2.6.4 薬物動態試験の概要文
タグリッソ®錠

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 7
2.6.4.1 まとめ 10
2.6.4.1.1 吸収 10
2.6.4.1.2 分布 10
2.6.4.1.3 代謝 11
2.6.4.1.4 排泄 11
2.6.4.1.5 薬物動態学的相互作用 11
2.6.4.2 分析法 15
2.6.4.2.1 非標識化合物 15
2.6.4.2.1.1 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の血漿中濃度測定法 15
2.6.4.2.1.2 血漿中 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の保存安定性 16
2.6.4.2.1.3 AZ5104 の血漿中濃度測定法 16
2.6.4.2.1.4 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 のマウス脳及び腫瘍内濃度の測定法 20
2.6.4.2.2 標識化合物 20
2.6.4.2.2.1 QWBA による組織内 ^{14}C 濃度の測定法 20
2.6.4.2.2.2 共有結合試験における蛋白質中 ^{3}H 及び ^{14}C 濃度の測定法 20
2.6.4.3 吸収 20
2.6.4.3.1 Caco-2 細胞透過性 21
2.6.4.3.2 SCID マウスにおける AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の血漿中濃度 21
2.6.4.3.3 ラットにおける薬物動態 22
2.6.4.3.3.1 単回投与時の血漿中濃度 22
2.6.4.3.3.2 反復投与時のトキシコキネティクス 25
2.6.4.3.4 イヌにおける薬物動態 27
2.6.4.3.4.1 単回投与時の血漿中濃度 27
2.6.4.3.4.2 反復投与時のトキシコキネティクス 30
2.6.4.3.5 代謝物の体内動態 32
2.6.4.3.5.1 ラットにおける代謝物の体内動態 32
2.6.4.3.5.2 イヌにおける代謝物の体内動態 32
2.6.4.3.6 生物学的同等性及びバイオアベイラビリティ 33
2.6.4.3.6.1 イヌに AZD9291 メシル酸塩を液剤、カプセル剤及びプロトタイプの錠剤として経口投与したときの血漿中濃度 33
2.6.4.4 分布 34

2.6.4.4.1　組織分布 34
2.6.4.4.1.1　マウスの脳及び異種移植腫瘍における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の分布 34
2.6.4.4.1.2　ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA） 36
2.6.4.4.2　血漿蛋白結合、共有結合及び血球移行 40
2.6.4.4.2.1　血漿中での安定性（*in vitro*） 40
2.6.4.4.2.2　血漿蛋白結合－限外ろ過法（*in vitro*） 40
2.6.4.4.2.3　ヒト血漿蛋白結合率の予測 41
2.6.4.4.2.4　血球移行率 42
2.6.4.4.2.5　血漿中共有結合（*in vitro*） 42
2.6.4.4.2.6　肝細胞中蛋白への共有結合 42
2.6.4.4.3　胎盤通過 43
2.6.4.5　代謝 44
2.6.4.5.1　肝細胞における代謝物の構造（*in vitro*） 44
2.6.4.5.2　AZD9291 の代謝に関与する CYP 分子種の特定 46
2.6.4.5.2.1　遺伝子組み換え CYP 分子種発現系における代謝 46
2.6.4.5.2.2　遺伝子組み換え CYP 分子種発現系における代謝物の生成 47
2.6.4.5.2.3　ヒト肝細胞における代謝 48
2.6.4.5.2.4　肝細胞における代謝物の生成 48
2.6.4.6　排泄 49
2.6.4.6.1　ラットにおける排泄 49
2.6.4.6.2　イヌにおける排泄 50
2.6.4.6.3　乳汁排泄 51
2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用 51
2.6.4.7.1　薬物相互作用データの評価 51
2.6.4.7.2　CYP の阻害 52
2.6.4.7.2.1　CYP 阻害結果の解釈 53
2.6.4.7.2.2　CYP の時間依存的阻害 53
2.6.4.7.2.3　CYP3A4/5 の時間依存的阻害－K_I 及び k_{inact} 54
2.6.4.7.3　トランスポーターの阻害 54
2.6.4.7.3.1　腸管薬物排出輸送蛋白質 P-gp 及び BCRP の阻害 54
2.6.4.7.3.2　肝臓の薬物取り込みトランスポーターOATP1B1 及び OATP1B3 の阻害 55
2.6.4.7.3.3　腎臓の薬物取り込みトランスポーターOAT1、OAT3 及び OCT2 の阻害 55
2.6.4.7.3.4　腎臓薬物排出トランスポーターMATE1 及び MATE2-K の阻害 55
2.6.4.7.3.5　トランスポーター阻害結果の解釈 56
2.6.4.7.4　UGT の阻害 57
2.6.4.7.4.1　UGT 阻害結果の解釈 57

2.6.4.7.5　CYP の誘導（*in vitro* 及び *in vivo*）....58
2.6.4.7.5.1　HepaRG 細胞における CYP の誘導....58
2.6.4.7.5.2　ヒト肝細胞における CYP の誘導....58
2.6.4.7.6　トランスポーターによる輸送....59
2.6.4.7.6.1　P-gp 及び BCRP....59
2.6.4.7.6.2　OATP1B1 及び OATP1B3....60
2.6.4.8　その他の薬物動態データ....60
2.6.4.9　考察及び結論....61
2.6.4.10　参考文献....65

表目次

表 1　非臨床薬物動態試験の一覧....12
表 2　分析法の概要....17
表 3　AZD9291 の Caco-2 細胞単層膜透過性（*in vitro*）....21
表 4　H1975 異種移植腫瘍を担癌する雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で経口投与したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ....22
表 5　雌雄ラットに AZD9291 を 2 mg/kg の用量で静脈内投与したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ....24
表 6　雌雄ラットに AZD9291 を 10 mg/kg の用量で経口投与したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ....25
表 7　ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験における AZD9291 の薬物動態パラメータ....26
表 8　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの総放射能、AZD9291 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ....27
表 9　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 2 mg/kg の用量で単回経口投与したときの総放射能、AZD9291 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ....30
表 10　イヌの 1 カ月間反復投与毒性試験における AZD9291 の薬物動態パラメータ....31
表 11　ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験において AZD9291 を 28 日間反復経口投与したときの 28 日目における AZ7550 の薬物動態パラメータ....32
表 12　イヌの 1 カ月間反復投与毒性試験において、AZD9291 を 28 日間反復経口投与したときの 28 日目における AZ7550 及び AZ5104 の薬物動態パラメータ....33
表 13　AZD9291 のプロトタイプの錠剤 1 及び 2 の処方....33
表 14　雄イヌに AZD9291 メシル酸塩を液剤、カプセル剤及び錠剤（2 種）として 20 mg の用量で経口投与したときの AZD9291 の薬物動態パラメータ....34

表 15　雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの AZD9291 の血漿、脳及び H1975 腫瘍における薬物動態パラメータ 35
表 16　雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの AZ5104 の血漿、脳及び H1975 腫瘍における薬物動態パラメータ 35
表 17　雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの AZ7550 の血漿、脳及び H1975 腫瘍における薬物動態パラメータ 35
表 18　雄有色ラットに[^{14}C]-AZD9291 を 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの組織内放射能濃度 39
表 19　マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿並びに HSA 及びヒト α_1-AGP 溶液中で AZD9291 を 37°C で 6 時間インキュベーションしたときの AZD9291 の平均残存率 40
表 20　AZD9291、AZ5104 及び AZ7550（いずれも 100 μM）のマウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿、HSA 並びにヒト α_1-AGP における蛋白結合率 41
表 21　妊娠 16 日の雌ラットにおける AZD9291 経口投与後の AZD9291 の薬物動態パラメータ 43
表 22　妊娠 16 日の雌ラットにおける AZD9291 経口投与後の AZ7550 の薬物動態パラメータ 43
表 23　マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞とともに AZD9291 を 5 μM の濃度で 60 分間インキュベーションしたときに生成した代謝物の概要 46
表 24　遺伝子組み換えヒト CYP 発現系における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の代謝に対する各 CYP 分子種の寄与率 [a] 47
表 25　遺伝子組み換えヒト CYP 分子種発現系における AZ5104 及び AZ7550 の生成割合 48
表 26　ヒト肝細胞を AZD9291（1 μM）とともに CYP 及び FMO 阻害剤の存在下及び非存在下でインキュベーションしたときの AZ5104、AZ7550 及び M1 の生成速度 49
表 27　雌雄ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内投与及び単回経口投与したときの投与後 168 時間までの放射能排泄率 50
表 28　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内投与及び単回経口投与したときの投与後 168 時間までの放射能排泄率 50
表 29　患者における薬物相互作用発現の評価に用いた AZD9291 の平均測定値及び算出パラメータ 52
表 30　ヒト肝ミクロソームにおける AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の CYP に対する阻害（IC_{50}） 52
表 31　AZD9291 の CYP 阻害結果の解釈 53
表 32　AZD9291 の排出及び取り込みトランスポーターの阻害作用 56
表 33　AZD9291 のトランスポーター阻害結果の解釈 57
表 34　AZD9291 の UGT 阻害結果の解釈 58
表 35　MDR1-MDCK 細胞系における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の efflux ratio 及び MDR1 非発現の MDCK 細胞系での efflux ratio に対する割合 59

表 36　BCRP-MDCK 細胞系における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の efflux ratio 及び BCRP 非発現の MDCK 細胞系での efflux ratio に対する割合 60
表 37　AZD9291 の毒性試験で検討した最高用量及び雌ラットに AZ5104 を投与した 1 カ月間探索毒性試験における AZ5104 及び AZ7550 の曝露量とヒトにおける曝露量との比較 62

図目次

図 1　ラット及びイヌ血漿試料を-20ºC で最長 112 日間凍結保存したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の安定性 19
図 2　雌雄ラットに AZD9291 を 2 mg/kg の用量で静脈内投与したときの血漿中 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の濃度推移 23
図 3　雌雄ラットに AZD9291 を 10 mg/kg の用量で経口投与したときの血漿中 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の濃度推移 24
図 4　ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験における 1 日目及び 28 日目で算出された AZD9291 の $AUC_{(0-24)}$（用量で補正した値）と用量との関係 26
図 5　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血液及び血漿中総放射能濃度並びに血漿中 AZD9291 及び AZ7550 の濃度推移 28
図 6　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 2 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血液及び血漿中総放射能濃度並びに血漿中 AZD9291 及び AZ7550 の濃度推移 29
図 7　イヌにおける 1 カ月間反復投与毒性試験の 1 日目、15 日目及び 28 日目で算出された AZD9291 の $AUC_{(0-24)}$（用量で補正した値）と用量との関係 31
図 8　雄有色ラットに[^{14}C]-AZD9291 を 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与後 6 時間における全身オートラジオグラム 37
図 9　雄有色ラットに[^{14}C]-AZD9291 を 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与後 7 日における全身オートラジオグラム 38
図 10　マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞における AZD9291 の推定代謝経路(M3：AZ7550、M6：AZ5104) 45

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
α_1-AGP	α_1-acid glycoprotein：α_1-酸性糖蛋白質
ASP	4-(4-(diethylamino)styryl)-*N*-methylpyridinium iodide
AUC	Area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity：投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0\text{-}24)}$	Area under the plasma concentration–time curve from zero to 24 hours after dosing：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0\text{-}t)}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to the last quantifiable concentration：投与後 0 時間から濃度の定量が可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{met\ (or\ radioactivity)/AZD9291}$	Percentage of metabolite (or radioactivity) $AUC_{(0\text{-}t)}$ compared to AZD9291 $AUC_{(0\text{-}t)}$：AZD9291 の $AUC_{(0\text{-}t)}$に対する代謝物（又は放射能）の $AUC_{(0\text{-}t)}$ の百分率
AUC_{ss}	Area under the plasma concentration–time curve at steady state：定常状態における投与間隔での血漿中濃度－時間曲線下面積
AZ5104	AZD9291 の活性代謝物、別名 AZ13575104
AZ7550	AZD9291 の活性代謝物、別名 AZ13597550
BCRP	Breast cancer resistance protein, ABCG2
BCS	Biopharmaceutics Classification System
BLQ	Below limit of quantification：定量下限未満
C_0	Maximum plasma concentration extrapolated to time=0 following the intravenous dose：静脈内投与後 0 時間における最高血漿中濃度（外挿値）
CL	Total clearance：全身クリアランス
CL_{int}	Intrinsic clearance：固有クリアランス
C_{max}	Maximum (peak) plasma concentration：最高血漿中濃度
$C_{ss,max}$	Maximum (peak) plasma concentration at steady state：定常状態における最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
DDI	Drug-drug interaction：薬物間相互作用
EMA	European Medicines Agency：欧州医薬品庁
F	Bioavailability：バイオアベイラビリティ
f_{CVB}	Fractional covalent binding：共有結合率
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
FMO	Flavin-containing monooxygenase：フラビン含有モノオキシゲナーゼ
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
HSA	Human serum albumin：ヒト血清アルブミン

略語及び専門用語	用語の説明
HPMC	Hydroxypropyl methylcellulose：ヒドロキシプロピルメチルセルロース
IC_{50}	Half maximal (50%) inhibitory concentration：50%阻害濃度
I_2	Maximum intestinal concentration：最高腸内濃度
$I_{in\ max}$	Maximum total liver inlet concentration：最高総肝臓流入濃度
$I_{in\ free}$	Maximum unbound liver inlet concentration：非結合型の最高肝臓流入濃度
ISR	Incurred sample reanalysis：投与後試料の再分析
K_I	Inhibitor concentration producing $k_{obs}=k_{inact}/2$：最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
K_i	Inhibition constant：阻害定数
k_{inact}	Maximum inactivation rate constant：最大不活性化速度定数
k_{obs}	Apparent inactivation rate constant：見かけの不活性化速度定数
LC–MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry：液体クロマトグラフィーータンデム型質量分析
L-HPC	Low-substituted hydroxypropyl cellulose：低置換度ヒドロキシプロピルセルロース
LLOQ	Lower limit of quantification：定量下限
LogD	Distribution coefficient：分配係数
Log $K^{B/F}$	Human plasma protein binding log (bound/free)：ヒト血漿における蛋白結合分画の遊離分画に対する対数比
LogP	Partition coefficient：分配係数
LSC	Liquid scintillation counter：液体シンチレーションカウンター
MATE	Multidrug and toxin extrusion
Mg St	Magnesium stearate：ステアリン酸マグネシウム
MCC	Microcrystalline cellulose：結晶セルロース
MHLW	Ministry of Health, Labour and Welfare：厚生労働省
NSCLC	Non-small cell lung cancer：非小細胞肺癌
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic aniontransporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
PAH	Para-aminohippurate：パラアミノ馬尿酸
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
PXR	Pregnane X receptor
SDS	Sodium dodecyl sulphate：ドデシル硫酸ナトリウム
SLS	Sodium lauryl sulfate：ラウリル硫酸ナトリウム
SSF	Sodium stearyl fumarate：フマル酸ステアリルナトリウム
SSG	Sodium starch glycolate：デンプングリコール酸ナトリウム
$t_{½}$	Elimination half-life：消失半減期
t_{max}	Time to reach maximum concentration：最高濃度到達時間
QC	Quality control：品質管理
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography：定量的全身オートラジオグラフィー
UGT	UDP-glucuronosyltransferase：UDP グルクロン酸転移酵素

略語及び専門用語	用語の説明
UPLC-MS/MS	Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry：超高速液体クロマトグラフィータンデム型質量分析
UPLC-UV-MS/MS	Ultra-performance liquid chromatography with ultraviolet detection-tandem mass spectrometry：超高速液体クロマトグラフィー紫外検出－タンデム型質量分析
UV	Ultraviolet：紫外
V_d	Volume of distribution：分布容積
V_{ss}	Volume of distribution at steady state：定常状態における分布容積
V_z	Volume of distribution on the terminal phase：終末相における分布容積

2.6.4.1 まとめ

AZD9291 の体内動態は、マウス、ラット及びイヌにおける *in vivo* 試験、並びにマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト由来の組織及び生体材料を用いた *in vitro* 試験を実施して検討した。*In vivo* 試験に用いた動物は、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験を除き、薬理試験及び毒性試験で用いた動物種と同一の種及び系統を用いた。QWBA 試験では薬理試験及び毒性試験で用いたアルビノラットに加え有色ラットを用いた。*In vitro* 試験では、血漿蛋白及び肝細胞中蛋白への共有結合、代謝の種差、シトクロム P450（CYP）及び UDP グルクロン酸転移酵素（UGT）並びに薬物トランスポーターとの相互作用について検討した。1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験、安全性薬理試験並びにラットの胚・胎児発生に関する試験におけるトキシコキネティクス試験並びにラットを用いた QWBA 試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

本概要文に記載したヒト曝露量は、日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したときの定常状態における C_{max} 又は $AUC_{(0\text{-}24)}$（それぞれ $C_{ss,max}$ 及び AUC_{ss}）を用いた［AURA 試験の第 II 相延長コホートで日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したとき、32 例の日本人進行 NSCLC 患者から得られた AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の $C_{ss,max}$（算術平均）はそれぞれ 0.78、0.080 及び 0.061 μM であり、AUC_{ss}（算術平均）はそれぞれ 15、1.6 及び 1.3 μM·h であった］。

2.6.4.1.1 吸収

AZD9291 は Caco-2 細胞において中等度の透過性を示す化合物であり、バイオアベイラビリティは雄ラットで 24%、雌ラットで 37%、雄イヌで 115%と算出されたことから、吸収性は良好であることが示唆された。単回投与時のラット及びイヌを用いた毒性試験での AZD9291 の最高血漿中濃度は、投与後 2～8 時間に認められた。曝露量はほぼ用量に比例して増加し、ラット及びイヌの 1 カ月間毒性試験での反復投与時の蓄積は最大で約 2 倍であった。イヌに AZD9291 を液剤、固形剤（カプセル剤）又はプロトタイプの錠剤（錠剤 1）として経口投与したときの AZD9291 の曝露量は同程度であった。

2.6.4.1.2 分布

AZD9291 は、ラット及びイヌにおいて高い分布容積（9～18 L/kg）を示した。

担癌マウスにおいて、AZD9291 は脳及び腫瘍組織に分布し、これらの組織中濃度は血漿中濃度よりも高いことが示された。代謝物である AZ5104 及び AZ7550 による曝露量は、いずれも腫瘍組織と血漿とでほぼ同程度であったが、脳内の曝露量はこれらの組織に比べ低かった。

画像解析システムを用いて、全身オートラジオグラム上の各組織における放射能を定量した。雄有色ラットに[^{14}C]-AZD9291 を経口投与したとき、放射能は全身の組織に広く分布し、腎皮質、胆管、脳下垂体、脾臓、肺及びハーダー腺など多くの組織中放射能濃度は、投与後 6 時間に最高値を示した。ほとんどの組織からの放射能の消失半減期は 100 時間以上であり、投与後 60 日においても検討した組織の 42%で放射能が検出された。雄アルビノラットにおける放射能の体内分

布は、メラニン色素含有組織を除き、雄有色ラットの分布に近似しており、雌雄間で同様の分布傾向を示した。

AZD9291 はヒト血漿中で不安定であること及び非特異的結合を示すことから、血漿蛋白結合については評価していない。しかし、演算アルゴリズムによると、ヒトの血漿蛋白結合率は 99%と予測される。また、AZD9291 は、ヒト及びラット血漿、ヒト血清アルブミン（HSA）並びにヒト及びラット肝細胞中蛋白に共有結合することが示された。

2.6.4.1.3　代謝

マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞において、AZD9291 は代謝されて 16 種の代謝物を生成した。代謝経路は主に酸化及び脱アルキル化であり、その他グルタチオン抱合、システイングリシン抱合、グルクロン酸抱合並びに硫酸抱合も認められた。ヒト肝細胞で生成された代謝物の全てがラット又はイヌ肝細胞でも生成され、ヒト特有の代謝物はみられなかった。CYP 発現系及びヒト肝細胞を用いた試験において、活性代謝物 AZ5104 及び AZ7550 は主に CYP3A4 及び CYP3A5 により生成されることが示された。また、AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 は主に CYP3A4 により代謝されることが示された。代謝物 AZ5104 及び AZ7550 については、ラット及びイヌを用いた薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験において、生体内で生成することが確認された。

2.6.4.1.4　排泄

雌雄ラット及び雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を静脈内投与及び経口投与した際の、投与した放射能は主に糞中に排泄され、尿中への排泄はわずかであった。ラットにおける排泄は速やかであり、投与後 48 時間までに投与放射能の大部分が回収された。イヌにおける排泄速度は個体間でばらつきがみられたが、投与放射能のほとんどが 168 時間までに回収された。また、ラット及びイヌのいずれにおいても静脈内投与時の糞中排泄率が高かったことから、投与された放射能の多くは胆汁を介して排泄されることが示唆された。

2.6.4.1.5　薬物動態学的相互作用

CYP3A4 が AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の代謝に関与する主な CYP 分子種であるため、強力な CYP3A4 阻害剤又は誘導剤との併用投与により、これらの曝露量が影響を受ける可能性が示唆された。AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 は P-糖蛋白質（P-gp）及び breast cancer resistance protein（BCRP）の基質であるが、organic aniontransporting polypeptide（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。

In vitro 試験において、AZD9291 はニフェジピンを基質とする CYP3A4/5 の代謝を直接阻害したが［50%阻害濃度（IC_{50}）=5.1 μM］、ミダゾラムを基質としたときの CYP3A4/5 に対する阻害作用は弱く（IC_{50}>26.5 μM）、*in vitro* での CYP3A4 に対する時間依存的な阻害作用も弱かった［最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）及び最大不活性化速度定数（k_{inact}）はそれぞれ 1090 μM 及び 0.0617 min^{-1}］また、AZD9291 は CYP2C8 及び CYP1A2 に対して *in vitro* で軽度の直接阻害作用を示した（IC_{50}>20 μM）。以上より、CYP3A4/5 で代謝される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与により増加する可能性が示された。

AZD9291 は、*in vitro* で BCRP を阻害した（IC_{50}=2.0 μM）。このことから、BCRP により排泄される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与により増加する可能性が示された。

AZD9291 は、ヒト肝細胞において CYP3A4 及び CYP1A2 を誘導した。このことから、CYP3A4 及び CYP1A2（並びに誘導される可能性のある CYP2C 及び P-gp）で代謝される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与により低下する可能性が示された。

非臨床薬物動態試験の一覧を表 1に示す。

表 1　　非臨床薬物動態試験の一覧

試験項目	試験系	投与方法	被験物質	試験番号	GLP 適否
分析法及びバリデーション					
分析法	ラット血漿、イヌ血漿	該当せず	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	KPF004	非適用
バリデーション	ラット血漿、イヌ血漿	該当せず	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	KPV005	非適用
バリデーション	ラット血漿	該当せず	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	317706	適用
バリデーション	イヌ血漿	該当せず	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	318322	適用
バリデーション	ラット血漿、イヌ血漿	該当せず	AZ5104	319719	非適用
バリデーション	ラット血漿	該当せず	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	8309952	非適用
バリデーション	ラット血漿	該当せず	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	8309953	非適用
吸収					
透過性	Caco-2 細胞	*In vitro*	AZD9291	ADME-AZS-Wave4-140821	非適用
単回投与	担癌マウス	経口	AZD9291	BE000343-60	非適用
単回投与	ラット	経口、静脈内	AZD9291	8308627	非適用
単回投与	イヌ	経口、静脈内	[^{14}C]-AZD9291	197725	非適用
生物学的同等性	イヌ	経口	AZD9291 メシル酸塩	CPK-13-0099	非適用

表 1　　非臨床薬物動態試験の一覧

試験項目	試験系	投与方法	被験物質	試験番号	GLP 適否
分布					
血漿中安定性、血漿中共有結合	ラット及びヒト血漿、HSA	*In vitro*	[^{14}C]-AZD9291	D9291 KMN006	非適用
血漿中安定性	マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿並びに HSA 及びヒト α_1-AGP	*In vitro*	AZD9291	ADME-AZS-Wave4-120915 (D9291 KPJ001)	非適用
血漿蛋白結合	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、モルモット及びヒト血漿並びに HSA 及びヒト α_1-AGP	*In vitro*	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	VKS0890	非適用
血球移行率	ラット	経口、静脈内	[^{14}C]-AZD9291	196187 (D9291 KMR008)	非適用
血球移行率	イヌ	経口、静脈内	[^{14}C]-AZD9291	197725	非適用
肝細胞中蛋白への共有結合	ラット肝細胞	*In vitro*	[^{3}H]-AZD9291	120118_CVB_KXZZ856	非適用
肝細胞中蛋白への共有結合	ヒト肝細胞	*In vitro*	[^{3}H]-AZD9291	111123_CVB_KXZZ856	非適用
分布	有色ラット及びアルビノラット	経口	[^{14}C]-AZD9291	8265562 (D9291 KMR002)	適用
脳及び腫瘍への分布	担癌マウス	経口	AZD9291	BE000343-60	非適用
代謝					
代謝	マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞	*In vitro*	AZD9291	ADME_025	非適用
代謝	遺伝子組み換えヒト CYP 発現系	*In vitro*	AZD9291	AZM121105-01	非適用
代謝	遺伝子組み換えヒト CYP 発現系	*In vitro*	AZD9291	BE000021-23	非適用

表 1　　非臨床薬物動態試験の一覧

試験項目	試験系	投与方法	被験物質	試験番号	GLP 適否
代謝	遺伝子組み換えヒト CYP 発現系	*In vitro*	AZ5104 及び AZ7550	ADME-AZS-Wave3-030516	非適用
代謝	ヒト肝細胞	*In vitro*	AZD9291	BE000021-25	非適用
排泄					
排泄	ラット	経口、静脈内	[^{14}C]-AZD9291	196187 (D9291 KMR008)	非適用
排泄	イヌ	経口、静脈内	[^{14}C]-AZD9291	197725	非適用
薬物動態学的相互作用					
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZD9291	ONC.000-558-496 (00001CYP_INH_LCMS_2)	非適用
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZD9291	00001CYP_INH_LCMS_1	非適用
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZD9291 及び AZ5104	ADME-AZS-Wave3-131125	非適用
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZ5104	00004CYP_INH_LCMS_1_AZ13575104	非適用
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZ5104	00001CYP_INH_LCMS_2_AZ13575104	非適用
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZ7550	ADME-AZS-Wave3-130808	非適用
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZ7550	ADME-AZS-Wave3-130909	非適用
CYP 阻害（時間依存的阻害）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZD9291	ONC.000-573-149	非適用
CYP 阻害（時間依存的阻害）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZ5104	00003CYP_TDI_LCMS_AZ13575104	非適用
CYP 阻害（時間依存的阻害）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZ7550	00005CYP_TDI_LCMS_AZ13597550	非適用
CYP 阻害（時間依存的阻害）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZD9291	ADME-AZS-Wave4-141212	非適用
P-gp 阻害	MDR1-MDCKII 細胞	*In vitro*	AZD9291	ONC-000-569-361	非適用
BCRP 阻害	BCRP-MDCKII 細胞	*In vitro*	AZD9291	XT128084 (KMN007)	非適用
BCRP 阻害	Caco-2 細胞	*In vitro*	AZD9291	BE000458-32_AZ13552748	非適用

表 1　　非臨床薬物動態試験の一覧

試験項目	試験系	投与方法	被験物質	試験番号	GLP 適否
OATP1B1 阻害	HEK293 細胞	*In vitro*	AZD9291	03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748	非適用
OATP1B3 阻害、OAT1 阻害、OAT3 阻害、MATE1 阻害及び MATE2-K 阻害	HEK293 細胞	*In vitro*	AZD9291	13ASTRUKP7S3	非適用
OCT2 阻害	HEK293 細胞	*In vitro*	AZD9291	BS000567_25_AZ13552748	非適用
UGT 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	AZD9291	[redacted] 8296381	非適用
CYP 誘導	HepaRG®細胞	*In vitro*	AZD9291	PR12007/CC0406 (ONC.000-567-326)	非適用
CYP 誘導	HepaRG®細胞	*In vitro*	AZ5104	PR12188/CC0509 (00013CYP_IND_HepaRG_AZ13575104)	非適用
CYP 誘導	HepaRG®細胞	*In vitro*	AZ7550	DC13144 (00023CYP_IND_HepaRG_AZ13597550)	非適用
CYP 誘導	ヒト肝細胞	*In vitro*	AZD9291	1302120 (00006CYP_IND_HHEP)	非適用
P-gp 基質、BCRP 基質、OATP1B1 基質及び OATP1B3 基質	MDR1-MDCK 細胞、BCRP-MDCK 細胞及び HEK293 細胞	*In vitro*	AZD9291、AZ5104 及び AZ7550	13ASTRUKP2	非適用

α_1-AGP：α_1-酸性糖蛋白質、BCRP：breast cancer resistance protein、CYP：シトクロム P450、HAS：ヒト血清アルブミン、MATE：multidrug and toxin extrusion、OAT：organic anion transporter、OATP：Organic aniontransporting polypeptide、OCT：organic cation transporter、P-gp：P-糖蛋白質、UGT：UDP グルクロン酸転移酵素

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　非標識化合物

2.6.4.2.1.1　AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の血漿中濃度測定法

［試験 KPF004、試験 KPV005、試験 317706、試験 318322、試験 319719、試験 8309952、試験 8309953］

ラット及びイヌの 1 カ月間毒性試験、ラットの安全性薬理試験並びにイヌのテレメトリー試験では、血漿を除蛋白した後、測定試料を液体クロマトグラフィータンデム型質量分析（LC-MS/MS）に供して AZD9291 並びにその代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の濃度を測定した。分析法の概要を表 2に示す。ラットの血漿試料では、夾雑ピークの影響により AZ5104 は測定できなかったため、試料中に存在するか否かの評価を行った。AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 に対する本測定法の再現性はイヌの残余試料を用いて確認し、AZD9291 及び AZ7550 についてはラットの試料においても確認した。

AZ5104 測定法におけるばらつきを改善するために、測定法の開発及びバリデーションを実施した。血漿中濃度測定法のバリデーションは成功したが、ラットの測定試料中の AZ5104 については投与後試料の再分析（ISR）で再現性が得られず（試験 319719 及び試験 8309953）、また代替法では許容可能な濃度範囲にわたってバリデートできなかった（試験 8309952）。

2.6.4.2.1.2　血漿中 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の保存安定性

［試験 KPV005、試験 317706、試験 318322］

ラット及びイヌ血漿中での AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の安定性を表 2に示す。図 1には、ラットの安全性薬理試験、イヌのテレメトリー試験並びにラット及びイヌの 1 カ月間毒性試験で得られた試料を測定に供するまでの保存期間も併せて示す。

1 カ月間毒性試験及び安全性薬理試験における最初の血漿中濃度の測定は、AZD9291 及びその代謝物の長期凍結保存時の血漿中安定性が確認された保存期間を過ぎた試料で実施された。これによるラット及びイヌ血漿中濃度の過小評価は、最大で AZD9291 が約-23%、AZ5104 が-48%、AZ7550 が-21%であった。

ラット及びイヌの 3 カ月間毒性試験並びにラットの胚・胎児発生に関する試験で得られた試料については、それらの安定性が確認されている保存期間内に分析した。

2.6.4.2.1.3　AZ5104 の血漿中濃度測定法

AZD9291 の代謝物である AZ5104 をラットに 1 カ月間投与した毒性試験（試験 3500KR）では、除蛋白による前処理及び LC-MS/MS 法を用いて、AZ5104 の血漿中濃度を測定した。検量線範囲は 1～10000 nM であり、定量下限は 1 nM であった。定量値が検量線範囲を超える場合には、検量線範囲に収まるように試料を最高 100 倍まで希釈した。検量線用サンプル及び品質管理用サンプル（QC サンプル）は用時調製した。

表 2　　分析法の概要

動物種	試料	被験物質	検量線範囲 (nM)	LLOQ (nM)	希釈の妥当性	測定バッチ間 精度 (% CV)[a]	測定バッチ間 真度 (% bias)[a]	血漿中での短期安定性（保存条件）	血漿中での長期安定性（保存条件）	凍結融解	試験番号
ラット	血漿	AZD9291	2.5～500	2.5	20 倍	5.1～6.7	3.0～6.9	4 時間（5°C 以下）	83 日（-20ºC）	3 回	KPF004　及び KPV005[b]
		AZ5104	2.5～500	2.5	20 倍	8.1～10.0	4.0～10.8	4 時間（5°C 以下）	9 日（-20ºC）	3 回	
		AZ7550	2.5～500	2.5	20 倍	5.8～8.1	4.2～7.9	4 時間（5°C 以下）	35 日（-20ºC）	3 回	
イヌ	血漿	AZD9291	2.5～500	2.5	20 倍	0.8～9.9	-6.4～2.9	4 時間（5°C 以下）	43 日（-20ºC）	4 回	
		AZ5104	2.5～500	2.5	20 倍	0.9～9.6	-4.2～6.9	4 時間（5°C 以下）	43 日（-20ºC）	4 回	
		AZ7550	2.5～500	2.5	20 倍	1.3～6.3	-8.8～2.1	4 時間（5°C 以下）	55 日（-20ºC）	3 回	
ラット	血漿	AZD9291	1～1000	1	20 倍	4.5～11.9	4.9～10.0	24 時間（氷上）	32 日（-80ºC）	3 回	317706[c]
		AZ5104	1～1000	1	20 倍	7.8～11.6	-1.5～6.0	7 時間（希釈 QC 試料）及び 24 時間（低濃度及び高濃度 QC 試料）（氷上）	32 日（-80ºC）	3 回	
		AZ7550	1～1000	1	20 倍	6.2～14.8	6.3～8.7	24 時間（氷上）	32 日（-80ºC）	3 回	
イヌ	血漿	AZD9291	2.5～2000	2.5	ND	3.0～5.3	4.8～8.1	ND	10 日（-80ºC）	ND	318322[c]
		AZ5104	2.5～2000	2.5	ND	3.6～9.2	-6.1～0.8	ND	10 日（-80ºC）	ND	

動物種	試料	被験物質	検量線範囲 (nM)	LLOQ (nM)	希釈の妥当性	測定バッチ間 精度 (% CV)[a]	測定バッチ間 真度 (% bias)[a]	血漿中での短期安定性（保存条件）	血漿中での長期安定性（保存条件）	凍結融解	試験番号
		AZ7550	2.5～2000	2.5	ND	3.8～12.7	-0.9～3.2	ND	10 日（-80ºC）	ND	

LLOQ：定量下限、ND：測定せず

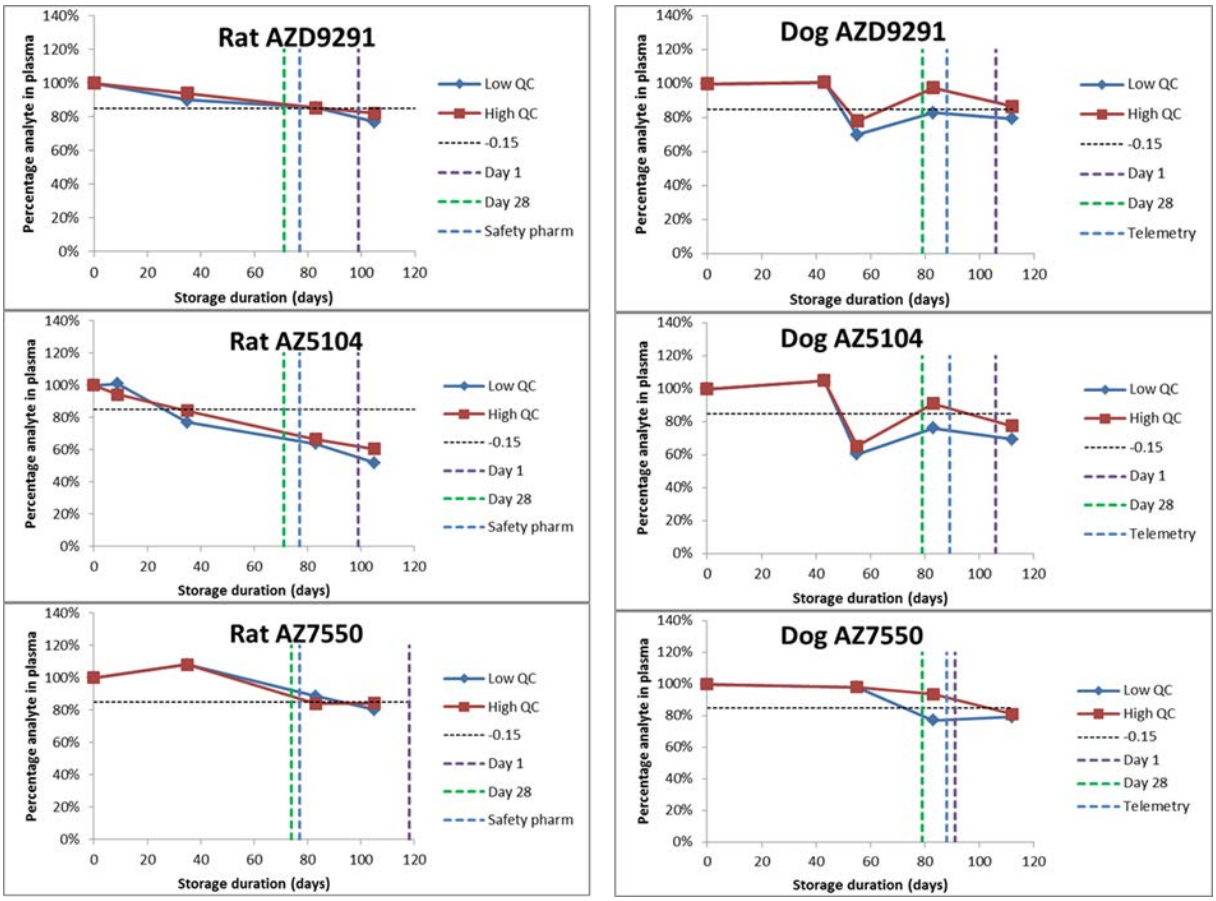
a　バリデーション試験 KPV005 では 2.5～5000 nM（希釈物を含む）の濃度範囲、バリデーション試験 317706 及び 318322 ではそれぞれ 1～800 nM 又は 2.5～1600 nM の濃度範囲で認められた測定バッチ間の精度及び真度の範囲

b　バリデーション試験 KPV005 及び血漿中濃度測定法 KPF004 をラット及びイヌの 1 カ月間毒性試験（毒性試験の概要文 2.6.6.3 項に記載した試験 3416AR 及び試験 1351AD）、ラット安全性薬理試験（薬理試験の概要文 2.6.2.4 項に記載した試験 3464SR）並びに心血管系薬理試験（薬理試験の概要文 2.6.2.4 項に記載した及び試験 1352ZD）で得られた試料の測定に使用

c　バリデーション試験（血漿中濃度測定法を含む）317706（ラット）及び 318322（イヌ）を毒性試験の概要文 2.6.6 項に記載したラット及びイヌの 3 カ月間毒性試験（試験 526248 及び試験 526253）並びにラットの胚・胎児発生に関する試験（試験 496800）で得られた試料の測定に使用

