeks. The control (2 male and 2 female animals) and 25 μg/kg/dose R279741 (3 male and 3 females) groups received a total of 8 cycles, whereas the 35 μg/kg/dose R279741 (3 male and 2 female animals) group received a total of 6 cycles (following 5 cycles of control treatment). Necropsies were performed 6 days after the last cycle of intravenous infusion. Liver microsomes were analyzed for protein and total cytochrome P450 (CYP) content and for the enzymatic activities shown below. For statistical analysis of data the male and female animals in control and R279741 treated groups were combined.

Tabulated Results[a)]		P450 isozyme(s)	Control (Vehicle Only)	300 μg/m^2 (25 μg/kg)	420 μg/m^2 (35μg/kg)
Microsomal protein	(mg protein/g liver)		41.5	0.93	0.90
CYP content	(nmol/mg protein)		0.96	0.85	0.76
7-Ethoxyresorufin *O*-deethylase	(pmol/min/mg protein)	CYP1A	260	0.48**	0.35***
7-Pentoxyresorufin *O*-dependentylase	(pmol/min/mg protein)	CYP2B	7.7	0.87	0.87
4-Nitrophenol hydroxylase	(nmol/min/mg protein)	CYP2E	1.15	1.02	0.97
Testosterone 6β-hydroxylase	(nmol/min/mg protein)	CYP3A	2.64	0.71**	0.73**
Lauric acid 11-hydroxylase	(nmol/min/mg protein)		0.37	0.76	0.84
Lauric acid 12-hydroxylase	(nmol/min/mg protein)	CYP4A	1.28	0.62	0.75
Thyroxine (T_4) UDP glucuronosyltransferase	(pmol/min/mg protein)		2.2	1.23	0.91

Additional Information
Liver samples for analysis were obtained from monkeys 6 days after last infusion cycle in toxicology Exp No. [redacted]

a) For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control is shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).

Values significantly different from control ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$
Note: To obtain dose in μg/kg (for monkeys) divide dose expressed as μg/m^2 by 12

1.1.1.13 薬物動態試験：排泄

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]						[redacted]							
Location in CTD	4.2.2.5.1						4.2.2.3.1							
Species:	Rat[a)]													
Gender (m/f)/Number of Animals:	m/4			f/4			m/				f/4			
Feeding Condition:	Fasted			Fasted			Fasted				Fasted			
Vehicle/Formulation:	Phosphate buffer (pH4)			Phosphate buffer (pH4)			Phosphate buffer (pH4)				Phosphate buffer (pH4)			
Route:	i.v.			i.v.			i.v.				i.v.			
Dose μg/m^2 (μg/kg):	378 (63) (65 μCi/mg)			378 (63) (65 μCi/mg)			480 (80) (74.1 μCi/mg)				480 (80) (74.1 μCi/mg)			
Analyte:	^{14}C-R279741[b)]			^{14}C-R279741[b)]			^{14}C-R279741[b)]				^{14}C-R279741[b)]			
Assay:	liquid scintillation - total radioactivity			liquid scintillation - total radioactivity			liquid scintillation - total radioactivity				liquid scintillation - total radioactivity			
Excretion Route:	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Cage Wash	Total	Urine	Feces	Cage Wash	Total
Time:														
0 – 168 h:							2.01	71.01	0.81	73.83	4.76	43.39	2.77	50.92
0 – 144 h:	0.86	52.95	53.81	4.44	30.91	35.35								
Additional Information	Study conducted using plastic metabolism cages Total radioactivity detected in the body after 144 h was 23.67% for males and 44.78% for females Total radioactivity accounted for in excreta and body tissues was low (77.48% in males; 80.12% in females) and may be due to incomplete collection of urine and/or feces during blood sampling.						Study conducted using glass metabolism cages Total radioactivity detected in the body after 168 h was 17.00% for males and 42.10% for females Total radioactivity accounted for in excreta and body tissues was nearly complete (90.83% in males; 93.02% in females)							

a) Sprague-Dawley rats supplied by Charles River Laboratories España, S.A.
b) ^{14}C labeled in the 4'-C in the dopamine fragment of R279741.

