アイクルシグ錠 15 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.4 薬物動態試験の概要文

大塚製薬株式会社

目次

目次 2
略号一覧 4
2.6.4 薬物動態試験の概要文 6
2.6.4.1 まとめ 6
2.6.4.1.1 吸収 8
2.6.4.1.2 分布 9
2.6.4.1.3 代謝及び排泄 10
2.6.4.1.4 CYP 阻害及び誘導 12
2.6.4.2 分析法 14
2.6.4.3 吸収 16
2.6.4.3.1 マウスにポナチニブ（溶液）を 2.5，5，10，30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したときの薬物動態 16
2.6.4.3.2 ラットにポナチニブを静脈内及び経口投与したときのポナチニブ及び AP24600 の薬物動態 17
2.6.4.3.3 ラットにポナチニブを 14 日間反復経口投与したときのポナチニブ及び AP24600 の薬物動態 20
2.6.4.3.4 カニクイザルにポナチニブを経口投与したときの薬物動態 22
2.6.4.4 分布 27
2.6.4.4.1 マウス，ラット，サル及びヒトにおけるポナチニブの *in vitro* 血漿タンパク結合率 27
2.6.4.4.2 高タンパク結合型併用薬によるポナチニブのヒト血漿タンパク結合置換 28
2.6.4.4.3 ポナチニブの *in vitro* 血液／血漿分配率 29
2.6.4.4.4 ラット及びヒトにおける AP24600 の *in vitro* 血漿タンパク結合率 29
2.6.4.4.5 排出及び取込みトランスポーターに対するポナチニブの基質性及び阻害作用の評価 30
2.6.4.4.6 ラットにおける組織内分布 33
2.6.4.4.7 胎盤通過 35
2.6.4.5 代謝 36
2.6.4.5.1 マウスに単回経口投与したときのポナチニブの代謝 37
2.6.4.5.2 ラットに ^{14}C-ポナチニブを単回経口投与したときの代謝及び排泄 40
2.6.4.5.3 ラットにポナチニブを経口及び静脈内投与したときの AP24600 の生成機序に関する検討 46

2.6.4.5.4 カニクイザルにおける *in vivo* 代謝 49
2.6.4.5.5 ヒトにおける *in vivo* 代謝 53
2.6.4.5.6 肝ミクロソーム，肝細胞及び cDNA 発現ヒト CYP によるポナチニブの *in vitro* 代謝 62
2.6.4.5.7 ポナチニブ代謝における AP24600 生成に関する *in vitro* 検討 68
2.6.4.5.8 ポナチニブのヒトチトクローム P450 阻害作用の評価 68
2.6.4.5.9 ヒト肝細胞を用いたポナチニブのチトクローム P450 遺伝子発現誘導作用の評価 70
2.6.4.5.10 培養ヒト肝細胞を用いたポナチニブのチトクローム P450 発現誘導作用の評価－II 71
2.6.4.6 排泄 73
2.6.4.6.1 ラット，サル及びヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときのマスバランス 73
2.6.4.6.2 乳汁排泄 75
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 76
2.6.4.8 考察及び結論 77
2.6.4.9 参考文献 79

略号一覧

略号	省略していない表現
ADME	吸収，分布，代謝及び排泄（Absorption, distribution, metabolism and excretion）
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve）
AUC_{24h}	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time 24 hour）
AUC_{∞}	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（Area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity）
AUC_{last}	0 時間から血漿中濃度定量可能最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve up to the time of the last observable concentration）
BCRP	Breast cancer resistance protein
BDC	胆管カニュレーション（Bile-duct cannulated）
BNPP	リン酸ビス（p-ニトロフェニル）（bis(p-nitrophenyl) phosphate）
BSEP	Bile salt export pump
C_0	0 時間の血漿中濃度（Plasma concentration at time 0）
Caco-2	ヒト結腸癌由来細胞（Human colon cancer cells）
CL	クリアランス（Clearance）
C_{max}	最高血漿（組織）中濃度（Maximum observed plasma [tissue] concentration）
CML	慢性骨髄性白血病（Chronic myeloid leukemia）
CYP	チトクローム P450（Cytochrome P450）
eq.	当量（Equivalent）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
GSH	グルタチオン（Glutathione）
HBSSg	10 mmol/L HEPES，25 mmol/L D-グルコースを含有するハンクス平衡塩溶液（Hanks’ Balanced Salt Solution containing 10 mmol/L HEPES, 25 mmol/L D-glucose）
HEK	ヒト胎児腎細胞（Human embryonic kidney epithelial cells）
HLM	ヒト肝ミクロソーム（Human liver microsome）
HPLC	高速液体クロマトグラフィー（High Performance Liquid Chromatography）
IC_{50}	50%阻害濃度（Concentration producing 50% inhibition）

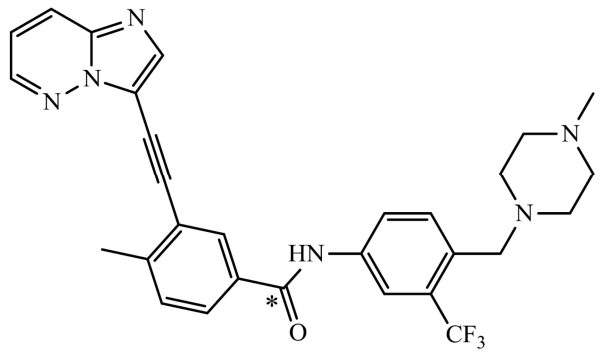
Ki	阻害定数（Inhibition constant）
Km	ミカエリス定数（Michaelis constant）
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム質量分析（Liquid Chromatography/tandem mass specrometry）
LE	Long-Evans
LLOQ	定量下限（Lower limit of quantitation）
LSC	液体シンチレーションカウンター（Liquid scintillation counting）
MDI	代謝依存的阻害（Metabolism-dependent inhibition）
MDR	Multiple drug resistance protein
MH^+	分子（イオン）（Molecular ion）
m/z	質量電荷比（mass-to-charge ratio）
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
P_{app}	見かけの透過係数（Apparent permeability coefficient）
P-gp	P-glycoprotein
QC	品質管理（Quality control）
rhCYP	組換えヒト CYP（Recombinant human CYP）
RI	可逆的阻害（Reversible inhibition）
S9	9000×g 上清（9000×g supernatant）
SD	Sprague-Dawley
SD	標準偏差（Standard deviation）
$t_{1/2}$	消失半減期（Elimination half-life）
TCA	タウロコール酸（Taurocholic acid）
TDI	時間依存的阻害（Time-dependent inhibition）
TKI	チロシンキナーゼ阻害薬（Tyrosine kinase inhibitor）
t_{max}	最高血漿（組織）中濃度到達時間（Time to maximum observed plasma [tissue] concentration）
V_{ss}	定常状態での分布容積（Steady state volume of distribution）

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

ポナチニブ（AP24534）は新規の経口投与可能な合成チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）であり，慢性骨髄性白血病（CML）の治療薬として臨床開発中である。CML 及びフィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病（Ph+ ALL）で顕著にみられる異常なチロシンキナーゼ BCR-ABL が，本薬の主な標的である。本薬は BCR-ABL の酵素活性を非常に強力に阻害するとともに，幅広い特異性を示すよう設計されている。本薬は野生型 BCR-ABL のみを標的とするのではなく，有効な治療法が存在しない T315I 変異を含めて，既存の TKI を用いる治療に対して抵抗性を付与する変異を有する BCR-ABL 分子種も標的とした。非臨床試験データから，本薬は検討した全ての分子種の活性を阻害し，広範な TKI 抵抗性を付与することが知られている変異型 BCR-ABL を発現する細胞株の増殖及び生存（*in vitro* 及び *in vivo*）を阻害することが立証されている。

ポナチニブの化学構造式を図 2.6.4-1 に示す。



*：^{14}C 標識位置

図 2.6.4-1　　^{14}C-ポナチニブの構造式

マウス（CD-1），ラット（Sprague-Dawley［SD］及び Long-Evans［LE］），カニクイザル及びヒトに本薬を経口又は静脈内投与したときの吸収，分布，代謝及び排泄（ADME）について検討した。ほとんどの試験では，経口投与及び静脈内投与のいずれについても，水性緩衝液（25 mmol/L クエン酸緩衝液，pH 2.75）を用いて調製した投与液を使用した。また，サルを用いた 1 試験では，カプセル剤も使用した。このクエン酸緩衝液製剤は，毒性試験でも使用された。全ての ADME 試験及び毒性試験において，ポナチニブ一塩酸塩を使用したが，投与量はポナチニブ遊離塩基当量に基づいて計算した。

初期の探索及び開発試験では，非標識ポナチニブを用いて，本薬の *in vitro* 及び *in vivo* 代謝を検討した。ラット，サル及びヒト由来の肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた試験において，本薬は主に N-脱メチル体（AP24567）及び N-オキシド（AP24734）に代謝され，これらより少量であるが水酸化体にも代謝された。これら初期の試験において，AP24567 はラット及びサル血漿中の主要代謝物であることも明らかになった。したがって，毒性試験，第 I 相臨床試験及び臨床薬理試験において，ポナチニブ及び AP24567 の血漿中曝露量をモニターした。なお，AP24567 の薬理活

性は未変化体の 4 分の 1 である（2.6.2.2.1）。

その後，放射性標識体を用いた代謝試験が実施され，ラット及びヒト血漿中の主要代謝物としてアミド結合の加水分解により生成するカルボン酸（AP24600）が発見されたが，サル血漿中では微量しか存在しないことが明らかになった。本薬は *in vivo* において，AP24600 及びアニリン代謝物（AP24592）に代謝される。高分解能質量分析装置による分析の結果，いずれの動物種においても，AP24592 及びその代謝物は血漿中に存在しないか，存在しても微量であることが明らかになった。また，AP24600 は薬理学的に不活性である（2.6.2.2.1）。

その後，毒性試験及び臨床試験で曝露量をモニターした AP24567 は主要代謝物ではないことが明らかとなり，実際の主要代謝物である AP24600 の曝露量がラット及びヒトでモニターされていなかった。ラットにおける AP24600 の曝露量を測定するため，2 週間のトキシコキネティクス試験を実施し，血漿中のポナチニブ及び AP24600 濃度を測定した。この試験で使用した製剤及び投与手順は，ラットを用いた反復投与毒性試験と同様であり，ラット 28 日間試験（Study QAA00122）で使用した用量のうち 2 用量（1.5 及び 3 mg/kg/日）が用いられた。また，ヒトにおける AP24600 の曝露量を測定するため，3 つの臨床試験（AP24534-07-101, AP24534-11-102 及び AP24534-11-104）で保存した血漿試料中の AP24600 濃度を測定した。ヒトにおける AP24600 曝露量については，臨床薬理の概要で詳細に解説する。

本項では，ポナチニブの ADME について概説する。この薬物動態試験の概要文で要約する ADME 試験の一覧を表 2.6.4-1 に示す。

表 2.6.4-1　　ポナチニブの ADME 評価のために実施した試験

試験	試験系	投与量及び投与経路	試験の目的
In Vivo 試験			
12ARIAP3	ラット（SD）	3 mg/kg：静脈内 15 mg/kg：経口	ポナチニブ静脈内及び経口投与後のポナチニブ及び AP24600 の薬物動態
280N-1101	ラット（LE 及び SD）	^{14}C-ポナチニブ 10 mg/kg：経口	組織内分布
805799	ラット（SD）	1.5，3 mg/kg：経口	14 日間反復投与時の定常状態におけるポナチニブ及び AP24600 の薬物動態
ARP049	カニクイザル	6 mg/kg：経口溶液 6 mg/kg：経口カプセル	ポナチニブ及び AP24567 の薬物動態 乾燥粉末充填カプセルとして投与したときのポナチニブの相対的バイオアベイラビリティ
ARP050	カニクイザル	1 mg/kg：静脈内 2～3 mg/kg：経口カプセル	ポナチニブ及び AP24567 の薬物動態 カプセル剤として投与したときのバイオアベイラビリティ
ARP073	マウス（CD-1）	2.5，5.0，10，30， 100 mg/kg：経口	ポナチニブ及び AP24567 の薬物動態
ARP257	ヒト	^{14}C-ポナチニブ 45 mg：経口	マスバランス及び代謝
ARP259	カニクイザル	^{14}C-ポナチニブ 14.89 mg/kg：経口	マスバランス及び代謝
ARP260	ラット（SD）	^{14}C-ポナチニブ 9.4 mg/kg：経口	胆管カニュレーション（BDC）ラット及び正常ラットにおけるマスバランス及び代謝
ARP261	ラット（SD）	3 mg/kg：静脈内 15 mg/kg：経口	エステラーゼ阻害による *in vivo* AP24600 生成阻害