［試験 KPV005 の報告書 表 8~13 及び 33~50、試験 317706 の報告書 表 5~7 及び 20~28、並びに試験 318322 の報告書 表 5~7 及び 19~21 から引用］

図 1　　ラット及びイヌ血漿試料を-20ºC で最長 112 日間凍結保存したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の安定性



注：縦点線は各試験（ラット：安全性薬理試験及び 1 カ月間毒性試験、イヌ：テレメトリー試験及び 1 カ月間毒性試験）における試料の測定時期を示す。
［試験 KPV005 の報告書 表 33~38 から作成］

ラット及びイヌの 1 カ月間毒性試験、ラットの安全性薬理試験並びにイヌのテレメトリー試験から得られた血漿試料を分析に供するまで凍結保存した期間を以下に示す。

ラットの 1 カ月間毒性試験

- 1 日目に採取した試料：118 日間
- 28 日目に採取した試料：74 日間

イヌの 1 カ月間毒性試験

- 1 日目に採取した試料：106 日間
- 28 日目に採取した試料：79 日間

ラットの安全性薬理試験：67～77 日間

イヌのテレメトリー試験：69～90 日間

2.6.4.2.1.4 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 のマウス脳及び腫瘍内濃度の測定法

［試験 BE000343-60］

予め秤量したマウス脳及び腫瘍試料に水を加えホモジネートを調製した。その後、ホモジネートにアセトニトリルを加え除蛋白による抽出操作を行った後、遠心分離により上清を分取した。得られた抽出液を超高速液体クロマトグラフィータンデム型質量分析（UPLC-MS/MS）法による AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の分析に供した。

2.6.4.2.2 標識化合物

2.6.4.2.2.1 QWBA による組織内 ^{14}C 濃度の測定法

［試験 8265562］

ラットを麻酔下でドライアイスーヘキサンにより凍結した後、切片を作製し、オートラジオグラフィーに供した。得られた全身オートラジオグラム上の組織内放射能はバリデートされた画像解析システムにより定量した。定量上限は 7437550 dpm/g（145 nmol/g）であり、定量下限は雌アルビノラットで 670.8 dpm/g（0.013 nmol/g）、雄有色ラットで 1186 dpm/g（0.023 nmol/g）であった。

2.6.4.2.2.2 共有結合試験における蛋白質中 ^{3}H 及び ^{14}C 濃度の測定法

［試験 D9291 KMN006、試験 120118_CVB_KXZZ856、試験 111123_CVB_KXZZ856］

[^{3}H]-AZD9291 と肝細胞をインキュベーションした後、反応液にアセトンを加え除蛋白を行い、沈澱した蛋白を濾紙上に回収した。これを 80%メタノールで洗浄後、ガラスバイアルに移し、1 mL の 5%ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）を加え、55°C の水浴中で 20 時間振盪して蛋白を溶解した。得られた SDS 溶液の一部をシンチレーションバイアルに分取し、これにシンチレーターを加え液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射能を測定した。

[^{14}C]-AZD9291 と血漿又はヒト血清アルブミンをインキュベーションした場合も同様にアセトンで除蛋白し、遠心分離により上清と沈査に分け、上清は放射能測定に供した。沈査はメタノールで洗浄後 1 mL の 5%SDS により溶解し、その一部をシンチレーションバイアルに分取し、水で希釈した後、シンチレーターを加え LSC で放射能を測定した。

2.6.4.3 吸収

AZD9291 の透過性を評価するために Caco-2 細胞を用いて *in vitro* 試験を実施した。また、単回静脈内投与及び経口投与したときの薬物動態を検討するためにラット及びイヌを用いた試験を実施した。更に、マウス、ラット及びイヌにおける種々の経口用量での AZD9291 の曝露量についても検討した。AZD9291 の用量はフリー体の用量として示した。AZD9291 が P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質となるかについて検討した試験については2.6.4.7.6項に示した。

2.6.4.3.1 Caco-2 細胞透過性

［試験 ADME-AZS-Wave4-140821］

Caco-2 細胞を用い、AZD9291（1、10 及び 50 μM）の双方向透過性［頂端膜（a）側から基底膜（b）側及び（b）側から（a）側］を検討し、透過係数［P_{app}（$\times 10^{-6}$ cm/s）］及び efflux ratio［P_{app}(b-a) / P_{app}(a-b)］を評価した。その結果を表 3に示す。対照として低・中等度透過性マーカーであるアテノロール及び高透過性マーカーとしてミノキシジルを用いた。Caco-2 細胞単層膜は、AZD9291 濃度が 100 μM で損傷がみられたが、50 μM では損傷がみられなかったことから、最高濃度を 50 μM に設定した。

AZ9291 の Caco-2 細胞単層膜透過性は、受動的透過性を示し、濃度依存性はなく、efflux ratio は 2 未満であった。AZ9291 の吸収 P_{app} 値は、50 μM の濃度で 3.35×10^{-6} cm/s であり、この値はアテノロールの P_{app} 値（0.447×10^{-6} cm/s）より高値を示し、ミノキシジルの P_{app} 値（7.21×10^{-6} cm/s）より低値を示したことから、AZ9291 は中等度の透過性化合物に分類される。しかし、本試験では、AZ9291 は細胞及びプラスチック製品への高い結合性を示したことにから回収率は低く、確実性に欠ける。そのため、膜透過性試験に関する米国食品医薬品局（FDA）ガイダンス（FDA 2000）に記載されている Biopharmaceutics Classification System（BCS）透過性データの要件を満たしていない。

表 3　AZD9291 の Caco-2 細胞単層膜透過性（*in vitro*）

AZD9291 濃度 (μM)	P_{app}(a-b) [$\times 10^{-6}$ cm/s]	回収率 (a-b) [%]	P_{app}(b-a) [$\times 10^{-6}$ cm/s]	回収率 (b-a) [%]	efflux ratio P_{app}(b-a)/ P_{app}(a-b)
50	3.35 ± 0.692	15.8 ± 2.62	1.25± 0.156	53.1± 2.11	0.372
10	2.58 ± 0.455	15.7 ± 3.45	1.68 ± 0.356	47.1 ± 2.69	0.651
1	NC	20.9 ± 0.989	NC	51.4 ± 3.52	NC
1 ＋ミノキシジル（10 μM）	NC	20.7 ± 2.03	NC	56.3 ± 4.18	NC
対照化合物					
アテノロール（10 μM）	0.447 ± 0.0872	102 ± 7.75	0.731 ± 0.122	108 ± 4.26	1.64
ミノキシジル（10 μM）	7.21 ± 1.09	110 ± 5.71	7.16 ± 1.29	106 ± 4.28	0.992

P_{app} 及び回収率は、8 つの単層膜（n=8）から得られた平均及び標準偏差を示す。
NC：算出せず（一部のレシーバ側試料の濃度が定量下限未満であった）
［試験 ADME-AZS-Wave4-140821 の報告書 表 1 から引用］

2.6.4.3.2 SCID マウスにおける AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の血漿中濃度

［試験 BE000343-60］

腫瘍（H1975 細胞株）を担癌する雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量［異種移植腫瘍の試験で用いた用量（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2 項を参照）］で経口投与したときの、血漿中 AZD9291 並びに代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の濃度推移を検討した。得られた薬物動態パラメータを表 4に示す。

AZD9291 の $AUC_{(0-t)}$はほぼ用量に比例して増加したが、C_{max} は用量比を下回った。血漿中 AZ5104 及び AZ7550 の $AUC_{(0-t)}$は AZD9291 の $AUC_{(0-t)}$のそれぞれ 21～44%及び 24～34%であった。

表 4　H1975 異種移植腫瘍を担癌する雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で経口投与したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ

被験物質	AZD9291		AZ5104		AZ7550	
用量 (mg/kg)	5	25	5	25	5	25
C_{max} (μM)	1.92	2.98	0.21	0.86	0.27	0.64
t_{max} (h) [a]	0.5	0.5	2	4	0.5	4
$AUC_{(0-t)}$ (μM·h)	4.82	23.8	1.02	10.5	1.14	8.07
$AUC_{met/AZD9291}$ (%)[b]	NA	NA	21	44	24	34
$t_{½}$ (h)	2.85	2.81	ND	3.19	5.52	3.23

NA：該当せず、ND：算出せず
a　中央値
b　$AUC_{met/AZD9291}$ は、AZD9291 の $AUC_{(0-t)}$に対する代謝物の $AUC_{(0-t)}$の百分率を示す。
［試験 BE000343-60 の報告書 表 1 から引用］

2.6.4.3.3　ラットにおける薬物動態

2.6.4.3.3.1　単回投与時の血漿中濃度

［試験 8308627］

雌雄ラット（Han Wistar）に AZD9291 を静脈内（2 mg/kg）及び経口投与（10 mg/kg）し、AZD9291 並びに代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の血漿中濃度を検討した。得られた静脈内投与時の濃度推移及び薬物動態パラメータをそれぞれ図 2及び表 5に示し、経口投与時の血漿中濃度推移及び薬物動態パラメータをそれぞれ図 3び表 6に示す。

雄に静脈内投与したときの AZD9291 の平均血漿中濃度は、3 例中 1 例において投与後 4 及び 8 時間の濃度が原因不明の高値を示したことにより、表 5には当該動物を含めた結果（n=3）及び除外した結果（n=2）の双方を示した。評価は、1 例を除外した結果の方がラットにおける AZD9291 の体内動態を正確に示していると考えられることから、2 例の結果に基づいて行った。

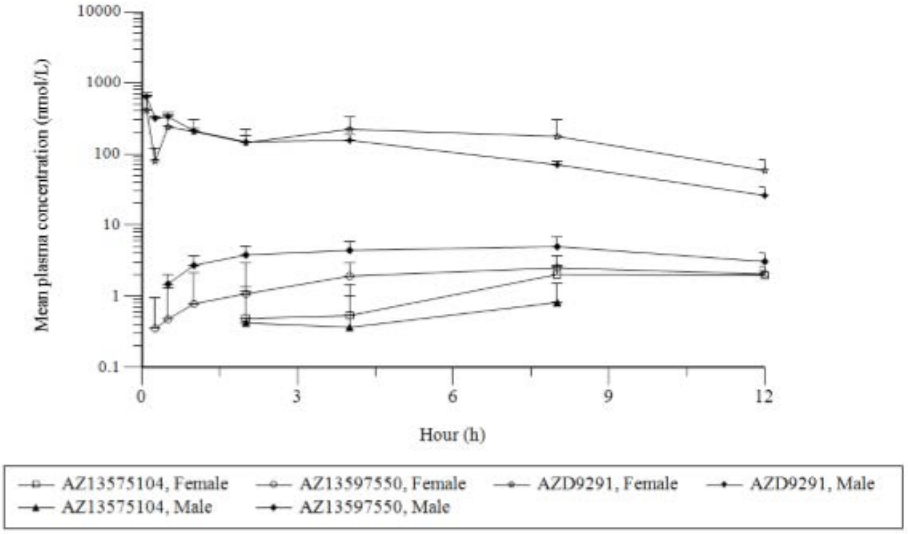
静脈内投与したときの雌雄ラットにおける AZD9291 の分布容積（V_{ss}）は大きく（雄 12 L/kg、雌 13 L/kg）、雌雄で同程度であった。クリアランス（CL）は雄（2.6 L/h/kg）の方が雌（1.8 L/h/kg）に比べて高値を示した。消失半減期（$t_{½}$）は雌（4.7 時間）の方が雄（3.1 時間）に比べて長かったが、この結果は雄ラットにおけるばらつきを反映しているものと考えられる。

経口投与したときの血漿中 AZD9291 濃度は雌雄ともに投与後 4 時間で最高濃度（C_{max}）に達したが、C_{max}、$AUC_{(0-t)}$及び AUC は雄に比べて雌の方が約 2～3 倍高かった。このことは、クリアランスは雄の方が高いことと一致している。バイオアベイラビリティ（F）は、雄で 24%、雌で 37%であった。経口投与後の消失半減期は、静脈内投与後の消失半減期よりも長く、このことから AZD9291 の吸収は長時間にわたるものと考えられる。

AZD9291 を 10 mg/kg の用量で経口投与したときの曝露量は、1 カ月間反復投与毒性試験の 1 日目の曝露量と同程度（C_{max} 及び AUC は 2 倍以内）であった（表 6及び表 7）。

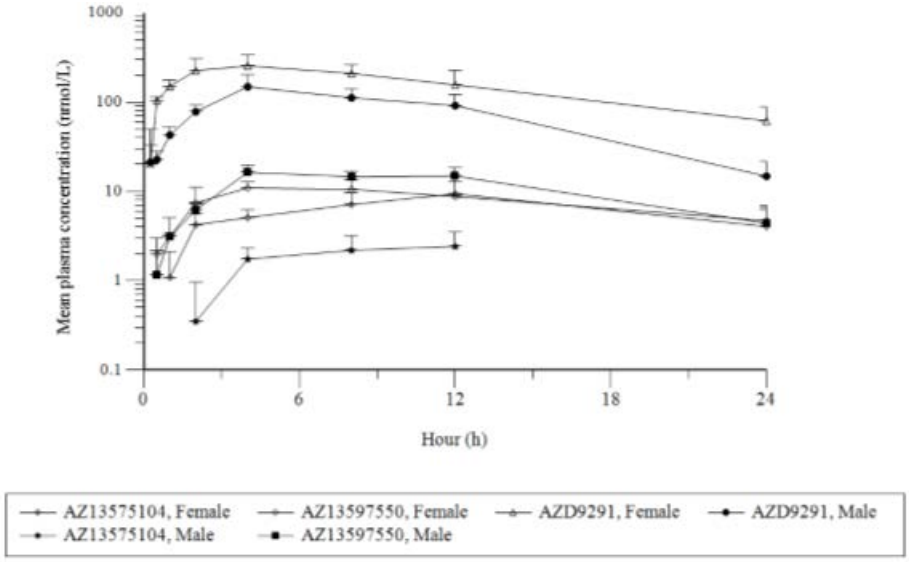
AZD9291 を静脈内投与したときの代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の曝露量は雌雄ともに低く、これらの $AUC_{(0-t)}$は AZD9291 の 4%未満であった。経口投与したときの代謝物の曝露量も低く、雄及び雌ラットにおける代謝物の $AUC_{(0-t)}$は、AZ5104 では AZD9291 のそれぞれ 1%及び 4%、AZ7550 では AZD9291 のそれぞれ 14%及び 5%であった。

図 2　　雌雄ラットに AZD9291 を 2 mg/kg の用量で静脈内投与したときの血漿中 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の濃度推移



AZ13575104 と AZ13597550 はそれぞれ AZ5104 及び AZ7550 の旧番号を示す。図中のポイントは n=3 の平均±標準偏差又は n=2 の平均（AZD9291 では雄 1 例の 4 及び 8 時間の測定値が高濃度であったため除外）を示す。
［試験 8308627 の報告書 図 1 から引用］

図 3　　雌雄ラットに AZD9291 を 10 mg/kg の用量で経口投与したときの血漿中 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の濃度推移



AZ13575104 と AZ13597550 はそれぞれ AZ5104 及び AZ7550 の旧番号を示す。図中のポイントは n=3 の平均±標準偏差を示す。
［試験 8308627 の報告書 図 2 から引用］

表 5　　雌雄ラットに AZD9291 を 2 mg/kg の用量で静脈内投与したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	AZD9291			AZ5104		AZ7550	
	雄	雄 [a]	雌	雄	雌	雄	雌
C_0 (nM)	676	898	1000	-	-	-	-
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (nM·h)	3480	1440	1980	3.37	14.4	47.2	22.3
AUC (nM·h)	3580	1560	2400	-	-	-	-
$AUC_{met/AZD9291}$ (%)[b]	NA	NA	NA	0.23	0.73	3.28	1.13
$t_{½}$ (h)	2.51	3.09	4.69	-	-	-	-
CL (L/h/kg)	1.89	2.57	1.78	-	-	-	-
V_z (L/kg)	7.98	11.5	12.0	-	-	-	-
V_{ss} (L/kg)	9.13	12.2	13.0	-	-	-	-

値は n=3 の平均を示す。
NA：該当せず、- ：算出不能
a　n = 2（雄 1 例の 4 及び 8 時間の測定値が高濃度であったため除外）
b　代謝物 $AUC_{(0\text{-}t)}$/AZD9291 $AUC_{(0\text{-}t)}$（%）
［試験 8308627 の報告書 表 1 から引用］

表 6　雌雄ラットに AZD9291 を 10 mg/kg の用量で経口投与したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	AZD9291		AZ5104		AZ7550	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (nM)	148	286	2.49	9.40	16.4	12.4
t_{max} (h)[a]	4	4	12	12	4	4
$AUC_{(0-t)}$ (nM·h)	1740	3610	19.3	146	252	184
AUC (nM·h)	1850	4110	-	-	323	216
$AUC_{met/AZD9291}$ (%)[b]	NA	NA	1.11	4.04	14.5	5.10
$t_{½}$ (h)	5.18	8.59	-	-	8.61	11.8
F (%)	9.98/24.1[c]	36.5	-	-	-	-

値は n=3 の平均値を示す。
NA：該当せず、-：算出不能
a　中央値
b　代謝物 $AUC_{(0-t)}$/AZD9291 $AUC_{(0-t)}$ (%)
c　n = 2（静脈内投与の 1 例を除外して算出）
［試験 8308627 の報告書 表 2 から引用］

2.6.4.3.3.2　反復投与時のトキシコキネティクス

［試験 3416AR］

ラットの 1 カ月間毒性試験（毒性試験の概要文 2.6.6.3.1.4 項を参照）で得られた AZD9291 の薬物動態パラメータを表 7に示す。この試験では、ラット（Wistar Hannover）に AZD9291 を 1 日 1 回反復経口投与し、1 日目（初回投与時）及び 28 日目の薬物動態パラメータを評価した。

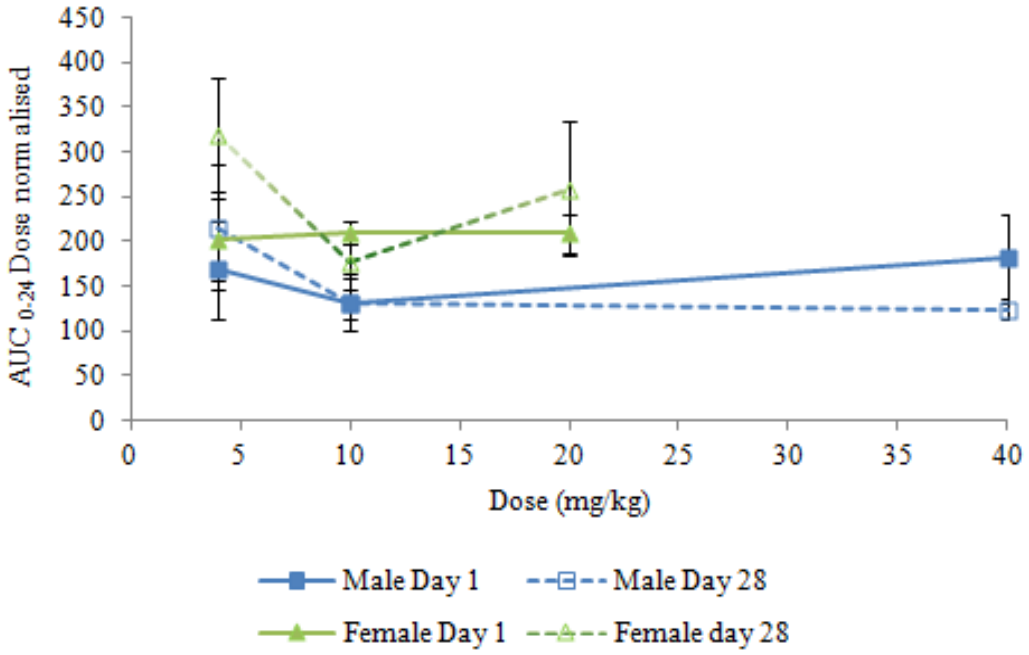
ラットにおける AZD9291 の吸収は緩徐であり、初回投与時の最高血漿中濃度は投与後 2～4 時間に得られた。単回投与時及び反復投与 28 日目の AZD9291 の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$）は、雄では 4～40 mg/kg の投与量範囲で、雌では 4～20 mg/kg の投与量範囲でほぼ用量に比例して増加した。また、AZD9291 の $AUC_{(0-24)}$は、雌の方が雄に比べ大きい傾向を示した（表 7及び図 4）。AZD9291 の曝露量に反復投与による著しい変動はみられなかったが、雄ラットに 40 mg/kg/日を投与したときの 28 日目の曝露量は初回投与時に比べ低下傾向を示した。これは反復投与による毒性発現によるものと考えられた（毒性試験の概要文 2.6.6.3.1.4 項を参照）。

表 7　　ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験における AZD9291 の薬物動態パラメータ

性別	用量 (mg/kg)	投与 1 日目 C_{max} (nM)	t_{max} (h) 範囲	$AUC_{(0-24)}$ (nM·h)	投与 28 日目 C_{max} (nM)	t_{max} (h) 範囲	$AUC_{(0-24)}$ (nM·h)
雄	4	116 ± 26.5	2～4	1310 ± 422	129 ± 39.0	2～4	1660 ± 545
	10	245 ± 52.3	2～4	2540 ± 607	218 ± 44.5	2	2500 ± 314
	40	945 ± 121	2～4	14000 ± 3750	546 ± 84.5	2～4	9530 ± 867
雌	4	140 ± 33.9	2～4	1560 ± 356	200 ± 47.6	2～4	2470 ± 491
	10	398 ± 60.1	2～4	4050 ± 266	329 ± 47.4	2～4	3410 ± 373
	20	607 ± 50.4	2～4	8030 ± 815	615 ± 105	4～8	9980 ± 2910

C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は n=3 の平均±標準偏差を示す。
［試験 3416AR の報告書 Appendix E 表 2 から引用］

図 4　　ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験における 1 日目及び 28 日目で算出された AZD9291 の $AUC_{(0-24)}$（用量で補正した値）と用量との関係



［試験 3416AR の報告書 Appendix E 図 6 から引用］

2.6.4.3.4 イヌにおける薬物動態

2.6.4.3.4.1 単回投与時の血漿中濃度

［試験 197725］

雄イヌ（Beagle）に[^{14}C]-AZD9291 を静脈内投与（1 mg/kg）及び経口投与（2 mg/kg）したときの、放射能、AZD9291 並びに代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の血中濃度を検討した。得られた静脈内投与時の血液及び血漿中放射能濃度並びに AZD9291 及び AZ7550 の血漿中濃度推移を図 5に示し、薬物動態パラメータを表 8に示す。経口投与時の濃度推移並びに薬物動態パラメータはそれぞれ図 6及び表 9に示す。なお、AZ5104 濃度はいずれの投与においても定量下限未満であった。

[^{14}C]-AZD9291 を静脈内投与したときの AZD9291 の分布容積は 18.2 L/kg と大きく、クリアランスは 1.28L/h/kg であった。経口投与時のバイオアベイラビリティ（F）は 115%と大きく算出されたが、これは 3 例中 1 例において経口投与後の AUC が高い値を示したことによる。

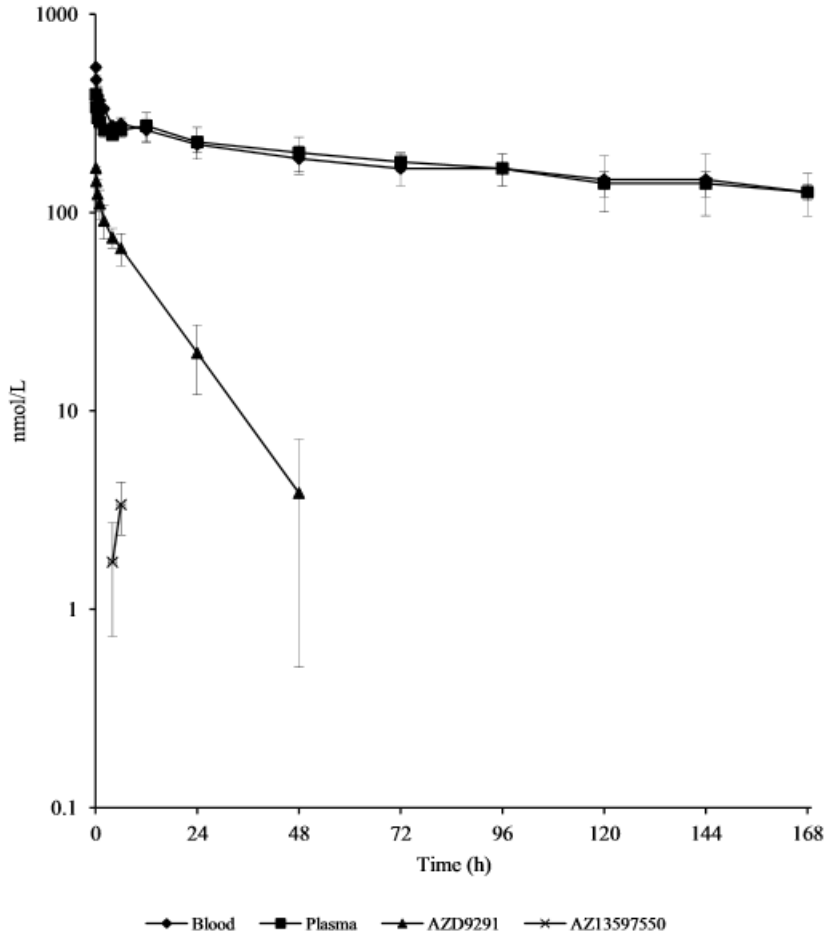
[^{14}C]-AZD9291 を経口投与したときの AZD9291 の曝露量は、1 カ月間反復投与毒性試験における 2 mg/kg 投与時の 1 日目の結果と同程度（C_{max} 及び AUC は 2 倍以内）であった（表 9及び表 10）。

表 8 雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの総放射能、AZD9291 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	総放射能	AZD9291	AZ7550
C_0 (nM)[a]	457 ± 39.1	195 ± 7.15	3.37 ± 0.880
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (nM·h)	30300 ± 4480	1550 ± 462	ND
AUC (nM·h)	NC	1650 ± 446	ND
$AUC_{met\ or\ radioactivity/AZD9291}$ (%)[b]	1950	NA	NC
CL (L/h/kg)	NA	1.28 ± 0.409	NA
V_d(L/kg)	NA	18.2 ± 1.58	NA
$t_{½}$ (h)	197 ± 34.8[c]	10.3 ± 2.12	ND

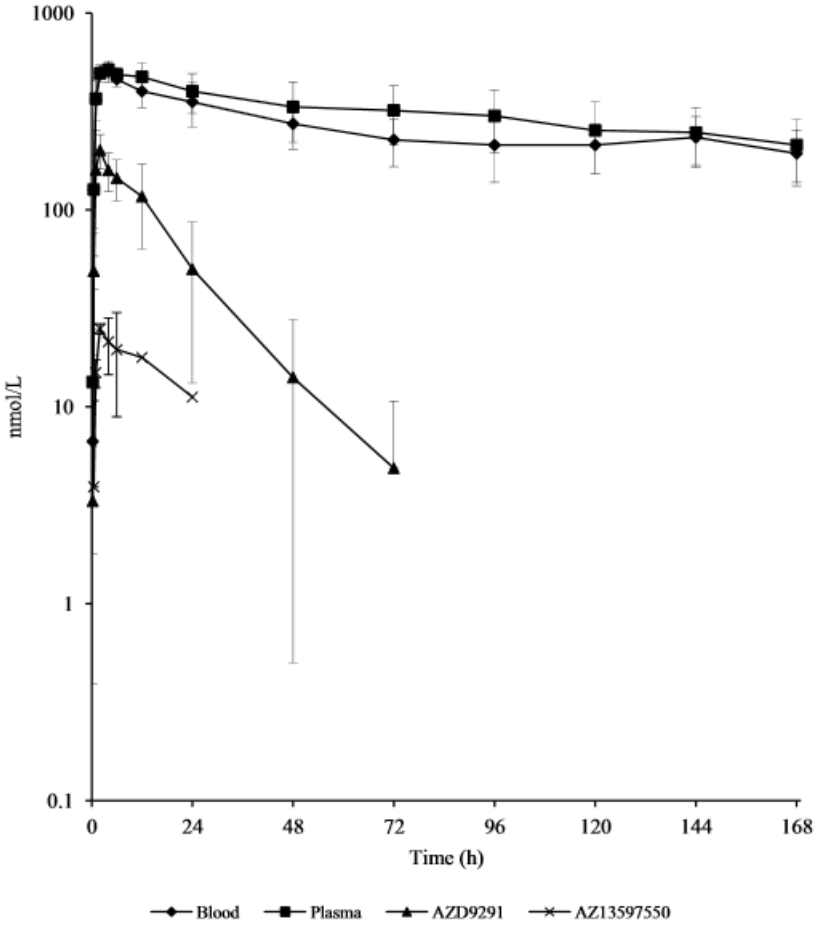
値は n=3 の平均±標準偏差を示す。
NA：該当せず、NC：算出せず、ND：算出不能（定量限界以上の濃度が認められた時点が 3 点未満又は不連続であったため）
a AZ7550 は C_{max}（t_{max} は全動物で 6 時間であった）
b $AUC_{met\ or\ radioactivity/AZD9291}$：AZ7550 又は総放射能の $AUC_{(0\text{-}t)}$を AZD9291 の $AUC_{(0\text{-}t)}$の百分率として示す
c 終末相の測定基準を満たさなかったときに算出された値
［試験 197725 の報告書 表 2 から引用］

図 5　　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血液及び血漿中総放射能濃度並びに血漿中 AZD9291 及び AZ7550 の濃度推移



AZ13597550 は AZ7550 の旧番号を示す。図中のポイントは n=3 の平均±標準偏差を示す。
［試験 197725 の報告書 図 4 から引用］

図 6　　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 2 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血液及び血漿中総放射能濃度並びに血漿中 AZD9291 及び AZ7550 の濃度推移



AZ13597550 は AZ7550 の旧番号を示す。図中のポイントは n=3 の平均±標準偏差を示す。
［試験 197725 の報告書 図 5 から引用］

雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を静脈内投与及び経口投与したときの総放射能による曝露量は高く、$AUC_{(0-t)}$は AZD9291 のそれぞれ 19.5 倍及び 14.2 倍であった。[^{14}C]-AZD9291 を静脈内投与したときの血漿中 AZ7550 の濃度は低く、$AUC_{(0-t)}$又は AUC の算出には至らなかった。

[^{14}C]-AZD9291 を経口投与したときの AZ7550 の曝露量は低く、$AUC_{(0-t)}$は AZD9291 の 17%未満であった。また、AZD9291 及び AZ7550 の消失半減期はそれぞれ 13.1 時間及び 15.9 時間であり、いずれも総放射能の消失半減期 179 時間に比べて短かった。なお、静脈内投与及び経口投与したときの総放射能の消失半減期は比較を目的とした概算値であり、これらの値を正確に算出するためにはより長時間の試験が必要である。

表 9　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を 2 mg/kg の用量で単回経口投与したときの総放射能、AZD9291 及び AZ7550 の薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	総放射能	AZD9291	AZ7550
C_{max} (nM)	540 ± 0.00	201 ± 40.6	26.5 ± 5.34
t_{max} (h)[a]	4 (2, 4)	2 (2, 2)	4 (2, 24)
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (nM·h)	53000 ± 15500	3740 ± 1810	620 ± 470
AUC (nM·h)	NC	3800 ± 1840	795[d]
$AUC_{met\ or\ radioactivity/AZD9291}$ (%)[b]	1420	NA	16.6
$t_{½}$ (h)	179 ± 4.97[c]	13.1 ± 4.48	15.9[d]
F (%)	NA	115	NA

値は n=3 の平均±標準偏差を示す。
NA：該当せず、NC：算出不能
a　t_{max} 中央値（範囲）
b　$AUC_{met\ or\ radioactivity/AZD9291}$：AZ7550 又は総放射能の $AUC_{(0\text{-}t)}$を AZD9291 の $AUC_{(0\text{-}t)}$の百分率として示す
c　終末相の測定基準を満たさなかったときに算出された値
d　n = 2 の平均値
［試験 197725 の報告書 表 3 から引用］

2.6.4.3.4.2　反復投与時のトキシコキネティクス

［試験 1351AD］

イヌの 1 カ月間毒性試験（毒性試験の概要文 2.6.6.3.2.2 項を参照）で得られた AZD9291 の薬物動態パラメータを表 10に示す。この試験では、イヌに AZD9291 を 1 日 1 回、28 日間反復経口投与し、1 日目（初回投与時）、11 日目（高用量群のみ）、15 日目及び 28 日目の薬物動態パラメータを評価した。

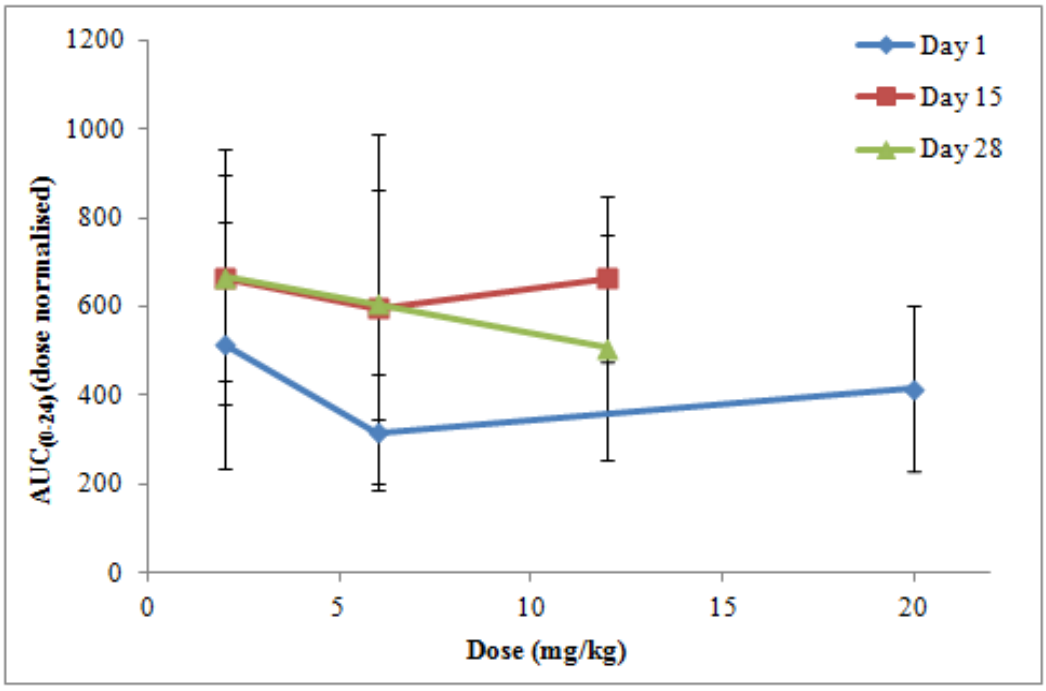
イヌにおける AZD9291 の吸収は緩徐であり、最高血漿中濃度は投与後 2～8 時間に得られた。単回投与後の AZD9291 の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$）は 2～20 mg/kg の用量範囲でほぼ用量に比例して増加した（表 10及び図 7）。最高用量群（20 mg/kg/日）では初回投与後 7～8 日目に毒性所見により投与を中止し、8~10 日目を休薬とした後、11 日目から用量を 12 mg/kg/日に減量して投与を再開した。初回投与後 15 日目及び 28 日目の曝露量は 2～12 mg/kg/日の用量範囲でほぼ用量に比例して増加した。AZD9291 を 28 日間反復投与したときの C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$は、単回投与時の値に比べて高く、最大約 2 倍の増加を示した。

表 10　　イヌの 1 カ月間反復投与毒性試験における AZD9291 の薬物動態パラメータ

評価日（日）	用量 (mg/kg)	性別	t_{max} (h)	C_{max} (nM)	$AUC_{(0-24)}$ (nM·h)
1	2	雌雄	2～4	179 ± 120	2050 ± 1120
	6	雌雄	2～4	336 ± 171	3810 ± 1580
	20	雌雄	2～8	1380 ± 709	16600 ± 7460
11	12	雌雄	2～4	1310 ± 471	14300 ± 5320
15	2	雌雄	2～4	225 ± 81.8	2660 ± 928
	6	雌雄	2～4	632 ± 485	7140 ± 4720
	12	雌雄	2～4	1340 ± 398	15900 ± 4430
28	2	雌雄	2～4	230 ± 111	2670 ± 1150
	6	雌雄	2～4	692 ± 346	7270 ± 3100
	12	雌雄	2～8	1060 ± 555	12200 ± 6050