Note: Dose conversion to μg/m^2: multiply μg/kg by 6 for rats.
f = female; m = male

1.1.1.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No.	[redacted]	Location in CTD 4.2.2.5.2
Species:	Rat	
Gender (m/f)/Number of Animals:	4m/ 4f	
Feeding Condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:	50 mmol/L NaH_2PO_4 (pH4) + ethanol (98.8:1.2) + ^{14}C-R279741	
Route:	Intravenous, 5 mL/kg	
Dose μg/m^2 (μg/kg):	480(80) (5.93 μCi/kg)	
Analyte:	Total Radioactivity	
Assay:	Liquid Scintillation counting	

	Radioactivity (% of Dose Administered)								
	Male				Female				
Excretion Route	Rat 1	Rat 2	Rat 4	Mean[a)]	Rat 5	Rat 6	Rat 7	Rat 8	Mean
Time: 0-6 h	24.92	30.82	27.86	27.87	16.26	15.79	13.90	10.84	14.20
6-24 h	10.44	10.78	10.47	10.56	7.25	6.17	2.22	4.54	5.04
24-48 h	3.26	7.21	6.12	5.53	0.81	1.04	2.22	0.34	1.10
0-48 h	38.61	48.81	44.45	43.96	24.32	23.00	18.34	15.73	20.34

Additional Information

^{14}C-R279741 was labeled in the 4'-C in the dopamine fragment of the molecule.

Rats were allowed to recover overnight after bile duct cannulation prior to administration of radiolabeled R279741.

Bile obtained in this study ([redacted]) was hydrolyzed with β-glucuronidase and arylsulphatase and the metabolic pattern compared qualitatively to that of the unhydrolyzed samples. The conclusions are presented in the report of Study No. [redacted] and indicate that low amounts of glucuronide of R279741 appear in male and female rat bile. It was also evident that some metabolic components were due to metabolic instability since they appeared in incubations with hydrolytic enzymes.

a) Bile duct cannula of male rat 3 did not operate properly, results from this rat were not used.

Note: Dose conversion to μg/m^2: multiply μg/kg by 6 for rats.
f = female; m = male

1.1.1.15 薬物動態試験：薬物相互作用

1.1.1.15.1 薬物相互作用（A）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.6.1

Type of Study : Inhibition and/or inactivation of CYP450 activity in human liver microsomes; a prediction of drug interactions

Method: Mixed pools of human liver microsomes (HLM) were prepared from 50 donors. Each experiment included appropriate vehicle controls and selective CYP450 inhibitors as positive controls.
R279741 was tested in triplicate at nominal concentrations of 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, and 5 μmol/L with respective probe substrates (at the respective Km of the respective enzymatic reaction) [co-incubation with R279741]. Aliquots were assayed for residual CYP isozyme activity. IC_{50} -values (concentration of R279741 resulting in a 50% decrease in enzymatic activity) were calculated where possible.
R279741 (1 μmol/L) was assessed in triplicate for time-dependent inactivation (mechanism-based inactivation) of each CYP450 isozyme by incubating with HLM in an NADPH-generating system for 30 minutes prior to the addition of a probe substrate [pre-incubation with R279741]. Aliquots were assayed for residual CYP isozyme activity and the data is presented as % of control activity at the 1 μmol/L R279741 concentration.

Tabulated Results

P450 Isozyme	Marker	Reversible Inhibition IC_{50} (μmol/L)	% Inhibition from Relative Control: Co-incubation (1 μmol/L)	% Inhibition from Relative Control: 30 min pre-incubation (1 μmol/L)
1A2	Phenacetin O-deethylase	> 5 μmol/L	0.0	1.6
2A6	Coumarin 7-hydroxylase	> 5 μmol/L	0.0	3.9
2B6	Bupropion hydroxylase	> 5 μmol/L	3.3	5.1
2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylase	> 5 μmol/L	20.0	0.0
2C9	Diclofenac 4′-hydroxylase	> 5 μmol/L	29.9	30.5
2C19	S-Mephenytoin 4-hydroxylase	> 5 μmol/L	4.4	3.1
2D6	Bufuralol 1′-hydroxylase	> 5 μmol/L	0.0	0.0
2E1	Lauric acid 11-hydroxylase	> 5 μmol/L	0.0	0.0
3A4	Testosterone 6β-hydroxylase	> 5 μmol/L	14.2	17.4
3A4	Midazolam 1-hydroxylase	1.5 μmol/L [a)]	41.9	49.0
3A4	Nifedipine oxidase	> 5 μmol/L	7.8	27.2

a) Assuming competitive inhibition, the Ki-value was estimated at 0.75 μmol/L ($K_i = IC_{50}$ when determined at a (probe) substrate concentration at the Km of the respective enzymatic reaction)