試験	試験系	投与量及び投与経路	試験の目的
ARP265	マウス（CD-1）	370 mg/kg：経口	血漿中代謝物組成及び特性評価
ARP395	ヒト	^{14}C-ポナチニブ 45 mg：経口	投与後 24 時間以降の血漿試料を用いた代謝物組成
In Vitro 試験			
11ARIAP5R1	Caco-2 細胞 HEK 293 細胞	0.001～100 µmol/L	トランスポーターに対するポナチニブの基質及び阻害薬としての評価
ARP053	マウス，ラット，サル，ヒト血漿及び血液	*In vitro* 試験 100～3000 ng/mL	タンパク結合率 血液／血漿分配率
ARP258	肝ミクロソーム，肝細胞，組換えヒト CYP	1～10 µmol/L	*In vitro* 代謝，代謝物の特性評価，代謝に関わる CYP 分子種の同定
ARP267	ヒト肝ミクロソーム	0.01～100 µmol/L	ポナチニブによる CYP 阻害
ARP312	ラット及びヒト血漿	0.2～5.0 µmol/L	AP24600 のタンパク結合率
ARP319	組換えヒトカルボキシルエステラーゼ，ラット，サル及びヒト由来肝 S9, 小腸 S9 及び小腸ミクロソーム	10 µmol/L	*In vitro* 代謝，代謝物組成
ARP350	ヒト血漿	0.145 µmol/L	他の高タンパク結合型薬物による，ポナチニブのヒト血漿タンパク質からの置換
XT103117	ヒト肝細胞	0.05～2 µmol/L	ポナチニブによる CYP 誘導
[redacted]133050	ヒト肝細胞	0.2，2，5，7 及び 10 µmol/L	ポナチニブによる CYP 誘導

2.6.4.1.1 吸収

CD-1 雌マウスにポナチニブを 2.5, 5.0, 10, 30 及び 100 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，本薬は速やかに吸収され，全身循環に達した。全ての投与群において，血漿中濃度は投与後 2 時間に最高濃度（C_{max}）に達した。消失は一相性を示し，消失半減期（$t_{1/2}$）は 2.5～30 mg/kg の用量範囲でほぼ一定（2.9～3.6 時間）であった。C_{max} 及び AUC_{24h} は，2.5～30 mg/kg の用量範囲で用量に比例して増加した。100 mg/kg における C_{max} 及び AUC_{24h} は，10 又は 30 mg/kg と比較して用量比を上回っていた。100 mg/kg における AP24567 の AUC_{∞} は未変化体の AUC_{∞} の 22%であった。

SD 雄ラットにポナチニブを 3 mg/kg の用量で急速静脈内投与したときの血中クリアランスは中程度に高く（23.5 mL/min/kg），肝血流量の 42.5%であった。定常状態における分布容積（V_{ss}）は大きく（17.7 L/kg），広く組織に分布することが示された。血漿からの消失は二相性を示し，初期の速い消失相に続いて，遅い終末消失相が認められ，その $t_{1/2}$ は 9.72 時間であった。SD 雄ラットにポナチニブを 15 mg/kg の用量で経口投与したときの吸収は緩やかであり，最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）の平均値は 6.0 時間であった。経口投与後の $t_{1/2}$ は 9.95 時間であり，静脈内投与後と同程度であった。ラットにポナチニブを経口投与したときのバイオアベイラビリティは 54%であった。本試験の結果，AP24600 は体循環移行前に生成し，ポナチニブから AP24600 へのアミド加水分解への肝臓の寄与は小さいことが示唆された。血漿中の主要代謝物であり，薬理学的に不活性（2.6.2.2.1）な AP24600 の AUC は，ポナチニブの 1.24 倍であった。

雄カニクイザルにポナチニブを 1 mg/kg の用量で急速静脈内投与したときの血中クリアランス

は低く（7.84 mL/min/kg），肝血流量の約 18.0%であった。分布容積は 2.6 L/kg であり，広く組織に分布することが示された。血漿からの消失は二相性を示し，速やかな初期消失相に続いて，$t_{1/2}$ が 5.3 時間である終末消失相が認められた。雄カニクイザルにポナチニブを 2～3 mg/kg の用量（カプセル）で経口投与したときの吸収は速やかであり，t_{max} の平均値は 4.0 時間であった。経口投与後の $t_{1/2}$ は 7.1 時間であった。サルにカプセル剤としてポナチニブを経口投与したときのバイオアベイラビリティは 20.6%であった。ラット及びサルにおける薬物動態パラメータを表 2.6.4-2 に示す。

表 2.6.4-2　　ラット及びサルにポナチニブを単回静脈内又は経口投与したときの血漿中ポナチニブの薬物動態パラメータ（平均値 ± SD）

投与経路及び投与量	薬物動態パラメータ	ラット	サル
静脈内 ラット：3 mg/kg サル：1 mg/kg	C_0 (ng/mL)	427 ± 298	1219 ± 525
	$t_{1/2}$ (h)	9.72 ± 1.73	5.3 ± 2.6
	CL (mL/min/kg)	26.5 ± 24.2	8.7 ± 2.4
	V_{ss} (L/kg)	17.7 ± 12.4	2.6 ± 0.9
	AUC_∞ (ng·h/mL)	3088 ± 2090	2096 ± 772
経口 ラット：15 mg/kg サル：2～3 mg/kg（カプセル剤）	C_{max} (ng/mL)	453 ± 68.7	96 ± 57
	t_{max} (h)	6.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
	$t_{1/2}$ (h)	9.95 ± 2.17	7.1 ± 2.3
	AUC_∞ (ng·h/mL)	8320 ± 1786	942 ± 438
	経口バイオアベイラビリティ (%)	54 ± 12	20.6 ± 13.9

2.6.4.1.2　　分布

LE 有色雄ラット及び SD 白色雄ラットに ^{14}C-ポナチニブをそれぞれ 9.86 及び 10.17 mg/kg の用量で経口投与したとき，放射能は全身に広く分布した。放射能の分布は有色ラットと白色ラットで同様であった。白色ラットの一部の組織中濃度は，有色ラットに比べてやや高濃度で推移したが，投与後 168 時間の組織中濃度は概ね同程度であった。有色ラットの場合，投与後 672 時間においても多くの組織（43 組織中 27 組織）に放射能が残存していたが，濃度は 1.0 µg eq./g 未満であった。最終時点（投与後 672 時間）における組織からの放射能の消失は完全ではなかったが，全ての組織において，試験経過とともに組織中濃度が徐々に低下したことから，消失が継続していることが示唆された。有色雄ラットで高い放射能分布（投与放射能に対する%）が認められた組織は，肝臓（21.33%，4 時間），腎臓（2.03%，2 時間），肺（3.51%，4 時間），脾臓（1.11%，4 時間），心臓（0.43%，4 時間），副腎（0.08%，8 時間）及び脳（0.04%，8 時間）であった。有色ラットの色素含有組織である眼のブドウ膜における組織中濃度（C_{max}：86.632 µg eq./g，96 時間）は，白色ラットの濃度（C_{max}：2.099 µg eq./g，24 時間）に比べて著しく高く，ポナチニブ（又はポナチニブ由来成分）がメラニンに結合することが示された。

ポナチニブの *in vitro* 血漿タンパク結合率は高く，マウス，ラット，サル及びヒト血漿においてそれぞれ，99.99%，99.99%，99.78%及び 99.92%であった。また，*in vitro* 試験において，イブプロフェン，ニフェジピン，プロプラノロール，サリチル酸及びワルファリンのような高血漿タンパク結合型薬物によって，ポナチニブがヒト血漿タンパク質の結合部位から置換されることはなかった。ポナチニブの血液／血漿分配率は，マウス，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 1.20，1.13，

1.11 及び 0.96 であった。マウス，ラット，サル及びヒトにおいて，ポナチニブは赤血球及び血漿中に均等に分布し，赤血球への選択的な分布は認められなかった。

ポナチニブのヒト血漿中主要代謝物である AP24600 の血漿タンパク結合率は高く，ラット及びヒト血漿でそれぞれ 94.7%及び 93.5%であった。

2.6.4.1.3　　代謝及び排泄

ポナチニブは *in vivo* においてアミド結合の加水分解を受けて AP24600 及び AP24592 に代謝される（図 2.6.4-10）。動物及びヒトにおいて，この両代謝物は更に代謝される（図 2.6.4-26）。ポナチニブ自体も様々な CYP を介した代謝を受けるが（図 2.6.4-25），ポナチニブから生成する代謝物の多くは糞中に多く存在し，血漿及び尿中では低い濃度（又は微量）であった。高速液体クロマトグラフィー（HPLC）での溶出順序に従って，代謝物に M1～M50 の番号を付与した。これらの代謝物のうち，合成標品があるものについては，AP 番号も記載した。代謝物の識別番号及び推定構造式を図 2.6.4-25 及び図 2.6.4-26 に示す。

マウスに非標識ポナチニブを 370 mg/kg の用量で経口投与したときの血漿中代謝物について検討した。マウス血漿中で認められた主要代謝物は AP24600 であった。さらに，AP24592 の N-グルクロニド，水酸化 AP24592 の N-グルクロニド，AP24600 のアシルグルクロニド，AP24600 のメチルエステル（AP25047），AP24734 及び AP24567 が認められた。

ラットに ^{14}C-ポナチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，投与量の大部分（73.1%）が吸収された。ポナチニブは主に糞中に排泄され（88.38%），尿中排泄は少量であった（10.15%）。0～24 時間のプール血漿中の主要放射能成分は，AP24600（50.2%），AP25047（12.1%）及びポナチニブ（19.1%）であった。尿及び血漿中の代謝物の多くは，AP24600 及びその代謝物であった。ラットにおけるポナチニブの主要代謝経路は AP24567 の生成（糞中に投与量の 26.1%排泄）並びに，AP24600 及びそれに由来する代謝物（尿中に投与量の 10%排泄）の生成であった。ラット糞中には，投与量の 39.9%が未変化体として排泄された。ラット胆汁中に 25 種類を超える代謝物が検出されたが，最も存在量が多かったのは AP24600 及びそのメチルエステルであった。

ラットにポナチニブを経口投与したときの AP24600 生成の 77%がリン酸ビス（p-ニトロフェニル）（BNPP）によって阻害されたことから，AP24600 の生成にはエステラーゼ／アミダーゼが関与している可能性が示された。AP24600 への代謝の大部分は，全身循環移行前に胃又は小腸内で起こると考えられた。

カニクイザルに ^{14}C-ポナチニブを 14.89 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，放射能は主に糞中に排泄され（81.80%，嘔吐 11.45%を含む），少量が尿中に排泄された（2.17%）。0～24 時間のプール血漿中の主要放射能成分はポナチニブであり，総放射能の 56.3%であった。カニクイザル血漿中の各代謝物の総放射能に対する割合は 5%未満であった。サル血漿中の AP24600 は血漿中放射能の 1%未満であったが，質量分析法によりその存在が確認された。サル尿中の主要代謝物は，AP24600，そのアシルグルクロニドの 3 つの異性体，及び AP24734 であった。サル糞中の主要放射能成分はポナチニブ及び AP24567 であり，糞中総放射能のそれぞれ 34.8 及び 10.9%であった。サル糞中のもう 1 つの主要代謝物はポナチニブのグルクロン酸抱合体であり，6%存在した。この他の糞中代謝物が総放射能に対する割合はそれぞれ約 2～4%であった。

ヒト（健康被験者）に ^{14}C-ポナチニブを 45 mg の用量で経口投与したときの尿及び糞中への放

射能の排泄率は 92.01%であり，その内訳は尿中に 5.38%及び糞中に 86.63%であった（2.7.2 臨床薬理の概要）。投与量の大部分（回収量の 96.77%）が投与後 192 時間以内に排泄された。0～24 時間のプール血漿中にポナチニブ（25.5%），AP24600（14.9%），AP24600 のグルクロン酸抱合体（3.4%），ポナチニブの N-脱ピペラジニルカルボン酸（AP32318，7.0%）及びポナチニブのグルクロン酸抱合体（6.0%）が認められた。ヒト尿中の主要代謝物は AP24600 及びそのグルクロン酸抱合体であった。ヒト糞中の代謝物組成は定性的にサルと類似していた。ラジオクロマトグラムにおける主成分はポナチニブであり，ヒト糞中放射能の 23.7%であった。水酸化ポナチニブ及び AP24567 は放射能の 20.4%及び 9.6%であった。この他に糞中に認められた代謝物は M32, M33, M35，M36，M38，M39 及び M41 であり，各代謝物の総放射能に対する割合は約 0.5～2%，合計では 8.3%であった。また, 4 種類のメチル化物が検出され, 合計で糞中総放射能の 9.7%であった。

ヒトに治療用量である 45 mg を 1 日 1 回投与したときの定常状態における AP24600 の曝露量（AUC_{24h}）は，312 ng·h/mL と推定された。雌雄 SD ラットに 1.5 及び 3.0 mg/kg/日を反復投与したときの定常状態における AP24600 の AUC_{24h} はそれぞれ，平均で 710 及び 1947 ng·h/mL であった。したがって，毒性試験においてラットに 1.5 及び 3.0 mg/kg/日を投与したときの AP24600 の曝露量は，ヒト曝露量のそれぞれ 227%及び 624%であった。

ヒト及びラットにおいてポナチニブは著しく代謝されたが，サルにおける *in vivo* 代謝は限定的であった。ラット及びヒトにおいて，ポナチニブは AP24600 に加水分解された。ポナチニブの N-脱メチル化はラットで非常に顕著であったが，サル及びヒトでは少なかった。その他の代謝経路には，ポナチニブのピペラジン環の広範な代謝及びポナチニブの水酸化が含まれ，これらの代謝物は主に糞中に認められた。

肝及び小腸ミクロソーム，S9 画分，並びに肝細胞におけるポナチニブの主要代謝経路は，N-脱メチル化，水酸化及び N-オキシド化であり，これらの *in vitro* 代謝系において AP24600 は認められなかった。また，ポナチニブを組換え cDNA 発現ヒトカルボキシルエステラーゼ 1b/1c 及び 2 とともにインキュベーションしても，AP24600 は認められなかった。