2 及び 6 mg/kg/日群では雌雄各 n=3 のデータ、20/12 mg/kg/日群では雌雄各 n=6 のデータから、雌雄合わせて記述統計量を算出した。C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$値は平均±標準偏差を示し、t_{max} は範囲を示す。
［試験 1351AD の報告書　Appendix E　表 2 から引用］

図 7　　イヌにおける 1 カ月間反復投与毒性試験の 1 日目、15 日目及び 28 日目で算出された AZD9291 の $AUC_{(0-24)}$（用量で補正した値）と用量との関係



［試験 1351AD の報告書　Appendix E　図 11 から引用］

2.6.4.3.5 代謝物の体内動態

ラット及びイヌの 1 カ月間反復投与毒性試験において、AZD9291 を経口投与したときの代謝物 AZ7550 及び AZ5104 の血漿中濃度を測定した。得られた結果を表 11及び表 12に示す。なお、ラットの 1 カ月間毒性試験では、夾雑ピークのために AZ5104 濃度を定量することはできなかった。

2.6.4.3.5.1 ラットにおける代謝物の体内動態

［試験 3416AR］

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験における代謝物 AZ7550 の薬物動態パラメータを表 11に示す。投与 28 日目の AZ7550 の $AUC_{(0\text{-}24)}$はほぼ用量に比例して増加した。AZ7550 の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$は AZD9291 の値（2.6.4.3.3.2項参照）のそれぞれ 5～13%及び 6～14%であった。血漿中の未変化体 AZD9291 に対する AZ7550 の存在比は雌に比べ雄の方が高い傾向を示した。

表 11 ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験において AZD9291 を 28 日間反復経口投与したときの 28 日目における AZ7550 の薬物動態パラメータ

AZD9291 の用量 (mg/kg/日)	性別	AZ7550 の薬物動態パラメータ		
		t_{max} (h)	C_{max} (nM)	$AUC_{(0\text{-}24)}$ (nM·h)
4	雄	4	14.2 ± 4.57	NC
10		4	25.9 ± 2.00	343 ± 20.8
40		4～8	70.9 ± 19.1	1340 ± 279
4	雌	4	11.2 ± 2.29	NC
10		2～4	22.2 ± 5.24	278 ± 14.0
20		4	31.0 ± 3.23	554 ± 29.5

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$値は n=3 の平均±標準偏差を示し、t_{max} は範囲を示す。
NC：算出不能
［試験 3416AR の報告書 Appendix E 表 3 から引用］

2.6.4.3.5.2 イヌにおける代謝物の体内動態

［試験 1351AD］

イヌの 1 カ月間毒性試験における代謝物 AZ7550 及び AZ5104 の薬物動態パラメータを表 12に示す。投与 28 日目の AZ7550 の曝露量はほぼ用量に比例して増加した。AZ7550 の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$は AZD9291 の値（2.6.4.3.4.2項参照）のそれぞれ 15～19%及び 16～20%であった。また、AZ5104 の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$は AZD9291 の値のそれぞれ 4～5%及び 5～8%であった。

表 12　イヌの 1 カ月間反復投与毒性試験において、AZD9291 を 28 日間反復経口投与したときの 28 日目における AZ7550 及び AZ5104 の薬物動態パラメータ

AZD9291 の	代謝物の薬物動態パラメータ		
用量 (mg/kg/日)	t_{max} (h)	C_{max} (nM)	$AUC_{(0-24)}$ (nM·h)
AZ7550 (代謝物)			
2	4	33.5 ± 17.9	439 ± 183[b]
6	2～4	115 ± 92.3	1410 ± 1140
20/12 [a]	4～8	199 ± 116	2450 ± 1380
AZ5104 (代謝物)			
2	4～8	11.3 ± 4.38	212 ± 58.9[b]
6	2～8	31.1 ± 12.2	540 ± 215
20/12 [a]	2～8	39.6 ± 16.5	646 ± 270

2 及び 6 mg/kg/日投与群は雌雄各 n=3 のデータ、20/12 mg/kg/日投与群は雌雄各 n=6 のデータから、雌雄を合わせて記述統計量を算出した。C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$値は平均±標準偏差を、t_{max} は範囲を示す。

a　11 日目以降は 12 mg/kg/日を投与

b　n=5

［試験 1351AD の報告書 Appendix E 表 3～4 から引用］

2.6.4.3.6　生物学的同等性及びバイオアベイラビリティ

2.6.4.3.6.1　イヌに AZD9291 メシル酸塩を液剤、カプセル剤及びプロトタイプの錠剤として経口投与したときの血漿中濃度

［試験 CPK-13-0099］

AZD9291 を 4 種の投与剤型（液剤、HPMC カプセル剤及び 2 種のプロトタイプの錠剤）として、それぞれ雄イヌ（Beagle）に 20 mg の用量で単回経口投与したときの AZD9291 の薬物動態パラメータを比較評価した。錠剤 1 及び 2 の賦形剤を表 13に示し、得られた薬物動態パラメータを表 14に示す。

表 13　AZD9291 のプロトタイプの錠剤 1 及び 2 の処方

錠剤	主充填剤	副充填剤	崩壊剤	潤滑剤	湿潤剤
1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
2	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

［試験 CPK-13-0099 の報告書 表 2 から引用］

液剤、カプセル剤及び錠剤 1 を用いて AZD9291 を経口投与したときの AZD9291 の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は剤形間で近似したが、錠剤 2 を経口投与したときの AZD9291 の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は、他の剤形の場合に比べて高い値を示した。また、錠剤 2 の薬物動態パラメータ値の標準偏差は他の剤形よりも大きく、ばらつきが大きいことが示された。AZD9291 の終末相における消失半減期

は、全ての投与剤形で近似していた。液剤及び錠剤 2 を投与したときの投与初期における AZD9291 の吸収速度は速やかであったが、錠剤 1 を投与したときの AZD9291 の吸収はわずかに遅く、カプセル剤の場合の吸収は更に遅延した。これらのプロトタイプの錠剤はいずれも臨床試験には使用しなかった。

表 14　雄イヌに AZD9291 メシル酸塩を液剤、カプセル剤及び錠剤（2 種）として 20 mg の用量で経口投与したときの AZD9291 の薬物動態パラメータ

	液剤	HPMC カプセル剤	錠剤 1	錠剤 2
C_{max} (μM)	0.136 ± 0.0414	0.097 ± 0.0332	0.115 ± 0.0550	0.234 ± 0.124
t_{max} (h)[a]	3 (3 ~ 4)	4 (4 ~ 4)	4 (3 ~ 6)	4 (4 ~ 4)
$AUC_{(0-24)}$ (μM.h)	1.28 ± 0.281	0.998 ± 0.391	1.27 ± 0.637	2.39 ± 1.39
$t_{½}$ (h)	6.63 ± 0.760	7.72 ± 2.27	6.73 ± 1.23	5.49 ± 0.965

値は n=4 の平均±標準偏差を示す。
a　中央値及び範囲を示す。
［試験 CPK-13-0099 の報告書 表 1 及び表 3 から引用］

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 組織分布

2.6.4.4.1.1 マウスの脳及び異種移植腫瘍における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の分布

［試験 BE000343-60］

腫瘍（H1975 細胞株）を担癌する雌 SCID マウスに、AZD9291 を 0.5%ヒドロキシプロピルメチルセルロース懸濁液として、5 及び 25 mg/kg の用量で経口投与したときの AZD9291 並びに代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の血漿、脳及び腫瘍中濃度を測定した。得られた薬物動態パラメータをそれぞれ表 15、表 16及び表 17に示す。

AZD9291 の脳及び腫瘍への分布はほぼ同程度であり、$AUC_{(0-t)}$の脳あるいは腫瘍／血漿比は 1.7～2.8 であった（表 15）。

AZ5104 は腫瘍内に認められたが、その濃度は血漿中濃度に比べて低く、$AUC_{(0-t)}$の腫瘍／血漿比は 0.26～0.86 であった。脳では定量下限を超える AZ5104 濃度は測定されなかった（表 16）。

AZ7550 は腫瘍内に認められ、その濃度は血漿中濃度と同程度であり、$AUC_{(0-t)}$の腫瘍／血漿比は 0.63～2.0 であった。脳内 AZ7550 濃度は、25 mg/kg の用量では測定されたが（$AUC_{(0-t)}$の脳／血漿比は 0.1）、5 mg/kg では定量下限未満であった（表 17）。

表 15　雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの AZD9291 の血漿、脳及び H1975 腫瘍における薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg)	5			25		
組織	血漿	脳	腫瘍	血漿	脳	腫瘍
C_{max} (μM)	1.92	1.03	0.69	2.98	7.13	5.79
t_{max} (h)	0.5	2	2	0.5	4	4
$AUC_{(0-t)}$ (μM·h)	4.82	8.56	8.19	23.9	67.0	66.2
$t_{½}$ (h)	2.85	3.09	5.90	2.81	3.48	6.68
$AUC_{(0-t)}$の組織／血漿比	NA	1.8	1.7	NA	2.8	2.8

各パラメータ値は 3 例の平均濃度から算出した。
NA：該当せず
［試験 BE000343-60 の報告書 表 2 から引用］

表 16　雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの AZ5104 の血漿、脳及び H1975 腫瘍における薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg)	5			25		
組織	血漿	脳	腫瘍	血漿	脳	腫瘍
C_{max} (μM)	0.21	0	0.07	0.86	0	0.66
t_{max} (h)	2	0	4	4	0	6
$AUC_{(0-t)}$ (μM·h)	1.02	0	0.26	10.5	0	9.03
$AUC_{(0-t)}$の組織／血漿比	NA	ND	0.26	NA	ND	0.86

各パラメータ値は 3 例の平均濃度から算出した。
NA：該当せず、ND：算出不能
［試験 BE000343-60 の報告書 表 3 から引用］

表 17　雌 SCID マウスに AZD9291 を 5 及び 25 mg/kg の用量で単回経口投与したときの AZ7550 の血漿、脳及び H1975 腫瘍における薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg)	5			25		
組織	血漿	脳	腫瘍	血漿	脳	腫瘍
C_{max} (μM)	0.27	0	0.15	0.64	0.16	1.08
t_{max} (h)	0.5	0	2	4	4	4
$AUC_{(0-t)}$ (μM·h)	1.14	0	0.72	8.07	0.80	15.8
$AUC_{(0-t)}$の組織／血漿比	NA	ND	0.63	NA	0.10	2.0

各パラメータ値は 3 例の平均濃度から算出した。
NA：該当せず、ND：算出不能
［試験 BE000343-60 の報告書 表 4 から引用］

2.6.4.4.1.2 ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）

［試験 8265562］

[^{14}C]-AZD9291 を経口投与（4 mg/kg）した雄有色ラット（Lister-Hooded）及び雌雄アルビノラットを定量的全身オートラジオグラフィーに供し、組織内放射能濃度を画像解析システムにより定量した。雄有色ラットにおける投与後 6 時間及び 7 日の全身オートラジオグラムをそれぞれ図 8及び図 9に示し、組織内放射能濃度を表 18に示す。

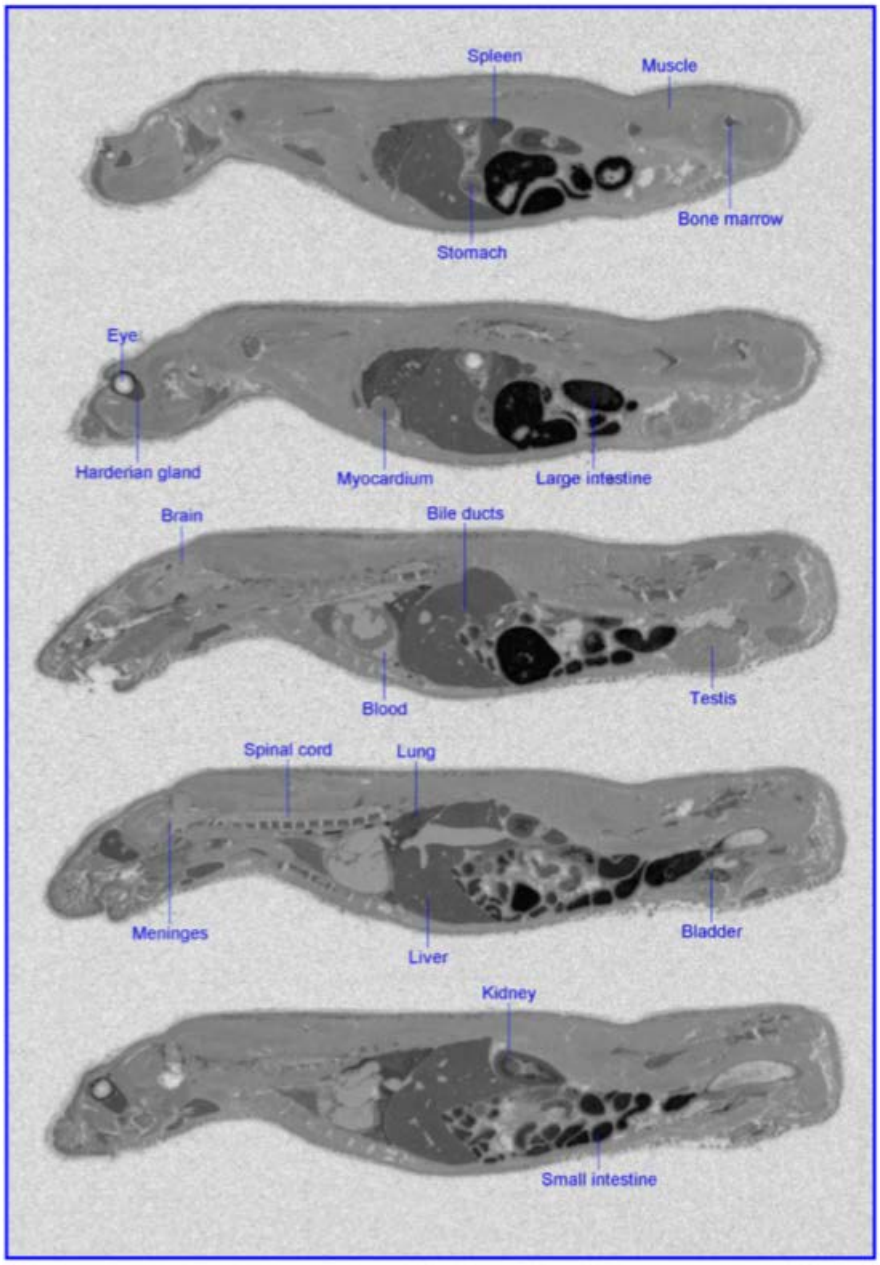
雄有色ラットに経口投与後の放射能は緩徐に吸収され、全身に広く分布し、多くの臓器・組織中放射能濃度は投与後 6 時間に最高値を示した。その後、放射能濃度は低下したが、投与後 60 日においても測定した組織の 42%で放射能が検出された。雄アルビノラットにおける放射能の体内分布は、雄有色ラットのメラニン色素含有組織を除き、近似していた。また、雌アルビノラットでは雄の場合と同様の分布傾向を示した。有色ラット及びアルビノラットともに、投与後 21 日まで中枢神経（脳及び脊髄）中に定量可能な放射能濃度が認められたことから、AZD9291 及びその代謝物が血液脳関門をある程度通過することが示唆された。

胆管中に放射能が投与後 7 日まで認められたことから、AZD9291 及びその代謝物が胆汁中に分泌され、糞中に排泄されることが示唆された。

雄有色ラットのメラニン色素含有組織、特に眼のブドウ膜及び網膜色素上皮における放射能濃度は、投与後 60 日まで定量可能であり、アルビノラットのブドウ膜及び網膜色素上皮における放射能濃度に比べ数十倍高かった。このことから、有色ラットでは AZD9291 及びその代謝物がメラニン色素と結合し、長期にわたり残留することが示唆された。

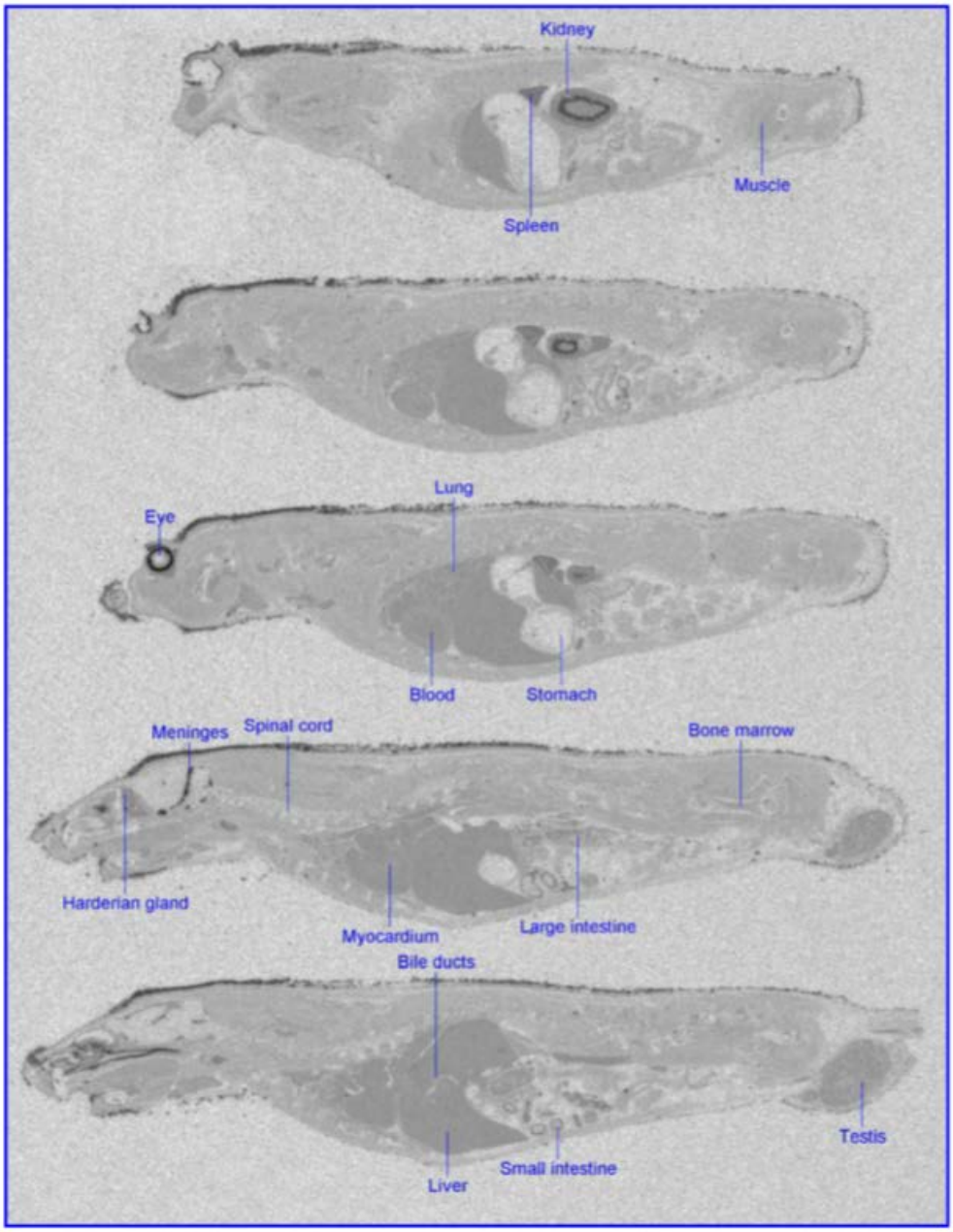
雄有色ラットにおいて、放射能の消失半減期はほどんとの組織で 100 時間以上であった。しかし、測定した約 9%の組織における消失半減期は更に長く、1200 時間以上［1200 時間（ブドウ膜及び網膜色素上皮）～2380 時間（水晶体）］であった。血液における放射能の消失半減期は 362 時間であり、測定した約 60%の組織における消失半減期は血液の消失半減期に比べ短かった。

図 8　　雄有色ラットに[^{14}C]-AZD9291 を 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与後 6 時間における全身オートラジオグラム



Spleen：脾臓、Muscle：筋肉、Bone marrow：骨髄、Stomach：胃、Eye：眼球、Harderian gland：ハーダー腺、Myocardium：心筋、Large intestine：大腸、Brain：脳、Bile duct：胆管、Blood：血液、Testis：精巣、Spinal cord：脊髄、Lung：肺、Meninges：髄膜、Liver：肝臓、Bladder：膀胱、Kidney：腎臓、Small intestine：小腸
［試験 8265562 の報告書 図 6 から引用］

図 9　　雄有色ラットに[^{14}C]-AZD9291 を 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与後 7 日における全身オートラジオグラム



Kidney：腎臓、Spleen：脾臓、Muscle：筋肉、Eye：眼球、Lung：肺、Blood：血液、Stomach：胃、Meninges：髄膜、Spinal cord：脊髄、Bone marrow：骨髄、Harderian gland：ハーダー腺、Myocardium：心筋、Large intestine：大腸、Bile duct：胆管、Liver：肝臓、Small intestine：小腸、Testis：精巣
［試験 8265562 の報告書 図 9 から引用］

表 18　雄有色ラットに[^{14}C]-AZD9291 を 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの組織内放射能濃度

組織	放射能濃度（nmol/g）							
	0.5 時間	1 時間	6 時間	24 時間	2 日	7 日	21 日	60 日
副腎皮質	1.13	2.29	7.10	1.38	0.623	0.442	0.333	0.118
大動脈壁	0.288	0.529	1.13	0.469	0.475	0.132	0.140	BLQ
胆管	8.46	11.6	15.8	1.35	0.774	0.106	BLQ	BLQ
血液	0.133	0.205	0.552	0.512	0.493	0.274	0.212	BLQ
脳	0.142	0.445	1.02	0.187	0.095	0.061	0.049	BLQ
尿道球腺	0.747	1.06	0.944	0.868	0.490	0.207	0.112	0.025
盲腸粘膜	0.422	1.05	31.2*	5.29	0.359	0.031	BLQ	BLQ
ハーダー腺	0.243	0.995	10.6	9.52	5.61	0.343	0.093	0.043
大腸粘膜	0.212	0.867	14.7	3.92*	1.16	0.086	BLQ	BLQ
水晶体	BLQ	0.026	0.117	0.172	0.087	0.086	0.092	0.059*
肝臓	4.35	5.02	7.33	1.65	1.07	0.278	0.086	BLQ
肺	1.87	4.36	11.2	1.59	0.613	0.233	0.172	BLQ
髄膜	0.154	0.791	1.87	11.3	10.5	9.74	1.00	2.14
食道壁	25.8*	2.68*	9.76*	2.24	0.588	0.116	0.038	BLQ
脳下垂体	1.55	2.15	13.1	2.74	1.14	0.335	0.223	0.056*
腎皮質	1.57	3.21	12.3	5.82	4.14	1.12	0.225	0.031
腎皮質内側	1.40	3.63	18.1	13.0	9.09	2.58	0.428	0.023
腎皮質外側	1.21	3.07	8.89	2.30	1.57	0.425	0.149	0.036
腎髄質	0.510	1.91	6.35	1.48	0.930	0.308	0.127	BLQ
精嚢	0.053	0.071	0.425	0.080	0.197	0.038	0.051	BLQ
白色皮膚	0.085	0.288	1.20	0.296	0.153	0.055	0.031	BLQ
有色皮膚	0.135	0.431	1.59	1.62	0.994	1.46	0.036	0.261
小腸粘膜	63.0*	73.3*	13.5*	2.10	0.750	0.383	0.122	BLQ
脊髄	0.088	0.326	0.780	0.178	0.071	0.055	0.035	BLQ
脾臓	1.48	3.99	12.5	2.76	1.53	0.759	0.720	0.442
胃粘膜（基底部）	1.08*	12.1*	2.43*	0.659	0.243	0.080	0.038	0.024
胃粘膜（非基底部）	2.56*	12.4*	1.95*	0.359	0.295	0.086	BLQ	BLQ
精巣	0.059	0.157	1.36	0.552	0.379	0.208	0.143	0.026
ブドウ膜及び網膜色素上皮	1.02	3.07	39.7	49.8	85.2	41.4	38.1	20.5
白色脂肪	0.055	0.092	0.535	0.083	0.090	0.040	0.025	BLQ
定量下限	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023

BLQ：定量下限未満
*　測定値は近接する内容物又は組織の高い放射能濃度の影響を受けているものと考えられた
［試験 8265562 の報告書 表 5 から引用］

2.6.4.4.2 血漿蛋白結合、共有結合及び血球移行

2.6.4.4.2.1 血漿中での安定性（*in vitro*）

［試験 D9291 KMN006、試験 ADME-AZS-Wave4-120915］

ラット及びヒト血漿並びに HSA 溶液中における AZD9291 の安定性について探索的試験（試験 D9291 KMN006）を実施した。その結果、AZD9291 を 1 及び 10 μM の濃度（いずれも n=1）でラット血漿とともに 37°C でインキュベーションしたところ、AZD9291 濃度はそれぞれの濃度において 50 分及び 110 分の消失半減期で低下した。同一条件で実施したヒト血漿での消失半減期は 360 分以上、HSA 溶液での消失半減期は 45～111 分であった。

次の試験（試験 ADME-AZS-Wave4-120915）では、マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿、HSA 溶液並びにヒト α_1-酸性糖蛋白質（α_1-AGP）溶液とともに AZD9291 を 0.1～100 μM の濃度で 37°C で 6 時間インキュベーションし、これら試料中での AZD9291 の安定性を検討した。得られた結果を表 19に示す。

マウス、ラット及びヒト血漿並びに HSA 溶液中では AZD9291 濃度は低下し、安定でなかったが、イヌ血漿中及びヒト α_1-AGP 溶液中ではイヌ血漿中の 10 μM の濃度を除き安定であった。更に、AZD9291 を 1 μM の濃度で、阻害剤（フッ化ナトリウム、フッ化フェニルメチルスルホニル、エチレンジアミン四酢酸）の存在下 37°C でインキュベーションし、ヒト血漿中での安定性を検討したところ、いずれの阻害剤の存在下においても、インキュベーション終了時における AZD9291 濃度低下の顕著な改善は認められなかった。

表 19 マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿並びに HSA 及びヒト α_1-AGP 溶液中で AZD9291 を 37°C で 6 時間インキュベーションしたときの AZD9291 の平均残存率

AZD9291 濃度 (μM)	インキュベーション 6 時間後の AZD9291 残存率（%）					
	マウス血漿	ラット血漿	イヌ血漿	ヒト血漿	HSA 溶液	ヒト α_1-AGP 溶液
0.1	15	36	90	< 1	11	101
1	25	43	88	< 0.1	11	108
10	43	34	83	< 0.1	9.7	105
100	30	32	98	0.09	14	104

値は n=3 の平均を示す。
［試験 ADME-AZS-Wave4-120915 の報告書 表 4 から引用］

2.6.4.4.2.2 血漿蛋白結合－限外ろ過法（*in vitro*）

［試験 VKS0890］

雄マウス（CD-1 系）、雄ラット（Han Wistar）、雄モルモット（Dunkin Hartley）、雌ウサギ（New Zealand White）、雄イヌ（Beagle）及び雄性ヒト血漿、HSA 並びにヒト α_1-AGP 溶液を用いて AZD9291、AZD9291 代謝物である AZ5104 及び AZ7550 の蛋白結合についてそれぞれ限外ろ過法で探索的に検討した。当初、各被験物質の濃度を 0.1、1、10 及び 100 μM として実施したが、

限外ろ過液中で各被験物質の非特異的結合がみられたため、最終的に各被験物質の濃度を100 μM のみとして蛋白結合率を測定した。得られた結果を表 20に示す。

表 20 AZD9291、AZ5104 及び AZ7550（いずれも 100 μM）のマウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿、HSA 並びにヒト α_1-AGP における蛋白結合率

血漿又は蛋白液	AZD9291		AZ5104		AZ7550	
	結合率 (%)	非結合率 (%)	結合率 (%)	非結合率 (%)	結合率 (%)	非結合率 (%)
マウス血漿	NC	NC	97.9	2.1	NC	NC
ラット血漿	NC	NC	96.4	3.6	NC	NC
モルモット血漿	NC	NC	98.3	1.7	NC	NC
ウサギ血漿	NC	NC	98.0	2.0	NC	NC
イヌ血漿	NC	NC	98.6	1.4	NC	NC
ヒト血漿	NC	NC	98.0	2.0	NC	NC
HSA	82.3	17.7	69.0	31.0	83.7	16.3
ヒト α_1-AGP	15.9	84.1	29.5	70.5	21.5	78.5

NC：限外ろ過装置内での非特異的結合により算出せず
［試験 VKS0890 の報告書 表 5～7 から引用］

AZD9291 及び AZ7550 については、非特異的結合により血漿蛋白結合率の測定はできなかったが、HSA 溶液中ではそれぞれ 82.3%及び 83.7%、ヒト α_1-AGP 溶液中ではそれぞれ 15.9%及び 21.5%と算出された。限外ろ過液中濃度は、HSA 及びヒト α_1-AGP の場合に比べて血漿の方が低かったことから、AZD9291 及び AZ7550 の結合率は、これらの単離蛋白溶液に比べて血漿の方が顕著に高いことが示唆された。しかし、これらの血漿における限外ろ過液中濃度は、著しい非特異的結合がみられる濃度（約 1 μM）よりも低かったことから、AZD9291 及び AZ7550 の血漿蛋白結合率を正確に算出することができなかった。

AZ5104 は 100 μM の濃度で 96.4～98.6%の血漿蛋白結合率を示し、ヒト血漿蛋白結合率は 98.0%であった。HSA 及びヒト α_1-AGP 溶液に対する結合率はそれぞれ 69.0%及び 29.5%であった。限外ろ過液中の AZ5104 濃度が 1 μM 未満では著しい非特異的結合がみられた。

AZD9291 及び AZ7550 の HSA への結合率はいずれも AZ5104 の結合率より高かった。このことから、AZD9291 及び AZ7550 の血漿蛋白結合率は、AZ5104 の蛋白結合率と同等以上と考えられ、AZD9291 及び AZ7550 のヒト血漿蛋白結合率は 100 μM の濃度では少なくとも 98.0%以上であると推察される。

2.6.4.4.2.3 ヒト血漿蛋白結合率の予測

AZD9291 及び AZ7550 の血漿蛋白結合率が測定できなかったため、計算的手法を用いてヒト血漿蛋白結合率を推定した。アストラゼネカ社が所有するヒト血漿蛋白結合率を予測するための演算アルゴリズム（Wood et al 2011）により、AZD9291 のヒト血漿における蛋白結合分画の遊離分画に対する対数比（log $K^{B/F}$）は 1.95（結合率 99%）と推定された。同様の方法により、AZ5104 及び AZ7550 のヒト血漿蛋白結合率は、いずれも 98%と推定された。本方法論のバリデートはさ

れていないが、この演算アルゴリズムは大規模かつ多様な一連の社内及び市販化合物［現在 n>50,000 であり、分配係数（LogD）の範囲は-1.5～4.5 と広い］で調整されている。

AZ5104 の推定ヒト血漿蛋白結合率（98%）は、限外ろ過法による 100 μM での測定値と同一であり、より高脂溶性の AZD9291 は 98%以上の結合率を示す可能性が高いと考えられる。

2.6.4.4.2.4 血球移行率

［試験 196187、試験 197725］

AZD9291 が血漿中で不安定であったことから、*in vitro* 試験における AZD9291 の蛋白結合率及び血液／血漿分配率を評価することはできなかった。しかし、*in vivo* 試験でラット及びイヌに [^{14}C]-AZD9291 を投与したときの血漿中総放射能濃度に対する血液中総放射能濃度の比は算出されている。

雌雄ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回経口投与（10 mg/kg）し、投与後 1、3 及び 12 時間に採取した血液及び血漿中の放射能濃度を比較したところ、血漿中放射能濃度に対する血液中放射能濃度の比は 1 を超えていた（1.5～2.7）。このことから、AZD9291 及びその代謝物は主に血球に分布することが示唆された。放射能の血球への移行率は時間とともに増加し、全ての採血時点で雌に比べ雄の方が高かった。

イヌに[^{14}C]-AZD9291 を静脈内投与（1 mg/kg）及び経口投与（2 mg/kg）し、血液及び血漿を 168 時間後まで採取した。静脈内投与後の放射能の血漿中濃度に対する血液中濃度の比は、最初の測定時点（5 分後）では 1.4 であり、6 時間後には 1.1 に低下し、以後 168 時間後までほぼ一定であった。経口投与後の放射能の血漿中濃度に対する血液中濃度の比は、全ての採血時点で約 1 であった。

2.6.4.4.2.5 血漿中共有結合（*in vitro*）

［試験 D9291 KMN006］

[^{14}C]-AZD9291 を 10 μM の濃度でラット及びヒト血漿並びに HSA 溶液中で 37°C 下 6 時間インキュベーション（各 n=1）したところ、放射能（未変化体及びその代謝物）が蛋白へ共有結合することが確認された。蛋白へ共有結合した放射能量は、血漿及び HSA 溶液のいずれにおいても、最初の測定時点（インキュベーション 0 分）では 1 pmol/mg protein 以下であったが、その後経時的に増加し、0 分における結合を考慮した 6 時間後の結合量は、ラット血漿、ヒト血漿及び HSA 溶液中でそれぞれ 159、196 及び 158 pmol/mg protein であった。

2.6.4.4.2.6 肝細胞中蛋白への共有結合

［試験 111123_CVB_KXZZ856、試験 120118_CVB_KXZZ856］

[^{3}H]-AZD9291 を 10 μM の濃度でラット及びヒト凍結肝細胞とともに 4 時間インキュベーションし、AZD9291 又はその代謝物の肝細胞中蛋白への共有結合を検討した。更に、LC-MS/MS を用いて未変化体濃度を測定し、未変化体の消失率を測定した。ヒト肝細胞において、[^{3}H]-AZD9291 の共有結合量は 677 pmol/mg protein、消失した未変化体の割合は 15%であり、共有結合率（f_{CVB}）は 0.29 であった（試験 111123_CVB_KXZZ856）。ラット肝細胞においては、[^{3}H]-AZD9291 の共有結合量は 217 pmol/mg protein、消失した未変化体の割合は 71%であり、f_{CVB} は 0.020 であった（試験 120118_CVB_KXZZ856）。

2.6.4.4.3 胎盤通過

［試験 496800］

AZD9291 の胎盤通過性は検討していない。しかし、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において、母動物に AZD9291 を反復経口投与したときの母動物、胎児及び出生児における AZD9291 及びその代謝物のトキシコキネティクスを検討した結果を基に、AZD9291 及び代謝物（AZ5104 及び AZ7550）の胎盤通過性を考察した（毒性試験の概要文 2.6.6.6.3.1 項を参照）。

AZD9291 を投与した全ての母動物の血漿中に AZD9291 並びにその代謝物 AZ7550 及び AZ5104 が認められたが、AZ5104 は ISR で再現性が得られなかったことから、トキシコキネティクスは AZD9291 及び AZ7550 について検討した。得られた薬物動態パラメータをそれぞれ表 21及び表 22に示す。妊娠 16 日の AZD9291 及び AZ7550 の曝露量は、いずれもほぼ用量に比例して増加した。また、AZD9291 の曝露量は AZ7550 に比べ 26～31 倍高かった。

AZD9291 を 20 mg/kg/日の用量で母動物に投与したときの胎児血漿中に、AZD9291 及び AZ7550 がそれぞれ 280±55.6 nM（平均±標準偏差、n=6）及び 1.98±0.506 nM（n=6）の濃度で認められ、胎児は AZD9291 及び AZ7550 による曝露を受けることが明らかとなった。

これらの結果から、母動物に投与された AZD9291 は胎盤を通過し、一部胎児へ移行することが確認されるとともに、代謝物 AZ7550 も胎盤を通過する可能性が示唆された。

表 21　妊娠 16 日の雌ラットにおける AZD9291 経口投与後の AZD9291 の薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg)	1	10	20	30
C_{max} (nM)	86.7 ± 32.9	759 ± 282	990 ± 84.8	1430 ± 400
t_{max} (h)[a]	4 (2, 8)	2 (2, 4)	4 (2, 8)	6 (2, 8)
$AUC_{(0-t)}$ (nM·h)	1130 ± 352	10200 ± 4570	16600 ± 1470	21200 ± 4580

値は n=6 の平均±標準偏差を示す。
a　中央値（範囲）
［試験 496800 の報告書 Appendix F1 表 1 から引用］

表 22　妊娠 16 日の雌ラットにおける AZD9291 経口投与後の AZ7550 の薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg)	1	10	20	30
C_{max} (nM)	2.61 ± 1.10	25.1 ± 7.23	43.7 ± 8.17	58.9 ± 13.4
t_{max} (h)[a]	8 (1, 8)	4 (4, 4)	8 (4, 8)	6 (2, 8)
$AUC_{(0-t)}$ (nM·h)	31.1 ± 25.1	380 ± 115	756 ± 119	1020 ± 219