1.1.1.15.2 薬物相互作用（B）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.6.2

Type of Study : Effect of R279741 on human recombinant CYP enzyme activity in vitro

Method: R279741 at concentrations of 0.0, 0.001, 0.005 and 0.05 μmol/L was incubated with CYP enzymes and appropriate enzyme substrates. The reaction products were determined by spectrofluorometric analysis at the completion of the incubation. Concentration of reaction product, compared to control, was calculated and expressed as % inhibition.

		Inhibition of enzyme activity by R279741 (%)[a)]		
		Concentration of R279741 (μmol/L)		
CYP Isoform	(Detected Reaction)	0.001	0.005	0.05
CYP1A2	(3-Cyano-7-hydroxycoumarin)	-15	-7	-7
CYP2C9	(7-Hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin)	0	1	10
CYP2C19	(3-Cyano-7-hydroxycoumarin)	11	11	8
CYP2D6	(3-[2-N,N-diethyl-N-methylammonium)ethyl]-7-hydroxy-4-methylcoumarin)	3	6	4
CYP2E1	(7-Hydroxycoumarin)	8	14	12
CYP3A4	(7-Hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin)	5	3	7
CYP3A5	(7-Hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin)	8	13	23

Additional Information

The IC_{50} of R279741 was greater than 0.05 μmol/L for all CYP isozymes

a) % inhibition was calculated by subtracting the % control activity from 100.

1.1.1.15.3 薬物相互作用（C）

Test Article: R279741 (Trabectedin)

Study No. [redacted] Location in CTD: 4.2.2.6.3

Type of Study : Induction potential of R279741 in two preparations of human hepatocytes

Method: R279741 at concentrations of 1, 10, 100, 500 nmol/L was incubated with of human hepatocyte preparation BH444. All but the 1 nmol/L concentration were cytotoxic.[a)] Subsequently, preparation BH447 was incubated with R279741 at concentrations of 1, 5, and 10 nmol/L. As determined by light microscopy, the 5 and 10 nmol/L concentrations were mildly cytotoxic. Control cells were untreated. RNA was extracted from viable hepatocytes cultures.

			CYP Induction by R279741 in Human Hepatocyte Cultures[b)]									
Tissue / treatment			1A1	1A2	2A6	2B6	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4	3A5
BH447	R279741	1 nmol/L	1.07	0.78	0.28	0.38	0.36	1.72	0.49	0.42	0.30	0.57
	R279741	5 nmol/L	2.15	0.42	0.16	0.32	0.24	0.88	0.27	0.25	0.16	0.55
	R279741	10 nmol/L	4.91	0.21	0.07	0.22	0.13	0.54	0.12	0.12	0.08	0.61
	Methylcholanthrene	2 μmol/L	406.71	63.86	2.52	3.03	1.11	1.93	0.84	1.38	0.75	1.56
	Phenobarbital	0.5 mmol/L	4.99	3.42	8.15	17.48	3.42	2.02	1.54	1.46	7.88	2.13
	Rifampicin	50 μmol/L	8.31	3.73	6.22	11.79	3.84	10.10	1.28	0.78	12.77	2.29

Additional Information

Total RNA was extracted from culture plates and cDNA prepared by reverse transcription. Using polymerase chain reaction and appropriate primers, each CYP cDNA was selectively amplified and quantified. The CYP induction was expressed as a multiple of the activity found in similar, untreated hepatocytes preparations.

a) BH444 data was unreliable; the preparation outlined in this study did not respond to Rifampicin (50 μmol/L).
b) Data is expressed as fold induction over control, non-treated cells.

1.1.1.16 薬物動態試験：その他

該当なし.