ポナチニブは組換えヒト CYP（rhCYP）1A2，CYP 2C9 及び CYP 2E1 による代謝を受けなかった。一方，CYP 3A5 及び CYP 2C19 はポナチニブを AP24567 及び AP24734 に代謝したが，割合は 3～5%と非常にわずかであった。ポナチニブは主に CYP3A4（52%）によって代謝され，続いて CYP2C8（30.4%），CYP2D6（14.4%）によって代謝された。CYP3A4 によるポナチニブの代謝は，ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞で定性的に同等であった。これらの rhCYP を用いた試験で得られた結果から, ポナチニブに対する代謝能は CYP3A4 及び CYP 2C8 で高く, 続いて高いのは CYP2D6 及び CYP 3A5 であることが示された。また，CYP 特異的化学阻害薬又はモノクローナル抗体によるヒト肝ミクロソーム中の CYP 阻害の結果から，ポナチニブは主に CYP3A4 によって代謝され，これより少ない程度で CYP2D6，CYP2C8 及び CYP3A5 によって代謝されることが示された。

要約すると，ミクロソーム及び肝細胞におけるポナチニブの主要代謝経路は，N-脱メチル化，N-オキシド化及び水酸化であった。

ヒト肝ミクロソーム／肝細胞中での *in vitro* 代謝物の全てが，ラット又はサル肝ミクロソーム／肝細胞でも認められた。*In vitro* において，ポナチニブは主に CYP3A4 によって代謝され，これより少ない程度で CYP2D6，CYP2C8 及び CYP3A5 によって代謝された。

2.6.4.1.4　　CYP 阻害及び誘導

ポナチニブは CYP の直接的阻害作用を有し，50%阻害濃度（IC_{50}）値は 5.2～13.6 μmol/L であった。IC_{50} 値を表 2.6.4-3 に示す。

表 2.6.4-3　　ポナチニブによる CYP 阻害の IC_{50}

CYP 分子種	1A2	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	3A4/5[a]	3A4/5[b]
IC_{50} (μmol/L)	13.3	5.6	6.1	10.8	5.2	11.6	8.3	13.6

a：テストステロン 6β-水酸化
b：ミダゾラム 1'-水酸化

全ての CYP に対する可逆的阻害の阻害定数（Ki）値（IC_{50}/2）は 2.6～6.8 μmol/L の範囲であった。阻害薬としての C_{max}/Ki 比が 0.1 未満である場合（Guidance for Industry: Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling - Recommendations, Draft Guidance, Center for Drug Evaluation and Research［CDER］, February 2012），また，Ki が非結合型濃度の 50 倍より大きい場合（CHMP guideline on the investigation of drug interactions［CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 - 21 June 2012］），薬物相互作用（DDI）が生じる可能性は低い。

ヒトにポナチニブを 1 日 1 回 45 mg の用量で投与したときの定常状態の C_{max} は 0.145 μmol/L（77.4 ng/mL）であり（Study AP24534-07-101 CSR），Ki の最低値 2.6 μmol/L の 18 分の 1 未満である。また，ヒト定常状態におけるポナチニブの非結合型 C_{max} は，*in vitro* 血漿タンパク結合率試験結果（結合%: 99.92）から 0.000116 μmol/L であり，Ki の最低値 2.6 μmol/L の 22400 分の 1 未満である。したがって，*in vivo* でポナチニブによって CYP 酵素が阻害されるリスクは低いと考えられる。ポナチニブは各 CYP に対して時間依存的及び代謝依存的阻害作用を示さなかった。また，ヒト血漿中主要代謝物であり薬理学的に不活性である AP24600 による 7 種類の CYP 阻害に対する IC_{50} 値は 100 μmol/L を超えており，AP24600 による CYP 阻害によって DDI が起こる可能性は非常に低いと考えられる。

ポナチニブは主に CYP3A4 によって代謝される。強力な CYP3A4/5 阻害薬によるポナチニブの代謝阻害によって，ポナチニブの曝露量が増加する可能性がある。同様に，併用薬による CYP3A4/5 の誘導によって，ポナチニブの曝露量が減少する可能性がある。また，ポナチニブはエステラーゼ／アミダーゼ（又はペプチダーゼ）によって AP24600 へと代謝される可能性がある。しかし，エステラーゼ／アミダーゼは遍在性であることから，エステラーゼの阻害によってポナチニブの血漿中濃度が上昇する可能性は非常に低い。さらに，ラットにおいて BNPP によるエステラーゼ阻害により AP24600 の生成が 77.0%減少したが，経口投与したポナチニブの血漿中濃度が上昇することはなかった。

ヒト肝細胞において，薬理作用濃度（最高 0.2 μmol/L）のポナチニブは，CYP1A2，CYP2B6，CYP3A4 又は multiple drug resistance protein（MDR）1 の活性若しくは mRNA 発現量を誘導しなかった。検討した最高濃度（2 μmol/L）においても，ポナチニブによる CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4/5 活性の誘導作用の平均値は，それぞれの陽性対照誘導薬による誘導レベルのそれぞれ 10.8%, 4.47%及び 10.6%にすぎなかった。さらに，ポナチニブ（最高 2.0 μmol/L）は MDR1 の mRNA 発現をほとんど誘導しないか，又は変化させなかった。別の *in vitro* 試験の結果から，濃度 5 μmol/L

までのポナチニブで培養ヒト肝細胞を処理しても，CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4/5 活性を誘導しないが（2 倍未満の変化又は陽性対照の 20%未満），CYP3A4/5 活性が濃度依存的に減少することが確認された。同様に，10 μmol/L までのポナチニブで処理しても，CYP1A2 の mRNA 発現は誘導されなかった。また, 肝細胞検体 3 例中 2 例で, 2 μmol/L を超える濃度のポナチニブで CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現量の減少が一貫して確認された。CYP3A4 の mRNA 発現量については，ポナチニブ濃度 2 μmol/L の 2 検体で 2 倍をわずかに超える程度の増加が認められた。これらの軽度増加は陽性対照であるリファンピシンの 15%未満であった。したがって, ポナチニブは CYP 誘導による薬物相互作用を誘発しないと予想された。

2.6.4.2　分析法

全ての薬物動態試験及び毒性試験において非標識ポナチニブを使用し，ポナチニブ（及び代謝物）の血漿中濃度は液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC/MS/MS）法により測定した。全ての GLP 適用毒性試験において，ポナチニブ及び代謝物（AP24567 及び AP24600）の定量にフルバリデーションを実施した LC/MS/MS 法を使用した。GLP 非適用試験ではバリデーション未実施の方法を使用したが，これらの方法の精度管理を適切な品質管理（QC）及び評価基準により実施した。マウス，ラット及びサル保存血漿中でのポナチニブ及び AP24567 の安定性については，分析法バリデーションの一部として評価した。マウス，ラット及びサル血漿を- 70°C で保存したとき，ポナチニブ及び AP24567 はいずれも 31，603 及び 713 日間安定であった。また，ラット血漿中で AP24600 を- 70°C で保存したとき，181 日間安定であった。

血漿試料を除タンパクし，溶媒で抽出した後 LC/MS/MS 法により分析した。1 試験（805799 試験）では，固相抽出法を用いて血漿試料を抽出した。血漿タンパク結合率評価は平衡透析法で実施し，測定には LC/MS/MS 法を用いた。組織内分布試験では ^{14}C-ポナチニブを使用し，バリデーション済みの蛍光イメージング法を用いてオートラジオグラムの解析を行った。分布，代謝及び排泄試験では ^{14}C-ポナチニブを使用した。放射能は液体シンチレーションカウンター（LSC）法により測定した。また，ポナチニブ代謝物の分離及び同定には，HPLC - 質量分析法を使用した。

ポナチニブ及び定量対象とした代謝物の測定に使用した LC/MS/MS 法を，関連する分析パラメータと共に表 2.6.4-4 に示す。

表 2.6.4-4　　生体試料分析法及び定量法の詳細

試験番号	動物種／系統	GLP 適用	LC/MS/MS 法の詳細
マウス			
QAA00123	マウス／CD-1	適用	定量試料：マウス血漿 定量対象物質：ポナチニブ，AP24567 内標準物質：AP024691（d_4-ポナチニブ），AP024693（d_3-AP24567） 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：1～1000 ng/mL バリデーション方法：［Ref. [redacted]609VSLZ_ACM.DOC］ 保存安定性： 血漿：- 70°C 及び- 20°C で 31 日間（ポナチニブ及び AP24567）
ARP024.0	マウス／CD-1	非適用	定量試料：マウス血漿 定量対象物質：ポナチニブ，AP24567 内標準物質：AP23848 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：1.2～3000 ng/mL バリデーション方法：適切な QC 及び評価基準による精度確認

試験番号	動物種／系統	GLP 適用	LC/MS/MS 法の詳細
ラット			
QAA00120 QAA00122 QAA00193 20009232	ラット／SD ラット／SD ラット／SD ラット／SD	適用 適用 適用 適用	定量試料：ラット血漿 定量対象物質：ポナチニブ，AP24567 内標準物質：AP024691（d_4-ポナチニブ），AP024693（d_3-AP24567） 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：1～1000 ng/mL バリデーション方法：［Ref.[redacted]608VSLZ_ACM.DOC］ 保存安定性： 血漿：- 70°C で 603 日間（ポナチニブ及び AP24567）
20011779	ラット／LE	適用	定量試料：ラット血漿／LE 定量対象物質：ポナチニブ 内標準物質：AP24691（d_4-ポナチニブ） 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：1～1000 ng/mL バリデーション方法：［Ref.[redacted]608VSLZ_ACM.DOC］ 保存安定性： 血漿：- 70°C で 603 日間（ポナチニブ及び AP24567）
ARP037.0	ラット／SD	非適用	定量試料：ラット血漿 定量対象物質：ポナチニブ 内標準物質：AP23848 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：1.2～3000 ng/mL バリデーション方法：適切な QC 及び評価基準による精度確認
ARP038.0	ラット／SD	非適用	定量試料：ラット血漿 定量対象物質：ポナチニブ，AP24567 内標準物質：AP24658 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：1.2～3000 ng/mL バリデーション方法：適切な QC 及び評価基準による精度確認
サル			
QAA00121 QAA00124 QAA00194	サル／カニクイ サル／カニクイ サル／カニクイ	適用 適用 適用	定量試料：カニクイザル血漿 定量対象物質：ポナチニブ，AP24567 内標準物質：AP24691（d_4-ポナチニブ），AP24693（d_3-AP24567） 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：1～1000 ng/mL バリデーション方法：［Ref.[redacted]607VSLZ_ACM.DOC］ 保存安定性： 血漿：- 70°C で 713 日間（ポナチニブ及び AP24567）
QAA00113	サル／カニクイ	非適用	定量試料：カニクイザル血漿 定量対象物質：ポナチニブ，AP24567 内標準物質：AP23848 試料処理：タンパク質沈殿法 定量範囲：3.0～1200 ng/mL バリデーション方法：適切な QC 及び評価基準による精度確認
ラット（薬物動態試験）			
805799	ラット／SD	適用	定量試料：ラット血漿 定量対象物質：ポナチニブ，AP24600 内標準物質：AP24691（d_4-ポナチニブ），AP30376（d_6-AP24600） 試料処理：固相抽出 定量範囲：0.5～250 ng/mL バリデーション方法：[redacted]0078VRM_ACM_R1 保存安定性： 血漿：- 70°C で 181 日間（ポナチニブ及び AP24600）

2.6.4.3　吸収

2.6.4.3.1　マウスにポナチニブ（溶液）を 2.5，5，10，30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したときの薬物動態

報告書番号 ARP073，データを 2.6.5.3.1 に示す。

目的

本試験の目的は，マウスにポナチニブを単回経口投与したときのポナチニブの薬物動態を評価することであった。副次的目的は，AP24567 の薬物動態を評価することであった。

方法

CD-1 雌マウスにポナチニブを溶液（25 mmol/L クエン酸緩衝液中，pH 2.74）として，2.5，5，10，30 及び 100 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与容量は 5 又は 10 mL/kg とした。マウスに投与前一晩にわたる絶食処置は行わなかった。投与後 72 時間までの設定した時間に各用量，各時点につきマウス 3 例から血液を採取した。血漿中のポナチニブ及び AP24567 を，バリデーション未実施の LC/MS/MS 法により測定した。

結果

CD-1 雌マウスに経口投与したときポナチニブは速やかに吸収され，全ての投与群で血漿中濃度は投与後 2 時間に C_{max} に達した。ポナチニブの血漿中濃度推移を図 2.6.4-2 に示す。