値は n=6 の平均±標準偏差を示す。
a　中央値（範囲）
［試験 496800 の報告書 Appendix F1 表 2 から引用］

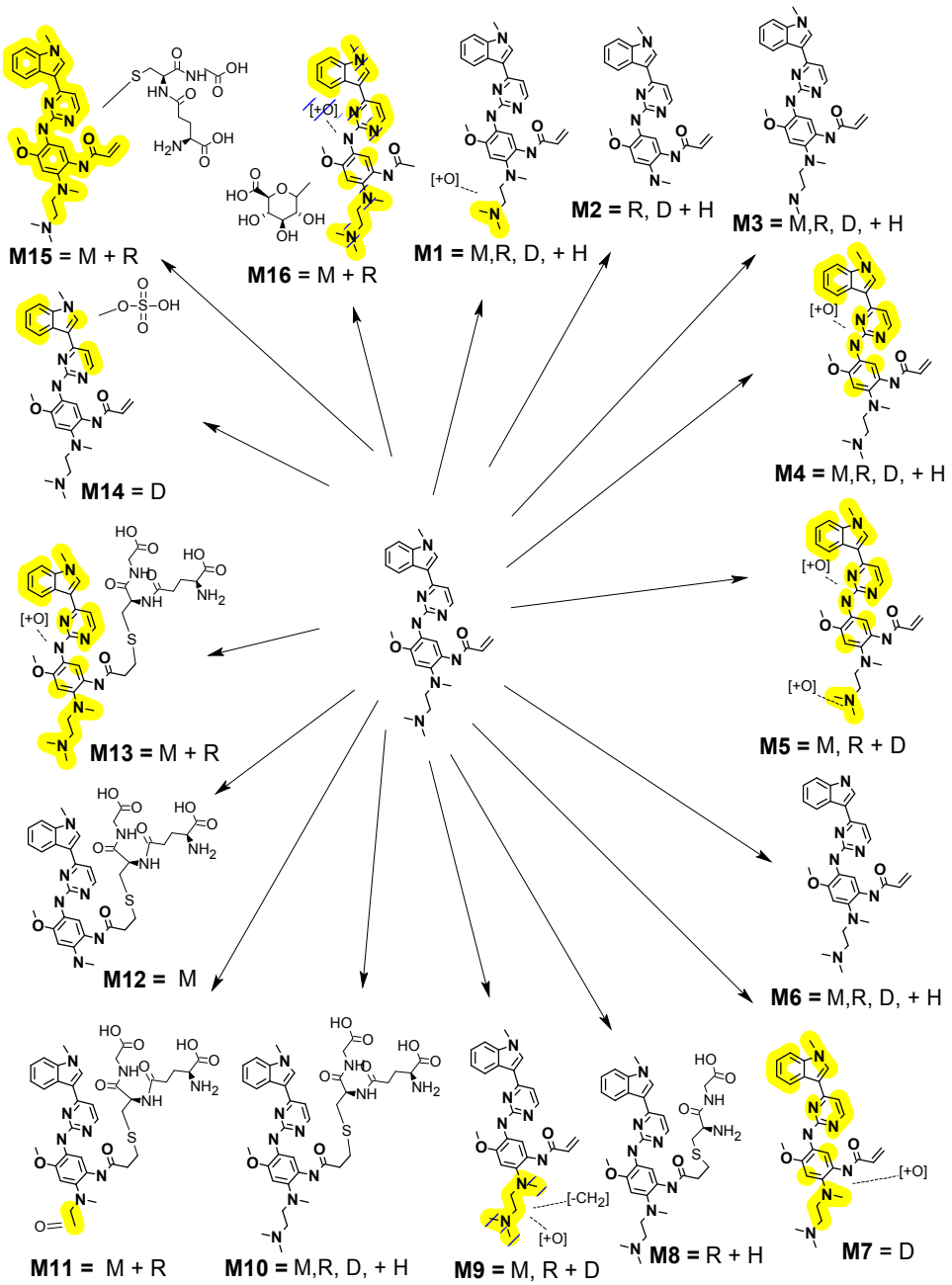
2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 肝細胞における代謝物の構造（*in vitro*）

［試験 ADME_025］

AZD9291 を 5 μM の濃度でマウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞とともに 1 時間インキュベーションし、AZD9291 の代謝を検討した。AZD9291 及び生成した代謝物は超高速液体クロマトグラフィー（UPLC）－紫外（UV）検出器及び Orbitrap 質量分析計（UPLC-UV-MS/MS）を用いて分析した。代謝物の構造は質量分析計を用いて測定した精密質量により同定又は推定し、動物及びヒト肝細胞において生成した代謝物の UV 検出によるピークの面積比（クロマトグラム上のピーク面積の総和に対する各成分のピーク面積比）から半定量を実施した（図 10及び表 23）。

図 10　　マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞における AZD9291 の推定代謝経路(M3：AZ7550、M6：AZ5104)



［試験 ADME_025 の報告書 図 1 から引用］

マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞では合計で 16 種の代謝物が生成した。ヒト肝細胞では 7 種の代謝物が生成し、これらはいずれもラット又はイヌ肝細胞においても認められ、ヒト特有の

代謝物はみられなかった。また、ヒト肝細胞で 1%以上の存在比を示したのは M3（脱メチル体）及び M4（酸化体）の 2 種の代謝物のみであった。

M3（AZ7550）及び M6（AZ5104）は活性代謝物であり（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.2 項を参照）、1 カ月間及び 3 カ月間毒性試験、安全性薬理試験、ラット胚及び胎児発生に関する試験並びに臨床試験において血漿中濃度を測定した。

表 23　マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞とともに AZD9291 を 5 μM の濃度で 60 分間インキュベーションしたときに生成した代謝物の概要

ピーク番号	推定される代謝反応	UV 検出(320～330 nm)によるクロマトグラム上のピーク面積の総和に対する割合			
		マウス	ラット	イヌ	ヒト
M1	酸化 (+O)	<1%	<1%	1-10%	<1%
M2	脱アルキル化 ($-C_4H_9N$)	ND	<1%	<1%	<1%
M3 (AZ7550)	脱メチル化 ($-CH_2$)	1～10%	1～10%	1～10%	1～10%
M4	酸化 (+O)	1～10%	1～10%	1～10%	1～10%
M5	酸化 ($+O_2$)	<1%	<1%	<1%	ND
M6 (AZ5104)	脱メチル化 ($-CH_2$)	<1%	<1%	<1%	<1%
M7	酸化 (+O)	ND	ND	<1%	ND
M8	システイングリシン抱合	ND	<1%	ND	<1%
M9	脱メチル化 ($-CH_2$) 及び酸化 (+O)	1～10%	<1%	<1%	ND
M10	グルタチオン抱合	1～10%	>10%	1～10%	<1%
M11	アセチル化あるいは脱アミノ化及びグルタチオン抱合	1～10%	1～10%	ND	ND
M12	脱アルキル化 ($-C_4H_9N$) 及びグルタチオン抱合	1～10%	ND	ND	ND
M13	酸化 (+O) 及びグルタチオン抱合	1～10%	1～10%	ND	ND
M14	酸化 (+O) 及び硫酸抱合	ND	ND	<1%	ND
M15	グルタチオン抱合	<1%	<1%	ND	ND
M16	酸化 (+O) 及びグルクロン酸抱合	<1%	<1%	ND	ND

ND：質量分析で検出されず
［試験 ADME_025 の報告書 表 1 から引用］

2.6.4.5.2　AZD9291 の代謝に関与する CYP 分子種の特定

2.6.4.5.2.1　遺伝子組み換え CYP 分子種発現系における代謝

［試験 AZM121105-01、試験 BE000021-23、試験 ADME-AZS-Wave3-030516］

数種類の遺伝子組み換えヒト CYP 発現系を用いた探索的 *in vitro* 試験（試験 AZM121105-01）において、AZD9291（2 μM でインキュベーション）の代謝には主に CYP3A4 が関与し、程度は小さいものの CYP2C8、CYP1A2、CYP2C9 及び CYP2C19 の関与も示唆された。続いて、より多くの CYP 分子種を用いて AZD9291（1 μM）の代謝を検討し（試験 BE000021-23）、同様にして

AZ5104（2 μM）及び AZ7550（2 μM）の代謝を検討した（試験 ADME-AZS-Wave3-030516）。得られた結果を併せて表 24に示す。

AZD9291 の代謝には主に CYP3A4 が関与し、程度は小さいものの CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9、CYP2E1 及び CYP3A5 の関与も認められた。

AZ5104 の代謝には主に CYP3A4 及び CYP3A5 が関与し、程度は小さいものの CYP2C8、CYP2C19、CYP1A2、CYP2D6 及び CYP2C9 の関与も認められ、AZ7550 の代謝には主に CYP3A4 が関与し、わずかに CYP2C8 の関与も認められた。

表 24　遺伝子組み換えヒト CYP 発現系における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の代謝に対する各 CYP 分子種の寄与率 [a]

CYP 分子種	被験物質		
	AZD9291[b]	AZ5104[c]	AZ7550[c]
1A2	12.0	0.373	0
2A6	15.5	0	0
2B6	ND	0	0
2C8	ND	3.19	0.129
2C9	15.5	0.160	0
2C19	ND	0.958	0
2D6	ND	0.285	0
2E1	3.0	0	0
3A4	44.4	67.0	99.9
3A5	9.6	28.1	0

値は n=2（AZD9291）あるいは n=3 の平均値を示す。
ND：検出されず
a　10 種類の各 CYP 分子種の寄与率は、発現系で得られた平均固有クリアランス（CLint）を、ヒト肝ミクロソーム中の発現量比及び発現系とヒト肝ミクロソームとの間におけるデータの補完係数（inter-system extrapolation factor：ISEF）を用いて補正した後、全分子種での総和に対する割合（%）として算出した。
b　試験 BE000021-23
c　試験 ADME-AZS-Wave3-030516、
［試験 BE000021-23 の報告書 表 1、試験 ADME-AZS-Wave3-030516 の報告書 表 2 及び表 3 から引用］

2.6.4.5.2.2　遺伝子組み換え CYP 分子種発現系における代謝物の生成

［試験 BE000021-23］

遺伝子組み換えヒト CYP 発現系とともに AZD9291（1 μM）をインキュベーションしたときの AZ5104 及び AZ7550 の生成について検討した。その結果を CYP3A4 による生成量に対する割合として表 25に示す。AZ5104 及び AZ7550 の生成割合は CYP3A4 で最も高く、次いで CYP3A5 が高かった。このことから、両代謝物は主に CYP3A4 及び CYP3A5 によって生成されることが示唆された。

表 25　遺伝子組み換えヒト CYP 分子種発現系における AZ5104 及び AZ7550 の生成割合

CYP 分子種	CYP3A4 による生成量に対する割合（%）	
	AZ5104	AZ7550
1A2	ND	3
2A6	ND	ND
2B6	ND	ND
2C8	ND	8
2C9	ND	3
2C19	2	4
2D6	ND	2
2E1	ND	ND
3A4	100	100
3A5	32	73

値は n=2 の平均値から求めた割合を示す。
ND：検出されず。
［試験 BE000021-23 の報告書 表 2 から引用］

2.6.4.5.2.3　ヒト肝細胞における代謝

［試験 BE000021-25］

ヒト肝細胞における AZD9291（1 μM）の固有クリアランスに対する各種 CYP 阻害剤及びフラビン含有モノオキシゲナーゼ（FMO）阻害剤の影響について *in vitro* で検討した。しかし、ヒト肝細胞における AZD9291 の消失率は低く、AZD9291 の代謝に及ぼす CYP 阻害剤又は FMO 阻害剤の影響は評価できなかった。

2.6.4.5.2.4　肝細胞における代謝物の生成

［試験 BE000021-25］

AZD9291（1 μM）をヒト肝細胞とともにインキュベーションし、AZ5104、AZ7550 及び *N*-酸化体（M1）の生成速度を特異的 CYP 阻害剤の存在下及び非存在下で測定した。得られた結果を表 26に示す。*N*-脱メチル代謝物の AZ5104 及び AZ7550 を生成する CYP 分子種の同定に用いる阻害剤は、各遺伝子組み換えヒト CYP 分子種発現系において AZD9291 をインキュベーションした試験結果（2.6.4.5.2.2項参照）に基づいて決定した。*N*-酸化体代謝物 M4 が FMO 酵素によって生成されるか否かについて検討するための阻害剤（メチマゾール）も試験に組み入れた。

AZD9291 をヒト肝細胞とともにインキュベーションしたときの AZ5104 の生成速度は、0.044 pmoles/min/million cells であった。インキュベーション反応液中に CYP2C9、CYP2C19、CYP2C8 及び FMO に対する各阻害剤を添加したときには生成速度の低下はみられなかったが、CYP3A4/5 阻害剤であるケトコナゾールの存在下では、AZ5104 の平均生成速度は 0.028 pmoles/min/million cells に低下し、非選択的 P450 阻害剤 1-アミノベンゾトリアゾールの存在下では、0.013 pmoles/min/million cells に低下した。

AZD9291 をヒト肝細胞とともにインキュベーションしたときの AZ7550 の生成速度は、0.231 pmoles/min/million cells であった。インキュベーション反応液中に CYP2C9、CYP2C19、CYP2C8 及び FMO に対する各阻害剤を添加しても生成速度は低下しなかったが、CYP3A4/5 の阻

害剤であるケトコナゾールの存在下では、AZ7550 の生成速度は 0.092 pmoles/min/million cells に低下し、非選択的 P450 阻害剤 1-アミノベンゾトリアゾールの存在下では、0.010 pmoles/min/million cells に低下した。

AZD9291 をヒト肝細胞とともにインキュベーションしても、*N*-酸化代謝物 M1 の生成は認められなかった。

表 26　ヒト肝細胞を AZD9291（1 μM）とともに CYP 及び FMO 阻害剤の存在下及び非存在下でインキュベーションしたときの AZ5104、AZ7550 及び M1 の生成速度

阻害剤	阻害酵素	生成速度（pmoles/min/million cells）		
		AZ5104	AZ7550	M1
対照	なし	0.044	0.231	ND
1-アミノベンゾトリアゾール	複数の CYP	0.013	0.010	ND
ケトコナゾール	CYP3A4/5	0.028	0.092	ND
チクロピジン	CYP2C19	0.041	0.253	ND
スルファフェナゾール	CYP2C9	0.043	0.234	ND
ケルセチン	CYP2C8	0.045	0.247	ND
メチマゾール	複数の FMO	0.042	0.224	ND

値は n=2 の平均値を示す。
ND：代謝物は検出されず
［試験 BE000021-25 の報告書 表 3 から引用］

2.6.4.6　排泄

2.6.4.6.1　ラットにおける排泄

［試験 196187］

雌雄ラット（Han Wistar）に[^{14}C]-AZD9291 を 2 mg/kg の用量で単回静脈内投与及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与後 168 時間までの放射能の排泄率及び排泄経路について検討した。得られた結果を表 27に示す。

静脈内投与又は経口投与したときの、投与された放射能は主に糞中に排泄され、排泄率は 80.9～93.4%であった。尿中に排泄された放射能の割合は低く、投与放射能の排泄率及び排泄経路に性差及び投与経路による差異はみられなかった。また、静脈内投与時の糞中排泄率が高かったことから、投与された放射能の多くは胆汁を介して排泄されることが示唆された。いずれの投与経路においても、放射能の排泄は速やかであり、投与された放射能のほとんどは投与後 48 時間までに排泄された。各個体の屍体中に残存する放射能量は投与量の 2.7～5.4%であった。呼気中に放射能がほとんど排泄されなかったことから、^{14}C の標識位置は代謝的に安定な部位であることが示唆された。

表 27　雌雄ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内投与及び単回経口投与したときの投与後 168 時間までの放射能排泄率

試料	排泄率（%）			
	静脈内投与（2 mg/kg）		経口投与（10 mg/kg）	
	雄	雌	雄	雌
尿	3.8 ± 0.8	2.8 ± 0.5	2.3 ± 0.9	2.3 ± 0.5
糞	84.4 ± 4.2	80.9 ± 1.0	93.4 ± 2.1	87.4 ± 5.0
呼気	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
ケージ洗浄液	1.0 ± 0.4	1.5 ± 1.1	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.7
屍体	4.6 ± 0.4	4.8 ± 0.5	3.0 ± 0.3	4.2 ± 0.6
合計	93.7 ± 5.0	90.0 ± 2.1	99.3 ± 2.5	94.8 ± 4.5

値は n=3 の平均±標準偏差を示す。
［試験 196187 の報告書 表 1 から引用］

2.6.4.6.2　イヌにおける排泄

［試験 197725］

雄イヌ（Beagle）に[^{14}C]-AZD9291 を 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与及び 2 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与後 168 時間までの放射能の排泄率及び排泄経路について検討した。得られた結果を表 28に示す。

静脈内投与及び経口投与したときの投与された放射能は主に糞中に排泄され、投与後 168 時間までの排泄率は、それぞれ 81.4%及び 83.3%であった。尿中に排泄された放射能の割合は低く（それぞれ 3.1%及び 2.9%）、投与経路による排泄率の差異はみられなかった。また、静脈内投与時の糞中排泄率が高かったことから、投与された放射能の多くは胆汁を介して排泄されることが示唆された。放射能の排泄は緩徐であり、投与後 120～168 時間における糞中排泄率は 2%～4%であった。静脈内投与及び経口投与のいずれにおいても、投与放射能の 85%以上が投与後 168 時間までに排泄された。

表 28　雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内投与及び単回経口投与したときの投与後 168 時間までの放射能排泄率

試料	排泄率（%）	
	静脈内投与（1 mg/kg）	経口投与（2 mg/kg）
尿	3.1 ± 1.0	2.9 ± 0.7
糞	81.4 ± 11.9	83.3 ± 3.9
ケージ洗浄液	0.6 ± 0.8	0.2 ± 0.1
合計	85.2 ± 12.2	86.4 ± 3.8

値は n=3 の平均±標準偏差を示す。
［試験 197725 の報告書 表 1 から引用］

2.6.4.6.3 乳汁排泄

AZD9291 の乳汁排泄は検討していない。しかし、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において、AZD9291 の投与（20 mg/kg/日以上）により、出生時及び授乳期間を通した出生児の体重が対照群と比べて減少したことから、AZD9291 又はその代謝物が乳汁へ排泄された可能性が考えられる（試験 496800、毒性試験の概要文 2.6.6.6.3.1 項を参照）。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 薬物相互作用データの評価

AZD9291 により薬物間相互作用（DDI）が生じる可能性を評価した。ヒトにおける曝露量として、日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したときの定常状態における C_{max}（$C_{ss,max}$）値を用いた（表 29）。AZD9291 はヒト血漿中で不安定であることから、血漿蛋白結合率は測定されていない。しかし、AZD9291 は高脂溶性［分配係数（Log P）の推定値＝4.8］であることから血漿蛋白結合率は高いと考えられ、ヒト血漿中非結合率は 1%（結合率 99%）と予測されている。非結合型の割合が高いほど DDI が生じる可能性が高くなると考えられるため、DDI に関する評価には、AZD9291 の推定血漿中非結合率を 10%（結合率 90%）と多く見積もり、定常状態における非結合型 C_{max} を算出した。空腹時における人工腸液（fasted state simulated intestinal fluid、pH 6.5）中での AZD9291 メシル酸塩の溶解度は 10 mM（5 mg/mL）を超えるため、ヒトに 80 mg を経口投与した場合の濃度は、算出した薬物の最高腸内濃度（I_2）、最高総肝臓流入濃度（$I_{in\ max}$）及び非結合型の最高肝臓流入濃度（$I_{in\ free}$）に到達するものと考えられる。

In vitro で実施した薬物相互作用試験から得られた結果は、薬物相互作用の試験に関する FDA ドラフトガイダンス（FDA 2012）、これに相当する欧州医薬品庁（EMA）ドラフトガイドライン（EMA 2012）及び厚生労働省（MHLW）ドラフトガイドライン（MHLW 2014）で推奨されている手法を用いて解釈した。AZD9291 の[I_2]、[$I_{in\ max}$]及び[$I_{in\ free}$]の各濃度は、80 mg 錠剤の溶解度及びバイオアベイラビリティが完全であると仮定して算出した。その結果を表 29に示す。

代謝物 AZ5104 及び AZ7550 は *in vitro* で CYP の阻害作用を示したが、両代謝物の臨床における血漿中曝露量は AZD9291 の 25%未満であるため、相互作用の評価には含めなかった（FDA 2012、EMA 2012、MHLW 2014）。

表 29　患者における薬物相互作用発現の評価に用いた AZD9291 の平均測定値及び算出パラメータ

用量	剤形	C_{max} (I, μM)[a,b]	非結合型 C_{max} (μM) [c, d]	$[I_2]$ (μM) [c]	$[I_{in\ max}]$ (μM) [c]	$[I_{in\ free}]$ (μM) [c, d]
80 mg	錠剤	0.78	0.078	640	11.45	1.145

a　日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したときの定常状態における C_{max}（$C_{ss,max}$）［AURA 試験の第 II 相延長コホートで日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したとき、32 例の日本人進行 NSCLC 患者から得られた AZD9291 の $C_{ss,max}$（算術平均）は 0.78 μM であった］。

b　測定パラメータ

c　算出パラメータ、

d　推定血漿蛋白結合率 90%（非結合型分率 = 0.1）、I_2 =モル用量/250 mL、$I_{in\ max} = I+F_a \cdot K_a \cdot$モル用量/Qh、$I_{in\ free} = I_{in\ max} \cdot fu$ を用いた。I は C_{max}、F_a は吸収率（1 と仮定）、K_a は吸収速度定数（0.1 min^{-1} と仮定）、Qh は肝血流量（1500 mL/min）、fu は血液中非結合型分率（0.1 と仮定）。

2.6.4.7.2　CYP の阻害

［試験 ONC.000-558-496、試験 00001CYP_INH_LCMS_1、試験 ADME-AZS-Wave3-131125、試験 00004CYP_INH_LCMS_1_AZ13575104、試験 00001CYP_INH_LCMS_2_AZ13575104、試験 ADME-AZS-Wave3-130808、試験 ADME-AZS-Wave3-130909、試験 ONC.000-573-149、試験 00003CYP_TDI_LCMS_AZ13575104、試験 00005CYP_TDI_LCMS_AZ13597550］

ヒト肝ミクロソームにおける AZD9291、AZ5104 及び AZ7550（0.1～30 μM）の CYP 酵素に対する可逆的な又は時間依存的な阻害作用を *in vitro* で検討した。CYP の各分子種に関して、そのプローブ基質の代謝を 50%阻害する AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の濃度（IC_{50}）を表 30に示す。*In vitro* 試験におけるプローブ基質濃度を K_m としたため、可逆的阻害の場合には阻害定数（Ki）は IC_{50} の 2 分の 1 と同等である。

表 30　ヒト肝ミクロソームにおける AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の CYP に対する阻害（IC_{50}）

被験物質	IC_{50}（μM）									
	1A2	2A6	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4/5(Md)	3A4/5 (Nf)
AZD9291	>25.7	>30	>30	22.8	>30	>30	>30	>30	>26.5	5.14
AZ5104	>29.5	>30	>30	>27.9	>30	>30	>30	>30	17.9	19.9
AZ7550	25.2	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	18.7

CYP3A4/5 活性は、プローブ基質としてミダゾラム及びニフェジピンを用いて評価した
3A4/5 (Md)：プローブ基質としてミダゾラムを用いたときのデータ
3A4/5 (Nf)：プローブ基質としてニフェジピンを用いたときのデータ
［試験 ONC.000-558-496 の報告書 表 1、試験 00001CYP_INH_LCMS_1 の報告書 表 1、試験 ADME-AZS-Wave3-131125 の報告書 表 1、試験 00004CYP_INH_LCMS_1_AZ13575104 の報告書 表 1、試験 00001CYP_INH_LCMS_2_AZ13575104 の報告書 表 1、試験 ADME-AZS-Wave3-130808 の報告書 表 1 、試験 ADME-AZS-Wave3-130909 の報告書 表 1 から引用］

基質にニフェジピンを用い、AZD9291 とともにヒト肝ミクロソーム中でインキュベーションしたところ、CYP3A4/5 に対する阻害は比較的強く、IC_{50} は 5.1 μM であった。一方、基質にミダゾラムを用いた場合は CYP3A4/5 に対する阻害は弱く、IC_{50} は 26.5 μM を上回った。また、CYP1A2 及び CYP2C8 に対する阻害は弱く、CYP2B6、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対しては、AZD9291 の濃度を 30 μM にまで高めても阻害はみられなかった。

AZ5104 及び AZ7550 は CYP1A2、CYP2C8 及び CYP3A4/5 を競合的に阻害したが、IC_{50} は 17.9 μM を上回っており、その程度は弱かった。

2.6.4.7.2.1 CYP 阻害結果の解釈

FDA（FDA 2012）、EMA（EMA 2012）及び MHLW（MHLW 2014）が推奨する方法を用いて、AZD9291 が CYP 分子種（IC_{50} を算出した分子種）を介して臨床上問題となるような DDI を引き起こす可能性について検討した。その結果を表 31に示す。この結果から、AZD9291 は 80 mg の用量で腸及び肝臓の CYP3A4/5 を阻害することにより DDI を生じるが、CYP1A2 及び CYP2C8 を介した DDI は生じない可能性が示唆された。ここに記載した用量又は投与法を変更した場合、あるいは実際の蛋白結合率が 90%から変動した場合には、AZD9291 が DDI を誘発する可能性が変化するので留意が必要である。

表 31 AZD9291 の CYP 阻害結果の解釈

パラメータ	DDI の可能性を示す閾値	1A2	2C8	3A4/5 (Nf)
IC_{50}（μM）	NA	>25.7	22.8	5.14
K_i（μM）[a]	NA	>12.8	11.4	2.57
R	10	NA	NA	**249**
R_1	11	NA	NA	**250**
R_h	1.1	1.06	1.07	**1.30**
R_{infree}	1.25	1.09	1.10	**1.45**
R_{imax}	0.02	<0.006	0.007	**0.030**
DDI の可能性		無	無	有

NA：該当せず

a $K_i = IC_{50}/2$（プローブ基質濃度は K_m とした）

R = $[I_2]/K_i$、$R_1 = 1+[I_2]/K_i$、$R_h = 1+[I]/K_i$、$R_{infree} = 1+ [I_{in\ free}]/K_i$、$R_{imax}$ = [非結合型 C_{max}]/K_i、I=C_{max}、I_2 =モル用量/250 mL、$I_{in\ free} = I_{in\ max}$·fu

太字 = DDI の可能性有り

2.6.4.7.2.2 CYP の時間依存的阻害

［試験 ONC.000-573-149、
試験 00003CYP_TDI_LCMS_AZ13575104、
試験 00005CYP_TDI_LCMS_AZ13597550］

AZD9291 を 10 及び 50 μM の濃度でヒト肝ミクロソームとともにプレインキュベーションした後、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 の活性を評価したところ、AZD9291 はこれらの

CYP 分子種に対して時間依存的阻害を示さなかったが、CYP3A4/5 に対しては弱い作用が認められた（50 μM で阻害率 24%）。また、AZ5104（10 及び 50 μM）は、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して時間依存的な阻害を示さなかったが、CYP3A4/5 に対しては 50 μM の濃度で時間依存的に阻害した（阻害率 23%）。AZ7550 は、検討した濃度（10 μM）でこれらの CYP 分子種に対して時間依存的阻害を示さなかった。

2.6.4.7.2.3 CYP3A4/5 の時間依存的阻害－K_I 及び k_{inact}

［試験 ADME-AZS-Wave4-141212］

AZD9291 を 3～750 μM の濃度で、ヒト肝ミクロソームとともに NADPH 存在下で 30 分間プレインキュベーションした後、CYP3A4/5 の選択的基質であるミダゾラムの代謝割合を測定することにより、AZD9291 による CYP3A4/5 の時間依存的阻害作用を評価した。陽性対照として Mifepristone（1 μM）を用いた。その結果、AZD9291 による CYP3A4/5 の時間依存的阻害作用が認められ、K_I 及び k_{inact} はそれぞれ 1090 μM 及び 0.0617 min^{-1} であった。

2.6.4.7.3 トランスポーターの阻害

AZD9291 の排出及び取り込みトランスポーター阻害能について *in vitro* で検討した結果の概要を表 32に示す。*In vitro* 試験におけるプローブ基質濃度は K_m よりも著しく低値であるため、可逆的阻害の場合には K_i は IC_{50} と同等となる。

2.6.4.7.3.1 腸管薬物排出輸送蛋白質 P-gp 及び BCRP の阻害

［試験 ONC-000-569-361、試験 XT128084、試験 BE000458-32_AZ13552748］

MDR1-MDCKII 細胞系を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下で P-gp の代表的基質である[^{3}H]-ジゴキシンの基底膜側から頂側膜側への輸送を測定し、AZD9291 の P-gp に対する阻害作用を評価した（試験 ONC-000-569-361）。その結果、AZD9291 は 30 μM の濃度まで[^{3}H]-ジゴキシンの輸送を阻害しなかったことから、AZD9291 は P-gp の阻害剤ではないことが示された。

BCRP-MDCKII 細胞系を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下でヒト排出トランスポーターBCRP（ABCG2）の代表的基質であるプラゾシンの基底膜側から頂側膜側への輸送を測定し、AZD9291 の BCRP に対する阻害作用の評価を探索的に実施した（試験 XT128084）。その結果、AZD9291 濃度として 0.0293～293 μM の範囲で検討したところ、AZD9291 は 2.93 μM の濃度までプラゾシンの輸送を阻害しなかった。なお、9.77 μM 以上の濃度では、細胞単層膜が損傷したため、プラゾシンの輸送に対する影響を評価することはできなかった。そのため、代替の細胞系（Caco-2）を用いて、より高濃度の AZD9291 で BCRP に対する阻害作用を検討した。

Caco-2 細胞を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下でヒト排出トランスポーターBCRP の代表的基質である[^{3}H]-ロスバスタチンの基底膜側から頂側膜側への輸送を測定し、AZD9291 の BCRP に対する阻害作用を評価した（試験 BE000458-32_AZ13552748）。本試験系で

は、細胞は AZD9291 濃度が 100 μM まで生存し、AZD9291 はヒト BCRP を介するロスバスタチンの輸送を阻害し、見かけの IC_{50} は 2.0 μM であった。

2.6.4.7.3.2 肝臓の薬物取り込みトランスポーターOATP1B1 及び OATP1B3 の阻害

［試験 03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748 及び試験 13ASTRUKP7S3］

OATP1B1 を発現させた HEK293 細胞系を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下で OATP1B1 の代表的基質である[^{3}H]-エストラジオール 17β グルクロン酸抱合体（0.02 μM）の HEK293 細胞内への取り込みを測定し、AZD9291 の OATP1B1 に対する阻害作用を評価した（試験 03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748）。その結果、AZD9291 は[^{3}H]-エストラジオール 17β グルクロン酸抱合体の HEK293 細胞内への取り込みを阻害し、見かけの IC_{50} は 22 μM であった。

OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞系を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下で OATP1B3 の代表的基質であるアトルバスタチン（0.15 μM）の HEK293 細胞内への取り込みを測定し、AZD9291 の OATP1B3 に対する阻害作用を評価した（試験 13ASTRUKP7S3）。その結果、AZD9291 はアトルバスタチンの HEK293 細胞内への取り込みを阻害し、見かけの IC_{50} は 52.5 μM であった。

2.6.4.7.3.3 腎臓の薬物取り込みトランスポーターOAT1、OAT3 及び OCT2 の阻害

［試験 13ASTRUKP7S3 及び試験 BS000567_25_AZ13552748］

Organic anion transporter（OAT）1 及び OAT3 をそれぞれ発現させた HEK293 細胞系を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下で OAT1 の代表的基質であるパラアミノ馬尿酸（PAH、10 μM）及び OAT3 の代表的基質であるフロセミド（5 μM）の HEK293 細胞内への取り込みをそれぞれ測定し、AZD9291 の OAT1 及び OAT3 に対する阻害作用を評価した（試験 13ASTRUKP7S3）。その結果、AZD9291 は検討した最高濃度（100 μM）においても PAH 及びフロセミドの取り込みを阻害しなかった。

Organic cation transporter（OCT）2 を発現させた HEK293 細胞系を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下で OCT2 の代表的基質である[^{14}C]-メトホルミン（50 μM）の HEK293 細胞内への取り込みを測定し、AZD9291 の OCT2 に対する阻害作用を評価した（試験 BS0000567_25_AZ13552748）。その結果、AZD9291 はメトホルミンの HEK293 細胞内への取り込みを阻害し、見かけの IC_{50} は 7.98 μM であった。

2.6.4.7.3.4 腎臓薬物排出トランスポーターMATE1 及び MATE2-K の阻害

［試験 13ASTRUKP7S3］

Multidrug and toxin extrusion（MATE）1 及び MATE2-K をそれぞれ発現させた HEK293 細胞系を用いて、種々の濃度の AZD9291 存在下又は非存在下で MATE1 の代表的基質であるメトホルミン（50 μM）及び MATE2-K の代表的基質である 4-(4-(diethylamino)styryl)-*N*-methylpyridinium Iodide（ASP、1 μM）の HEK293 細胞内への取り込みをそれぞれ測定し、AZD9291 の MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用を評価した。その結果、AZD9291 はメトホルミン及び ASP の HEK293 細胞内への取り込みを阻害し、見かけの IC_{50} はそれぞれ 4.63 μM 及び 23.0 μM であった。

表 32　AZD9291 の排出及び取り込みトランスポーターの阻害作用

トランスポーター	見かけの IC_{50} (μM)又は最高濃度 (μM) での阻害	プローブ基質	試験番号
P-gp	阻害せず(30 μM)	[^{3}H]-ジゴキシン	ONC-000-569-361
BCRP	2.0 μM	[^{3}H]-ロスバスタチン	BE000458-32_AZ13552748
OATP1B1	22 μM	[^{3}H]-エストラジオール 17β グルクロン酸抱合体	03052012_OATP1B1_ inhib_AZ13552748
OATP1B3	52.5 μM	アトルバスタチン	13ASTRUKP7S3
OAT1	阻害せず (100 μM)	パラアミノ馬尿酸	13ASTRUKP7S3
OAT3	阻害せず (100 μM)	フロセミド	13ASTRUKP7S3
OCT2	7.98 μM	[^{14}C]-メトホルミン	BS000567_25_AZ13552748
MATE1	4.63 μM	メトホルミン	13ASTRUKP7S3
MATE2-K	23.0 μM	ASP	13ASTRUKP7S3

ASP： 4-(4-(Diethylamino)styryl) -*N*-Methylpyridinium Iodide
［試験 ONC-000-569-361 の報告書、試験 BE000458-32_AZ13552748 の報告書 表 1、試験 03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748 の報告書、試験 13ASTRUKP7S3 の報告書 表 1、試験 BS0000567_25_AZ13552748 の報告書 表 1 から引用］

2.6.4.7.3.5　トランスポーター阻害結果の解釈

FDA（FDA 2012）、EMA（EMA 2012）及び MHLW（MHLW 2014）が推奨する方法を用いて、AZD9291 が薬物トランスポーターを介して臨床上問題となるような DDI を引き起こす可能性の有無について評価した結果を表 33に示す。この結果から、AZD9291 は 80 mg の用量で腸における BCRP 阻害により、臨床上問題となる DDI を生じる可能性が示唆された。OATP1B1 の K_i は非結合型の肝流入濃度（$R_{in\ free}$ 0.05）の 25 倍以内であるが、現在の科学的な推奨によると（ITC 2010）、臨床上問題となるような DDI は生じないと考えられる。また、OATP1B3、OCT2、MATE1、MATE2-K、OAT1 及び OAT3 を介する臨床上問題となるような DDI は生じないものと考えられる。

表 33　AZD9291 のトランスポーター阻害結果の解釈

トランスポーター	IC_{50} (= K_i) (μM)	R	$R_{in\ free}$ [a]	$R_{in\ free}$ [b]	R_{imax}	DDI の可能性
DDI の可能性を示す閾値	NA	10	1.25	0.04	0.1 (FDA 2012) 0.02 (EMA 2012)	NA
P-gp	阻害せず	ND	NA	NA	ND	無
BCRP	2.0	320	NA	NA	0.039	**有（腸）**
OATP1B1	22	NA	1.05	0.05	NA	無いと考えられる
OATP1B3	52.5	NA	1.02	0.02	NA	無
OAT1	阻害せず	NA	NA	NA	ND	無
OAT3	阻害せず	NA	NA	NA	ND	無
OCT2	7.98	NA	NA	NA	0.010	無
MATE1	4.63	NA	NA	NA	0.017	無
MATE2-K	23.0	NA	NA	NA	0.003	無

NA：該当せず、ND：算出不能
$R = [I_2]/K_i$
a　$R_{in\ free} = 1 + [I_{in\ free}]/K_i$
b　$R_{in\ free} = [I_{in\ free}]/K_i$、$R_{imax} = [非結合型\ C_{max}]/K_i$
太字 = DDI の可能性有り
［試験 ONC-000-569-361 の報告書、BE000458-32_AZ13552748 の報告書 表 1、
03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748 の報告書、13ASTRUKP7S3 の報告書 表 1、
BS000567_25_AZ13552748 の報告書 表 1 から引用］

2.6.4.7.4　UGT の阻害

［試験 [redacted] 8296381］

プールしたヒト肝ミクロソームを用いて、種々の濃度（最高 30 μM）の AZD9291 存在下又は非存在下で UGT 分子種 1A1 及び 2B7 のそれぞれの選択的基質であるエストラジオール（10 μM）及びモルヒネ（500 μM）の代謝に対する阻害作用を検討した。AZD9291 は UGT2B7 に対して阻害作用を示さなかったが、UGT1A1 に対しては検討した最高濃度で弱い阻害作用を示した（30 μM での阻害率 42.1%）。

2.6.4.7.4.1　UGT 阻害結果の解釈

FDA（FDA 2012）、EMA（EMA 2012）及び MHLW（MHLW 2014）が推奨する方法を用いて、AZD9291 が UGT 分子種を介して臨床上問題となるような DDI を引き起こす可能性について評価した結果を表 34に示す。AZD9291 の UGT1A1 阻害作用は弱く、臨床上問題となるような DDI は生じないと考えられる。

表 34　AZD9291 の UGT 阻害結果の解釈

UGT 分子種	IC_{50} (= K_i) (μM)	R	$R_{in\ free}$ [a]	$R_{in\ free}$ [b]	R_{imax}	DDI の可能性
DDI の可能性を示す閾値	NA	10	1.25	0.04	0.1 (FDA 2012) 0.02 (EMA 2012)	NA
1A1	>30	**<21**	< 1.04	< 0.04	0.003	無いと考えられる
2B7	阻害せず	NA	NA	NA	NA	無

NA：該当せず、ND： 算出不能、$R = [I_2]/K_i$
a　$R_{in\ free} = 1 + [I_{in\ free}]/K_i$
b　$R_{in\ free} = [I_{in\ free}]/K_i$、$R_{imax} = [$非結合型 $C_{max}]/K_i$、太字 = DDI の可能性有り
［試験 [redacted] 8296381 の報告書 表 1 及び 2 から引用］

2.6.4.7.5　CYP の誘導（*in vitro* 及び *in vivo*）

2.6.4.7.5.1　HepaRG 細胞における CYP の誘導

［試験 PR12007/CC0406、試験 PR12188/CC0509 及び試験 DC13144］

ヒト肝腫瘍由来細胞株である HepaRG®細胞系を用いた *in vitro* 試験を実施し、AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を探索的に検討した。AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 は CYP1A2 mRNA 量をそれぞれ最大 26.7 倍、50.9 倍及び 21.7 倍増加させた（陽性対照による影響の最大 21.5%に相当）。AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 は CYP3A4 mRNA 量をそれぞれ最大 5.5 倍、45.2 倍及び 4.4 倍増加させた（陽性対照による影響のそれぞれ最大 22.5%、73.1%及び 8.95%に相当）。AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 は CYP2B6 mRNA 量を増加させることはなかった。

2.6.4.7.5.2　ヒト肝細胞における CYP の誘導

［試験 1302120］

初代培養ヒト肝細胞を用いて AZD9291 の肝 CYP1A1/2、CYP2B6 及び CYP3A4/5 に対する誘導作用を検討した。誘導作用は、定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）法並びに CYP1A1/2（フェナセチンの *O*-脱エチル化）、CYP2B6（ブプロピオンの水酸化）及び CYP3A4/5（テストステロン 6β の水酸化）の選択的な酵素活性測定法を用い、CYP450 mRNA 発現の変化により評価した。

AZD9291 は、10 μM の濃度で肝細胞の生存率を 40%（肝細胞ロット 321）、15%（肝細胞ロット 348B）及び 62%（肝細胞ロット 354）低下させた。外観検査では、AZD9291 10 μM 処置後に形態変化が認められたが、その程度は全 3 ロットの肝細胞間で異なっていた。これらの細胞生存率の低下及び形態変化は、mRNA 発現量及び酵素活性の有意な低下や増加抑制によっても確認され、10 μM では細胞毒性を示す可能性が示唆された。AZD9291 の濃度が 10 μM 未満では細胞生存率の低下は認められなかった。

AZD9291 は、3.3 μM までの濃度で、CYP1A2 mRNA 量及び酵素活性をそれぞれ濃度依存的に最大で 11 倍及び 8.3 倍増加させた（いずれも陽性対照による影響の 16%）。

AZD9291 は、3.3 μM までの濃度で CYP2B6 mRNA 量及び酵素活性を増加させなかった。

AZD9291 は、CYP3A4 mRNA 量を濃度依存的に最大 173 倍増加させた（陽性対照による影響の最大 89%）。AZD9291 は、肝細胞の 1 ロットでは CYP3A4 活性を増加させなかったが、他の 2 ロットで CYP3A4 活性を濃度依存的に最大 4.9 倍増加させた（陽性対照による影響の最大 45%）。

2.6.4.7.6 トランスポーターによる輸送

2.6.4.7.6.1 P-gp 及び BCRP

［試験 13ASTRUKP2］

MDR1-MDCK 細胞系及び BCRP-MDCK 細胞系の単層膜を用いた *in vitro* 試験を実施し、AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の双方向の膜透過性を測定することにより、これらの物質が P-gp 又は BCRP の基質であるか否かを評価した。評価は、各被験物質について、基底膜側から頂側膜側への見かけの透過率が頂側膜側から基底膜側への見かけの透過率と同程度若しくは高い場合に efflux ratio を算出し、P-gp 又は BCRP の選択的な阻害剤の共存下で efflux ratio が低下するか否かにより行った。得られた結果を表 35及び表 36に示す。なお、AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の濃度は、阻害剤の非存在下では 1、10 及び 30 μM、P-gp 又は BCRP の阻害剤（それぞれ valspodar 及び Ko143）の存在下では 1 μM に設定した。

MDR1-MDCK 細胞系における AZD9291 の efflux ratio は、阻害剤の非存在下では 1、10 及び 30 μM の濃度でそれぞれ 13.4、3.11 及び 2.26 であった。Valspodar（濃度 1 μM）の存在下における AZD9291（濃度 1 μM）の efflux ratio は 1.01 であった。Efflux ratio の場合と同様に、efflux ratio 比においても、AZD9291 は検討した全ての濃度で MDR1-MDCK 細胞から排出されることが示された。これらの結果により、AZD9291 は P-gp の基質であり、P-gp による排出は高濃度で飽和すること及び P-gp の阻害剤により影響を受けることが示された（表 35）。

表 35 MDR1-MDCK 細胞系における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の efflux ratio 及び MDR1 非発現の MDCK 細胞系での efflux ratio に対する割合

濃度 (μM)	AZD9291 efflux ratio	efflux ratio 比	AZ5104 efflux ratio	efflux ratio 比	AZ7550 efflux ratio	efflux ratio 比
1	13.4	8.69	186	57.4	ND	ND
10	3.11	1.50	23.5	11.6	11.9	2.65
30	2.26	2.34	4.53	3.70	2.38	2.06
1（1 μM valspodar 共存）	1.01	NA	0.875	NA	ND	ND

efflux ratio 比：MDR1 非発現の MDCK 細胞系での efflux ratio に対する MDR1-MDCK 細胞系での efflux ratio の比、NA：該当せず、ND：算出不能（頂側膜側に 1 μM の AZ7550 を添加したときの基底膜側の AZ7550 濃度は定量下限未満であり、AZ7550 の efflux ratio は算出できなかった。）
［試験 13ASTRUKP2 の報告書 表 12、13、19、20、26 及び 27 から引用］

BCRP-MDCK 細胞系における AZD9291 の efflux ratio は、阻害剤の非存在下では 1、10 及び 30 μM の濃度でそれぞれ 5.40、2.66 及び 1.94 であった。Ko143（濃度 10 μM）の存在下では、

AZD9291（濃度 1 μM）の efflux ratio は 1.35 に低下した。これらの結果から、AZD9291 は BCRP の基質であり、BCRP による排出は高濃度で飽和すること及び BCRP の阻害剤により影響を受けることが示された（表 36）。

AZD9291 の場合と同様に、AZ5104 及び AZ7550 も P-gp 及び BCRP の基質であることが示された（表 35及び表 36）。

表 36　BCRP-MDCK 細胞系における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の efflux ratio 及び BCRP 非発現の MDCK 細胞系での efflux ratio に対する割合

濃度 (μM)	AZD9291 efflux ratio	efflux ratio 比	AZ5104 efflux ratio	efflux ratio 比	AZ7550 efflux ratio	efflux ratio 比
1	5.40	3.49	7.06	2.18	ND	ND
10	2.66	1.29	3.44	1.69	9.96	2.22
30	1.94	2.01	2.68	2.19	14.6	12.7
1（10 μM Ko143 共存）	1.35	NA	1.51	NA	ND	ND

efflux ratio 比：BCRP 非発現の MDCK 細胞系での efflux ratio に対する BCRP-MDCK 細胞系での efflux ratio の比、NA：該当せず、ND：算出不能（頂側膜側に 1 μM の AZ7550 を添加したとき、基底膜側の AZ7550 濃度は定量下限未満であり、AZ7550 の efflux ratio は算出できなかった。）
［試験 13ASTRUKP2 の報告書 表 12、13、19、20、26 及び 27 から引用］

2.6.4.7.6.2　OATP1B1 及び OATP1B3

［試験 13ASTRUKP2］

OATP1B1 又は OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞系及びこれらトランスポーター非発現の HEK293 細胞系を用いた *in vitro* 試験を実施し、AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の細胞取り込みを評価した。検討に用いた被験物質の濃度は 1、10 及び 30 μM とし、インキュベーション時間は 2、5 及び 10 分とした。OATP1B1 発現系での influx rate ratio（トランスポーターを発現させた細胞系での influx rate を、トランスポーター非発現の細胞系での influx rate で除した値）の最高値は AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 でそれぞれ 1.13、1.13 及び 1.24 であった。OATP1B3 発現系での influx rate ratio の最高値は AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 でそれぞれ 1.11、1.00 及び 1.03 であった。Influx rate ratio がいずれも 2.0 未満であったことから、FDA 及び EMA が定めるガイドライン（FDA 2012、EMA 2012）に鑑み、AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 はいずれも OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないことが示された。

2.6.4.8　その他の薬物動態データ

当該試験は実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

AZD9291 の 2 種類の *N*-脱メチル活性代謝物（AZ5104 及び AZ7550）が探索的な非臨床試験で認められ、いずれの代謝物も薬理活性を有することが明らかとなった。毒性試験開始時には、AZ5104 及び AZ7550 のヒトにおける血漿中濃度は不明であった。そのため、AZD9291 のラットで呼吸器系への影響を検討した試験、イヌで心血管への影響を検討した試験、ラット及びイヌの 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験並びにラットの胚・胎児発生に関する試験では、これらの代謝物を確実に測定できるように分析法を開発し、バリデーションを実施した。これら試験では、ラットにおける安全性薬理試験を除き、AZD9291 及び AZ7550 の曝露量が定量されたが、AZ5104 の曝露量は分析の問題（夾雑ピークの存在及び ISR で再現性が得られなかった）のために、イヌ 1 カ月間毒性試験及びイヌ心血管系試験でのみ確認できた。重要なラット及びイヌの反復投与毒性試験で検討した最高用量並びにラットの胚・胎児発生に関する試験でのこれらの代謝物の曝露量は、ヒトに 80 mg の用量で投与した場合に認められた曝露量と同程度か又はそれを下回るものであった（表 37）。AZ5104 の毒性は、雌ラットに AZ5104 を経口投与した 1 カ月間探索毒性試験における曝露量でも評価されている（表 37）。本試験で検討した最高用量での平均 AZ5104 曝露量は、ヒトに AZD9291 を 80 mg の用量で投与したときに認められた $AUC_{(0-24)}$を約 3 倍上回り、C_{max} を 4 倍上回った。

血漿中濃度測定法のバリデーション試験において AZD9291 及び代謝物が保存安定性による影響を受けることが示された。このことから、実際には 1 カ月間反復投与毒性試験及び安全性薬理試験における AZD9291 及び代謝物の一部の濃度は記載した値よりも高い可能性を意味している。各被験物質及び各試験への影響の有無については図 1に示した。ラットの胚・胎児発生に関する試験並びにラット及びイヌの 3 カ月間反復投与毒性試験における試料は保存安定性を示す期間内に分析した。ラットにおける AZ5104 については、測定試料中に夾雑ピークが存在したこと及び ISR で再現性が得られなかったことから、測定は不可能であった。これらの問題を解決するために、更なる方法の開発を検討したが、AZ5104 濃度を正確に定量する血漿中濃度測定法を開発するには至らなかった。そのため、これらの試験における AZ5104 濃度は、情報提供のみを目的として報告している。

ラットを用いた薬物動態試験及び毒性試験における AZD9291 曝露量は、概して雄よりも雌の方が高かったが、このことは多くの薬物で一般的に認められており（Skett 1988）、雄でのクリアランスが雌より高いことに起因すると考えられる。

37°C で保持したヒト血漿中における AZD9291 の安定性の結果に矛盾がみられた。限られた探索的 *in vitro* 試験では、AZD9291 は HSA 溶液中では安定ではなかったが、ヒト血漿中とインキュベーションしたときには安定であることが示唆された。一方、その後に実施した試験では、信頼性がより高いプロトコールを用いて各条件で複数回反復して検討したところ、6 時間のインキュベーション後の残存率は 1%未満であり、化学的阻害剤の添加によっても改善されないことが確認された。インキュベーション終了時に確認された本化合物の関連成分は AZD9291 のみであり、AZD9291 は HSA に共有結合することが示された。このように、ヒト血漿中では不安定であるため、平衡透析法を用いた AZD9291 の蛋白結合率を測定することはできなかった。

表 37　AZD9291 の毒性試験で検討した最高用量及び雌ラットに AZ5104 を投与した 1 カ月間探索毒性試験における AZ5104 及び AZ7550 の曝露量とヒトにおける曝露量との比較

試験	用量	AZ5104		AZ7550	
	(mg/kg/日)	$AUC_{(0-24)}$ (μM·h)	C_{max} (μM)	$AUC_{(0-24)}$ (μM·h)	C_{max} (μM)
ラット 1 カ月間	雄: 40 雌: 20	ND	ND	雄: 1.34 雌: 0.55	雄: 0.071 雌: 0.031
ラット 3 カ月間	雄: 40/20 雌: 20	ND	ND	雄: 0.87 雌: 0.91	雄: 0.053 雌: 0.050
イヌ 1 カ月間	12	0.646	0.040	2.45	0.199
イヌ 3 カ月間	10/6	ND	ND	0.579	0.041
AZ5104 を投与したラット 1 カ月間	雌: 15	4.06	0.312	NA	NA
ヒト用量 80 mg [a]	1.3 [b]	1.6	0.080	1.3	0.061

注：動物のデータは試験 3416AR、試験 526248、試験 1351AD、試験 526253 及び試験 3500KR の投与期間終了時の曝露量の算術平均（イヌ試験では雌雄合算）である。全ての試験（試験 3500KR を除く）は、GLP に準拠して実施した。

ND：分析の問題により算出不可。NA：該当せず

a　日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したときの定常状態における C_{max} 又は $AUC_{(0-24)}$（それぞれ $C_{ss,max}$ 及び AUC_{ss}）［AURA 試験の第 II 相延長コホートで日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したとき、32 例の日本人進行 NSCLC 患者から得られた AZ5104 及び AZ7550 の $C_{ss,max}$（算術平均）はそれぞれ 0.080 及び 0.061 μM であり、AUC_{ss}（算術平均）はそれぞれ 1.6 及び 1.3 uM·h であった］

b　ヒトの体重を 80 mg と仮定したときの用量

注：1 カ月間毒性試験で得られた試料を用いて測定された AZ7550 及び AZ5104 の血漿中濃度は、凍結保存安定性の問題により血液採取時の値よりも低かった可能性がある（2.6.4.2.1.2項を参照）。

［試験 3416AR の報告書 Appendix E 表 3、試験 526248 の報告書 Appendix F 表 1、試験 1351AD の報告書 Appendix E 表 3～4、試験 526253 の報告書 Appendix F 表 1、試験 3500KR の報告書 表 1 から引用］

限外ろ過に要するインキュベーション時間は平衡透析法の場合に比べより短いことから、AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の蛋白結合率を限外ろ過法で検討した。しかし、本試験法では非特異的結合が問題となり、蛋白結合率が評価できたのは 100 μM（臨床で認められる濃度の 100～1000 倍）のみであった。また、AZD9291 及び AZ7550 が限外ろ過装置に非特異的に結合したため、血漿蛋白結合率を定量できたのは AZ5104 のみ（ヒト血漿蛋白結合率 98%）であった。これらの結果から、AZD9291 のヒト血漿蛋白結合率は AZ5104 と同程度以上（>98%）であると考えられた。

血漿蛋白結合率の測定が限られたため、アストラゼネカ社の演算アルゴリズム（Wood et al 2011）を用いて AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 のヒト血漿蛋白結合率を予測した。その結果、AZ5104 の予測値は、測定値（結合率 98%）と同程度であったことから、AZD9291（予測値 99%）及び AZ7550（予測値 98%）の結合率は AZ5104 の結合率と同程度以上になると考えられた。DDI の可能性の評価には、血漿蛋白結合率として 90%（非結合率 10%）の値を用いたが、推定値（結合率 98%以上）を用いるよりも相互作用を発現する可能性が高くなると考えられるからである。

AZD9291 又はその代謝物がラット及びヒトの血漿並びに肝細胞中の蛋白質と共有結合することが示された。更に、肝細胞中で AZD9291 のグルタチオン抱合が認められたことから、反応性代謝物の生成が示唆された。しかし、毒性試験（毒性試験の概要文 2.6.6.10 項参照）では関連する肝臓及び免疫に関連した徴候は確認されなかった。AZD9291 が標的蛋白へ共有結合することは、本化合物が低濃度（nM レベル）で細胞増殖阻害活性を有することを可能にしたと考えられる。

ラットの QWBA 試験において、組織からの放射能の消失は概ね緩徐であり、特に有色ラットのブドウ膜では放射能の消失半減期はかなり長かった。ブドウ膜中の放射能濃度は有色ラットに比べアルビノラットでは著しく低く、AZD9291 又はその代謝物はメラニンと結合することが示唆された。メラニン結合は多くの塩基性薬物で認められる事象であり（Ings 1984）、必ずしも眼毒性を惹起するとは限らないとの報告がある（Leblanc et al 1998、ICH S10）。有色ラットでは、ほとんどの組織において放射能の消失半減期は 100 時間以上であった。測定した組織の 42%では、投与後 60 日においても放射能の定量が可能であり、AZD9291 又はその代謝物がこれら組織に長時間滞留することが示唆された。中枢神経系における放射能濃度は投与後 6 時間まで血液中濃度より高く、AZD9291 又はその代謝物は血液脳関門を通過することが示唆された。

担癌マウスに経口投与したときの AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の脳及び腫瘍内濃度を検討した試験において、AZD9291 は脳及び腫瘍のいずれにも高い濃度で分布を示した。代謝物 AZ5104 及び AZ7550 による曝露量はいずれも腫瘍では血漿と同程度あるいは若干低かったが、脳では低かった。

遺伝子組み換えヒト CYP 分子種発現系を用いた探索的 *in vitro* 試験において、ヒトでの AZD9291 の代謝には主に CYP3A4 が関与することが示された。より多くの CYP 分子種を用いた試験においても、AZD9291 の代謝には主に CYP3A4 が関与し、程度は小さいものの CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9、CYP2E1 及び CYP3A5 の関与も認められた。AZ5104 及び AZ7550 の代謝には主に CYP3A4 及び CYP3A5 が関与することが示された。また、AZD9291 をインキュベーションした反応液中の AZ5104 及び AZ7550 の生成量からも、AZ5104 及び AZ7550 が CYP3A4 及び CYP3A5 によって主に生成されることが示唆された。しかし、CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9 及び CYP2E1 による AZD9291 の代謝産物については不明である。

ヒト肝細胞における AZD9291 の代謝は非常に緩徐であり、CYP 阻害剤又は FMO 阻害剤による代謝速度の低下を測定できなかった。しかし、AZD9291 をケトコナゾール存在下でヒト肝細胞とともにインキュベーションしたときには AZ5104 及び AZ7550 の生成速度が低下し、他の特異的 CYP 阻害剤存在下では低下しなかったことから、これらの代謝物は CYP3A4/5 で生成されることが示唆された。また、1-アミノベンゾトリアゾール存在下でインキュベーションした反応液中に AZ5104 及び AZ7550 が検出されたことから、CYP 以外の酵素も AZ5104 及び AZ7550 の生成に関与すると考えられる。

全体的に、AZD9291 の代謝は主に CYP3A4/5 によるものと考えられるが、他の CYP が関与している可能性とともにヒト肝細胞とのインキュベーションによりグルタチオン抱合及びシステイングリシン抱合が確認されたことから、CYP を介する代謝以外の消失経路の存在が考えられる。CYP3A4 の阻害剤又は誘導剤との併用により AZD9291 の体内動態が影響を受ける可能性が考えられるが、CYP3A4 以外の酵素による代謝経路及びその他の消失経路の関与を考慮すると、臨床上問題となるような相互作用が起こる可能性は低いものと推察される。AZ5104 及び AZ7550 の代謝に主に関与する CYP 分子種も CYP3A4/5 であり、AZD9291 をこれら酵素の阻害剤又は誘導剤と併用した場合、AZ5104 及び AZ7550 の曝露量が影響を受けることが予測される。

静脈内及び経口投与後の AZD9291 及びその代謝物は、ラット及びイヌで主に糞中に排泄され（>80%）、尿中排泄はわずかであった（<5%）。このことから、静脈内投与された放射能は主に

胆汁を介して排泄されることが示唆された。また、いずれの動物種においても、投与された放射能のほとんどは投与後 48 時間（ラット）～120 時間（イヌ）以内に排泄され、これ以降は緩徐な排泄が持続した。このことから、糞及び尿の回収期間が 8 日間を超えていた場合には、全体の回収率は更に高くなったと考えられる。

AZD9291 は *in vitro* で CYP3A4/5 を阻害し、その IC_{50} は 5.1 μM であった。このため、FDA 及び EMA のガイダンス（FDA 2012、EMA 2012）による静的モデリングを用いて解析したところ、CYP3A4/5 で代謝される薬剤の曝露量は、AZD9291（80 mg の用量）との併用投与により増加する可能性が示唆された。

AZD9291 は、K_I 及び k_{inact} の検討から CYP3A4/5 に対して *in vitro* で弱い時間依存的な阻害作用を示した。しかし、Simcyp を用いて予試験的に CYP3A4/5 の時間依存的阻害に基づく影響をシミュレーションしたところ、AZD9291 を 80 mg の用量で投与したときの定常状態ではミダゾラムの曝露量は増加しないことが示唆された（AUC の増加は 1%未満）。このことから、AZD9291 は時間依存的阻害により CYP3A4/5 で代謝される薬剤の曝露量を増加させることはないものと考えられた。

AZD9291 は、Caco-2 細胞においてヒト排出トランスポーターBCRP（ABCG2）によるロスバスタチンの排出を阻害し、その IC_{50} は 2.0 μM であった。したがって、BCRP で排出される薬剤の曝露量は、AZD9291（80 mg の用量）との併用投与により増加する可能性がある。

AZD9291 は、3.3 μM までの濃度でヒト肝細胞中の CYP3A4 及び CYP1A2 の mRNA 量をそれぞれ最大 173 倍及び 11 倍（陽性対照による影響のそれぞれ 89%及び 16%）増加させ、その活性をそれぞれ 4.9 倍及び 8.3 倍（陽性対照による影響のそれぞれ 45%及び 16%）増加させた。*In vitro* データ及び臨床曝露量データ（日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したときの定常状態における平均 C_{max}（$C_{ss,max}$）は 0.78 μM）に基づくと、AZD9291 は CYP 酵素活性を誘導することにより、臨床上問題となるような肝代謝による薬物相互作用が生じる可能性が考えられる。しかし、AURA 試験の第 I 相試験パートで得られたデータから、AZD9291、AZ5104 又は AZ7550（いずれも CYP3A4/5 の基質）の曝露量は用量に比例して増加し、また反復投与による曝露量低下を示唆する結果は認められていない。これらのことから、本試験で検討した臨床用量で CYP3A4/5 の誘導が生じる可能性は低いと考えられる（ヒトにおける薬物動態の評価については臨床薬理試験 2.7.2 項を参照）。

CYP3A4 の誘導は pregnane X receptor（PXR）の活性化に依存する。PXR は、他の機序が存在するものの CYP2C 及び P-gp の制御にも関与していることから、AZD9291 がヒトで CYP3A4 を誘導するのであれば、CYP2C 及び P-gp に対しても誘導作用を有する可能性がある。

検討した *In vitro* 試験において、上記以外に薬物相互作用の可能性を示唆するデータは認められなかった。

本項に記載した非臨床薬物動態試験成績からは、適応患者集団を対象として AZD9291 を使用する上で、特に懸念を示唆するデータは認められなかった。

2.6.4.10 参考文献

EMA 2012

Guideline on the investigation of drug interactions (CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr.*) 2012

FDA 2000

Guidance for Industry: Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System, CDER/FDA, August 2000

FDA 2012

Guidance for industry: Drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. Draft document 2012

ICH S10

Guidance on photosafety evaluation of pharmaceuticals. (EMA/CHMP/ICH/752211/2012) 2012

Ings 1984

Ings RM. The melanin binding of drugs and its implications. Drug Metab Rev. 1984; 15:1183-212

ITC 2010

Giacomini KM et al. Membrane transporters in drug development. Nat Rev Drug Disc. 2010 9, 215-236

Leblanc et al 1998

Leblanc B, Jezequel S, Davies T, Hanton G, Taradach C. Binding of drugs to eye melanin is not predictive of ocular toxicity. Regul Toxicol Pharmacol. 1998 Oct; 28(2):124-32.

MHLW 2014

「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（最終案）」厚生労働省医薬食品局審査管理課（平成 26 年 7 月 8 日）

Skett 1988

Skett P. Biochemical basis of sex differences in drug metabolism. Pharmac. Ther. 1988; 38: 269-304.

Wood et al 2011

Wood DJ, Buttar D, Cumming JG, Davis AM, Norinder U, Rodgers SL. Automated QSAR with a Hierarchy of Global and Local Models. Mol. Inf. 2011 30, 960-972.

第 2 部　CTD の概要

一般名：オシメルチニブメシル酸塩

版番号：[redacted]

2.6.5 薬物動態試験概要表

タグリッソ®錠

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表 5
2.6.5.1.1　薬物動態試験 5
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験 8
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与 9
2.6.5.3.1　担癌マウスに AZD9291 を単回経口投与したときの血漿中濃度 9
2.6.5.3.2　ラットに AZD9291 を単回経口又は静脈内投与したときの血漿中濃度 11
2.6.5.3.3　イヌに[^{14}C]-AZD9291 を単回経口又は静脈内投与したときの血漿中濃度 13
2.6.5.3.4　イヌに AZD9291 を単回経口投与したときの血漿中濃度 16
2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与 18
2.6.5.5　薬物動態試験：分布 19
2.6.5.5.1　ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回経口投与したときの組織内分布（定量的全身オートラジオグラフィー） 19
2.6.5.5.2　担癌マウスに AZD9291 を単回経口投与したときの血漿、脳及び腫瘍組織中濃度 23
2.6.5.6　薬物動態試験：蛋白結合 26
2.6.5.6.1　*In vitro*：蛋白結合（マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿並びにヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質溶液） 26
2.6.5.6.2　*In vitro*：ラット及びヒト血漿並びにヒト血清アルブミン溶液中での安定性 28
2.6.5.6.3　*In vitro*：マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿並びにヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質溶液中での安定性 30
2.6.5.6.4　*In vitro*：ラット及びヒト肝細胞タンパク質、ヒト血漿タンパク質、ヒト血清アルブミンへの共有結合 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 34
2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験 35
2.6.5.8.1　血球移行（ラット） 35
2.6.5.8.2　血球移行（イヌ） 37
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：*In vivo* 39
2.6.5.9.1　*In vivo*：ヒト血漿中に存在する代謝物の特定 39

2.6.5.9.2　*In vivo*：ヒト尿及び糞便中に存在する代謝物の特定 41
2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In vitro* 43
2.6.5.10.1　*In vitro*：ラット、イヌ及びヒト肝細胞で生成する代謝物の特定 43
2.6.5.10.2　*In vitro*：AZD9291 の代謝並びに *N*-脱メチル体及び *N*-オキシド体の生成に関与する酵素の特定 45
2.6.5.10.3　*In vitro*：AZ5104 及び AZ7550 の代謝に関与する酵素の特定 48
2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路 50
2.6.5.11.1　*In vivo*：ヒト血漿中に存在する代謝物 50
2.6.5.11.2　*In vivo*：ヒト尿及び糞便中に存在する代謝物 51
2.6.5.11.3　*In vitro*：マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞で生成した代謝物 52
2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 53
2.6.5.12.1　*In vitro*：AZD9291 による CYP の誘導（mRNA 量及び活性） 53
2.6.5.12.2　*In vitro*：AZD9291 による CYP の誘導（mRNA 量） 55
2.6.5.12.3　*In vitro*：AZ5104 による CYP の誘導（mRNA 量） 57
2.6.5.12.4　*In vitro*：AZ7550 による CYP の誘導（mRNA 量） 59
2.6.5.12.5　*In vitro*：AZD9291 による CYP の阻害（直接的又は時間依存的阻害） 61
2.6.5.12.6　*In vitro*：AZD9291 による CYP3A4/5 の時間依存的阻害 65
2.6.5.12.7　*In vitro*：AZ5104 による CYP の阻害（直接的又は時間依存的阻害） 66
2.6.5.12.8　*In vitro*：AZ7550 による CYP の阻害（直接的又は時間依存的阻害） 70
2.6.5.12.9　*In vitro*：AZD9291 による UGT の阻害 73
2.6.5.13　薬物動態試験：排泄 75
2.6.5.13.1　ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内又は経口投与したときの尿糞中排泄 75
2.6.5.13.2　イヌに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内又は経口投与したときの尿糞中排泄 77
2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中 79
2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用 80
2.6.5.16　薬物動態試験：その他 81
2.6.5.16.1　Caco-2 細胞における膜透過性 81
2.6.5.16.2　*In vitro*：P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 による AZD9291 の輸送 83
2.6.5.16.3　*In vitro*：P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 による AD5104 及び AZ7550 の輸送 86
2.6.5.16.4　*In vitro*：AZD9291 による P-gp 及び BCRP の阻害 91

2.6.5.16.5　*In vitro*：AZD9291 による OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B3、OATP1B1、MATE1 及び MATE2 の阻害 94

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

2.6.5.1.1 薬物動態試験

被験物質：AZD9291、AZ5104 及び AZ7550

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	GLP	Location in Module 4
Absorption:						
Pharmacokinetics, distribution	Mouse	Oral	AZ UK	BE000343-60	No	4.2.2.2.1
Pharmacokinetics	Rat	Oral, IV	[redacted] UK	8308627	No	4.2.2.2.2
Pharmacokinetics, distribution, excretion	Dog	Oral, IV	[redacted]	197725	No	4.2.2.2.3
Pharmacokinetics	Dog	Oral	AZ UK	CPK-13-0099	No	4.2.2.2.4
Distribution:						
Distribution	Rat	Oral	[redacted] UK	8265562 (D9291 KMR002)	Yes	4.2.2.3.1
Protein binding	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, Human, Guinea pig, HSA, AGP	*In vitro*	[redacted]	VKS0890	No	4.2.2.3.2
Plasma stability	Mouse, Rat, Dog, Human, HSA, AGP	*In vitro*	[redacted]	ADME-AZS-Wave4-120915 (D9291 KPJ001)	No	4.2.2.3.3
Plasma stability, covalent binding	Rat, Human, HSA	*In vitro*	AZ UK	D9291 KMN006	No	4.2.2.3.4
Covalent binding	Rat	*In vitro*	AZ Sweden	120118_CVB_KXZZ856	No	4.2.2.3.6
Covalent binding	Human	*In vitro*	AZ Sweden	111123_CVB_KXZZ856	No	4.2.2.3.5
Metabolism:						
Metabolism	Mouse, Rat, Dog, Human	*In vitro*	AZ UK	ADME_025	No	4.2.2.4.1

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	GLP	Location in Module 4
Metabolism	Human – recombinant enzymes	*In vitro*	[redacted]	ADME-AZS-Wave3-030516	No	4.2.2.4.2
Metabolism	Human – recombinant enzymes	*In vitro*	AZ Sweden	AZM121105-01	No	4.2.2.4.3
Metabolism	Human – recombinant enzymes	*In vitro*	AZ UK	BE000021-23	No	4.2.2.4.4
Metabolism	Human	*In vitro*	AZ UK	BE000021-25	No	4.2.2.4.5
Metabolism	Human	*In vivo*	AZ UK	BE000343-65	No	4.2.2.4.6
Metabolism	Human	*In vivo*	AZ UK	BE000343-71	No	4.2.2.4.7
Excretion:						
Excretion, distribution	Rat	Oral, IV	[redacted]	196187 (D9291 KMR008)	No	4.2.2.5.1
Pharmacokinetic drug interactions:						
Permeability	Human	*In vitro*	[redacted]	ADME-AZS-Wave4-140821	No	4.2.2.6.1
Induction	Human	*In vitro*	[redacted]	1302120 (00006CYP_IND_HHEP)	No	4.2.2.6.2
Induction	Human	*In vitro*	[redacted]	PR12007/CC0406 (ONC.000-567-326)	No	4.2.2.6.3
Induction	Human	*In vitro*	[redacted]	PR12188/CC0509 (00013CYP_IND_HepaRG_ AZ13575104)	No	4.2.2.6.4
Induction	Human	*In vitro*	[redacted]	DC13144 (00023CYP_IND_HepaRG_ AZ13597550)	No	4.2.2.6.5
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	ONC.000-558-496 (00001CYP_INH_LCMS_2)	No	4.2.2.6.6
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	00001CYP_INH_LCMS_1	No	4.2.2.6.7
Inhibition	Human	*In vitro*	[redacted]	ADME-AZS-Wave3-131125	No	4.2.2.6.8
Inhibition	Human	*In vitro*	[redacted]	ADME-AZS-Wave4-141212	No	4.2.2.6.9
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	ONC.000-573-149	No	4.2.2.6.10
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	00004CYP_INH_LCMS_1_ AZ13575104	No	4.2.2.6.11

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	GLP	Location in Module 4
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	00001CYP_INH_LCMS_2_AZ13575104	No	4.2.2.6.12
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	00003CYP_TDI_LCMS_AZ13575104	No	4.2.2.6.13
Inhibition	Human	*In vitro*	[redacted]	ADME-AZS-Wave3-130808	No	4.2.2.6.14
Inhibition	Human	*In vitro*	[redacted]	ADME-AZS-Wave3-130909	No	4.2.2.6.15
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	00005CYP_TDI_LCMS_AZ13597550	No	4.2.2.6.16
Inhibition	Human	*In vitro*	[redacted] US	[redacted] 8296381	No	4.2.2.6.17
Inhibition	Transfected cells	*In vitro*	[redacted]	13ASTRUKP2	No	4.2.2.6.18
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	ONC.000-569-361	No	4.2.2.6.19
Inhibition	Human	*In vitro*	[redacted]	XT128084 (KMN007)	No	4.2.2.6.20
Inhibition	Human	*In vitro*	AZ UK	BE000458-32_AZ13552748	No	4.2.2.6.21
Inhibition	Transfected cells	*In vitro*	[redacted]	13ASTRUKP7S3	No	4.2.2.6.22
Inhibition	Transfected cells	*In vitro*	AZ UK	03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748	No	4.2.2.6.23
Inhibition	Transfected cells	*In vitro*	AZ UK	BS000567_25_AZ13552748	No	4.2.2.6.24

HAS human serum albumin
AGP α_1-acid glycoprotein;

[redacted], USA.
AZ Sweden AstraZeneca R&D Mölndal, SE-431 83 Mölndal, Sweden
AZ UK AstraZeneca R&D Alderley Park, Macclesfield, SK10 4TG, UK
[redacted] UK, UK
[redacted] US, USA
[redacted], USA
[redacted], UK
[redacted], UK.
[redacted]. China
[redacted], France
[redacted], USA.

2.6.5.2　　分析方法及びバリデーション試験

被験物質：AZD9291、AZ5104 及び AZ7550

分析法及びバリデーション試験成績は薬物動態試験概要文 2.6.4.2.1 項の表 2 に要約を示す。

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.1 担癌マウスに AZD9291 を単回経口投与したときの血漿中濃度

被験物質：AZD9291
試験番号：BE000343-60
CTD での記載箇所：4.2.2.2.1

Study Type: Pharmacokinetics in tumour bearing mice after a single oral dose of either 5 or 25 mg/kg

Method:

Species:	Mouse
Strain:	CB17 SCID mouse bearing subcutaneous H1975 tumours
Number of animals / Gender:	36 (3 animals per time point) / F
Feeding condition:	Fed
Test Compound	AZD9291
Route of Administration:	Oral
Dose (mg/kg):	5 or 25 mg/kg
Vehicle/Formulation:	0.5% hydroxypropylmethyl cellulose
Sample:	Plasma
Analytes:	AZD9291, AZ5104 and AZ7550
Analytical method:	Plasma was analysed by precipitating protein with acetonitrile, and then analysing the supernatant by reverse phase HPLC-MS.