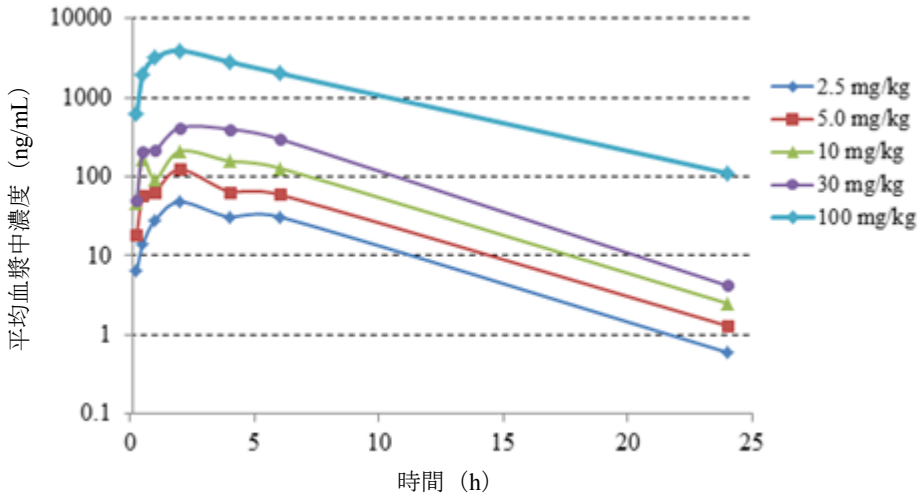


図 2.6.4-2　マウスにポナチニブを経口投与したときの平均血漿中ポナチニブ濃度推移

注：投与後 24 時間以降の血漿中濃度は 100 mg/kg 投与群のみで測定したが，図 2.6.4-2 には示していない。

薬物動態パラメータは，ノンコンパートメント法による薬物動態データ解析ソフトウェア「PK Solutions 2.0」（Summit Research Solutions，Colorado，USA）を用いて，平均血漿中濃度－時間データから算出した。ポナチニブ及び AP24567 の薬物動態パラメータを表 2.6.4-5 に示す。

30 mg/kg までの用量範囲全体を通して，C_{max} の平均値に用量比例性が認められ，C_{max}/投与量は 14～25 (ng/mL)/(mg/kg)の範囲であった。同じ用量範囲において，AUC にも用量比例性が認められ

た（AUC/投与量は 157～209 (ng·h/mL)/(mg/kg)）。$t_{1/2}$ は 2.5～30 mg/kg の用量範囲でほぼ一定（2.9～3.6 時間）であった。100 mg/kg 投与群の C_{max} 及び AUC は，10 又は 30 mg/kg 投与群と比較して，用量比を上回っていた。また，100 mg/kg 投与群の $t_{1/2}$ は 4.7 時間であり，他の投与群に比べて長かった。

マウスにポナチニブを 100 mg/kg の用量で経口投与したときの AP24567 の血漿中濃度も測定した。AP24567 の C_{max} は，ポナチニブの C_{max} の 19.8%であり，ポナチニブとの曝露量比（AUC［AP24567］/AUC［ポナチニブ］）は 0.22 であった。AP24567 の $t_{1/2}$ は 1.8 時間であり，ポナチニブに比べて速やかに消失した。

表 2.6.4-5　　CD-1 雌マウスにポナチニブを単回経口投与したときのポナチニブ及び AP24567 の薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	動物数 (n)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC_{∞} (ng·h/mL)	AUC／投与量 (ng·h/mL)/(mg/kg)	$t_{1/2}$ (h)
ポナチニブ						
2.5	21	47.7	2	485.1	194.1	3.6
5	21	122.7	2	995.2	199.0	3.2
10	21	209.9	2	2086.4	208.6	3.2
30	21	416.3	2	4714.1	157.1	2.9
100	33	3906.7	2	36608.5	366.1	4.7
AP24567						
100	33	774.0	2	8045.0	80.5	1.8

結論

雌マウスに単回経口投与したポナチニブは吸収され全身循環に達した。曝露量は用量 30 mg/kg まで用量比例性を示した。$t_{1/2}$ は 2.5～30 mg/kg の用量範囲で約 3 時間であった。AP24567 の曝露量は，ポナチニブの 22%であった。

2.6.4.3.2　ラットにポナチニブを静脈内及び経口投与したときのポナチニブ及び AP24600 の薬物動態

報告書番号 12ARIAP3，データを 2.6.5.3.2 に示す。

目的

本試験の目的は，ラットにポナチニブを単回静脈内及び経口投与したときのポナチニブ及びその主要代謝物 AP24600 の薬物動態を明らかにすることであった。副次的目的は，ポナチニブから AP24600 への代謝に関与する組織を明らかにすることであった。

方法

SD 雄ラット（n = 3）にポナチニブを 15 mg/kg の用量（25 mmol/L クエン酸緩衝液，pH 2.75 で調製した 3 mg/mL 溶液を 5 mL/kg）で経口投与したときのポナチニブ及びその代謝物 AP24600 の薬物動態を評価した。続いて，SD 雄ラット（n = 3）にポナチニブを 3 mg/kg の用量（25 mmol/L クエン酸緩衝液，pH 2.75 で調製した 1.5 mg/mL 溶液を 2 mL/kg）で静脈内投与したときのポナチニブ及びその代謝物 AP24600 の薬物動態を評価した。ラットは投与前一晩及び投与後 4 時間まで絶食させた。両投与経路とも，各ラットの頸静脈及び門脈から血液を採取した。血漿中のポナチ

ニブ及び AP24600 濃度は，バリデーション未実施の LC/MS/MS 法により測定した。

結果

ポナチニブを静脈内及び経口投与したときのポナチニブ及び AP24600 の平均血漿中濃度推移を図 2.6.4-3 及び図 2.6.4-4 に示す。

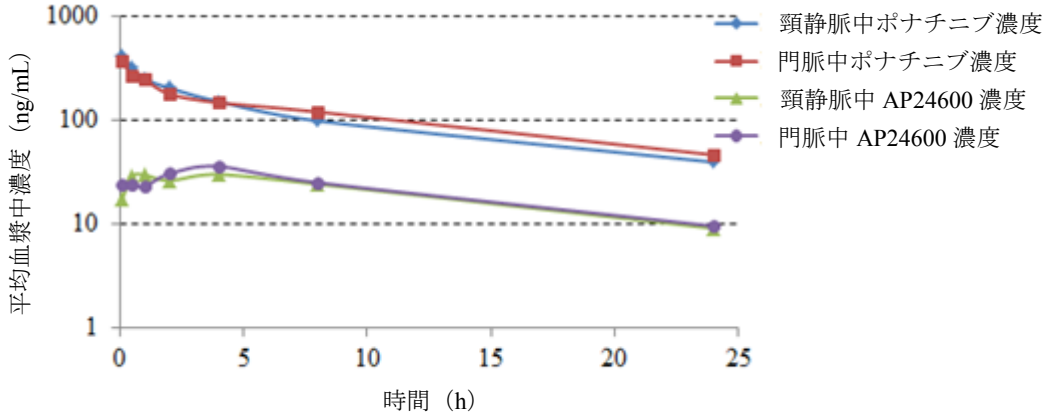


図 2.6.4-3　　ラットにポナチニブを 3 mg/kg の用量で静脈内投与したときの平均血漿中ポナチニブ及び AP24600 濃度推移

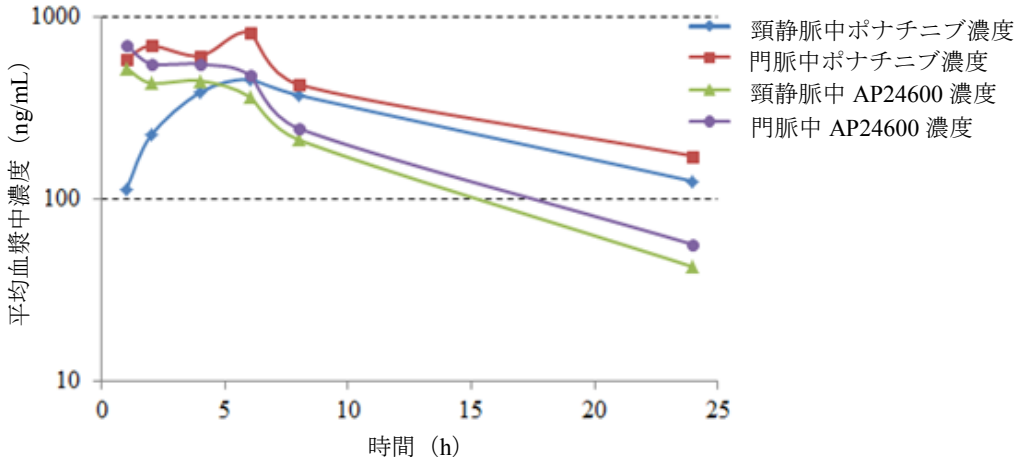


図 2.6.4-4　　ラットにポナチニブを 15 mg/kg の用量で経口投与したときの平均血漿中ポナチニブ及び AP24600 濃度推移

ポナチニブ及び AP24600 の血漿中濃度－時間データについて，WinNonlin（Version 5.1，Pharsight Corp，Mountain View，CA）を用いて，ノンコンパートメント法による薬物動態解析を実施した。薬物動態パラメータの平均値を表 2.6.4-6 に示す。

表 2.6.4-6　　雄ラットにポナチニブを単回静脈内及び経口投与したときのポナチニブ及びAP24600の門脈及び頸静脈血漿中薬物動態パラメータ（平均値 ± SD）

投与経路及び投与量	薬物動態パラメータ	ポナチニブ		AP24600	
		門脈血漿	頸静脈血漿	門脈血漿	頸静脈血漿
静脈内 (3 mg/kg)	C_0 (ng/mL)	392 ± 267	427 ± 298	NA[a]	NA[a]
	C_{max} (ng/mL)	NA[a]	NA[a]	35.9 ± 32.1	32.2 ± 28.8
	t_{max} (h)	NA[a]	NA[a]	3.3 ± 1.2	1.7 ± 2.1
	$t_{1/2}$ (h)	10.7 ± 3.15	9.72 ± 1.73	11.8 ± 1.7	13.2 ± 2.6
	CL (mL/min/kg)	30.3 ± 34.0	26.5 ± 24.2	NA[a]	NA[a]
	V_{ss} (L/kg)	18.7 ± 14.7	17.7 ± 12.4	NA[a]	NA[a]
	AUC_{last} (ng·h/mL)	2673 ± 1883	2497 ± 1694	512 ± 416	481 ± 432
	AUC_{∞} (ng·h/mL)	3490 ± 2597	3088 ± 2090	664 ± 540	636 ± 541
	平均曝露量比 [c]	NA[a]	NA[a]	0.37	0.37
経口 (15 mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	924 ± 289	453 ± 68.7	736 ± 529	535 ± 381
	t_{max} (h)	4.3 ± 2.9	6.0 ± 0.0	2.7 ± 2.9	2.0 ± 1.7
	$t_{1/2}$ (h)	8.22[b]	9.95 ± 2.17	5.89 ± 1.14	5.96 ± 0.33
	AUC_{last} (ng·h/mL)	9690 ± 1775	6457 ± 1120	6240 ± 3868	5023 ± 3451
	AUC_{∞} (ng·h/mL)	10970[b]	8320 ± 1786	6747 ± 4243	5397 ± 3759
	経口バイオアベイラビリティ	NA[a]	54 ± 12	NA[a]	NA[a]
	平均曝露量比	NA[a]	NA[a]	1.24	1.49

a 該当なし。

b 2 例の平均値であり，SD は算出できず。

c AUC_{last} (nmol·h /L)を用いて, ポナチニブに対する AP24600 の比を計算した。比の計算前に AUC (ng·h/mL)を AUC (nmol·h /L)に変換した。

ポナチニブを静脈内投与したときの頸静脈（全身性）血漿から算出したポナチニブの薬物動態パラメータは，門脈血漿から算出した対応する薬物動態パラメータとほぼ等しかった。同様に，頸静脈及び門脈血漿から算出した AP24600 の薬物動態パラメータもほぼ等しかった。静脈内投与後の頸静脈及び門脈中のポナチニブ濃度が同等であったことから，本薬が全身循環と門脈の間で速やかに平衡状態になることが示唆された。ポナチニブの頸静脈血漿クリアランスは 26.5 mL/min/kg であり，血液／血漿分配率 1.13 を用いて算出した血中クリアランスは 23.5 mL/min/kg であった。この血中クリアランスはラットにおける肝血流量の 42.5%に相当したことから，中程度に高いクリアランスであることが示された。ポナチニブの定常状態における分布容積は 17.7 L/kg であり，血管外に広範に分布することが示された。ポナチニブの $t_{1/2}$ は 9.72 時間と長く，血管外組織から緩やかに放出されるためであると考えられた。ポナチニブを静脈内投与したときの全身血漿（頸静脈）中の AP24600 の薬物動態パラメータは，門脈血漿から算出した対応する薬物動態パラメータとほぼ同等であった。AP24600 の見かけの $t_{1/2}$ は 13.2 時間であった。ポナチニブを静脈内投与したときのポナチニブに対する AP24600 の曝露量（AUC_{last}）比は 0.37 であった。

ポナチニブを経口投与したときのポナチニブの門脈血漿の平均 C_{max}（924 ng/mL）は，頸静脈（全身性）血漿の平均 C_{max}（453 ng/mL）の約 2 倍であった。ポナチニブの門脈及び頸静脈血漿中 t_{max} はそれぞれ 4.3 及び 6.0 時間であった。同様に，門脈血漿中のポナチニブの AUC は，頸静脈血漿中の対応する値に比べて高値を示した。この原因として，肝臓での初回通過代謝及び分布容積が

17.7 L/kg と大きかったことから, 吸収後の血管外コンパートメントへの広範な分布が考えられた。ポナチニブを経口投与したときのポナチニブの $t_{1/2}$ は 9.95 時間であり，静脈内投与後とほぼ等しく，血管外組織から緩やかに放出されることを反映していると考えられた。ポナチニブを経口投与したときの平均バイオアベイラビリティは 54%であった。

経口投与後の各時点における門脈血漿中 AP24600 濃度は, 頸静脈血漿中濃度に比べて高かった。ポナチニブに対する AP24600 の曝露量比は, 経口投与及び静脈内投与後でそれぞれ 1.49 及び 0.37 であり，AP24600 への加水分解の大部分は体循環移行前に起こることが示された。また，ポナチニブを静脈内投与したときの AP24600 濃度が頸静脈と門脈でほぼ等しかったことから，AP24600 の生成は肝臓中で起こるのではなく，吸収前に胃又は小腸（管腔又は腸細胞）のいずれかで起こると考えられた。

結論

経口投与したときのポナチニブの吸収は良好であり，経口バイオアベイラビリティは 54%であった。血中クリアランスは 23.5 mL/min/kg と中程度であった。$t_{1/2}$ は 9.95 時間と長く，定常状態における分布容積は 17.7 L/kg と大きかったことから，血管外組織へ広範に分布することが示唆された。本試験から，ポナチニブから AP24600 への加水分解は主に胃又は小腸内で起こると考えられた。

2.6.4.3.3 ラットにポナチニブを 14 日間反復経口投与したときのポナチニブ及び AP24600 の薬物動態

報告書番号 805799，データを 2.6.5.4.1 に示す。

放射性標識体を用いた ADME 試験で得られた血漿中に, 非標識体を用いた試験において発見されていなかった AP24600 が特定された。AP24600 はポナチニブのアミド結合の加水分解によって生成した。マウス，ラット及びヒトにポナチニブを経口投与したときの血漿中の主要代謝物は AP24600 であったが，カニクイザルでは微量代謝物であることが明らかになった。ラット及びサルを用いた安全性評価試験（ポナチニブ及び CYP3A4 による代謝物 AP24567 のみをモニタリング）は全て，放射性標識体を用いた試験を実施する前に完了していたことから，これらの毒性試験で用いた動物種における AP24600 の曝露量は不明であった。そこで，ラットを用いた薬物動態試験を実施した。ラットにおける AP24600 の $t_{1/2}$ が約 6～8 時間と推定されたことから，ラット血漿中の AP24600 濃度は 2～3 日で定常状態に達すると考えられた。

目的

本試験の目的は, ラットにポナチニブを 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときのポナチニブ及び AP24600 の全身曝露量を測定することであった。

方法

投与方法は，ラットを用いた反復投与毒性試験と同様とし，ラット 28 日間試験（Study No. QAA00122）で使用した用量のうち 1.5 及び 3 mg/kg/日の 2 用量で実施した。この試験では，SD 雄ラット 35 例及び雌ラット 35 例を使用した。投与開始時点で動物は約 9 週齢であり，体重は雄で 354～400 g, 雌で 216～257 g の範囲であった。ポナチニブは 25 mmol/L クエン酸緩衝液（pH 2.75）を用いて調製した。第 1 群（雌雄各 5 例）には溶媒のみを 1 日 1 回投与し，第 2 群（雌雄各 15 例）には用量 1.5 mg/kg/日を経口投与，第 3 群には用量 3 mg/kg/日を経口投与した。

ポナチニブ（又は溶媒）は 14 日間反復投与した。第 2 及び 3 群において，投与 1，7 及び 14 日目の投与後 0.5，1，2，4，8，16 及び 24 時間に，1 時点につき雌雄各 5 例から血漿を得た。第 1 群の動物については，これらの日の投与後 1 時間のみに採血を行った。血液を処理して血漿を採取した。血漿中のポナチニブ及び AP24600 濃度は，バリデーション済みの LC/MS/MS 法により測定した。

結果

ポナチニブを 1.5 又は 3.0 mg/kg/日の用量で経口投与したときの 1，7 及び 14 日目におけるポナチニブの薬物動態パラメータの平均値を表 2.6.4-7 に示す。

表 2.6.4-7　　ラットにポナチニブを単回又は反復経口投与したときのポナチニブの平均薬物動態パラメータ

性別	群番号	投与量 (mg/kg/日)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
1 日目						
雄	2	1.5	8	34.1	484	7.23
	3	3.0	8	88.1	1087	5.66
雌	2	1.5	8	42.2	539	7.21
	3	3.0	8	81.5	1100	RNR
7 日目						
雄	2	1.5	8	35.1	528	7.55
	3	3.0	8	76.5	1282	RNR
雌	2	1.5	4	42.5	616	RNR
	3	3.0	8	74.1	1127	RNR
14 日目						
雄	2	1.5	8	36.3	652	RNR
	3	3.0	8	92.3	1723	RNR
雌	2	1.5	4	50.2	700	RNR
	3	3.0	8	94.8	1615	RNR

注：RNR - Result not reported（AUC_{∞}の外挿部分が 20%以上になった場合，又は決定係数（r^2）が 0.800 未満であった場合）

ポナチニブの曝露量パラメータ（C_{max} 及び AUC_{last}）は用量の増加に伴って増加し，1.5 mg/kg/日及び 3.0 mg/kg/日の間で用量比例性が認められた。推定可能な $t_{1/2}$ は 5.66～7.55 時間であった。14 日間反復投与したときのポナチニブの全身曝露量及び蓄積性に性差は認められなかった。

ポナチニブを用量 1.5 又は 3.0 mg/kg/日の用量で経口投与したときの 1，7 及び 14 日目における AP24600 の薬物動態パラメータ平均値を表 2.6.4-8 に示す。

表 2.6.4-8　　ラットにポナチニブを単回又は反復経口投与したときの AP24600 の平均薬物動態パラメータ

性別	群番号	投与量 (mg/kg/日)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
1 日目						
雄	2	1.5	4	52.4	424	5.73
	3	3.0	1	83.4	830	5.38
雌	2	1.5	4	54.6	527	5.44
	3	3.0	4	113	1080	6.99
7 日目						
雄	2	1.5	4	49.4	445	5.60
	3	3.0	1	134	1271	5.74
雌	2	1.5	4	72.4	670	5.63
	3	3.0	1	156	1484	8.06
14 日目						
雄	2	1.5	4	52.7	543	6.10
	3	3.0	1	167	1695	5.91
雌	2	1.5	4	97.5	876	6.47
	3	3.0	1	222	2198	10.2

雄及び雌ラットにおいて，血漿中 AP24600 濃度は投与後 1～4 時間に最高値に達した。全てのプロファイルで終末消失相の特徴が明らかになり，$t_{1/2}$ は 5.38～10.2 時間であった。ラットにポナチニブを 1.5 及び 3.0 mg/kg/日の用量で 14 日間反復経口投与したときの忍容性は良好であった。ポナチニブ及び AP24600 の曝露量は, 1.5 mg/kg/日と 3.0 mg/kg/日の間で用量に比例して増加した。ポナチニブの全身曝露量に性差は認められず，顕著な蓄積も認められなかった。AP24600 の全身曝露量は 1 日目に比べて 14 日目で最大 2.04 倍高値を示し，雄に比べて雌でやや高い傾向が認められた。未変化体に対する代謝物の曝露量比（nmol·h/L へ変換後の AUC 比）は，1.47～4.50 の範囲であり，概して用量増加に伴って上昇した。

本試験において，毒性試験（毒性試験の概要文）でラットにポナチニブを投与したときの AP24600 の曝露が確認された。また，ラットを用いた 28 日間経口投与毒性試験（Study No. QAA00122）で用いたポナチニブの用量を反復経口投与したときの定常状態における AP24600 の曝露量データも得られた。

2.6.4.3.4　カニクイザルにポナチニブを経口投与したときの薬物動態

カニクイザルにおける薬物動態パラメータを算出するため，2 試験を実施した。最初の試験ではクロスオーバーデザインを用いて，溶液及び実験的カプセル製剤を投与したときの薬物動態を比較した。次の試験では，5 mg カプセル（試作製剤）を経口投与したときの薬物動態パラメータと，単回急速静脈内投与したときの薬物動態パラメータを比較するとともに，ポナチニブをカプセル剤として経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティを算出した。

2.6.4.3.4.1　カニクイザルにポナチニブを溶液又はカプセル剤として経口投与したときのバイオアベイラビリティ

報告書番号 ARP049，データを 2.6.5.3.3 に示す。

目的

本試験の目的は，サルにポナチニブを溶液製剤又は実験的カプセル製剤（賦形剤と混合したポ

ナチニブ固形粉末を含有）として単回経口投与したときのポナチニブの薬物動態を明らかにすることであった。

方法

本試験はカニクイザルを用いてクロスオーバーデザインで実施した。1 日目，雄カニクイザル 5 例に 25 mmol/L クエン酸緩衝液（pH 2.75）を用いて調製した溶液を，ポナチニブとして 6 mg/kg（2 mL/kg）の用量で単回経口投与した。1 週間の休薬期間後，8 日目に，上記のサルそれぞれにポナチニブの実験的カプセル製剤 2 錠を 6 mg/kg の用量で経口投与した。カプセルには，ポナチニブ及び一般的に使用される賦形剤（微結晶性セルロース，クロスポビドン及びクエン酸）の乾燥混合物を充填した。両投与方法共に，投与後 15 及び 30 分，並びに 1，2，4，8，16，24，48 及び 72 時間に全ての動物から採血し，LC/MS/MS 法により，血漿中のポナチニブ及び AP24567（M42）濃度を測定した。サル 1 例が投与直後に嘔吐したため，解析には他の 4 例の動物から得られたデータを使用した。薬物動態パラメータは，ノンコンパートメントモデル（WinNonlin Version 5.1, Pharsight Corp，Mountain View，CA）を用いて算出した。

結果

カニクイザルに溶液製剤を投与したときの血漿中ポナチニブ濃度は投与後 4 時間に最高値に達し，C_{max} の平均値は 540 ng/mL であったが，動物間に大きなばらつきが認められた。カプセル剤を投与したときのポナチニブの C_{max} の平均値は 443 ng/mL であり，投与後 4～8 時間に認められた。ポナチニブの溶液又はカプセル剤を投与したときの平均ポナチニブ濃度推移を図 2.6.4-5 に示す。

AP24567 の血漿中濃度は，概してポナチニブ濃度に比べて 1 桁低かった。ポナチニブの溶液又はカプセル剤を投与したときの AP24567 の C_{max} は，それぞれ 30 及び 17 ng/mL であった。

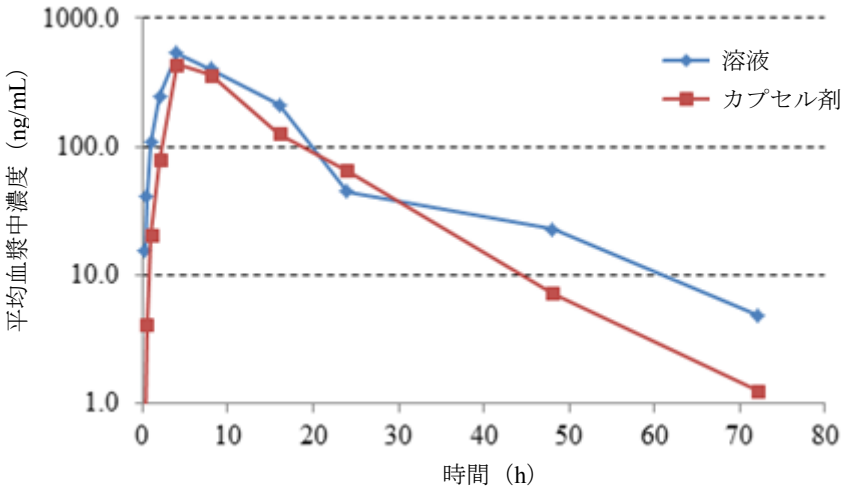


図 2.6.4-5　　サルにポナチニブを 6 mg/kg の用量で経口投与したときの平均血漿中ポナチニブ濃度推移

注：ポナチニブ濃度の平均値は動物 4 例から計算した。サル 1 例が溶液製剤投与直後に嘔吐したため，このサルの血漿データは含めなかった。

薬物動態パラメータの平均値を表 2.6.4-9 に示す。

表 2.6.4-9　　サルにポナチニブを溶液製剤又はカプセル製剤として単回経口投与したときのポナチニブの薬物動態パラメータ（平均値 ± SD）

製剤	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{last} (ng·h/mL)	AUC_{∞} (ng·h/mL)	AUC_{∞}比
溶液	540 ± 254	4	7.9 ± 3.3	7366 ± 3583	7509 ± 3523	NA
カプセル剤	443 ± 251	4	7.0 ± 1.6	5796 ± 3634	5831 ± 3618	0.71 ± 0.27

NA - 該当なし

ポナチニブの血漿中 $t_{1/2}$ は 7.9 時間（溶液）及び 7.0 時間（カプセル剤）であった。AUC_{∞}は 7509 ng·h/mL（溶液）及び 5831 ng·h/mL（カプセル剤）と算出され，AUC 比（AUC_{∞}［カプセル剤］／AUC_{∞}［溶液］）は 0.71 であった。

AP24567 の AUC_{∞}はポナチニブに比べて非常に低かった。ポナチニブに対する AP24567 の AUC_{∞}比は，溶液及びカプセル剤でそれぞれ 0.08 及び 0.04 であった。

結論

カニクイザルにポナチニブを経口投与したとき，ポナチニブは速やかに吸収され，t_{max} の平均値は 4 時間であった。$t_{1/2}$ は約 7.5 時間であった。溶液製剤と比較したカプセル製剤の相対的バイオアベイラビリティの平均値は 71%であった。ポナチニブの固形製剤を経口投与したときのバイオアベイラビリティは，溶液製剤を経口投与したときのバイオアベイラビリティと同程度と推定される。