PK parameters:

	AZD9291		AZ5104		AZ7550	
Dose (mg/kg)	5	25	5	25	5	25
C_{max} (µM)	1.92	2.98	0.21	0.86	0.27	0.64
t_{max} (h)	0.5	0.5	2	4	0.5	4
$AUC_{(0-t)}$ (µM·h)[a]	4.82	23.8	1.02	10.5	1.14	8.07
$AUC_{met/AZD9291}$[b]	NA	NA	21	44	24	34
$t_{½}$ (h)	2.85	2.81	NC	3.19	5.52	3.23

a t = 6 h at 5 mg/kg and 24 h at 25 mg/kg.
b $AUC_{met/AZD9291}$ is the percentage of the metabolite (AZ5104 or AZ7550) $AUC_{(0-t)}$ compared to AZD9291 $AUC_{(0-t)}$
NA Not applicable
NC Not calculated

Additional information:
AZD9291 is also known as AZ13552748
AZ5104 and AZ7550 are metabolites of AZ9291
AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

Study conducted by the applicant: Yes – in part. *In vivo* phase carried out by [redacted], France. Analytical work carried out by applicant
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.3.2　　ラットに AZD9291 を単回経口又は静脈内投与したときの血漿中濃度

被験物質：AZD9291
試験番号：8308627
CTD での記載箇所：4.2.2.2.2

Species:	Rat	Rat
Strain:	Han Wistar	Han Wistar
Number of animals / Gender:	3M / 3F	3M / 3F
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	DMA:citrate buffer, 30:70 (v/v), pH 4-5	0.5% aqueous HPMC
Method of Administration:	IV (bolus) 1 mL/kg	Oral (gavage) 2.5 mL/kg
Dose (mg/kg):	2	10
Sample:	Plasma	Plasma
Analyte:	AZD9291, AZ5104 and AZ7550	AZD9291, AZ5104 and AZ7550
Analytical method:	Protein precipitation and HPLC-MS/MS. [redacted] report number 8308626	Protein precipitation and HPLC-MS/MS. [redacted] report number 8308626

	AZD9291 - intravenous			AZD9291 - oral	
PK parameters of AZD9291:	Male [a]	Male [b]	Female	Male	Female
C_{max} (nM)	NA	NA	NA	148	286
t_{max} (h)	NA	NA	NA	4	4
C_0 (nM)	676	898	1000	NA	NA
$AUC_{(0-t)}$ (nM·h)	3480	1440	1980	1740	3610
AUC (nM·h)	3580	1560	2400	1850	4110
CL (L/h/kg)	1.89	2.57	1.78	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	9.13	12.2	13.0	NA	NA
$t_{½}$ (h)	2.51	3.09	4.69	5.18	8.59
F(%)	NA	NA	NA	9.98[a], 24.1[b]	36.5

	AZD9291 - intravenous				AZD9291 - oral			
Analyte	AZ5104		AZ7550		AZ5104		AZ7550	
PK parameters:	Male [a]	Female	Male [a]	Female	Male	Female	Male	Female
C_{max} (nM)	-	-	-	-	2.49	9.40	16.4	12.4
t_{max} (h)	-	-	-	-	12	12	4	4
$AUC_{(0-t)}$ (nM·h)	3.37	14.4	47.2	22.3	19.3	146	252	184
$AUC_{met/AZD9291}$ (%)	0.2	0.7	1	1	1	4	14	5
$t_{½}$ (h)	-	-	-	-	NC	NC	8.61	11.8

a n = 3
b n = 2 where animal 102 data excluded due to high concentrations at 4 and 8 h only.
$AUC_{met/AZD9291}$ is the percentage of metabolite (AZ5104 or AZ7550) AUC_{0-t} to AZD9291 AUC_{0-t}.
NA Not applicable
NC Not calculated

Additional information: AZD9291 is also known as AZ13552748
AZ5104 and AZ7550 are metabolites of AZ9291
AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.3.3　　イヌに[^{14}C]-AZD9291 を単回経口又は静脈内投与したときの血漿中濃度

被験物質：AZD9291
試験番号：197725
CTD での記載箇所：4.2.2.2.3

Species:	Dog	Dog
Strain:	Beagle	Beagle
Number of animals / Gender:	3 / M	3 / M
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	DMSO/TEG/citrate buffer (5/35/60), (1 mg AZD9291 free base/mL)	Water , pH adjusted to 3.5 with methanesulphonic acid (1 mg AZD9291 free base/mL)
Method of Administration:	IV (bolus)	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	1	2
Sample:	Plasma	Plasma
Radionuclide:	^{14}C	^{14}C
Dose of radioactivity (MBq/kg):	2.05	2.06
Analyte:	AZD9291, AZ7550, AZ5104 and total radioactivity	AZD9291, AZ7550, AZ5104, and total radioactivity
Analytical method:	HPLC-MS/MS and LSC	HPLC-MS/MS and LSC

PK parameters (Mean±SD):

Dose route	Intravenous			Oral		
PK parameters:	Total [^{14}C]	AZD9291	AZ7550	Total [^{14}C]	AZD9291	AZ7550
C_{max} (nM)	NA	NA	3.37 ± 0.880	540 ± 0.00	201 ± 40.6	26.5 ± 5.34
t_{max} (h)	NA	NA	6	4 (2, 4)[c]	2 (2, 2)[c]	4 (2, 24)[c]
C_0 (nM)	457 ± 39.1	195 ± 7.15	NA	NA	NA	NA
$t_{½}$ (h)	197 ± 34.8 [d]	10.3 ± 2.12	ND	179 ± 4.97[d]	13.1 ± 4.48	15.9 [e]
$AUC_{(0-t)}$ (nM·h) [a]	30300 ± 4480	1550 ± 462	ND	53000 ± 15500	3740 ± 1810	620 ± 470
AUC (nM·h)	NR	1650 ± 446	ND	NR	3800 ± 1840	795 [e]
AUC(Analyte/AZD9291) (%)	1950 [a]	NA	NC [b]	1420 [a]	NA	16.6 [b]
CL (L/h/Kg)	NA	1.28 ± 0.409	NA	NA	NA	NA
Vd (L/Kg)	NA	18.2 ± 1.58	NA	NA	NA	NA
F(%)	NA	NA	NA	NA	115	NA

a $AUC_{(0-t)}$ of total radioactivity as a percentage of AZD9291
b $AUC_{(0-t)}$ of metabolite as a percentage of AZD9291
c Median (range)
d value derived where criteria for the determination of the terminal phase was not met
e n = 2
NA Not applicable
NC Not calculated
ND Not determined less than three consecutive concentrations quantified in each profile
NR Not reported (the coefficient of determination for the elimination phase was < 0.8 and /or the extrapolation of the AUC to infinity represented more than 20 % of the total area)

Additional information:

All concentrations of AZ5104 were below the limit of quantification

AZD9291 is also known as AZ13552748

AZ5104 and AZ7550 are metabolites of AZD9291

AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], UK
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.3.4 イヌに AZD9291 を単回経口投与したときの血漿中濃度

被験物質：AZD9291
試験番号：CPK-13-0099
CTD での記載箇所：4.2.2.2.4

Study Type: Pharmacokinetics in the dog after a single oral dose

Species:	Dog			
Strain:	Beagle			
Number of animals / Gender:	4/M			
Feeding condition:	Fasted (dosed in the morning but had not been fed since the previous day. Then fed 4 hours post dose).			
Test Compound	AZD9291 mesylate salt			
Route of Administration:	Oral			
Dose (mg/kg):	20 mg free base equivalent			
Vehicle/Formulation:	Solution – 92% water, 8% methylsulphonic acid (0.12 M)	Capsule – Methyl cellulose capsules	Tablet 1	Tablet 2
Sample:	Plasma			
Analyte:	AZD9291			
Analytical method:	Protein precipitation followed by HPLC-MSMS			

PK parameters (Mean±SD):

PK parameters:	Solution	Capsule	Tablet 1	Tablet 2
C_{max} (μM)	0.136 ± 0.0414	0.097± 0.0332	0.115 ± 0.0550	0.234 ± 0.124
t_{max} (h) [a]	3 (3 - 4)	4 (4 - 4)	3.5 (3 - 6)	4 (4 - 4)
$AUC_{(0-24)}$ (μM.h)	1.28 ± 0.281	0.998 ± 0.391	1.27 ± 0.637	2.39 ± 1.39
$t_{½}$ (h)	6.63 ± 0.760	7.72 ± 2.27	6.73 ± 1.23	5.49 ± 0.965

a t_{max} = median (range)

Details of tablet formulations

	Primary filler	Secondary filler	Disintegrant	Lubricant	Wetting agent
Tablet 1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Tablet 2	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

Additional information:
Neither Tablet 1 or 2 were used for clinical development
The same cohort of dogs was used for all 4 doses and the washout was at least 7 days between doses.

Study conducted by the applicant: Yes
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.4　　薬物動態試験：吸収：反復投与

該当なし

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回経口投与したときの組織内分布（定量的全身オートラジオグラフィー）

被験物質：AZD9291
試験番号：8265562 (D9291 KMR002)
CTD での記載箇所：4.2.2.3.1

Type of Study: Tissue distribution of total radioactivity in the rat following oral administration (quantitative whole body autoradiography)

Species:	Rat
Gender (M/F) / Number of animals:	Lister Hooded: 8M. Han Wistar: 3M & 3F
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Suspension in 0.5% (w/v) aqueous hydroxypropylmethyl cellulose
Method of Administration:	Oral
Duration of treatment:	Single dose
Dose (mg/kg):	4
Radionuclide:	^{14}C
Dosed radioactivity (MBq/kg):	7.4
Study type:	QWBA
Analytical method:	Image analysis
Sampling time (Time):	Lister Hooded Males: 0.5, 1, 6, 24 hours and 2, 7, 21 and 60 days.
	Han Wistar: Males and Females: 1, 6 and 24 hours.

Lister Hooded male rats	Concentration (nmol equiv./g)							
Tissues/organs:	0.5 h	1 h	6 h	24 h	2 days	7 days	21 days	60 days
Adrenal cortex	1.13	2.29	7.10	1.38	0.623	0.442	0.333	0.118
Adrenal medulla	0.839	3.04	7.50	1.51	0.664	0.416	0.267	0.072
Bile ducts	8.46	11.6	15.8	1.35	0.774	0.106	BLQ	BLQ
Blood	0.133	0.205	0.552	0.512	0.493	0.274	0.212	BLQ
Bone marrow	0.457	1.43	6.65	1.44	0.527	0.158	0.053	0.039
Brain	0.142	0.445	1.02	0.187	0.095	0.061	0.049	BLQ
Brown fat	0.162	0.611	1.16	0.518	0.265	0.142	0.079	BLQ
Bulbo-urethral gland	0.747	1.06	0.944	0.868	0.490	0.207	0.112	0.025
Choroid plexus	0.633	0.783	2.84	1.02	1.16	0.513	0.420	BLQ
Exorbital lachrymal gland	0.422	1.38	7.06	1.25	0.595	0.229	0.105	0.042
Fur (pigmented)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	4.13	1.03	1.62
Harderian gland	0.243	0.995	10.6	9.52	5.61	0.343	0.093	0.043
Intra-orbital lachrymal gland	0.524	1.21	6.36	1.44	0.702	0.236	0.144	0.050[a]
Liver	4.35	5.02	7.33	1.65	1.07	0.278	0.086	BLQ
Lung	1.87	4.36	11.2	1.59	0.613	0.233	0.172	BLQ
Muscle	0.120	0.345	1.11	0.236	0.187	0.111	0.057	BLQ
Pineal body	0.720	2.24	6.57	1.16	0.525	0.205	0.156	BLQ
Prostate	0.212	0.799	2.49	0.478	0.196	0.080	0.050	BLQ
Renal cortex	1.57	3.21	12.3	5.82	4.14	1.12	0.225	0.031
Skin (Non-pigmented)	0.085	0.288	1.20	0.296	0.153	0.055	0.031	BLQ
Skin (Pigmented)	0.135	0.431	1.59	1.62	0.994	1.46	0.036	0.261
Spinal cord	0.088	0.326	0.780	0.178	0.071	0.055	0.035	BLQ
Spleen	1.48	3.99	12.5	2.76	1.53	0.759	0.720	0.442
Testis	0.059	0.157	1.36	0.552	0.379	0.208	0.143	0.026
Thymus	0.273	0.988	4.35	1.09	0.435	0.188	0.085	0.041
Thyroid	1.85	2.48	5.98	1.35	0.843	0.506	0.268	0.096
Urine	0.205	0.675	5.40	1.14	0.326	0.052	0.024	BLQ
Uvea plus RPE	1.02	3.07	39.7	49.8	85.2	41.4	38.1	20.5

Lister Hooded male rats	Concentration (nmol equiv./g)							
Tissues/organs:	0.5 h	1 h	6 h	24 h	2 days	7 days	21 days	60 days
White fat	0.055	0.092	0.535	0.083	0.090	0.040	0.025	BLQ
Limit of quantification	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023

BLQ Below limit of quantification
a measurement affected by high radioactivity in adjacent tissue
Results from selected tissues only; for additional data on the following tissues, please refer to study report: aortic wall, bone surface, caecum mucosa, epididymis, large intestine mucosa, lens, mandibular lymph node, meninges, myocardium, nasal mucosa, oesophageal wall, pancreas, periodontal membrane, pituitary, preputial gland, rectum mucosa, renal cortex inner, renal cortex outer, renal medulla, salivary glands, seminal vesicles, small intestine mucosa, stomach mucosa (fundus), stomach mucosa (non-fundic), tongue, tooth pulp, trachea, urinary bladder wall.

Han Wistar rats	Concentration (nmol equiv./g)					
Tissues/organs:	Male rats			Female rats		
	1 h	6 h	24h	1 h	6 h	24 h
Adrenal cortex	4.11	8.69	1.30	9.03	11.3	4.04
Adrenal medulla	4.06	5.71	1.19	8.46	9.64	3.92
Bile ducts	18.3	17.5	1.77	10.8	12.3	3.36
Blood	0.274	0.638	0.593	0.372	0.648	1.03
Bone marrow	1.57	6.78	1.01	2.46	7.81	3.27
Brain	0.387	1.15	0.142	0.777	1.46	0.506
Brown fat	1.00	1.95	0.666	1.82	2.44	1.14
Bulbo-urethral gland	1.62	3.58	0.606	NA	NA	NA
Choroid plexus	1.47	3.73	1.39	2.67	2.59	2.72
Clitoris	NA	NA	NA	2.57	4.00	5.33
Exorbital lachrymal gland	1.90	7.84	1.74	5.15	12.6	7.49
Harderian gland	1.62	15.9	18.4	3.33	25.1	23.6
Intra-orbital lachrymal gland	1.57	8.00	2.10	4.03	11.4	5.61
Liver	8.12	11.0	2.65	13.3	12.0	4.75
Lung	6.90	21.6	1.90	13.9	27.9	6.29
Muscle	0.535	1.48	0.242	0.934	1.40	0.566
Ovary	NA	NA	NA	2.00	9.43	2.00
Pineal body	2.09	8.02	1.15	2.83	9.78	3.28
Prostate	1.05	3.33	0.468	NA	NA	NA

Han Wistar rats	Concentration (nmol equiv./g)					
Tissues/organs:	Male rats			Female rats		
	1 h	6 h	24h	1 h	6 h	24 h
Renal cortex	5.06	16.8	8.25	6.79	9.86	4.84
Skin	0.357	1.42	0.293	0.286	1.18	1.22
Spinal cord	0.434	0.922	0.118	0.441	0.945	0.405
Spleen	6.51	16.9	2.41	10.8	21.2	11.1
Testis	0.158	1.09	0.413	NA	NA	NA
Thymus	1.36	5.15	0.897	2.16	7.06	2.89
Thyroid	5.13	12.8	1.74	7.55	9.80	3.26
Urine WBA	0.206	8.66	1.17	2.11	1.18	0.123
Uterus	NA	NA	NA	2.11	6.89	1.98
Uvea plus RPE	0.916	2.37	0.631	1.09	0.901	0.818
White fat	0.069	0.493	0.048	0.182	0.488	0.163
Limit of quantification	0.017	0.017	0.017	0.013	0.013	0.013

BLQ Below limit of quantification, NA: not applicable.

Results from selected tissues only; for additional data on the following tissues, please refer to study report: aortic wall, bone surface, caecum mucosa, epididymis, large intestine mucosa, lens, mandibular lymph node, meninges, myocardium, nasal mucosa, oesophageal wall, pancreas, periodontal membrane, pituitary, preputial gland, rectum mucosa, renal cortex inner, renal cortex outer, renal medulla, salivary glands, seminal vesicles, small intestine mucosa, stomach mucosa (fundus), stomach mucosa (non-fundic), tongue, tooth pulp, trachea, urinary bladder wall.

Additional Information:

AZD9291 is also known as AZ13552748

Study conducted by the applicant: No

If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted]. UK

Study in compliance with GLP: Yes

2.6.5.5.2 担癌マウスに AZD9291 を単回経口投与したときの血漿、脳及び腫瘍組織中濃度

被験物質：AZD9291
試験番号：BE000343-60
CTD での記載箇所：4.2.2.2.1

Study Type: Plasma, brain and tumour exposure in tumour bearing mice after a single oral dose of either 5 or 25 mg/kg

Species:	Mouse
Strain:	CB17 SCID mouse bearing subcutaneous H1975 tumours
Number of animals / Gender:	36 (3 animals per time point and per dose) / F
Feeding condition:	Fed
Test Compound	AZD9291
Route of Administration:	Oral
Dose (mg/kg):	5 or 25 mg/kg
Vehicle/Formulation:	0.5% hydroxy-propyl methyl cellulose
Sample:	Plasma, brain, tumour
Analytes:	AZD9291, AZ5104 and AZ7550
Analytical method:	Plasma and tissue homogenates, were analysed by precipitating protein with acetonitrile, and then analysing the supernatant by reverse phase HPLC-MS.

Mean plasma and tissue PK parameters for AZD9291 following oral doses of AZD9291 (5 or 25 mg/kg)

	5 mg/kg dose			25 mg/kg dose		
	Plasma	Brain	Tumour	Plasma	Brain	Tumour
C_{max} (μM)	1.92	1.03	0.69	2.98	7.13	5.79
t_{max} (h)	0.5	2	4	0.5	4	4
$AUC_{(0-t)}$ (μM·h)	4.82 [a]	8.56 [b]	8.19 [b]	23.8 [b]	67.0 [b]	66.2 [b]
Tissue/plasma AUC ratio	NA	1.8	1.7	NA	2.8	2.8
$t_{½}$	2.85	3.09	5.90	2.81	3.48	6.68

NA Not applicable,
a t = 6 h
b t = 24 h

Mean plasma and tissue PK parameters for AZ5104 following oral doses of AZD9291 (5 or 25 mg/kg)

	5 mg/kg dose			25 mg/kg dose		
	Plasma	Brain	Tumour	Plasma	Brain	Tumour
C_{max} (μM)	0.21	0	0.07	0.86	0	0.66
t_{max} (h)	2	0	6	4	0	6
$AUC_{(0-t)}$ (μM·h)	1.02[a]	0	0.26[b]	10.5 [a]	0	9.03 [b]
Tissue/plasma AUC ratio	NA	ND	0.26	NA	ND	0.86

NA Not applicable
a t = 6 h
b t = 24 h
ND Not determined

Mean plasma and tissue PK parameters for AZ7550 following oral doses of AZD9291 (5 or 25 mg/kg)

	5 mg/kg dose			25 mg/kg dose		
	Plasma	Brain	Tumour	Plasma	Brain	Tumour
C_{max} (μM)	0.27	0	0.15	0.64	0.16	1.08
t_{max} (h)	0.5	0	4	4	4	4
$AUC_{(0-t)}$ (μM·h)	1.14[a]	0	0.72[b]	8.07[b]	0.80[a]	15.8[b]
Tissue/plasma AUC ratio	NA	ND	0.63	NA	0.10	2.0

NA Not applicable
ND Not determined
a t = 6 h
b t = 24 h

Additional information:
AZD9291 is also known as AZ13552748
AZ5104 and AZ7550 are metabolites of AZ9291
AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

Study conducted by the applicant: Yes – in part. *In vivo* phase carried out by [redacted], France. Analytical work carried out by applicant
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

2.6.5.6.1 *In vitro*：蛋白結合（マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿並びにヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質溶液）

被験物質：AZD9291、AZ5104 及び AZ7550
試験番号：VKS0890
CTD での記載箇所：4.2.2.3.2

Type of study: *In vitro* investigation of the protein binding of AZD9291, AZ5104 and AZ7550 in mouse, rat, rabbit, dog, guinea pig and human plasma and in human serum albumin and α1-acid glycoprotein solutions by ultrafiltration

Assessment:	Plasma protein binding
Matrix:	Plasma
Method:	Ultrafiltration
Species (strain / sex / number of donors):	Mouse (CD-1 / Male / NS) Rat (Han Wistar / Male / NS) Rabbit (New Zealand White / female / NS) Dog (Beagle / Male / NS) Guinea Pig (Dunkin Hartley / Male / NS) Human (Male / 3)
Analytes	AZD9291, AZ5104, AZ7550
Analytical method:	HPLC-MS/MS
Replicates	Triplicate

NS not specified

Protein binding of AZD9291, AZ5104 and AZ7550 at 100 µM *in vitro* in mouse, rat, rabbit, dog, guinea pig and human plasma, human serum albumin and α1-acid glycoprotein solutions by ultrafiltration

Matrix	AZD9291		AZ5104		AZ7550	
	Bound (%)	Free (%)	Bound (%)	Free (%)	Bound (%)	Free (%)
Mouse	NC	NC	97.9	2.1	NC	NC
Rat	NC	NC	96.4	3.6	NC	NC
Rabbit	NC	NC	98.0	2.0	NC	NC
Dog	NC	NC	98.6	1.4	NC	NC
Guinea Pig	NC	NC	98.3	1.7	NC	NC
Human	NC	NC	98.0	2.0	NC	NC
Human Serum Albumin	82.3	17.7	69.0	31.0	83.7	16.3
α1-acid glycoprotein	15.9	84.1	29.5	70.5	21.5	78.5

NC　Not calculated due to non-specific binding in ultrafiltration apparatus
Results are the mean of n = 3

Additional Information:
AZD9291 is also known as AZ13552748
AZ5104 and AZ7550 are metabolites of AZ9291
AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

For study number:　VKS0890
Study conducted by the applicant: No.
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], UK
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.6.2 *In vitro*：ラット及びヒト血漿並びにヒト血清アルブミン溶液中での安定性

被験物質：AZD9291
試験番号：D9291 KMN006
CTD での記載箇所：4.2.2.3.4

Type of study: *In vitro* investigation of the stability of AZD9291 in rat and human plasma and in human serum albumin solution

Assessment:	Plasma stability
Matrix:	Plasma, human serum albumin
Species (strain / sex / number of donors):	Rat (Han Wistar / Male / NS)
	Human (Male / 3)
Analyte	[^{14}C]-AZD9291
Analytical method:	HPLC-MS/MS
Replicates:	singlicate

NS not specified

The half life of AZD9291 following a 6 h incubation at 37°C at 1 and 10 µM in rat and human plasma and in human serum albumin solution and in phosphate buffered saline (PBS)

Matrix	Half life (mins)	
	1 µM	10 µM
Rat plasma	50.3	109
Human plasma	>360	>360
Human serum albumin solution	44.8	111
PBS	>360	>360

Half life estimates were from singlicate determinations.
PBS – phosphate buffered saline

Additional Information:　AZD9291 is also known as AZ13552748
For study number:　KMN006
Study conducted by the applicant: Yes.
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.6.3 *In vitro*：マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿並びにヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質溶液中での安定性

被験物質：AZD9291
試験番号：ADME-AZS-Wave4-120915 (D9291 KPJ001)
CTD での記載箇所：4.2.2.3.3

Type of study: *In vitro* investigation of the stability of AZD9291 in mouse, rat, dog and human plasma and in human serum albumin and α1-acid glycoprotein solutions

Assessment:	Plasma stability
Matrix:	Plasma, human serum albumin, α1-acid glycoprotein
Method:	Equilibrium dialysis
Species (strain / sex / number of donors):	Mouse (CD-1 / Male / >3) Rat (Han Wistar / Male / >3) Dog (Beagle / Male / >3) Human Asian (Male/Female / >20) Human African/Hispanic/Caucasian (Male/Female / 8)
Analyte	AZD9291
Analytical method:	HPLC-MS/MS
Replicates	Triplicate

Matrix	Sex	AZD9291 remaining at end of incubation (%)				
		0.1 µM	1 µM	10 µM	100 µM	Mean [a] (0.1 – 100 µM)
Mouse plasma	Male	15.4 ± 0.591	25.4 ± 0.439	42.8 ± 2.47	29.5 ± 1.91	28.3 ± 10.4
Rat plasma	Male	36.2 ± 0.150	42.5 ± 0.64	34.0 ± 0.427	31.5 ± 3.19	36.1 ± 4.47
Dog plasma	Male	89.6 ± 1.31	87.9 ± 2.44	82.7 ± 4.47	97.9 ± 3.13	89.6 ± 6.28
Human (Asian) plasma	Male and female	<1.00	<0.100	<0.100	0.0929 ± 0.0224	<0.100
Human serum albumin	NA	10.9 ± 0.689	11.2± 0.0529	9.69 ± 0.973	13.7 ± 1.27	11.4 ± 1.69
α1-acid glycoprotein	NA	101 ± 13.0	108 ± 0.160	105 ± 4.12	104 ± 10.2	105 ±7.67

Results are the mean ± SD of n = 3
a n = 12
NA not applicable

Other information	AZD9291 recovery in a mixture of Human African/Hispanic/Caucasian plasma incubated at 1 µM for 2 and 6 h was 13.3% and 3.59% respectively. AZD9291 recovery in Asian human plasma incubated at 1 µM for 6 h with various inhibitors (sodium fluoride, phenyl-methyl-sulfonyl-fluoride, ethylenediaminetetraacetic acid) was < 0.1%.

Additional Information: AZD9291 is also known as AZ13552748

Study conducted by the applicant: No.

If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted] China

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.6.4 *In vitro*：ラット及びヒト肝細胞タンパク質、ヒト血漿タンパク質、ヒト血清アルブミンへの共有結合

被験物質：AZD9291

試験番号：	120118_CVB_KXZZ856	CTD での記載箇所：	4.2.2.3.6
	111123_CVB_KXZZ856		4.2.2.3.5
	D9291 KMN006		4.2.2.3.4

Type of study: *In vitro* covalent binding of [^{3}H]-AZD9291 or [^{14}C]-AZD9291 to rat and human hepatocytes, rat and human plasma and to human serum albumin

Study number	120118_CVB_KXZZ856	111123_CVB_KXZZ856	KMN006
Assessment:	Covalent binding	Covalent binding	Covalent binding
Matrix:	Hepatocytes	Hepatocytes	Plasma, human serum albumin
Method:	*In vitro* incubation	*In vitro* incubation	*In vitro* incubation
Species (strain / sex / number of donors):	Rat (Han Wistar / Male/Female / 10)	Human (Male/Female / 10)	Rat (Han Wistar / Male / NS) Human (Male / 3)
Radionuclide:	^{3}H	^{3}H	^{14}C
Specific activity:	49 mCi/mg	49 mCi/mg	120 µCi/mg
Analysis	LSC	LSC	LSC

NS – Not specified

Covalent binding and fraction of covalent binding of [^{3}H]-AZD9291 and [^{3}H]-zomepirac to rat and human hepatocytes and [^{14}C]-AZD9291 to rat and human plasma and human serum albumin

Matrix	Rat hepatocytes [a]		Human hepatocytes [b]		Rat plasma [c]	Human plasma [c]	Human serum albumin [c]
	AZD9291	zomepirac	AZD9291	zomepirac	AZD9291	AZD9291	AZD9291
CVB_{0h} (pmol eq./mg protein)	10.9	14.4	16.7 ±2.3	3.60±0.7	0.54	1.2	0.71
CVB_{4h} (pmol eq./mg protein)	228	58.5	693 ±2.5	20.0 ±0.6	160 [e]	197 [e]	159 [e]
CVBnet (pmol eq./mg protein)	217 ±20.9	44.0 ±3.8	677 ±3.4	16.4 ±0.9	159	196	158
Turnover of parent (%)[d]	71.0 ±2.5	12.2 ±3.0	15.0	16.3	NC	NC	NC
f_{CVB}	0.0200 ±0.0025	0.0241 ±0.0042	0.294	0.00656	NC	NC	NC

CVB covalent binding
Mean or Mean ± SD
a 120118_CVB_KXZZ856
b 111123_CVB_KXZZ856
c KMN006
d turnover of parent compound in the incubation as measured by LC-MS/MS
e CVB_{6h}
f_{CVB} fraction covalently bound
NC not calculated

Additional Information:
AZD9291 is also known as AZ13552748

Study conducted by the applicant: Yes
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.7　　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当なし

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.1 血球移行（ラット）

被験物質：AZD9291
試験番号：196187 (D9291 KMR008)
CTD での記載箇所：4.2.2.5.1

Species:	Rat
Strain:	Han Wistar
Number of animals / gender:	6 / M & 6 / F
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5 % (w/v) aqueous hydroxy-propyl methyl cellulose
Route of administration:	Oral
Method of administration:	Gavage
Dose (mg/kg):	10
Radionuclide:	^{14}C
Dose of radioactivity (MBq/kg):	9.4
Analytical method:	LSC

Mean plasma and blood concentrations of total radioactivity

Time after dose (h)	Mean concentration of radioactivity (µmol equiv/L) [a]				Blood/plasma ratio	
	Male		Female		Male	Female
	Blood	Plasma	Blood	Plasma		
1	1.32	0.84	1.56	1.03	1.57	1.53
3	2.28	1.38	2.30	1.48	1.65	1.54
12	2.45	0.90	2.45	1.20	2.72	2.04

a 2 animals per gender per time

Additional information: AZD9291 is also known as AZ13552748
Study conducted by the applicant: No If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], UK Study in compliance with GLP: No

2.6.5.8.2　　血球移行（イヌ）

被験物質：AZD9291
試験番号：197725
CTD での記載箇所：4.2.2.2.3

Species:	Dog	Dog
Strain:	Beagle	Beagle
Number of animals / gender:	3 / M	3 / M
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	DMSO/TEG/citrate buffer (5/35/60), (1 mg AZD9291 free base/mL)	Water , pH adjusted to 3.5 with methanesulphonic acid (1 mg AZD9291 free base/mL)
Route of administration:	IV	Oral
Method of administration:	bolus	Gavage
Dose (mg/kg):	1	2
Radionuclide:	^{14}C	^{14}C
Dose of radioactivity (MBq/kg):	2.05	2.06
Analytical method:	LSC	LSC

Plasma and blood concentrations of total radioactivity

Time after dose (h)	Mean concentration of radioactivity (µmol equiv/L) [a]				Blood/plasma ratio	
	Intravenous Dose		Oral dose		IV	Oral
	Blood	Plasma	Blood	Plasma		
0.083	540 ± 20	394 ± 12	NS	NS	1.37 ± 0.06	NS
0.167	467 ± 23	340 ± 20	NS	NS	1.38 ± 0.14	NS
0.25	NS	NS	7 ± 12 [b]	13 ± 12 [b]	NS	NC
0.5	387 ± 42	300 ± 20	127 ± 50 [b]	127 ± 46	1.29 ± 0.06	1.10 [c]
1	367 ± 23	287 ± 23	360 ± 106	367 ± 83	1.28 ± 0.02	0.97 ± 0.06
2	334 ± 12	260 ± 20	500 ± 40	494 ± 50	1.29 ± 0.06	1.02 ± 0.08
4	274 ± 12	247 ± 12	507 ± 61	514 ± 46	1.11 ± 0.05	0.99 ± 0.04
6	280 ± 20	260 ± 20	460 ± 40	487 ± 42	1.08 ± 0.08	0.95 ± 0.02
12	260 ± 35	274 ± 46	400 ± 69	474 ± 83	0.96 ± 0.04	0.87 ± 0.26
24	220 ± 20	227 ± 42	354 ± 90	400 ± 92	0.98 ± 0.11	0.88 ± 0.07
48	187 ± 31	200 ± 40	274 ± 70	334 ± 114	0.95 ± 0.16	0.84 ± 0.10
72	167 ± 31	180 ± 20	227 ± 61	320 ± 106	0.93 ± 0.13	0.72 ± 0.12
96	167 ± 31	167 ± 31	214 ± 76	300 ± 106	1.00 ± 0.00	0.71 ± 0.02
120	147 ± 46	140 ± 20	214 ± 61	254 ± 101	1.04 ± 0.20	0.87 ± 0.12
144	147 ± 50	140 ± 20	234 ± 64	247 ± 83	1.04 ± 0.29	0.96 ± 0.19
168	127 ± 31	127 ± 12	193 ± 61	214 ± 76	0.99 ± 0.15	0.91 ± 0.07

Mean ± SD
a 3 animals per gender per time
b Mean includes results calculated from data less than 30 d.p.m. above background
c n=2
NS no sample
NC not calculated

Additional information: AZD9291 is also known as AZ13552748
Study conducted by the applicant: No If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], UK Study in compliance with GLP: No

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In vivo*

2.6.5.9.1 *In vivo*：ヒト血漿中に存在する代謝物の特定

被験物質：AZD9291
試験番号：BE000343-65
CTD での記載箇所：4.2.2.4.6

The objectives of this study were to detect, characterise, and semi-quantify metabolites of AZD9291 in human plasma. Steady state plasma samples were obtained following continuous dosing of AZD9291 at 80 mg to fasted patients for 22 days (AURA D5160C00001: a phase I/II study to assess the tolerability, pharmacokinetics and anti-tumour activity of AZD9291 in patients with advanced non small cell lung cancer who have progressed following prior therapy with an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor agent). Plasma samples were selected across the dosing interval and pooled from 6 individual subjects to create a sample representative of the exposure to AZD9291 and metabolites.

This study enabled the detection and semi-quantification of AZD9291 and related material in the $AUC_{(0\text{-}24\ hr)}$ pooled plasma extract, down to a level of 2 % relative to AZD9291. Seven metabolites were characterised and semi-quantified with the most abundant two metabolites (M3 and M6) observed at approximately 6 and 8% of total AZD9291 related material respectively. These two metabolites corresponded to AZ7550 (M3, *N*-desmethyl from dimethyl amine) and AZ5104 (M6, *N*-desmethyl from indole) and were confirmed with analytical standards. No metabolite was determined to be >10% of the total circulating AZD9291 related material in this pooled plasma extract.

Semi-quantification by UV (310-350 nm) of the metabolites detected in $AUC_{(0\text{-}24hr)}$ human plasma pool extract relative to AZD9291 or total AZD9291 related material following oral dosing of AZD9291 (80 mg multiple dose, Day 22)

	Description	Modification	Elemental composition	m/z observed	Metabolite semi-quantification	
					Percentage relative to AZD9291	Percentage relative to total
Parent	AZD9291		$C_{28}H_{33}O_2N_7$	500.2768	NA	76
M1[a]	AZ13598420	+O	$C_{28}H_{33}O_3N_7$	516.2718	<2	<2
M2	Dealkylation	$-C_4H_9N$	$C_{24}H_{24}O_2N_6$	429.2034	5	4
M3[a]	AZ7550	$-CH_2$	$C_{27}H_{31}O_2N_7$	486.2612	8	6
M6[a]	AZ5104	$-CH_2$	$C_{27}H_{31}O_2N_7$	486.2612	11	8
M8	Cysteinylglycine adduct	$+C_5H_{10}O_3N_2S$	$C_{33}H_{43}O_5N_9S$	678.3181	2	2
M17	Oxidation (+O)	+O	$C_{28}H_{33}O_3N_7$	516.2718	<2	<2
M18	Oxidation and glucuronidation	$+C_6H_8O_7$	$C_{34}H_{41}O_9N_7$	692.3039	2	<2

a Metabolites confirmed with authentic standard
LLOQ 2% of AZD9291 UV response.
All observed m/z values generated in positive ion mode and within 5ppm accurate mass error of the theoretical value.
NA not applicable

Additional information:
AZD9291 is also known as AZ13552748.
AZ5104 is also referred to as AZ13575104
AZ7550 is also referred to as AZ13597550

Study conducted by the applicant: Yes
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study:
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.9.2 *In vivo*：ヒト尿及び糞便中に存在する代謝物の特定

被験物質：AZD9291
試験番号：BE000343-71
CTD での記載箇所：4.2.2.4.7

Type of Study: In clinical study D5160C00011 (A Phase I, Single-centre, Non-randomised, Open-label, Pharmacokinetic and Mass Balance Study of Orally Administered [^{14}C]-AZD9291 in Healthy Male Volunteers), male volunteers received a single 20 mg dose of [^{14}C]-AZD9291. Urine and faeces were collected with volunteers resident in the clinic for 21 days, followed by 4 subsequent visits to the clinic for 24h each on Days 28-29, 35-36, 42-43 and 84-85 for mass balance and metabolic fate assessment. Blood was collected at intervals up to Day 84 and plasma prepared for pharmacokinetic and metabolic fate assessment. For the current study, plasma, urine samples between 0 and 7 days and faeces samples between 1 and 7 days were pooled from individuals to give a single plasma, single urine and single faeces sample. In the current study, urine, faeces extract and plasma were pooled for metabolite analysis as outlined below. Less than 10% of the radioactivity from the plasma pool was able to be extracted resulting in concentrations too low for AMS analysis without additional developmental work. Consequently no metabolite profiling in plasma was conducted in this study, although metabolites M2 (dealkylation, see Tabular Summary 2.6.5.11B), M3 (AZ7550) and M6 (AZ5104) were observed at trace levels.

Summary of dosing, analysis and pooling procedures

Species:	Human (Healthy volunteers)
Gender (M/F)/Number:	M / 8
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	1 x 20 mg solution [^{14}C]-AZD9291
Route of Administration:	Oral
Method of Administration:	With fluids (buffer and water) (240 mL)
Dose (mg):	20 mg (36.1kBq)
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity (μCi/kg):	1.20 μCi/mg
Analytical method(s):	HPLC-AMS and HPLC-UV-MS
Sample pooling:	Urine: 0 – 168 h urine pooled by patient using 0.1% of each sample Faeces: 24 – 168 h faecal homogenate extract pooled by patient using 0.33% of each sample (no sample 0-24 h) Plasma: 0 – 168 h pooled by patient in a time dependent manner

Metabolic fate of [^{14}C]-AZD9291 in human excreta

			% Administered dose	
Metabolite	Description	Modification	Faeces	Urine
AZD9291	Parent	NA	1.2	0.71
M1	AZ13598420	+O	ND	0.13
M3	AZ7550	- CH_2	2.3	0.44
M6	AZ5104	- CH_2	5.6	0.96
M17	Oxidation	+O	0.33	ND
M19	Unknown	Unknown	0.80	ND
M20	Oxidation	+O	0.76	ND
M21	Cysteinyl adduct	+$C_3H_6O_2NS$	1.5	ND
M22	Unknown	Unknown	0.48	ND
M23	Dealkylation + Oxidation	-C_4H_9N, +O	0.47	ND
M24	Unknown	Unknown	ND [a]	0.25
M25	Unknown	Unknown	ND	1.9
Total			14	4.4

ND Not detected in AMS profile, NA not applicable
a Peak in AMS profile has similar retention to M20 in faeces AMS profile, no mass ion to confirm identity
Percentage radioactivity determined in pooled faeces (24-168 h) and pooled urine (0-168 h)

Additional information:
AZD9291 is also known as AZ13552748.
AZ5104 is also referred to as AZ13575104
AZ7550 is also referred to as AZ13597550

Study conducted by the applicant: Yes
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study:
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In vitro*

2.6.5.10.1 *In vitro*：ラット、イヌ及びヒト肝細胞で生成する代謝物の特定

被験物質：AZD9291
試験番号：ADME_025
CTD での記載箇所：4.2.2.4.1

Study Type: Identification of metabolites formed in mouse, rat, dog and human hepatocytes

Study Systems	Mouse, rat, dog and human hepatocytes
Test Compound	AZD9291
AZD9291 Concentration	5 µM
Species (strain / sex / number of donors)	Mouse: (CD-1 / NS / NS) Rat: (Han Wistar / Male / NS) Dog: (Beagle / Male / NS) Human : (Male/Female / 10)
Incubation Conditions	1 million viable cells/ mL 37°C for 1 hour in Leibovitz buffer (pH7.4).
Analysis	Semi-quantitative assessment of AZD9291 and its metabolites was by UV at 320 – 330 nm Mass spectra were acquired in positive ion mode with subsequent product ion analysis. Accurate mass data with assignment of key fragment ions were used to propose structures.