2.6.4.3.4.2　カニクイザルにポナチニブを試作カプセル製剤として単回経口投与したときのバイオアベイラビリティ

報告書番号 ARP050，データを 2.6.5.3.3 に示す。

目的

本試験の目的は，サルにポナチニブを単回静脈内投与及び経口投与（第 I 相臨床試験で使用する予定のカプセル剤を投与）したときのポナチニブの薬物動態を明らかにすることであった。副次的目的は，ポナチニブの試作カプセル製剤を経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティを算出することであった。

方法

本試験はカニクイザルを用いてクロスオーバーデザインで実施した。1 日目，雄カニクイザル 5 例（体重範囲 5.1～7.4 kg）に，水（pH 3.5）で調製したポナチニブ溶液を単回急速静脈内投与（1 mg/kg, 0.2 mL/kg）した。8 日目，上記のサル（体重範囲 5.0～7.5 kg）それぞれに 5 mg カプセル 3 錠のポナチニブ（約 2～3 mg/kg）を経口投与した。このカプセル剤はポナチニブ塩酸塩（遊離塩基重量として[redacted]%），[redacted]（[redacted]%），[redacted]（[redacted]%），[redacted]（[redacted]%），[redacted]（[redacted]%）及び[redacted]（[redacted]）（[redacted]%）から構成されていた。各カプセルの総充填重量は[redacted] mg であり，ポナチニブ含量は 5.0 mg であった。

両投与方法共に，投与後 5，15 及び 30 分，並びに 1，2，4，8，16，24，48 及び 72 時間に全ての動物から血液を採取した。さらに，静脈内投与では 1 日目の投与後 2 分及び 8 日目の投与前の

血液を採取した。LC/MS/MS 法により，血漿中のポナチニブ及び AP24567 濃度を測定した。

結果

ポナチニブを静脈内又は経口投与したときの平均血漿中ポナチニブ濃度推移を図 2.6.4-6 に示す。

薬物動態パラメータは，ノンコンパートメントモデル（WinNonlin Version 5.1，Pharsight Corp, Mountain View，CA）を用いて算出した。薬物動態パラメータの平均値を表 2.6.4-10 に示す。

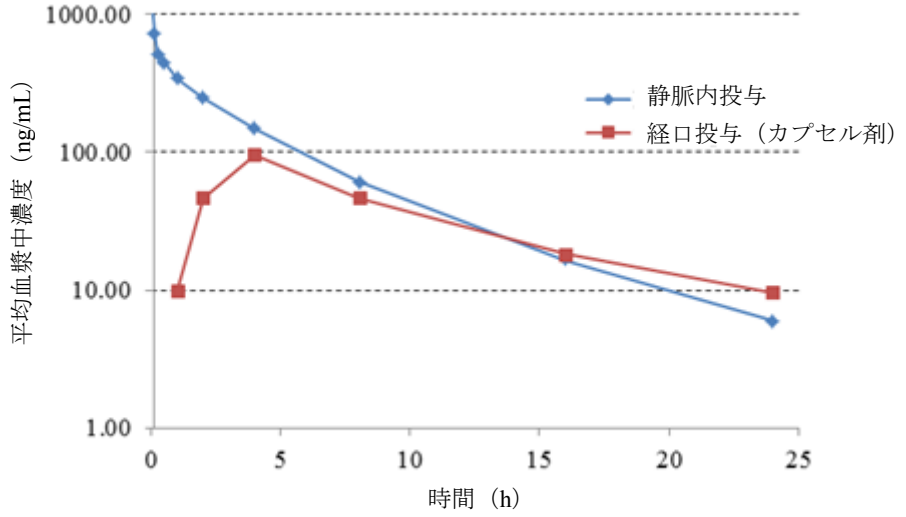


図 2.6.4-6　サルにポナチニブを静脈内又は経口（カプセル剤）投与したときの平均血漿中ポナチニブ濃度推移

表 2.6.4-10　サルにポナチニブを単回静脈内又は経口投与したときのポナチニブの薬物動態パラメータ（平均値 ± SD）

投与経路	投与量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{∞} (ng·h/mL)	CL (mL/min/kg)	V_{ss} (L/kg)
静脈内	1	1219 ± 525	-	5.3 ± 2.6	2096 ± 772	8.7 ± 2.4	2.6 ± 0.9
経口（カプセル）	2～3	96 ± 57	4	7.1 ± 2.3	942 ± 438	-	-

- = 該当せず

カニクイザルにポナチニブを静脈内投与したとき，C_{max}（1219 ng/mL）は投与後 2 分（最初の測定時点）に認められた。ポナチニブの血漿中濃度は投与後 24 時間まで定量可能であった。カプセル剤を投与したときのポナチニブの C_{max}（96 ng/mL）は，投与後 4 時間に認められた。ポナチニブの血漿中 $t_{1/2}$ は，静脈内投与後で 5.3 時間，経口投与後で 7.1 時間であった。AUC_{∞}の平均値は，静脈内投与後で 2096 ng·h/mL，経口投与後で 942 ng·h/mL であった。ポナチニブの血漿クリアランスは 8.7 mL/min/kg と低く，これは血中クリアランス 7.84 mL/min/kg（肝血流量の 18.0%）と同等であった。定常状態における分布容積（V_{ss}）は 2.6 L/kg（体内総水分量の 3.8 倍及び血液量の 35 倍）であり，血管外コンパートメントへ広範に分布することが示された。用量で補正した AUC_{∞} 比（経口カプセル／静脈内）から，経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 20.6%であった。

結論

カニクイザルにポナチニブ試作カプセル製剤経口投与したとき，ポナチニブは速やかに吸収され，t_{max} は 4 時間であった。静脈内及び経口投与したときの $t_{1/2}$ はそれぞれ 5.3 及び 7.1 時間であった。ポナチニブの血中クリアランスは低く，7.84 mL/min/kg であった。分布容積が 2.6 L/kg と大きかったことから，血管外に広範に分布することが示された。試作カプセル製剤を経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 20.6%であった。

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　マウス，ラット，サル及びヒトにおけるポナチニブの *in vitro* 血漿タンパク結合率

報告書番号 ARP053，データを 2.6.5.6.1 に示す。

目的

本試験の目的は，マウス，ラット，サル及びヒト血漿中でのポナチニブの *in vitro* 血漿タンパク結合率を算出することであった。

方法

ポナチニブのマウス，ラット，サル及びヒト血漿タンパク結合率は，Rapid Equilibrium Dialyzer（Pierce，Rockford，IL）を用いて測定した（分子量カットオフ 8,000 ダルトン）。100, 300, 1000 及び 3000 ng/mL のポナチニブを含む血漿試料を 0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4）に対して，95:5 O_2/CO_2 インキュベータ内にて 37°C で 8 時間（ただし，マウス血漿の場合は 2 時間）透析した。全ての実験は 4 連にて実施した。インキュベーション終了後，血漿及び緩衝液コンパートメントから等容量の試料を採取し，LC/MS/MS 法により個別にポナチニブ濃度を測定した。

結果

インキュベーションを通して，ポナチニブは血漿中で安定であった。マウス血漿を除いて，8 時間以前に平衡状態に達した。ポナチニブはインキュベーション後の試料からほぼ定量的に回収された。緩衝液及び血漿中のポナチニブ濃度（それぞれ C_{Buffer} 及び C_{Plasma}）を測定し，遊離型% = 100 ×（C_{Buffer}/C_{Plasma}）の式を用いて，遊離型%を算出した。結合率は 100 − 遊離型%の式により算出した。タンパク結合率のデータを表 2.6.4-11 に示す。

表 2.6.4-11　マウス，ラット，サル及びヒトにおけるポナチニブの *in vitro* 血漿タンパク結合率

濃度 (ng/mL)	血漿タンパク結合率（%）[a]			
	マウス	ラット	サル	ヒト
100	100.00	100.00	99.55	99.91
300	100.00	100.00	100.00	99.94
1000	99.98	100.00	99.61	99.93
3000	99.97	99.97	99.95	99.91
平均値	99.99	99.99	99.78	99.92

a　各濃度，4 連の平均値

結論

ポナチニブの血漿タンパク結合率は高く，マウス，ラット，サル及びヒトにおけるポナチニブの平均血漿タンパク結合率はそれぞれ 99.99%，99.99%，99.78%及び 99.92%であった。

2.6.4.4.2　高タンパク結合型併用薬によるポナチニブのヒト血漿タンパク結合置換

報告書番号 ARP350，データを 2.6.5.6.4 に示す。

目的

本試験の目的は，ヒト血漿タンパク結合率の高い薬剤を併用したときに，タンパク結合部位でポナチニブと置換するかを検討することであった。

方法

臨床で報告されている血漿中 C_{max} に相当する濃度のイブプロフェン，ニフェジピン，プロプラノロール，サリチル酸及びワルファリンの存在下及び非存在下において，ヒト血漿タンパク質へのポナチニブ（0.145 µmol/L，臨床治療量 45 mg を 1 日 1 回投与時の C_{max}）の結合率を算出した。ポナチニブのみ又はこれに加えて 5 種類の薬物それぞれを添加したヒト血漿を 37° C で，0.133 mol/L リン酸緩衝液（pH 7.4）に対して 8 時間透析した。透析後，血漿及び緩衝液コンパートメント試料中のポナチニブ濃度を LC/MS/MS 法により測定した。

結果

8 時間のインキュベーションを通して，ポナチニブはヒト血漿中で安定であり，回収率は 95%を超えていた。ポナチニブのみを添加したヒト血漿，並びにイブプロフェン，ニフェジピン，プロプラノロール，サリチル酸及びワルファリンをそれぞれ同時添加したヒト血漿中の遊離型ポナチニブは，それぞれ 0.47%，0.44%，0.38%，0.39%，0.41%及び 0.50%であり，ポナチニブのタンパク結合率はそれぞれ 99.53%，99.56%，99.62%，99.61%，99.59%及び 99.50%であった。イブプロフェン，サリチル酸及びワルファリンが存在しても，ポナチニブのみを添加したときの遊離型（非結合型）ポナチニブ（%）との間に有意差は認められなかったが，ニフェジピン及びプロプラノロール存在下では，統計学的有意差（$p < 0.05$）が認められた。イブプロフェン，ニフェジピン，プロプラノロール及びサリチル酸存在下での平均結合率はわずかに高かったのみであることから，認められた統計学的有意差は意味のあるものではないと考えられた。結論として，血漿タンパク結合部位において，ポナチニブが他の高タンパク結合型併用薬によって置換される可能性は低いことが示された。タンパク結合率データを表 2.6.4-12 に示す。

表 2.6.4-12　ポナチニブのタンパク結合率に対するイブプロフェン，ニフェジピン，プロプラノロール，サリチル酸及びワルファリンの影響

試験薬物（µmol/L）	ポナチニブのヒト血漿タンパク結合率 [a]	
	遊離型%	結合型%
ポナチニブ (0.145 µmol/L)	0.47 ± 0.07	99.53 ± 0.07
イブプロフェン (195 µmol/L)	0.44 ± 0.13	99.56 ± 0.13
ニフェジピン (0.09 µmol/L)	0.38 ± 0.03	99.62 ± 0.03
プロプラノロール (0.4 µmol/L)	0.39 ± 0.04	99.61 ± 0.04
サリチル酸 (5.6 µmol/L)	0.41 ± 0.06	99.59 ± 0.06
ワルファリン (1.6 µmol/L)	0.50 ± 0.05	99.50 ± 0.05

a　8 回の平均値 ± SD

2.6.4.4.3　　ポナチニブの *in vitro* 血液／血漿分配率

報告書番号 ARP053，データを 2.6.5.6.3 に示す。

目的

本試験の目的は，平衡状態におけるポナチニブの血液から血漿への分配率を測定することであった。

方法

マウス，ラット，サル及びヒト新鮮血液を用いて，*in vitro* における血液／血漿分配率及び赤血球移行率を測定した。各動物種について，ヘマトクリット値を測定した。血液試料に既知濃度のポナチニブを添加し，血液中の最終濃度を 120，300，1000 及び 3000 ng/mL とした。血液試料を 37℃ で 1 時間インキュベーションした。遠心分離により血液から血漿を分離し，LC/MS/MS 法によりポナチニブ濃度を測定した。血液中の設定濃度，定量により得られた血漿中濃度及びヘマトクリット値から，血液／血漿分配率及び赤血球移行率を算出した。

結果

ポナチニブの血液／血漿分配比及び赤血球移行率を表 2.6.4-13 に示す。

表 2.6.4-13　　マウス，ラット，サル及びヒトにおけるポナチニブの血液／血漿分配率

血液中濃度 (ng/mL)	血液／血漿分配比				赤血球移行率（%）			
	マウス	ラット	サル	ヒト	マウス	ラット	サル	ヒト
120	1.14	1.12	1.18	0.94	46.5	48.4	51.6	45.8
300	1.21	1.09	1.07	0.94	49.8	46.6	46.6	45.6
1000	1.19	1.18	1.06	0.99	48.9	50.7	46.2	48.4
3000	1.26	1.15	1.13	0.97	51.4	49.5	49.6	47.4
平均値	1.20	1.13	1.11	0.96	49.2	48.8	48.5	46.8

各動物種におけるポナチニブの血液／血漿分配比は，濃度範囲 120～3000 ng/mL でほぼ一定であり，マウス，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 1.20，1.13，1.11 及び 0.96 であった。同様に，各動物種におけるポナチニブの赤血球移行率も，濃度範囲 120～3000 ng/mL でほぼ一定であり，マウス，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 49.2%，48.8%，48.5%及び 46.8%であった。