NS not specified

Semi-quantitative amounts of AZD9291 and metabolites

Peak ID	Proposed structure	Proportion of UV chromatogram (320-330 nm)			
		Mouse	Rat	Dog	Human
M1	Oxidation (+O)	< 1%	< 1%	1 – 10 %	< 1%
M2	Dealkylation (-C_4H_9N)	-	< 1%	< 1%	< 1%
M3 (AZ7550)	Demethylation (-CH_2)	1 – 10 %	1 – 10 %	1 – 10 %	1 – 10 %
M4	Oxidation (+O)	1 – 10 %	1 – 10 %	1 – 10 %	1 – 10 %
M5	Oxidation (+O_2)	< 1%	< 1%	< 1%	-
M6 (AZ5104)	Demethylation (-CH_2)	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%
M7	Oxidation (+O)	-	-	< 1%	-
M8	Cysteine glycine adduct	-	< 1%	-	< 1%
M9	Demethylation (-CH_2) + Oxidation (+O)	1 – 10 %	< 1%	< 1%	-
M10	Glutathione adduct	1 – 10 %	≥ 10%	1 – 10 %	< 1%
M11	Acetylation or deamination + glutathione	1 – 10 %	1 – 10 %	-	-
M12	Dealkylation (-C_4H_9N) + glutathione	1 – 10 %	-	-	-
M13	Oxidation (+O) + glutathione	1 – 10 %	1 – 10 %	-	-
M14	Oxidation (+O) + sulphation	-	-	< 1%	-
M15	Glutathione adduct	< 1%	< 1%	-	-
M16	Oxidation (+O) + glucuronidation	< 1%	< 1%	-	-

Identification of metabolites:
All metabolite structures are based on mass spectrometric data alone and should be regarded as tentative assignments.
The quantification of the parent and metabolites was semi-quantitative, based on UV absorbance in the range 320 – 330 nm.
- Not detected by mass spectrometry

Additional information: AZD9291 is also known as AZ13552748

Study conducted by the applicant: Yes
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.10.2 *In vitro*：AZD9291 の代謝並びに *N*-脱メチル体及び *N*-オキシド体の生成に関与する酵素の特定

被験物質：AZD9291

試験番号：	BE000021-25	CTD での記載箇所：	4.2.2.4.5
	BE000021-23		4.2.2.4.4
	AZM121105-01		4.2.2.4.3

Type of study: Enzymology of metabolism of AZD9291 and formation of the *N*-desmethyl and *N*-oxide metabolites of AZD9291

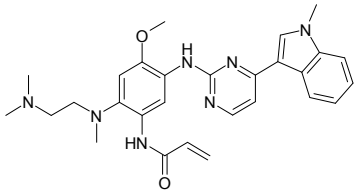
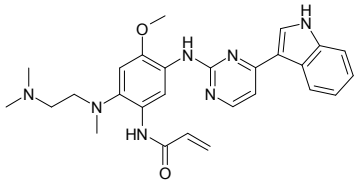
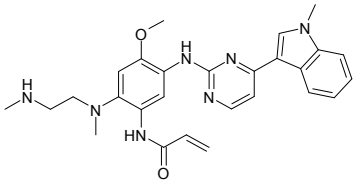
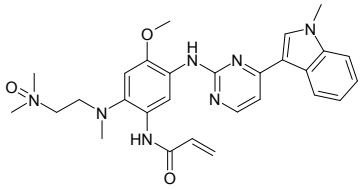
Methods: The enzymology of the formation of the desmethyl (AZ5104 and AZ7550) metabolites and potential *N*-oxide metabolite (AZ13598420) of AZD9291 was determined by use of human hepatocytes with and without CYP P450 and FMO inhibitors, and by the use of 10 heterologously expressed human cytochrome P450 (CYP) isoforms. The results were used to calculate the % contribution of the different CYPs to the overall metabolism of AZD9291

BE000021-25: Hepatocytes: Cryopreserved human hepatocytes were a 10 donor pool from [redacted], USA. AZD9291 (1 μM) was incubated with hepatocytes (1 million cells/mL) at 37°C for up to 120 minutes. The rates of loss of AZD9291 as well as formation of the AZ5104, AZ7550 and AZ13598420 were determined by HPLC-MS/MS. Experiments were carried out in duplicate.

BE000021-23: Heterologously expressed human cytochrome P450 (CYP) isoforms: AZD9291 (1 μM) was incubated at 37°C with heterologously expressed human cytochrome P450 (CYP) isoforms at 0.5 mg/mL (19 to 139 pmol/mL) for up to 30 minutes. The rates of loss of AZD9291 as well as formation of the two *N*-desmethyl metabolites were determined by monitoring by HPLC-MS/MS. The determinations were made in duplicate.

AZM121105-01: Heterologously expressed human cytochrome P450 (CYP) isoforms: AZD9291 (2 μM) was incubated at 37°C with heterologously expressed human cytochrome P450 (CYP) isoforms at 100 pmol/mL for up to 25 mins. The loss of AZD9291 was monitored by UPLC-MS/MS. The determinations were carried out in triplicate.

Metabolic stability of AZD9291[a]		Mean CLint – loss of AZD9291 (µL/min/million cells) (n=2)	Mean rate of formation of metabolite [a] (pmol/min/million cells) (n=2)		
CYP and specific inhibitor	(Inhibitor conc. in µM)		AZ5104	AZ7550	AZ13598420
Control	(No inhibitor)	1.7	0.044	0.231	ND
Multiple CYP	1-Aminobenzotriazole (1000)	<1	0.013	0.010	ND
CYP 3A4/5	Ketoconazole (0.25)	1.3	0.028	0.092	ND
CYP 2C19	Ticlopidine (10)	2.6	0.041	0.253	ND
CYP2C9	Sulfaphenazole (2.5)	1.2	0.043	0.234	ND
CYP2C8	Quercetin (5)	1.7	0.045	0.247	ND
Multiple FMO	Methimazole (1000)	1.5	0.042	0.224	ND

Structures	AZD9291	AZ5104	AZ7550	AZ13598420
				

a Report Number BE000021-25
ND Not Detected

Percentage of total metabolism of AZD9291, and formation of metabolites AZ5104 and AZ7550, by CYP

Isoform	Mean % of total loss of AZD9291 attributed to each isoform (n=3) [a]	Mean % of total loss of AZD9291 attributed to each isoform (n=2) [b,c]	AZ5104 Mean contribution[b,c] (% formed relative to CYP3A4) (n=2)	AZ7550 Mean contribution[b,c] (% formed relative to CYP3A4) (n=2)
CYP1A2	3.2	12.0	ND	3
CYP2A6	NT	15.5	ND	ND
CYP2B6	NT	ND	ND	ND
CYP2C8	8.9	ND	ND	8
CYP2C9	1.4	15.5	ND	3
CYP2C19	1.3	ND	2	4
CYP2D6	NCD	ND	ND	2
CYP2E1	NT	3.0	ND	ND
CYP3A4	85.2	44.4	100	100
CYP3A5	NT	9.6	32	73

a Report number AZM121105-01
b Report Number BE000021-23
c Relative contribution is for these 10 isoforms only, and was calculated from the mean CLint and median CYP abundance (from SimCYP version 10, Sheffield, UK). Other isoforms, not tested here, may also contribute to the metabolism of AZD9291.
NA Not applicable
NCD No CLint detected.
ND No formation of metabolite detected
NT Not tested

Additional Information: AZD9291 is also known as AZ13552748.
AZ5104, AZ7550 and AZ13598420 are metabolites or potential metabolites of AZD9291
AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

Study conducted by the applicant: Yes
Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.10.3 *In vitro*：AZ5104 及び AZ7550 の代謝に関与する酵素の特定

被験物質：AZ5104 及び AZ7550
試験番号：ADME-AZS-Wave3-030516
CTD での記載箇所：4.2.2.4.2

Type of study: Determination of human cytochrome P450s involved in the metabolism of AZ5104 and AZ7550

Method: AZ5104 and AZ7550 (2 µM) were incubated with bactosomes, which heterologously expressed one of 10 individual human CYP isoforms, in order to assess their relative contribution to the metabolism of the compounds. Incubations included 100 pmol/mL of CYP protein, and were carried out at 37°C for 25 minutes in potassium phosphate buffer. The rates of metabolism were determined by monitoring loss of parent metabolite by mass spectrometry. The metabolic competency of the test systems were confirmed by the use of positive controls. The determinations were made in triplicate.

Clearance and percentage of total metabolism of AZ7550 and AZ5104 by cytochrome P450s

	AZ7550		AZ5104	
	CLint [a] (µL/min/pmol CYP)	Contribution [b] (% of total)	CLint [a] (µL/min/pmol CYP)	Contribution [b] (% of total)
Isoform	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean± SD	Mean ± SD
CYP1A2	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.0258 ±0.0237	0.373 ±0.341
CYP2A6	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
CYP2B6	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
CYP2C8	0.00871 ±0.0151	0.129 ±0.223	0.479 ±0.0177	3.19 ±0.107
CYP2C9	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.0141 ±0.0245	0.160 ±0.278
CYP2C19	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.198 ±0.00383	0.958 ±0.01117
CYP2D6	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.137 ±0.0114	0.285 ±0.0217
CYP2E1	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
CYP3A4	0.738 ±0.0143	99.9 ±0.223	1.13 ±0.0228	67.0 ±1.28
CYP3A5	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.629 ±0.0214	28.1 ±0.826

a Intrinsic clearance determined by determined by monitoring loss of parent metabolite by mass spectrometry (µL/min/pmol CYP)
b Relative contribution was for these 10 isoforms only, and was calculated from the mean CLint , intersystem extrapolation factors and median abundance of the CYP (from SimCYP version 10, Sheffield, UK)

Clearances of positive controls

Isoform	Substrate	AZ7550 CLint[a] (µL/min/pmol CYP)	AZ5104 CLint[a] (µL/min/pmol CYP)
CYP1A2	Phenacetin	0.879	0.724
CYP2A6	Coumarin	1.47	1.30
CYP2B6[b]	Bupropion	68.6	54.5
CYP2C8	Amitriptyline	0.809	0.681
CYP2C9	Diclofenac	12.6	17.0
CYP2C19	Amitriptyline	1.77	1.57
CYP2D6	Amitriptyline	6.85	6.65
CYP2E1[b]	Chlorzoxazone	27.1	15.1
CYP3A4	Amitriptyline	0.251	0.254
CYP3A5	Midazolam	7.57	7.89

a Intrinsic clearance determined by determined by monitoring loss of parent metabolite by mass spectrometry (µL/min/pmol CYP), n = 1
b Measured from formation of metabolite (rather than loss of parent)

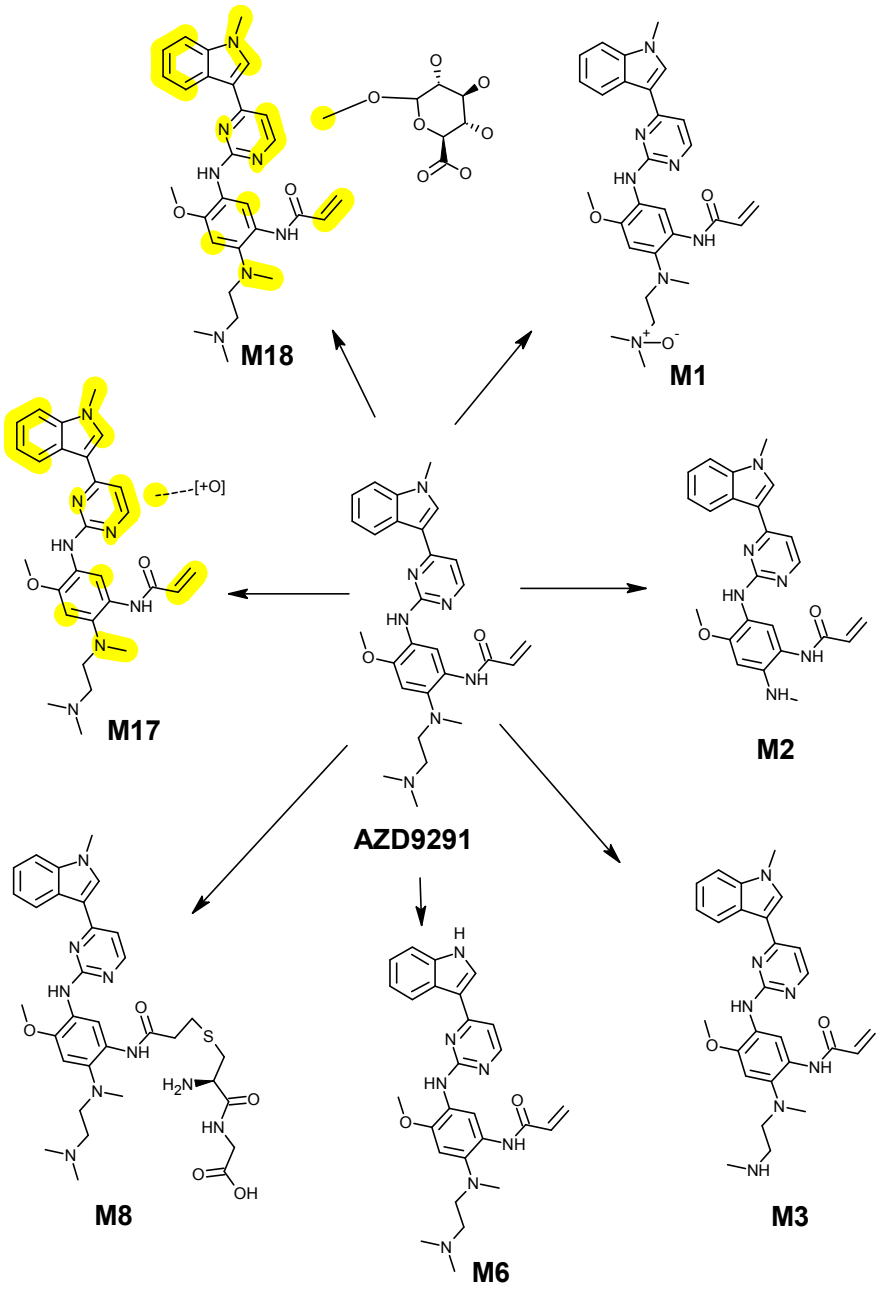
Additional Information: AZ5104 and AZ7550 are metabolites of AZD9291
AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted] China.
Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

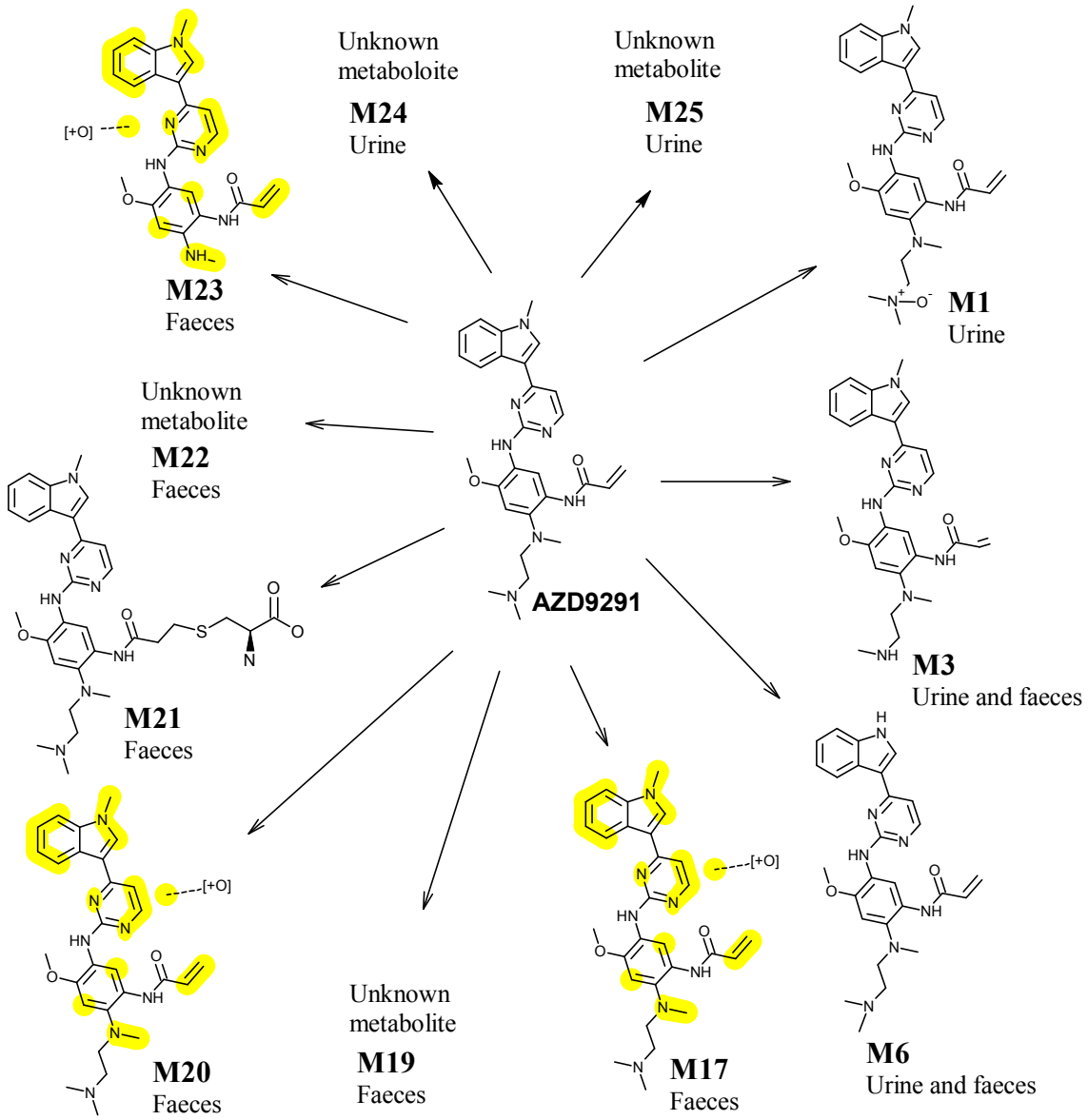
2.6.5.11.1 *In vivo*：ヒト血漿中に存在する代謝物

被験物質：AZD9291
試験番号：BE000343-65
CTD での記載箇所：4.2.2.4.6



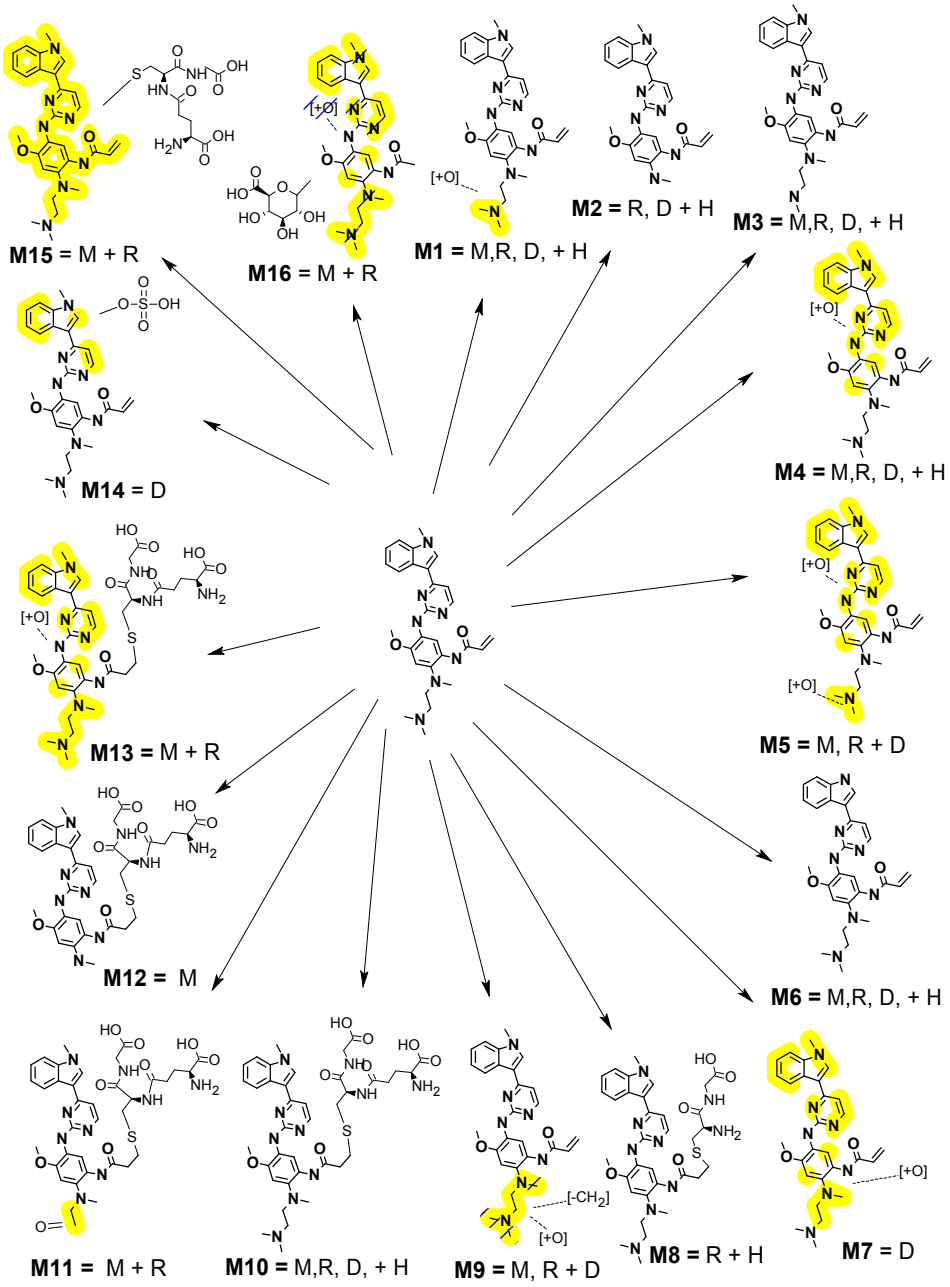
2.6.5.11.2　　*In vivo*：ヒト尿及び糞便中に存在する代謝物

被験物質：AZD9291
試験番号：BE000343-71
CTD での記載箇所：4.2.2.4.7



2.6.5.11.3　*In vitro*：マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞で生成した代謝物

被験物質: AZD9291
試験番号:ADME_025
CTD での記載箇所：4.2.2.4.1



M=Mouse R=Rat H=Human D=Dog

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 *In vitro*：AZD9291 による CYP の誘導（mRNA 量及び活性）

被験物質：AZD9291
試験番号：1302120 (00006CYP_IND_HHEP)
CTD での記載箇所：4.2.2.6.2

Type of study:
In vitro investigation of the induction potential of AZD9291 on cytochromes P450 mRNA levels and CYP activity

Method: The induction assessment assays were carried out in three donors using cryopreserved human hepatocytes plated onto collagen I-coated plates. Cells were exposed to AZD9291 (0.04 – 10 µM) or positive controls for 2 days. Induction was measured using mRNA content evaluation by qRT-PCR. Enzyme activity was assessed using probe substrates and LC-MS/MS analysis.

Effect of AZD9291 on CYP mRNA

P450	Inducer	F2 (µM)	EC_{50} (µM)	Maximum fold induction	% positive control response
CYP1A2	AZD9291	NC	NC	>10	9.9
	Omeprazole	NC	NC	>120	NA
CYP2B6	AZD9291	NI	NI	NI	NI
	Phenobarbital	131 [a]	330 [a]	>17	NA
	CITCO	NC	NC	4.2	NA
CYP3A4	AZD9291	NC	NC	>96	68
	Rifampacin	NC	NC	146	NA

Values are a mean of three donors except where indicated otherwise
a = N of 2 other values NC/NI
F2 = the concentration leading to a 2-fold increase of the baseline level
NA = Not applicable
NI = No induction
NC = Not calculable

Effect of AZD9291 on CYP activity

P450	Inducer	F2 (μM)	EC_{50} (μM)	Maximum fold induction	% positive control response
CYP1A1/1A2	AZD9291	0.48 [a]	NC	>7.6	14.3
	Omeprazole	1.6 [b]	7.2 [b]	>53	NA
CYP2B6	AZD9291	NI	NI	NI	NI
	Phenobarbital	169	271 [a]	>9	NA
	CITCO	0.08 [b]	0.056 [b]	2.83	NA
CYP3A4	AZD9291	NC/NI	NC/NI	3.75 [b]	33.5 [b]
	Rifampacin	0.26 [b]	0.88 [a]	>10	NA

Values are a mean of three donors except where indicated otherwise
a = N of 1 other values NC/NI
b = N of 2 other values NC/NI
F2 = the concentration leading to a 2-fold increase of the baseline level
NA = Not applicable
NI = No induction
NC = Not calculable

Additional Information: AZD9291 is also known as AZ13552748

Study conducted by the applicant: No

If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study:

[redacted], USA

Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.12.2 *In vitro*：AZD9291 による CYP の誘導（mRNA 量）

被験物質：AZD9291
試験番号：PR12007/CC0406 (ONC.000-567-326)
CTD での記載箇所：4.2.2.6.3

Type of study:
In vitro investigation of the induction potential of AZD9291 on cytochromes P450 mRNA levels

Method: The induction assessment assays were carried out in duplicate using cryopreserved human hepatocyte cell line HepaRG® plated onto collagen I-coated plates. Cells were exposed to AZD9291 (0.1 – 18.75 µM) or positive controls for 24 hours. Induction was measured in triplicate assays using mRNA content evaluation by qRT-PCR.

Effect of AZD9291 on CYP mRNA

P450	Inducer	F2 (µM)	EC_{50} (µM)	E_{max}	Maximum fold induction [a]	% positive control response
CYP1A2	AZD9291	1.72	NC	NC	26.7 (18.75)	18.2
	Omeprazole	1.43	NC	NC	142 (50)	100
CYP2B6	AZD9291	NI	NA	NA	NI	NI
	Phenobarbital	NC	NC	NC	35.1 (2000)	100
	CITCO	0.04	0.03 ± 0.02	15.1 ± 1.5	NA	48.8
CYP3A4	AZD9291	NC	NC	NC	5.51 (18.75)	22.5
	Rifampicin	0.17	0.44 ± 0.04	20.6 ± 0.6	NA	100

a Observed at concentration (µM)) stated
F2 the concentration leading to a 2-fold increase of the baseline level
NA Not applicable
NC Not calculable (E_{max} not obtained and no EC_{50} was calculated or baseline not clearly defined
NI No induction

Additional Information:　AZD9291 is also known as AZ13552748
Study conducted by the applicant: No If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], France. Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.12.3 *In vitro*：AZ5104 による CYP の誘導（mRNA 量）

被験物質：AZ5104
試験番号：PR12188/CC0509 (00013CYP_IND_HepaRG_AZ13575104)
CTD での記載箇所：4.2.2.6.4

Type of study:
In vitro investigation of the induction potential of AZ5104 on cytochromes P450 mRNA levels

Method: The induction assessment assays were carried out using cryopreserved human HepaRG® cells plated onto collagen I-coated plates. Cells were exposed to AZ5104 (0.1 - 30 µM) or positive controls for 24 hours. Induction was measured in triplicate assays using mRNA content evaluation by qRT-PCR.

Effect of AZ5104 or controls on CYP mRNA

P450	Inducer	F2 (µM)	EC_{50} (µM) Mean ± SD	E_{max} Mean ± SD	Maximum fold induction [a]	% positive control response
CYP1A2	AZ5104	NC	NC[b]	NC[b]	50.9 (10)	11.7
	Omeprazole	0.59	NC	NC	425 (50)	100
CYP2B6	AZ5104	NI	NA[b]	NA[b]	NI	NI
	Phenobarbital	NC	NC	NC	29.3 (2000)	100
	CITCO	NC	NC	NC	21.3 (1)	71.9
CYP3A4	AZ5104	NC	NC[b]	NC[b]	45.2 (30)	73.1
	Rifampicin	NC	0.40 ± 0.02	61.4 ± 0.88	NA	100

a Observed at concentration (µM) stated
b Limited by cytotoxicity at the highest concentrations
F2 the concentration leading to a 2-fold increase of the baseline level
NA Not applicable
NC Not calculable (E_{max} not obtained and no EC_{50} was calculated or baseline not clearly defined)
NI No induction

Additional information:　AZ5104 is a metabolite of AZD9291 AZ5104 is also known as AZ13575104.
Study conducted by the applicant: No If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], France. Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.12.4 *In vitro*：AZ7550 による CYP の誘導（mRNA 量）

被験物質：AZ7550
試験番号：DC13144 (00023CYP_IND_HepaRG_AZ13597550)
CTD での記載箇所：4.2.2.6.5

Type of study: *In vitro* investigation of the induction potential of AZ1397550 on cytochromes P450 mRNA levels

Method: The induction assessment assays were carried using cryopreserved human HepaRG® cells plated onto collagen I-coated plates. Cells were exposed to AZ7550 (0.1 - 30 µM) or positive controls for 24 hours. Induction was measured in triplicate assays using mRNA content evaluation by qRT-PCR.

Effect of AZ7550 or controls on CYP mRNA

P450	Inducer	F2 (µM)	EC_{50} (µM) Mean ± SD	E_{max} Mean ± SD	Maximum fold induction [a]	% positive control response
CYP1A2	AZ7550	1.92	NC	NC	21.7 (30)	21.5
	Omeprazole	1.62	NC	NC	96.9 (50)	100
CYP2B6	AZ7550	NI	NA	NA	NI	NI
	Phenobarbital	NC	NC	NC	32.4 (2000)	100
	CITCO	NC	NC	NC	21.4 (1)	65.2
CYP3A4	AZ7550	2.9	2.09 ± 0.08	4.41 ± 0.03	NA	8.95
	Rifampicin	NC	NC	NC	39.1 (20)	100

a Observed at concentration stated
F2 the concentration leading to a 2-fold increase of the baseline level
NA Not applicable
NC Not calculable (E_{max} not obtained and no EC_{50} was calculated or baseline not clearly defined)
NI No induction

Additional information AZ7550 is a metabolite of AZD9291 AZ7550 is also known as AZ13597550
Study conducted by the applicant: No If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], France. Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.12.5 *In vitro*：AZD9291 による CYP の阻害（直接的又は時間依存的阻害）

被験物質：AZD9291

試験番号：	ONC.000-558-496 (00001CYP_INH_LCMS_2)	CTD での記載箇所：	4.2.2.6.6
	00001CYP_INH_LCMS_1		4.2.2.6.7
	ADME-AZS-Wave3-131125		4.2.2.6.8
	ONC.000-573-149		4.2.2.6.10

Type of study: *In vitro* investigation of direct and time dependant CYP inhibitory potential of AZD9291

Method: Direct inhibition: Measurement of effect of AZD9291 (0.1 - 30 μM) on specific / selective CYP probe substrate metabolism by pooled human hepatic microsomes. The IC_{50} was determined in triplicate. Time dependent inhibition (TDI): Measurement of effect of pre-incubation with AZD9291 (10 and 50 μM) on specific / selective CYP probe substrate metabolism by pooled human hepatic microsomes was carried out in duplicate. Microsome preparations were pre-incubated with AZD9291, at either 10 or 50 μM, for 30 minutes, prior to 15 minute incubations with the probe substrates.

Inhibitory effect of AZD9291 on CYP probe substrate metabolism

AZD9291 IC_{50} (μM)	Reference direct inhibitor	IC_{50} for AZD9291 vs CYP probe substrates (metabolite formed)				
		4-Acetamido phenol (CYP1A2)[b]	7-Hydroxy coumarin (CYP2A6)[c]	4-Hydroxy bupropion (CYP2B6)[a]	*N*-De-ethyl amodiaquine (CYP2C8)[a]	4'-Hydroxy-diclofenac (CYP2C9)[b]
Estimate 1		26.7	NI	>30	18.1	> 30
Estimate 2		20.3	NI	>30	27.4	> 30
Estimate 3		>30	NI	>30	23.0	> 30
Mean IC_{50}		>25.7	NI	>30	22.8	> 30
	Standards					
	α-Naphthoflavone	0.0053	-	-	-	-
	Tranylcypromine	-	0.0828	-	-	-
	ThioTEPA	-	-	9.21	-	-
	Quercetin	-	-	-	6.78	-
	Sulphaphenazole	-	-	-	-	0.57
Time dependent[d]	% TDI		NT	NT	NT	
at 10 μM		< 20				< 20
at 50 μM		< 20				< 20

Inhibitory effect of AZD9291 on CYP probe substrate metabolism

AZD9291 IC_{50} (μM)	Reference direct inhibitor	IC_{50} for AZD9291 vs CYP probe substrates (metabolites formed)				
		4'Hydroxy S-mephenytoin (CYP2C19)[b]	1'Hydroxy bufuralol (CYP2D6)[b]	6'Hydroxy chloroxazone (CYP2E1)[c]	1'Hydroxy midazolam (CYP3A4/5)[b]	Oxidised nifedipine (CYP3A4/5)[a]
Estimate 1		> 30	> 30	>30	26.2	6.33
Estimate 2		> 30	> 30	>30	23.2	6.01
Estimate 3		> 30	> 30	>30	>30	3.07
Mean IC_{50} (μM)		> 30	> 30	>30	>26.5	5.14
	Standards					
	Benzylnirvanol	1.17	NA	NA	NA	NA
	Quinidine	NA	0.036	NA	NA	NA
	Quercetin	NA	NA	18.3	NA	NA
	Ketoconazole	NA	NA	NA	0.024	0.003
Time dependent[d]	% TDI			NT		NT
at 10 μM		< 20	< 20		< 20	
at 50 μM		<20	< 20		24	

Mean IC_{50} is a mean of 3 determinations. Each determination used 6 different concentrations.
Where inhibition of >50% was not achieved, IC_{50} values shown as > the highest concentration tested.
TDI determined in duplicate
a Study No. ONC.000-558-496
b Study No. 00001CYP_INH_LCMS_1
c Study No. ADME-AZS-Wave3-131125
d Study No. ONC.000-573-149
NA Not applicable
NI No inhibition
NT Not tested

Additional Information:　AZD9291 is also known as AZ13552748

Studies No. ONC.000-558-496

Study No. 00001CYP_INH_LCMS_1

Study No. ONC.000-573-149

Studies conducted by the applicant: Yes

Study ADME-AZS-Wave3-131125

Study conducted by the applicant: No

If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study:

[redacted] China.

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.12.6 *In vitro*：AZD9291 による CYP3A4/5 の時間依存的阻害

被験物質：AZD9291
試験番号：ADME-AZS-Wave4-141212
CTD での記載箇所：4.2.2.6.9

Type of study: *In vitro* investigation of time dependant CYP3A4/5 inhibitory potential of AZD9291

Method:

Time dependent inhibition (TDI), Ki/kinact: Measurement of effect of pre-incubation with AZD9291 (3 to 750 µM) on midazolam metabolism by pooled human hepatic microsomes (pool of 150 donors) was carried out in duplicate. Microsome preparations were pre-incubated with AZD9291 for 30 minutes, prior to 3 minute incubations with the probe substrates. Mifepristone was used as a positive control

K_i/k_{inact} estimate for AZD9291 when incubated in human liver microsomes with midazolam.

Human isozyme	K_i (µM)	K_{inact} (min^{-1})	K_{obs} (min^{-1}) mifepristone
CYP3A4/5	1437	0.0718	0.0183
CYP3A4/5	880	0.0559	0.0191
Mean values	1090	0.0617	0.0187

Additional Information:

AZD9291 is also known as AZ13552748

Studies conducted by the applicant: No

If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study:

[redacted]China

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.12.7　　*In vitro*：AZ5104 による CYP の阻害（直接的又は時間依存的阻害）

被験物質：AZ5104

試験番号：	00004CYP_INH_LCMS_1_AZ13575104	CTD での記載箇所：	4.2.2.6.11
	ONC.000-558-496 (00001CYP_INH_LCMS_2_AZ13575104)		4.2.2.6.12
	ADME-AZS-Wave3-131125		4.2.2.6.8
	00003CYP_TDI_LCMS_AZ13575104		4.2.2.6.13

Type of study: *In vitro* investigation of direct and time dependant CYP inhibitory potential of AZ5104
Method:　Competitive inhibition: Measurement of effect of AZ5104 (0.1 - 30 μM) on specific / selective CYP probe substrate metabolism by pooled human hepatic microsomes.　The IC_{50} was determined on 3 occasions. Time dependant inhibition: Measurement of effect of pre-incubation with AZ5104 (10 and 50 μM) on specific / selective CYP probe substrate metabolism by pooled human hepatic microsomes.　The % time dependent inhibition was determined in duplicate.

Inhibitory effect of AZ5104 on CYP probe substrate metabolism

AZ5104 IC_{50} (μM)	Reference direct inhibitor	IC_{50} for AZ5104 vs CYP probe substrates (metabolite formed)				
		4-Acetamido phenol (CYP1A2)[a]	7-Hydroxy coumarin (CYP2A6)[c]	Hydroxy bupropion (CYP2B6)[b]	Desethyl amodiaquine (CYP2C8)[b]	4'-Hydroxy-diclofenac (CYP2C9)[a]
Estimate 1		> 30	NI	> 30	23.8	> 30
Estimate 2		28.4	NI	> 30	> 30	> 30
Estimate 3		> 30	NI	> 30	> 30	> 30
Mean IC_{50} (μM)[e]		> 29.5	NI	> 30	> 27.9	> 30
	Standards					
	α-Naphthoflavone	0.007	NA	NA	NA	NA
	Tranylcypromine	NA	0.0828	NA	NA	NA
	ThioTEPA	NA	NA	10.3	NA	NA
	Quercetin	NA	NA	NA	5.14	NA
	Sulphaphenazole	NA	NA	NA	NA	0.53
Time dependent[d]	% TDI		NT	NT	NT	
at 10 μM		< 20				< 20
at 50 μM		< 20				< 20

Inhibitory effect of AZ5104 on CYP probe substrate metabolism

AZ5104 IC_{50} (μM)	Reference direct inhibitor	IC_{50} for AZ5104 vs CYP probe substrates (metabolite formed)				
		4-Hydroxy mephenytoin (CYP2C19)[a]	1-Hydroxy bufuralol (CYP2D6)[a]	6-Hydroxy chloroxazone (CYP2E1)[c]	1-Hydroxy midazolam (CYP3A4/5)[a]	Oxidised nifedipine (CYP3A4/5)[b]
Estimate 1		> 30	> 30	NI	12.5	20.7
Estimate 2		> 30	> 30	NI	18.7	17.3
Estimate 3		> 30	> 30	NI	22.6	21.8
Mean IC_{50} [e]		> 30	> 30	NI	17.9	19.9
	Standards					
	Ticlopidine[f]	3.6	NA	NA	NA	NA
	N-3-Benzylnirvanol[f]	0.37	NA	NA	NA	NA
	Quinidine	NA	0.029	NA	NA	NA
	Quercetin	NA	NA	18.3	NA	NA
	Ketoconazole	NA	NA	NA	0.029	0.003
Time dependent[d]	% TDI			NT		NT
at 10 μM		< 20	< 20		< 20	
at 50 μM		< 20	< 20		23.0	

Mean IC_{50} is a mean of 3 determinations. (Mean IC_{50} for reference mean of >3) Each determination used 6 different concentrations.
Where inhibition of >50% was not achieved at any time, IC_{50} values shown as > the highest concentration tested.
a Report No. 00004CYP_INH_LCMS_1_AZ13575104
b Report No. 00001CYP_INH_LCMS_2_AZ13575104
c Report No. ADME-AZS-Wave3-131125
d Report No. 00003CYP_TDI_LCMS_AZ13575104 (TDI)
e Where inhibition of >50% was not achieved, value shown is the highest concentration tested
f Standard inhibitor was ticolopidine in two of the replicates and benzylnirvanol in one.
- Not applicable
NA Not applicable
NI No inhibition
NT Not Tested
% TDI % of Time Dependent Inhibition. The % time dependent inhibition was determined in duplicate

Additional Information:
AZD9291 is also known as AZ13552748
AZ5104 is a metabolite of AZD9291
AZ5104 is also known as AZ13575104

00004CYP_INH_LCMS_1_AZ13575104
00001CYP_INH_LCMS_2_AZ13575104
00003CYP_TDI_LCMS_AZ13575104 (TDI)
Study conducted by the applicant: Yes
Study in compliance with GLP: No

ADME-AZS-Wave3-131125 (Competitive Inhibition)
Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted] China
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.12.8 *In vitro*：AZ7550 による CYP の阻害（直接的又は時間依存的阻害）

被験物質: AZ7550

試験番号：	ADME-AZS-Wave3-130808	CTD での記載箇所：	4.2.2.6.14
	ADME-AZS-Wave3-130909		4.2.2.6.15
	00005CYP_TDI_LCMS_AZ13597550		4.2.2.6.16

Type of study: *In vitro* investigation of direct and time dependant CYP inhibitory potential of AZ7550

Method: Competitive inhibition: Measurement of effect of AZ7550 (0.1 - 30 µM) on specific / selective CYP probe substrate metabolism by pooled human hepatic microsomes. The IC_{50} was determined on 3 occasions.
Time dependant inhibition (TDI): Measurement of effect of pre-incubation with AZ7550 (10.0 µM) on specific / selective CYP probe substrate metabolism by pooled human hepatic microsomes. The % time dependent inhibition was determined in duplicate

Inhibitory effect of AZ7550 on CYP probe substrate metabolism

AZ7550 IC_{50} (µM)	Reference direct inhibitor	IC_{50} for AZ7550 vs CYP probe substrates (metabolite formed)				
		paracetamol (CYP1A2)[a]	7-hydroxy coumarin (CYP2A6)[c]	4-hydroxy bupropion (CYP2B6)[b]	*N*-desethyl amodiaquine (CYP2C8)[b]	4-hydroxy-diclofenac (CYP2C9)[a]
Estimate 1		26.2	NI	NI	NI	> 30
Estimate 2		24.5	NI	NI	NI	> 30
Estimate 3		25.0	NI	NI	NI	> 30
Mean IC_{50} (µM) [d]		25.2	NI	NI	NI	> 30 (10.8)
	Standards					
	α-Naphthoflavone	0.00406	NA	NA	NA	NA
	Tranylcypromine	NA	0.0917	NA	NA	NA
	Quercetin	NA	NA	44.7	6.43	NA
	Sulphaphenazole	NA	NA	NA	NA	0.290
Time dependent [c]	% TDI	0	NT	NT	NT	4

Inhibitory effect of AZ7550 on CYP probe substrate metabolism

AZ7550 IC_{50} (μM)	Reference direct inhibitor	IC_{50} for AZ7550 vs CYP probe substrate (metabolite formed)				
		4-hydroxy mephenytoin (CYP2C19)[a]	1-hydroxy bufuralol (CYP2D6)[a]	6'hydroxy chloroxazone (CYP2E1)[c]	1-hydroxy midazolam (CYP3A4/5)[a]	Oxidised nifedipine (CYP3A4/5)[b]
Estimate 1		> 30	> 30	> 30	> 30	19.1
Estimate 2		> 30	> 30	> 30	> 30	17.5
Estimate 3		> 30	> 30	> 30	> 30	19.5
Mean IC_{50} [d]		> 30 (12.5)	> 30 (14.3)	> 30 (24.8)	> 30 (49.9)	18.7
	Standards					
	N-3-Benzylnirvanol	0.234	NA	NA	NA	NA
	Quinidine	NA	0.0222	NA	NA	NA
	Quercetin	NA	NA	16.8	NA	NA
	Ketoconazole	NA	NA	NA	0.0160	0.00875
Time dependant [c]	% TDI	0	0	NT	4	NT

Mean IC_{50} is a mean of 3 determinations. Each determination used 6 different concentrations.
% TDI % of Time Dependent Inhibition. The % time dependent inhibition was determined in duplicate
a ReportNo.ADME-AZS-Wave3-130808
b Report No.ADME-AZS-Wave3-130909
c Report 00005CYP_TDI_LCMS_AZ13597550
d Where inhibition of >50% was not achieved, IC_{50} shown as > the highest concentration tested, and % inhibition at the highest concentration given in parentheses
NA Not applicable
NT Not Tested

Additional Information:
AZ7550 is a metabolite of AZD9291
AZ7550 is also known as AZ13597550

Reports ADME-AZS-Wave3-130808 and ADME-AZS-Wave3-130909 (Competitive Inhibition)
Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted] China
Study in compliance with GLP: No

Report 00005CYP_TDI_LCMS_AZ13597550 (Time Dependent Inhibition)
Study conducted by the applicant: Yes
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.12.9 *In vitro*：AZD9291 による UGT の阻害

被験物質：AZD9291
試験番号：[redacted]8296381
CTD での記載箇所：4.2.2.6.17

Type of study: *In vitro* investigation of direct UGT inhibitory potential of AZD9291

Method: easurement of effect of AZD9291 (0, 0.0729 - 30 μM) on selective UGT1A1 and UGT2B7 probe substrate metabolism by pooled human hepatic microsomes. The potential for inhibition was determined in triplicate.

Inhibitory effect of AZD9291 on UGT1A1 and UGT2B7 probe substrate metabolism

AZD9291 IC_{50} (μM)	Reference direct inhibitor	Inhibition of UGT probe substrates (metabolite formation)			
		Estradiol-3β-D-glucuronide (UGT1A1)	% Inhibition at highest concentration (μM)	Morphine-3β-D-glucuronide (UGT2B7)	% Inhibition at highest concentration (μM)
Mean IC_{50} (μM)		>30		NI	
Mean maximum inhibition (at concentration) (μM)			42.1 (30)		0[a] (30)
	Standards				
	Troglitazone (25 μM)	ND	73.3 (25)	NA	NA
	Mefenamic acid (50 μM)	NA	NA	ND	88.9 (50)

Mean IC_{50} and % inhibition are the mean of the 3 estimates. Each IC_{50} estimate used 6 different concentrations.
ND Not determined
NA Not applicable
NI No inhibition
a No inhibition detected

Other data:
As inhibition of >50% was not achieved with AZD9291 with either isoform, IC_{50} values are shown as > the highest concentration tested.

Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted]
USA
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内又は経口投与したときの尿糞中排泄

被験物質：AZD9291
試験番号：196187 (KMR008)
CTD での記載箇所：4.2.2.5.1

Species:	Rat	Rat
Strain:	Han Wistar	Han Wistar
Number of animals / gender:	3 / M &3 / F	3 / M & 3 / F
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	30% Dimethylacetamide in Sorenson’s citrate buffer pH 4.0	0.5 % (w/v) aqueous HPMC
Route of administration:	IV	Oral
Method of administration:	Bolus	Gavage
Dose (mg/kg):	2	10
Radionuclide:	^{14}C	^{14}C
Dose of radioactivity (MBq/kg):	7.8	9.3
Analytical method:	LSC	LSC

	Proportion of dose recovered (%, Male and Female combined, Mean ± SD)			
	IV		Oral	
Time (hr)	Urine	Faeces	Urine	Faeces
0 – 6	0.8 ± 0.4		0.5 ± 0.2	
6 – 24	1.8 ± 0.4	53.9 ± 11.2 [a]	1.3 ± 0.6	64.6 ± 12.7 [a]
24 – 48	0.3 ± 0.1	23.5 ± 8.7	0.3 ± 0.1	21.7 ± 8.4
48 – 72	0.2 ± 0.1	2.6 ± 1.0	0.1 ± 0.0	2.3 ± 0.5
72 – 96	0.1 ± 0.0	1.1 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.8 ± 0.3
96 – 120	0.1 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.1
120 – 144	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.0
144 – 168	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.1
Matrix total	3.3 ± 0.8	82.7 ± 3.3	2.3 ± 0.7	90.4 ± 4.7
Total Cage Wash 0 – 168 h	1.3 ± 0.8		0.8 ± 0.5	
Respired air 0 – 24 h	0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0	
Carcass	4.7 ± 0.4		3.6 ± 0.8	
Combined total	91.9 ± 4.0		97.1 ± 4.1	

a sample collected 0 – 24 hours

Additional information: AZD9291 is also known as AZ13552748

Study conducted by the applicant: No

If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study:

[redacted], UK

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.13.2　　イヌに[^{14}C]-AZD9291 を単回静脈内又は経口投与したときの尿糞中排泄

被験物質：AZD9291
試験番号：197725
CTD での記載箇所：4.2.2.2.3

Species:	Dog	Dog
Strain:	Beagle	Beagle
Gender / Number of animals:	Male / 3	Male / 3
Dose route:	IV	Oral
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	DMSO/TEG/citrate buffer (5/35/60), (1 mg AZD9291 free base/mL)	Water , pH adjusted to 3.5 with methanesulphonic acid (1 mg AZD9291 free base/mL)
Method of administration:	Bolus	Gavage
Dose (mg/kg):	1	2
Radionuclide:	^{14}C	^{14}C
Dose of radioactivity (MBq/kg):	2.05	2.06
Analytical method:	LSC	LSC

	Proportion of dose recovered (%, Mean ± SD)			
	IV		Oral	
Time (hr)	Urine	Faeces	Urine	Faeces
0 – 6	0.1 ± NA		0.0 [b,c]	
6 – 24	1.2 ± 0.5	0.1 [a,b]	0.8 [b]	NS [a]
24 – 48	0.9 ± 0.7	8.5 [b]	1.0 ± 0.9	0.5 ± 0.7
48 – 72	0.5 ± 0.4	50.7 ± 21.9	0.7 ± 0.7	61.5 [b]
72 – 96	0.2 ± 0.1	16.7 ± 16.5	0.5 ± 0.2	7.9 ± 4.4
96 – 120	0.1 ± 0.0	4.5 ± 4.1	0.1 ± 0.1	27.8 ± 40.2
120 – 144	0.1 ± 0.0	2.1 ± 0.9	0.1 ± 0.1	4.5 ± 2.7
144 – 168	0.1 ± 0.1	1.7 ± 0.3	0.0 ± 0.0	1.6 ± 0.7
Matrix total	3.1 ± 1.0	81.4 ± 11.9	2.9 ± 0.7	83.3 ± 3.9
Total Cage Wash 0 – 168 h	0.6 ± 0.8		0.2 ± 0.1	
Combined total	85.2 ± 12.2		86.4 ± 3.8	

a Sample collected 0 – 24 hours
b Only 2 samples collected
c Mean includes results calculated from data less than 30 d.p.m. above background
NA Not applicable
NS No samples

Additional information:
AZD9291 is also known as AZ13552748

Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], UK
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.14　　薬物動態試験：排泄：胆汁中

該当なし

2.6.5.15　　薬物動態試験：薬物相互作用

該当なし

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

2.6.5.16.1 Caco-2 細胞における膜透過性

被験物質：AZD9291
試験番号：ADME-AZS-Wave4-140821
CTD での記載箇所：4.2.2.6.1

Type of study: Permeability of AZD9291 in Caco-2 cells

Method: AZD9291 (1, 10, 50 µM) and reference compounds (10 µM) were incubated with Caco-2 cells in HBSS (supplemented with 25 mM HEPES, 0.1% (w/v) BSA, pH 7.4) at 37°C for 2 h with the test compound concentrations determined by HPLC-MS/MS

In vitro permeability of AZD9291 across Caco-2 cell monolayers

Assay Reference	Concentration (µM)	P_{app} (a-b) [10^{-6} cm/s] Mean ± SD	Recovery (a-b) [%] Mean ± SD	P_{app} (b-a) [10^{-6} cm/s] Mean ± SD	Recovery (b-a) [%] Mean ± SD	Efflux ratio (b-a)/(a-b)
AZD9291	50	3.35 ± 0.692	15.8 ± 2.62	1.25 ± 0.156	53.1 ± 2.11	0.372
AZD9291	10	2.58 ± 0.455	15.7 ± 3.45	1.68 ± 0.356	47.1 ± 2.69	0.651
AZD9291	1	NC	20.9 ±0.989	NC	51.4 ±3.52	NC
AZD9291 (+10 µM minoxidil)	1	NC	20.7 ± 2.03	NC	56.3 ±4.18	NC
Atenolol	10	0.447 ±0.0872	102 ±7.75	0.731 ±0.122	108 ±4.26	1.64
Minoxidil	10	7.21 ±1.09	110 ±5.71	7.16 ±1.29	106 ±4.28	0.992
Minoxidil (+1 µM AZD9291)	10	5.56 ±1.28	110 ±9.87	7.30 ±0.869	105 ±4.25	1.31
Digoxin	10	0.310 ±0.0858	100 ±4.50	18.4 ±1.39	104 ±6.39	59.4

P_{app} and recovery are expressed as mean value and SD from 7 monolayers (n=7) for digoxin, and from 8 monolayers (n=8) for atenolol, minoxidil and AZD9291

NC: Not calculated (the concentrations of some receiver samples were below the lower limit of quantitation)

Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted] China
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.16.2 *In vitro*：P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 による AZD9291 の輸送

被験物質：AZD9291
試験番号：13ASTRUKP2
CTD での記載箇所：4.2.2.6.18

Type of study:
In vitro investigation of potential for AZD9291 to act as a substrate in heterologously expressed human efflux transporters P-gp and BCRP expressed in MDCK cells and of human hepatic uptake transporters OATP1B1 and OATP1B3 in transfected HEK293 cells

Method: The assays were carried by measuring transport of AZD9291 (1, 10 and 30 μM) in triplicate using either, MDCK cell cultures expressing the individual efflux transporters P-gp (MDR1, ABCB1) or BCRP (breast cancer resistance protein, ABCG2) or HEK293 cells expressing OATP1B1 or OATP1B3.
Cell lines were grown to confluence in transwell plates. MDCK cell monolayer integrity was assured by measuring the transepithelial electrical resistance and permeability of Lucifer yellow. The functionality of transporters in MDCK transfected cells was assessed with positive controls digoxin and cladribine. The functionality of the transporters in HEK293 cells was checked with transporter-specific fluorescent marker compounds.
Studies were carried out at 37°C and a 120 minute incubation for MDCK cells and 10 minutes for HEK293 cells. Analysis was by LC-MS/MS

Permeability and recovery of AZD9291 in MDCK cell lines: P-gp and BCRP substrate assessment

Treatment	Cell line	AP to BL		BL to AP		Efflux ratio	Relative efflux ratio
		P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s) Mean ± SD	Recovery (%) Mean ± SD	P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s) Mean ± SD	Recovery (%) Mean ± SD		
1 μM AZD9291	MDR1-MDCK	1.20 ± 0.303	49.7 ± 2.39	16.1 ± 3.55	63.3 ± 6.98	13.4	8.69
	BCRP-MDCK	0.568 ± 0.293	13.9 ± 0.983	3.07 ± 0.642	52.4 ± 7.23	5.40	3.49
	MDCK	0.840 ± 0.0986	12.3 ± 1.19	1.30 ± 0.327	48.8 ± 1.37	1.55	NA
1 μM AZD9291 +1 μM valspodar	MDR1-MDCK	2.23 ± 0.473	25.6 ± 1.72	2.27 ± 0.329	65.6 ± 4.68	1.01	NA
1 μM AZD9291 + 10 μM Ko143	BCRP-MDCK	1.29 [a]	11.2 ± 1.15	1.74 ± 0.289	58.4 ± 2.86	1.35	NA
10 μM AZD9291	MDR1-MDCK	1.45 ± 0.369	16.7 ± 0.470	4.51 ± 0.460	65.2 ± 10.1	3.11	1.50
	BCRP-MDCK	1.09 ± 0.364	9.79 ± 0.108	2.90 ± 0.571	58.0 ± 8.33	2.66	1.29
	MDCK	1.14 ± 0.191	11.2 ± 0.383	2.35 ± 0.273	55.4 ± 4.89	2.07	NA
30 μM AZD9291	MDR1-MDCK	1.18 ± 0.0777	11.7 ± 0.641	2.68 ± 0.0777	61.2 ± 3.09	2.26	2.34
	BCRP-MDCK	0.711 ± 0.0782	6.41 ± 0.689	1.38 ± 0.307	61.6 ± 0.412	1.94	2.01
	MDCK	1.39 ± 0.238	8.65 ± 0.187	1.34 ± 0.239	64.2 ± 5.03	0.966	NA

a N of 2, one value not used as it was an outlier on Dixon's Q-test
NA Not applicable
Results are the mean of three replicates
Studies with MDR1-MDCK cells and digoxin, and digoxin and valspodar; and BCRP-MDCK cells with cladribine, and cladribine and Kol43 indicated that the P-gp and BCRP functioned normally.

Influx rate of AZD9291 in OATP1B1, OATP1B3 and control (vector transfected) cells

AZD9291 Conc (μM)		Influx rates (pmol/minute/mg of protein)								
Incubation time (min)		2			5			10		
Cell line		Control	OATP1B1	OATP1B3	Control	OATP1B1	OATP1B3	Control	OATP1B1	OATP1B3
1	Mean	156	172	167	83.3	93.1	88.0	58.6	55.4	57.4
	SD	7.32	8.52	6.08	6.76	3.36	5.30	3.30	1.48	4.25
	Ratio	NA	1.10	1.06	NA	1.12	1.06	NA	0.945	0.979
10	Mean	1316	1492	1462	785	797	737	573	528	533
	SD	105	99.4	33.2	21.3	59.1	47.1	44.9	29.9	11.9
	Ratio	NA	1.13	1.11	NA	1.01	0.938	NA	0.921	0.929
30	Mean	4523	4469	4536	2414	2384	2245	1710	1565	1673
	SD	159	275	312	151	173	177	89.8	106	256
	Ratio	NA	0.988	1.00	NA	0.988	0.930	NA	0.915	0.978

NA Not applicable
Atorvastatin influx rate ratios between OATP1B1-transfected and vector transfected, and between OATP1B3-transfected and vector transfected HEK293 cells, indicated that both transporters functioned normally.

Study conducted by the applicant: No
If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted],
USA.
Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.16.3 *In vitro*：P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 による AD5104 及び AZ7550 の輸送

被験物質：AZ5104 及び AZ7550
試験番号: 13ASTRUKP2
CTD での記載箇所：4.2.2.6.18

Type of study:
In vitro investigation of potential for AZ5104 and AZ7550 to act as substrates in heterologously expressed human efflux transporters P-gp and BCRP expressed in MDCK cells and of human hepatic uptake transporters OATP1B1 and OATP1B3 in transfected HEK293 cells

Method: The assays were carried by measuring transport of AZD9291 (1, 10 and 30 μM) in triplicate using either, MDCK cell cultures expressing the individual efflux transporters P-gp (MDR1, ABCB1) or BCRP (breast cancer resistance protein, ABCG2) or HEK293 cells expressing OATP1B1 or OATP1B3.
Cell lines were grown to confluence in transwell plates. MDCK cell monolayer integrity was assured by measuring the transepithelial electrical resistance and permeability of Lucifer yellow. The functionality of transporters in MDCK transfected cells was assessed with positive controls digoxin and cladribine. The functionality of the transporters in HEK293 cells was checked with transporter-specific fluorescent marker compounds.
Incubations were carried out at 37°C for 120 minutes in MDCK cells and 10 minutes in HEK293 cells. Analysis was by LC-MS/MS

Permeability and recovery of AZ7550 in MDCK cell lines: P-gp and BCRP substrate assessment

Treatment AZ7550 conc (μM)	Cell line	AP to BL P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s) Mean ± SD	AP to BL Recovery (%) Mean ± SD	BL to AP P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s) Mean ± SD	BL to AP Recovery (%) Mean ± SD	Efflux ratio	Relative efflux ratio
1	MDR1-MDCK	ND [a]	79.9 [c] ± 3.08	20.0 ± 1.69	71.2 ± 8.15	ND	ND
	BCRP-MDCK	ND [a]	43.3 [c] ± 8.66	6.38 ± 1.28	62.6 ± 5.06	ND	ND
	MDCK	ND [a]	35.3 [c] ± 1.59	1.25 ± 0.515	56.1 ± 5.48	ND	NA
1 + valspodar (1 μM)	MDR1-MDCK	ND [a]	24.5 [c] ± 1.15	1.38 ± 0.218	61.4 ± 4.67	ND	NA
1 + Ko143 (10 μM)	BCRP-MDCK	ND [a]	14.6 [c] ± 1.55	1.36 ± 0.225	57.6 ± 4.48	ND	NA
10	MDR1-MDCK	0.411 ± 0.176	36.5 ± 3.00	4.90 ± 0.849	63.3 ± 3.99	11.9	2.65
	BCRP-MDCK	0.174 [d]	20.4 ± 3.00	1.74 ± 0.659	55.8 ± 5.88	9.96	2.22
	MDCK	0.299 ± 0.0960	21.4 ± 2.85	1.34 ± 0.299	55.1 ± 3.71	4.49	NA
30	MDR1-MDCK	0.774 ± 0.0711	28.5 ± 0.379	1.84 ± 0.112	63.1 ± 1.55	2.38	2.06
	BCRP-MDCK	0.0901 [d]	24.7 ± 4.67	1.32 [d]	70.0 ± 5.67	14.6	12.7
	MDCK	0.551 ± 0.0769	17.7 ± 1.49	0.635 ± 0.156	57.5 ± 6.16	1.15	NA

a　Not determined as concentrations at 60 and 120 minutes were below the lower limit of quanification (LLOQ)
b　Data not included for calculation of mean P_{app} because it was an outlier by Dixon's Q-test
c　The measured concentrations at 60 and 120 minutes were below the LLOQ (1 nM); 1 nM was used to estimate recovery. The actual recovery was less than that reported.
d　n=2
NA　Not applicable
ND　Not determined
Studies with MDR1-MDCK cells and digoxin, and digoxin and valspodar; and BCRP-MDCK cells with cladribine, and cladribine and Kol43 indicated that the P-gp and BCRP functioned normally.

Influx rate of AZ7550 in OATP1B1, OATP1B3 and control (vector transfected) HEK293 cells

AZ7550 conc (μM)		Influx rates (pmol/minute/mg of protein)								
Incubation time (min)		2			5			10		
Cell line		Control	OATP1B1	OATP1B3	Control	OATP1B1	OATP1B3	Control	OATP1B1	OATP1B3
1	Mean	175	145	141	92.4	83.5	84.8	56.5	53.1	52.0
	SD	12.4	17.4	17.9	9.34	3.44	2.28	3.31	1.35	2.73
	Ratio	NA	0.829	0.803	NA	0.904	0.918	NA	0.940	0.921
10	Mean	1356	1485	1392	776	858	746	600	525	493
	SD	77.6	66.0	21.9	47.4	21.9	56.1	45.2	65.0	21.5
	Ratio	NA	1.10	1.03	NA	1.11	0.962	NA	0.875	0.822
30	Mean	4432	4804	4380	2309	2854	2157	1743	1794	1560
	SD	334	389	388	53.8	56.9	150	122	106	96.2
	Ratio	NA	1.08	0.988	NA	1.24	0.934	NA	1.03	0.895

Atorvastatin influx rate ratios between OATP1B1-transfected and vector transfected, and between OATP1B3-transfected and vector transfected HEK293 cells, indicated that both transporters functioned normally.

Permeability and recovery of AZ5104 in MDCK cell lines: P-gp and BCRP substrate assessment

Treatment AZ5104 Conc (μM)	Cell line	AP to BL P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s) Mean ± SD	Recovery (%) Mean ± SD	BL to AP P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s) Mean ± SD	Recovery (%) Mean ± SD	Efflux ratio	Relative efflux ratio
1	MDR1-MDCK	0.233 ± 0.0639	83.9 ± 5.01	43.2 ± 2.51	81.4 ± 0.695	186	57.4
	BCRP-MDCK	2.99 ± 0.461	57.6 ± 2.04	21.1 ± 0.484	66.9 ± 7.25	7.06	2.18
	MDCK	3.32 ± 0.325	44.6 ± 0.781	10.7 ± 1.47	60.8 ± 5.13	3.23	NA
1 + valspodar (1 μM)	MDR1-MDCK	8.25 ± 1.42	62.3 ± 1.87	7.22 ± 0.680	77.0 ± 2.12	0.875	NA
1 + Ko143 (10 μM)	BCRP-MDCK	3.06 ± 0.369	45.7 ± 5.32	4.64 ± 0.632	64.4 ± 3.34	1.51	NA
10	MDR1-MDCK	1.96 [a] ± 1.29	69.8 ± 6.02	46.0 ± 1.70	85.6 ± 6.63	23.5	11.6
	BCRP-MDCK	4.16 ± 0.817	48.3 ± 1.45	14.3 ± 2.98	75.6 ± 5.27	3.44	1.69
	MDCK	3.42 ± 0.168	36.2 ± 0.994	6.94 ± 0.0684	66.2 ± 2.15	2.03	NA
30	MDR1-MDCK	3.63 ± 0.849	45.0 ± 0.687	16.5 ± 0.819	75.8 ± 7.65	4.53	3.70
	BCRP-MDCK	2.57 ± 0.857	32.8 ± 2.47	6.89 ± 0.473	69.7 ± 5.67	2.68	2.19
	MDCK	3.41 ± 0.533	24.3 ± 1.99	4.18 ± 0.506	73.8 ± 7.83	1.23	NA

a　2 of 3 concentrations data at 120 min were less than 130 % of that at 60 min (i.e. non-linear); the measured concentration at 60 min was used to estimate P_{app}

NA　Not applicable

Studies with MDR1-MDCK cells and digoxin, and digoxin and valspodar; and BCRP-MDCK cells with cladribine, and cladribine and Kol43 indicated that the P-gp and BCRP functioned normally.

Influx rate of AZ5104 in OATP1B1, OATP1B3 and control (vector transfected) cells

AZ5104 Conc (μM)		Influx rates (pmol/minute/mg of protein)								
Incubation time (min)		2			5			10		
Cell line		Control	OATP1B1	OATP1B3	Control	OATP1B1	OATP1B3	Control	OATP1B1	OATP1B3
1	Mean	133	145	132	78.0	88.3	74.9	51.0	54.7	49.6
	SD	7.74	6.31	5.67	3.95	3.63	7.29	5.37	7.98	1.73
	Ratio	NA	1.09	1.00	NA	1.13	0.960	NA	1.07	0.972
10	Mean	1385	1332	1198	863	759	706	510	466	471
	SD	42.3	63.5	81.5	63.8	42.9	35.7	91.3	9.69	10.5
	Ratio	NA	0.962	0.865	NA	0.880	0.818	NA	0.914	0.923
30	Mean	4011	3842	3882	2141	2140	1983	1454	1380	1296
	SD	239	236	282	96.6	45.9	53.2	117	42.2	77.1
	Ratio	NA	0.958	0.968	NA	1.00	0.926	NA	0.949	0.891

NA Not applicable

Atorvastatin influx rate ratios between OATP1B1-transfected and vector transfected, and between OATP1B3-transfected and vector transfected HEK293 cells, indicated that both transporters functioned normally.

Additional Information:

AZ7550 and AZ5104 are metabolites of AZD9291

AZ5104 and AZ7550 are also known as AZ13575104 and AZ13597550, respectively

Study conducted by the applicant: No

If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], USA.

Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.16.4　*In vitro*：AZD9291 による P-gp 及び BCRP の阻害

被験物質：AZD9291

試験番号：	ONC-000-569-361	CTD での記載箇所：	4.2.2.6.19
	XT128084 (KMN007)		4.2.2.6.20
	BE000458-32_AZ13552748		4.2.2.6.21

Type of study:　*In vitro* investigation of inhibition by AZD9291 of human transporters P-gp, (P-glycoprotein, ABCB1) in MDCKII-MDR1 cells, and BCRP in MDCKII and Caco-2 cells

Method:

Assay	P-gp inhibition	BCRP inhibition	BCRP inhibition
Cell type	MDCKII-MDR1	MDCKII-BCRP	Caco-2
Probe Substrate　(μM)	[^{3}H]-Digoxin (5)	Prazosin (1)	[^{3}H]-Rosuvastatin (1)
Positive control inhibitor (μM)	ketoconazole (0.1 – 30) and verapamil (300)	Ko143 (1)	Novobiocin (0.1 – 30)
Monolayer integrity marker	Lucifer Yellow.	Lucifer Yellow.	Lucifer Yellow.
Species	Human	Human	Human
Incubation time	90 min	120 min	90 min
N	Triplicate	Triplicate	Triplicate
Analysis method	LSC	LC-MS/MS	LSC

Transport of [^{3}H]digoxin in MDCKII cells in the absence and presence of AZD9291

System Substrate (Conc µM) Transport activity	Nominal inhibitor conc. (µM)	P-gp[a] in MCDKII cells [^{3}H]Digoxin (5) P_{app} B-A (nm/s, Mean ± SD)	% Transported	BCRP[b] in MCDKII cells Prazosin (1) P_{app} B-A (10^{-6}cm/s, Mean ± SD)	% Transported	BCRP[c] in Caco-2 cells [^{3}H]Rosuvastatin (1) P_{app} B-A (10^{-6}cm/s, Mean ± SD)	% Transported
	No inhibitor (DMSO)	164.6 ± 12.9	100	71.7 ± 8.6	100	10.2 [h]	100
	AZD9291						
	0.03	NT	NT	91.0 ± 2.9	159	NT	NT
	0.1	NT	NT	65.8 ± 5.4	95.1	NT	NT
	0.3	NT	NT	59.6 ± 9.4	80.8	NT	NT
	1	166.7 ± 8.7	102	63.9 ± 0.4	87.5	8.4 ± 0.4	78
	3	147.0 ± 6.7	86	54.0 ± 3.3	89.6	4.8 ± 0.9	33
	10	151.1 ± 7.5	89	23.4 ± 4.6 [e]	33.3	2.6 [h]	6.2
	30	139.9 ± 2.8	81	ND [d]	ND [d]	2.0 ± 0.5	-1.2
	100	ND [d]	ND [d]	ND [d]	ND [d]	4.2 ± 0.3	25.9
	300	ND [d]	ND [d]	ND [d]	ND [d]	ND [d]	ND [d]
	IC_{50} (µM)	No Inhibition		No inhibition		2.0	
	Positive Control	Ketoconazole (0.1 - 30)	Verapamil (300)		Ko143 (1)	Novobiocin (0.1 - 30)	
	IC_{50} (µM) or % Inhib.	6.5 [f]	100 [g]		116 [g,h]	1.4 [f]	

a Report ONC.000-569-361
b Report XT128084
c Report BE000458-32_AZ13552748
d Not determined, failed Lucifer Yellow criterion
e monolayer integrity compromised as evidenced by decrease bi-directional permeability of prazosin in MDCKII control cells.
f IC_{50} (µM)
g % inhibition at given conc.
h N of 2
NT Not tested

Additional Information:　AZD9291 is also known as AZ13552748
For Study numbers:　XT128084 Study conducted by the applicant: No If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], USA. Study in compliance with GLP: No. For Study number: ONC-000-569-361 and BE000458-32_AZ13552748 Study conducted by the applicant: Yes Study in compliance with GLP: No.

2.6.5.16.5　*In vitro*：AZD9291 による OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B3、OATP1B1、MATE1 及び MATE2 の阻害

被験物質：AZD9291

試験番号：	13ASTRUKP7S3	CTD での記載箇所：	4.2.2.6.22
	03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748		4.2.2.6.23
	BS000567_25_AZ13552748		4.2.2.6.24

Type of study:
In vitro investigation of inhibition by AZD9291 of human uptake transporters OAT1, OAT3, OCT2, OATP1B3 and OATP1B1; and inhibition of human efflux transporters MATE1 and MATE2-K in transfected HEK293 cells

Method: The inhibition assessment assays were carried out in triplicate using HEK293 cell cultures transfected with the individual uptake transporters OAT1, OAT3, OCT2, OATP1B1, OATP1B3 or efflux transporters MATE1 and MATE2-K. Measurement was of the flux of the probe substrates through HEK293 cells transfected with the uptake/efflux transporters maintained in culture in the absence and presence of AZD9291 or a reference inhibitor.
13ASTRUKP7S3: When the cells became ~80% confluent, they were harvested by trypsinization and the collected cells were seeded at 2.5×10^5 cells per well onto 24-well, poly-D-lysinecoated plates for assays. Incubations were performed for either 5 mins (OAT1, MATE1, MATE2-K) or 10 mins (OATP1B3, OAT3) at 37°C. Samples were analysed by HPLC-MS/MS

03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748: OATP1B1: The cells are seeded at 75,000 to 150,000 cells/well in poly-D-lysine coated 24 well plates and used when cells are 70-90% confluent. Incubations were performed for 2 minutes at 37°C and samples were analysed by LSC.

BS0000567_25_AZ13552748: OCT2: The cells were seeded at a density of 20,000 cells/well in poly-D-lysine coated 96-well plates and cultured under the appropriate conditions, for 2 to 3 days prior to use. Incubations were performed for 8 mins at 37°C. Samples were analysed by LSC.

Mean influx rate of transporter substrates in transfected HEK293 cells in the absence and presence of AZD9291

System Substrate (Conc μM)	Inhibitor conc. (μM)	OAT1 [a] PAH (10)	OAT3 [a] Furosamide (5)	OATP1B1 [b] Estradiol 17β glucuronide (0.02)	OATP1B3 [a] Atorvastatin (0.15)	OCT-2 [c] Metformin (50)	MATE1 [a] Metformin (50)	MATE2-K [a] ASP (1)
Transport activity [d]	No Inhibitor	100	100	NR	100	100	100	100
	AZD9291							
	0.3	85.6	104	NR	109	NC	94.6	109
	1	91.2	93.2	NR	105	NC	84.6	112
	3	95.9	101	NR	99.4	NC	65.5	95.5
	10	92.7	119	NR	98.8	NC	24.0	71.9
	30	86.4	109	NR	79.8	NC	5.65	48.8
	100	80.8	100	NR	20.4	NC	NT	NT
	IC_{50} (μM)	NI	NI	22	52.5	7.98	4.63	23.0
	Positive Control IC_{50} (μM) or % Inhib.	Probenecid 99.6 (100) [f]	Probenecid 99.6 (100) [f]	Rifamycin SV 97 (100) [f]	Rifamycin SV 95.1 (10) [f]	Imipramine 0.93 [e]	Cimetidine 98.5 (100) [f]	Ondansetron 90.3 (100) [f]

a Report 13ASTRUKP7S3
b Report 03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748
c Report BS0000567_25_AZ13552748
d values are means of three of the % of the control activity
e IC_{50} (μM)
f % inhibition at given conc.
ASP (4-(4-Diethylamino)styryl)-*N*- methylpyridinium iodide
NC Not calculated
NI No inhibition
NR Not reported
NT Not tested
PAH para-aminohippurate

Additional Information:　AZD9291 is also known as AZ13552748
For Study numbers:　13ASTRUKP7S3 Study conducted by the applicant: No If no, indicate the name and address of the institute that conducted the study: [redacted], USA. Study in compliance with GLP: No. For Study number: 03052012_OATP1B1_inhib_AZ13552748 and BS000567_25_AZ13552748 Study conducted by the applicant: Yes Study in compliance with GLP: No.