結論

マウス，ラット，サル及びヒト血液中でのポナチニブの血液／血漿分配比は，それぞれ 1.20，1.13，1.11 及び 0.96 であった。マウス，ラット，サル及びヒト血液中でポナチニブは赤血球及び血漿に均等に分布し，赤血球への選択的な分布は認められなかった。

2.6.4.4.4　　ラット及びヒトにおける AP24600 の *in vitro* 血漿タンパク結合率

報告書番号 ARP312，データを 2.6.5.6.2 に示す。

目的

In vivo において，ポナチニブはアミド結合の加水分解を受けて酸代謝物及びアニリン代謝物を生成する。AP24600 は，ラット及びヒト血漿中の主要代謝物として同定され，サル血漿中では微

量代謝物であることが明らかになっている。本試験の目的は，ラット及びヒト血漿中での AP24600 の血漿タンパク結合率を算出することであった。

方法

AP24600 の血漿タンパク結合率は，初期血漿中濃度 0.2，1 及び 5 μmol/L で評価した。実験は Rapid Equilibrium Device を用いて，37℃ のインキュベータ中で各濃度につき 3 連で実施した。血漿試料を 0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4）に対して透析した。インキュベーション期間終了後，血漿及び緩衝液コンパートメントから等容量の試料を採取した。緩衝液試料は等容量の対照血漿で希釈し，分取した血漿試料については，等容量のブランク緩衝液で希釈した。その後，内標準物質を含む氷冷アセトニトリルを被験試料に添加し，ボルテックスミキサーにて撹拌後，遠心分離により得られた上清を LC/MS/MS 法により分析した。

結果

AP24600 の血漿タンパク結合率は高く，ラット及びヒト血漿でそれぞれ 94.7%及び 93.5%であった。

2.6.4.4.5 排出及び取込みトランスポーターに対するポナチニブの基質性及び阻害作用の評価

報告書番号 11ARIAP5R1，データを 2.6.5.8.1～2.6.5.8.5 に示す。

目的

本試験の目的は，トランスポーターである a) P-glycoprotein（P-gp），breast cancer resistance protein（BCRP），organic anion transporting polypeptides（OATP1B1 及び OATP1B3），及び organic cation transporters 1（OCT1）に対するポナチニブの基質性及び阻害作用，b) bile salt export pump（BSEP），organic anion transporters（OAT1 及び OAT3），及び organic cation transporter 2（OCT2）に対するポナチニブの阻害作用を評価することであった。

方法

Caco-2 細胞及び Caco-2 細胞における P-gp の発現をノックダウンした CPT-P1 細胞（Absorption Systems, PA, USA）を用いて，P-gp 及び BCRP に対するポナチニブの基質及び阻害特性を評価した。また，個々の取込みトランスポーター（OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT1，OAT3 及び OCT2）を遺伝子導入したヒト胎児腎細胞（HEK293）を用いて，対応するトランスポーターに対するポナチニブの基質性及び阻害作用を評価した。さらに，ポナチニブの BSEP 阻害作用に関する試験には，BSEP を発現させた反転膜小胞を使用した。

ポナチニブの P-gp 及び BCRP に対する基質性評価は，初期ポナチニブ濃度 0.5，1 及び 5 μmol/L で実施した。分析はトランスウェルプレートを用いて 3 連で実施し，加湿インキュベータ内でインキュベーションを行った（37 ± 1°C，5 ± 1%CO_2）。実験デザインに応じて，ポナチニブ溶液（HBSSg 緩衝液［10 mmol/L HEPES，25 mmol/L D-グルコースを含有するハンクス平衡塩溶液］を用いて調製）をドナー側又はレシーバー側のいずれかに入れ，HBSSg 緩衝液をもう一方の側に入れた。所定の時点において，ドナー側及びレシーバー側から緩衝液試料を分取し，LC/MS/MS 法によりポナチニブ濃度を測定した。P-gp 及び BCRP の特異的基質を陽性対照として使用した。

同様の実験条件を用いて，ポナチニブ（0.0165～12 μmol/L）による Caco-2 細胞でのジゴキシン（10 μmol/L）輸送の阻害及び CPT-P1 細胞でのクラドリビン（10 μmol/L）輸送の阻害を評価した。

ジゴキシン及びクラドリビン濃度は，LC/MS/MS 法により測定した。

取込み及び阻害試験では，特定のトランスポーターを遺伝子導入した HEK 細胞をプレートに播種した。全てのインキュベーションは加湿インキュベータ内で実施した（37 ± 1°C，5 ± 1% CO_2）。ポナチニブの基質性は，細胞取込み試験で評価した。この試験では，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 を発現する HEK 細胞を使用した。これらの細胞を HBSSg 緩衝液中でポナチニブ（0.5，1 及び 2 µmol/L）と共に最長 20 分間にわたりインキュベーションした。比較のため，ベクター対照細胞を用いて，同条件でのインキュベーションを実施した。インキュベーション後，溶媒を吸引除去し，氷冷 HBSSg で細胞を 2 回洗浄した。洗浄後の細胞を溶解し，溶解液中のポナチニブ濃度を LC/MS/MS 法により測定した。試験は各濃度及び各時点につき 3 連で実施した。また，別のウェルでトランスポーター特異的陽性対照のインキュベーションを行い，同様に処理した後，測定した。

6 種類それぞれのトランスポーターを発現する HEK 細胞株を用いて，ポナチニブの阻害作用を検討した。トランスポーター特異的基質の取込みをポナチニブ（2 µmol/L）存在下及び非存在下で評価した。トランスポーター特異的阻害薬を陽性対照として使用し，ベクター対照細胞をバックグラウンドとして使用した。試験操作は基質性評価の際と同様に実施し，調製した細胞溶解液中の特異的基質を定量した。

BSEP 阻害について検討するため，BSEP を発現させた反転膜小胞への 1 µmol/L ^{3}H-タウロコール酸（TCA）の取込みに対するポナチニブ（0.001～100 µmol/L）の阻害作用を評価した。反応は 96 ウェルプレートを用いて加湿インキュベータ内で 2 連にて 37°C，30 分間にわたり実施した。インキュベーション後，ガラス繊維フィルタープレートを通して急速濾過することにより，小胞に結合した ^{3}H-TCA と遊離型 ^{3}H-TCA を分離し，小胞結合型 ^{3}H-TCA の放射能をシンチレーションカウンター法により測定した。

結果

ポナチニブの排出及び取込みトランスポーターに対する基質性評価

Caco-2 細胞において，ポナチニブ（0.5～5 µmol/L の範囲）の見かけの透過係数（P_{app}）は約 4.5×10^{-6} cm/sec であり，経口投与したときの吸収性は良好である可能性が示された。Efflux ratio（B→A/A→B）は 2 より小さく，ポナチニブが Caco-2 細胞に存在する排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP の基質ではないことが示唆された。

OATP1B1，OATP1B3 又は OCT1 を遺伝子導入した HEK 細胞におけるポナチニブ（最高 2 µmol/L）の取込みは，ベクター対照細胞とほぼ等しかったことから，ポナチニブはこれらのトランスポーターの基質ではないことが示された。

ポナチニブの取込みトランスポーターOATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT1，OAT3，OCT2 及び排出トランスポーターP-gp，BCRP，BSEP に対する阻害作用評価

ポナチニブ（2 µmol/L）は，a）OATP1B1-HEK 細胞及び OATP1B3-HEK 細胞におけるアトルバスタチン（0.15 µmol/L）の取込みを阻害せず（阻害率 0%），b）OCT1-HEK 細胞及び OCT2-HEK 細胞におけるメチルフェニルピリジニウムヨージド（5 µmol/L）の取込みをそれぞれ 5.98%及び 14.7%阻害し，c）OAT1-HEK 細胞におけるパラアミノ馬尿酸（40 µmol/L）の取込みを阻害せず（阻害率 0%），d）OAT3-HEK 細胞におけるフロセミド（0.15 µmol/L）の取込みを 3.49%阻害した。

これらの阻害試験で検討したポナチニブ濃度 2 μmol/L は，ヒトに 1 日量 45 mg を投与したときの定常状態における血漿中 C_{max} の幾何平均値 77.41 ng/mL（変動係数［CV］49.9%，0.145 μmol/L）（臨床薬理の概要）の 10 倍を超えている。阻害率が 50%を超えることはなかったことから，ポナチニブは上記 6 種類のトランスポーターOATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT1，OAT3 及び OCT2 のいずれの阻害薬にも分類されないと考えられた。

ポナチニブは P-gp を介するジゴキシンの輸送を濃度依存的に阻害することが示された（図 2.6.4-7）。IC_{50} 値は 0.491 μmol/L であった。

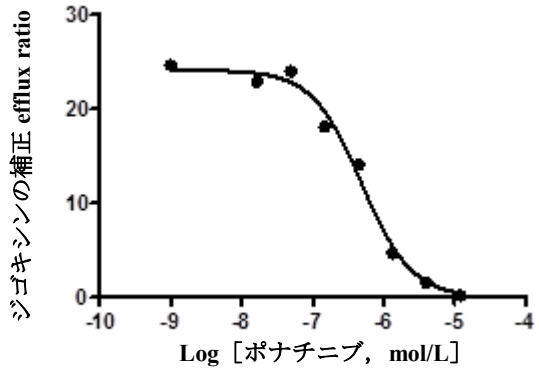


図 2.6.4-7　　P-gp を介したジゴキシン輸送に対するポナチニブの阻害作用

ナチニブは BCRP を介するクラドリビンの輸送に対しても濃度依存的な阻害作用を示した（図 2.6.4-8）。IC_{50} 値は 0.013 μmol/L であった。

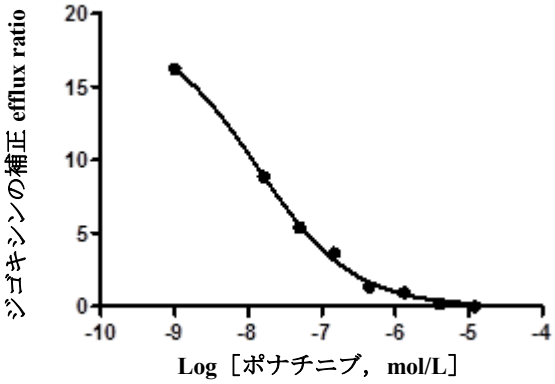


図 2.6.4-8　　BCRP を介したクラドリビン輸送に対するポナチニブの阻害作用

ポナチニブはヒト BSEP 発現膜小胞への ^{3}H-TCA（BSEP のプローブ基質）の取込みを濃度依存的に阻害し（図 2.6.4-9），IC_{50} 値は 32.0 μmol/L であった。

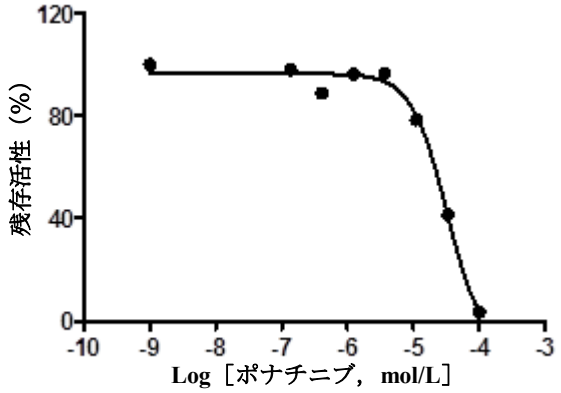


図 2.6.4-9　　BSEP 発現膜小胞への ^{3}H-TCA 取込みに対するポナチニブの阻害作用

結論

ポナチニブは P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 の基質ではなかった。また，ポナチニブは OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT1，OAT3 及び OCT2 を阻害しないが，P-gp，BCRP 及び BSEP をそれぞれ，IC_{50} 値 0.491，0.013 及び 32.0 µmol/L で阻害した。

2.6.4.4.6　　ラットにおける組織内分布

報告書番号 280N-1101，データを 2.6.5.5.1 及び 2.6.5.5.2 に示す。

目的

本試験の目的は，LE 有色雄ラット（第 1 群）及び SD 白色雄ラット（第 2 群）に ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの放射能の組織内分布を定量的全身オートラジオグラフィーにより評価することであった。

方法

LE ラット（第 1 群, n = 9）及び SD ラット（第 2 群, n = 3）に, ^{14}C-ポナチニブ（比放射能 21.3 µCi/mg 遊離塩基）を 25 mmol/L クエン酸緩衝液（pH 2.75）溶液として，それぞれ 9.86 及び 10.17 mg/kg の用量で経口投与した。ラットは投与前一晩及び投与後 4 時間まで絶食させた。第 1 群の場合は投与後 1，2，4，8，24，48，96，168 及び 672 時間の各時点につき 1 個体を，第 2 群の場合は投与後 1，24 及び 168 時間の各時点につき 1 個体を使用した。血液及び血漿の前処理を行い，LSC 法により放射能濃度を測定した。組織中放射能濃度は，バリデーション済みの蛍光イメージング法を用いて，全身スライスのオートラジオグラムで測定した。この定量法の定量下限（LLOQ）は 0.033 µg eq./g 組織，定量上限は 347.906 µg eq./g 組織であった。

結果

有色ラットにおける血液中 C_{max} は 1.792 µg eq./g であり，投与後 2 時間に認められた。白色ラットにおける血液中 C_{max} は 2.362 µg eq./g であり，投与後 1 時間に認められた。有色及び白色雄ラットのいずれにおいても，血液中濃度は投与後 168 時間には LLOQ 未満に低下した。有色ラットにおける血液／血漿分配比は，投与後 1 時間の 0.542 から投与後 96 時間の 0.846 の範囲であり，白色ラットでは投与後 1 時間の 0.577 から投与後 24 時間の 0.616 の範囲であった。有色雄ラットに ^{14}C-ポナチニブを単回経口投与したとき，薬物由来放射能は吸収され，組織に広く分布し，投与後

1 時間から 672 時間までの間，大部分の組織中濃度は血液中濃度に比べて高い濃度を示した。大部分の組織（43 組織中 20 組織）において，放射能濃度は投与後 8 時間までに最高値（C_{max}）に達した。

有色ラットにおいて，C_{max} が 20 µg eq./g より高かった組織を表 2.6.4-14 に示す。

表 2.6.4-14　　有色ラットにおいて 20 µg eq./g 以上の放射能濃度が認められた組織

組織又は生体試料	C_{max} (µg eq./g)	t_{max} (h)	組織又は生体試料	C_{max} (µg eq./g)	t_{max} (h)
脾臓（全体）	30.133	4	甲状腺	27.559	2
脾臓（赤脾髄）	35.206	4	ハーダー腺	34.568	24
脾臓（白脾髄）	41.136	8	肺	48.075	8
胆汁（胆管内）	98.62	1	盲腸内容物	276.383	8
腎皮質	27.952	4	食道	106.414	1
肝臓	46.806	2	大腸内容物	186.656	8
膀胱内容物	88.452	4	小腸	1238.467	4
脳（髄膜）	71.284	48	小腸内容物	963.333	2
副腎	37.85	8	胃内容物	882.004	1
下垂体	44.505	8	眼（ブドウ膜）	86.632	96

有色ラットにおいて C_{max} が 2 µg eq./g 未満の組織は，中枢神経系（0.393～0.663 µg eq./g，ただし投与後 48 時間の脳髄膜 71.284 µg eq./g を除く），骨（0.457 µg eq./g），眼の水晶体（0.161 µg eq./g）及び精巣（1.433 µg eq./g）であった。

投与後 24 時間以降，大部分の組織で放射能濃度が低下し始めた。投与後 672 時間においても，大部分の組織（43 組織中 27 組織）に薬物由来放射能が残存していたが，濃度は 1.0 µg eq./g 未満であった。ただし，眼（ブドウ膜：46.655 µg eq./g），脳（髄膜：6.700 µg eq./g）及び副腎（2.572 µg eq./g）は例外であった。組織からの放射能の消失は，最終時点（投与後 672 時間）で完了していなかったが，全ての組織で経時的に放射能濃度が低下する傾向が認められたことから，消失が継続していることが示唆された。

白色ラットにおいて，薬物由来放射能は吸収され，全ての組織に広く分布した。大部分の組織（40 組織中 26 組織）において，濃度は投与後 24 時間までに最高値に達した。白色ラットの場合，その試験デザインから，投与後 1 時間と 24 時間の間で C_{max} を特定することはできなかった。したがって，最高放射能濃度が 10 µg eq./g 以上であった濃度及びその組織を表 2.6.4-15 に示す。

表 2.6.4-15　　白色ラットにおいて 10 μg eq./g 以上の放射能濃度が認められた組織

組織又は生体試料	最高濃度 (μg eq./g)	時間 (h)	組織又は生体試料	最高濃度 (μg eq./g)	時間 (h)
脾臓（全体）	10.308	24	肺	15.149	1
胆汁（胆管内）	61.895	1	盲腸内容物	72.412	24
腎皮質	15.626	1	食道	61.889	1
肝臓	38.038	1	大腸内容物	89.516	24
膀胱	5.802	1	小腸	144.519	1
副腎	22.336	24	小腸内容物	563.912	1
下垂体	18.266	24	胃内容物	196.578	1
甲状腺	12.436	24	口腔粘膜	10.061	24
ハーダー腺	70.62	24			

白色ラットの組織中最高濃度が 2 μg eq./g 未満であったのは, 中枢神経系（0.353～0.232 μg eq./g）, 骨（0.249 μg eq./g），眼の水晶体（0.061 μg eq./g），精嚢（0.822 μg eq./g），骨格筋（1.332 μg eq./g）及び白色脂肪（1.153 μg eq./g）であった。投与後 168 時間において，放射能の消失は完了しておらず，副腎（5.984 μg eq./g），ハーダー腺（5.298 μg eq./g）及び心臓（心内膜：1.610 μg eq./g）で測定可能な放射能（1 μg eq./g を超える濃度）が検出されたが，放射能濃度は経時的に低下する傾向が認められ，消失が継続していることが示唆された。

結論

有色ラットにおける放射能の分布は白色ラットと同様であったが，投与後同時点における組織中放射能濃度にわずかな差が認められた。白色ラットの一部の組織中濃度は，有色ラットに比べて高かったが，投与後 168 時間における組織中放射能濃度は概ね同程度であった。有色ラットの色素含有組織である眼のブドウ膜における組織中放射能濃度（C_{max}：86.632 μg eq./g，96 時間）は，白色ラットの同じ組織で認められた濃度（C_{max}：2.099 μg eq./g，24 時間）に比べて著しく高く，薬物由来放射能がメラニンに結合することが示唆された。

2.6.4.4.7　　胎盤通過

試験は実施しなかった。

2.6.4.5　代謝

ポナチニブは代謝を受けやすい複数の骨格を含んでいる。代謝部位を図 2.6.4-10 に示す。

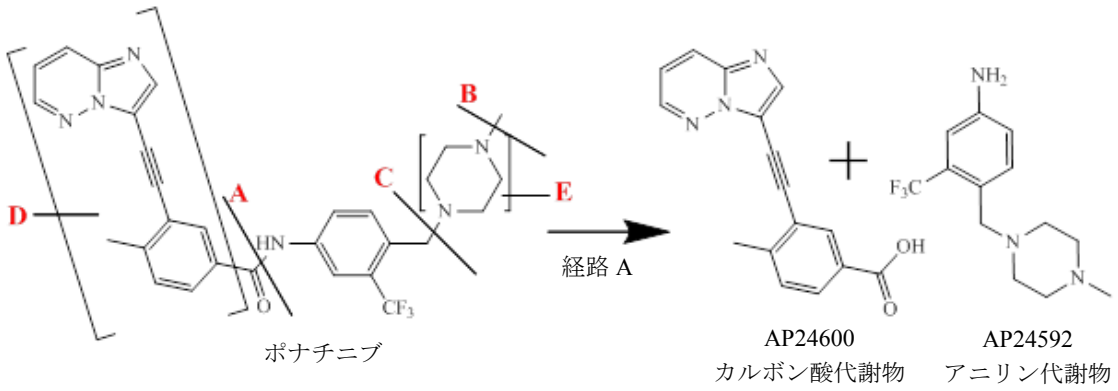


図 2.6.4-10　　ポナチニブの代謝部位

ポナチニブは *in vivo* でアミド結合（部位 A）の加水分解を受ける。ポナチニブは 1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液（pH 14）中では 40° C で 48 時間にわたり安定であり，1 mol/L 塩酸（pH 0）中での加水分解はわずか 2～3%程度であることが明らかになっている（Report 4988）。したがって，ポナチニブが *in vivo* で化学的に分解される可能性は非常に低い。ポナチニブの *in vivo* での加水分解には，おそらくエステラーゼ又はプロテアーゼが関与していると考えられる。アミド結合 A が開裂すると，AP24600 及び AP24592 が生成する。両代謝物は更に代謝を受ける。例えば，AP24600 はグルクロン酸抱合及び芳香環又は複素環（部位 D）のエポキシ化を介したグルタチオン（GSH）付加体及びメルカプツール酸経路由来の代謝物を生成する。AP24592 は反応性が高く，グルクロン酸抱合，水酸化アミンの生成及び硫酸化等，様々な代謝反応を受ける。また，ピペラジン環（部位 E）では酸化反応，ラクタム形成及び N-脱メチル化が起こる。さらに，部位 B 及び C における代謝では，N-脱アルキル化された代謝物が生成する。

動物及びヒトにおけるポナチニブの *in vivo* 代謝では，部分的に AP24600 及び AP24592 のさらなる代謝が認められた。ポナチニブ自体は様々な修飾を受け，生成する代謝物は糞中に多く存在し，血漿及び尿中での存在率は低かった（又は微量であった）。標識体を用いた試験において，AP24600 部分には標識が保持されるが，AP24592 部分には含まれない。AP24592 由来代謝物については，高分解能質量分析装置で得られたデータを用いて，可能な限り定性的に追跡した。

代謝試験で使用した一般的分析方法

代謝／マスバランス試験では十分に確立された手法を使用した。概要をここに示し，個々の試験では手順の詳細には触れない。

代謝／マスバランス試験において，血液，血漿，胆汁，排泄物及びケージ洗浄液／拭き取り中の放射能濃度は，直接又は燃焼処理後，LSC 法により測定した。

代謝物プロファイルを得るため，血液，胆汁，尿，糞及び *in vitro* インキュベーション混合物の有機溶媒抽出液を質量分析装置（正イオンエレクトロスプレーイオン化）で分析すると同時に，

96 ウェルプレートに各フラクションを回収した。各ウェル内の放射能及び溶出時間からラジオクロマトグラムを作成した。ラジオクロマトグラムにおける放射能ピーク（又は領域）を保持時間により特定し，ピークの放射能の合計に対する各ピーク（又は領域）の放射能の割合を計算した。

代謝物を同定するため，対象イオンのフルスキャン及びプロダクトイオンスキャンデータを収集し，代謝物のプロトン化分子を指標とした抽出イオンクロマトグラム及びプロダクトイオンスペクトルを作成した。代謝物のフルスキャン及びプロダクトイオンスペクトルとポナチニブ及び合成代謝物標品のスペクトルを比較することにより，代謝物を同定した。MS データから推定代謝物を検索するための「時間帯」を選定するためにラジオクロマトグラムを利用した。代謝物の詳細なマススペクトル評価は，高分解能質量分析装置で得られたデータを用いて実施した。

2.6.4.5.1　　マウスに単回経口投与したときのポナチニブの代謝

報告書番号 ARP265，データを 2.6.5.9.1 に示す。

目的

遺伝毒性試験（Study 6843-154）として CD-1 マウスにポナチニブ（最高 2000 mg/kg）を経口投与するマウス小核試験を実施し，染色体異常誘発作用及び有糸分裂装置損傷作用を検討した。さらに，マウスを用いた安全性薬理試験を実施し，中枢神経系に対するポナチニブの影響を評価した。

本試験の主な目的は，a）マウス血漿中の代謝物を特定すること，b）マウス血漿中の代謝物組成をヒト血漿と比較することで，遺伝毒性試験及び安全性薬理試験においてマウスが適切な動物種であることを立証することであった。

方法

CD-1 雄マウス 15 例（体重 27～30 g）にポナチニブの 18.5 mg/mL 溶液製剤（pH 2.75 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液を用いて調製，飽和濃度付近）を単回経口投与（375 mg/kg，20 mL/kg）した。投与後 0.5，2，4，6 及び 24 時間に，各時点につきマウス 3 例から血液を採取し，遠心分離して血漿を得た。これらの血漿を時間ごとにプールし，ポナチニブ及び代謝物 AP24600，AP24567 及び AP24734 を LC/MS/MS 法により定量した。また，血漿をプールして 0～24 時間試料を調製し，別の質量分析装置で分析して血漿中の代謝物検索を行った。

結果

マウス血漿中のポナチニブ及び代謝物の濃度を表 2.6.4-16 に示す。AUC 値はノンコンパートメント法による薬物動態データ解析ソフトウェア「PK Solutions 2.0」（Summit Research Solutions, Colorado，USA）を用いて計算した。

表 2.6.4-16　　マウスにポナチニブを 375 mg/kg の用量で経口投与したときのポナチニブ及び代謝物の平均血漿中濃度

時間 (h)	ポナチニブ (ng/mL)	AP24600 (ng/mL)	AP24567 (ng/mL)	AP24734 (ng/mL)
0.5	1384.2	3689.2	135.2	73.8
2	2998.1	5288.1	556.3	175.5
4	2159.9	4032.8	490.3	88.8
6	1639.9	2026.2	413.1	53.7
24	1194.9	1829.1	360.2	74.7
AUC (ng·h/mL)	38104	57733	9462	1768
AUC (nmol/L·h)	71548	208211	18247	3223
AUC 比［代謝物／ポナチニブ］（%）	100	291	25.5	4.5

注：AUC 比は AUC（nmol/L·h）値から計算した。ポナチニブ遊離塩基の分子量は 532.56 である。

マウスに 375 mg/kg という非常に高用量を経口投与したとき，ポナチニブ及び代謝物の血漿中濃度は投与後 2 時間に最高値に達し，C_{max} 値はポナチニブ，AP24600，AP24567 及び AP24734 でそれぞれ，2998.1，5288.1，556.3 及び 175.5 ng/mL であった。AP24600，AP24567 及び AP24734 の曝露量はそれぞれ，ポナチニブの 291%，25.5%及び 4.5%であった。

高分解能質量分析装置を用いて代謝物の検索を行った。認められた代謝物の抽出イオンクロマトグラムを図 2.6.4-11 に示す。代謝物のイオン化効率に差があるため，クロマトグラムのピーク面積は血漿中での実際の代謝物量には比例しない。したがって，抽出イオンクロマトグラムは定性的に解釈する必要がある。

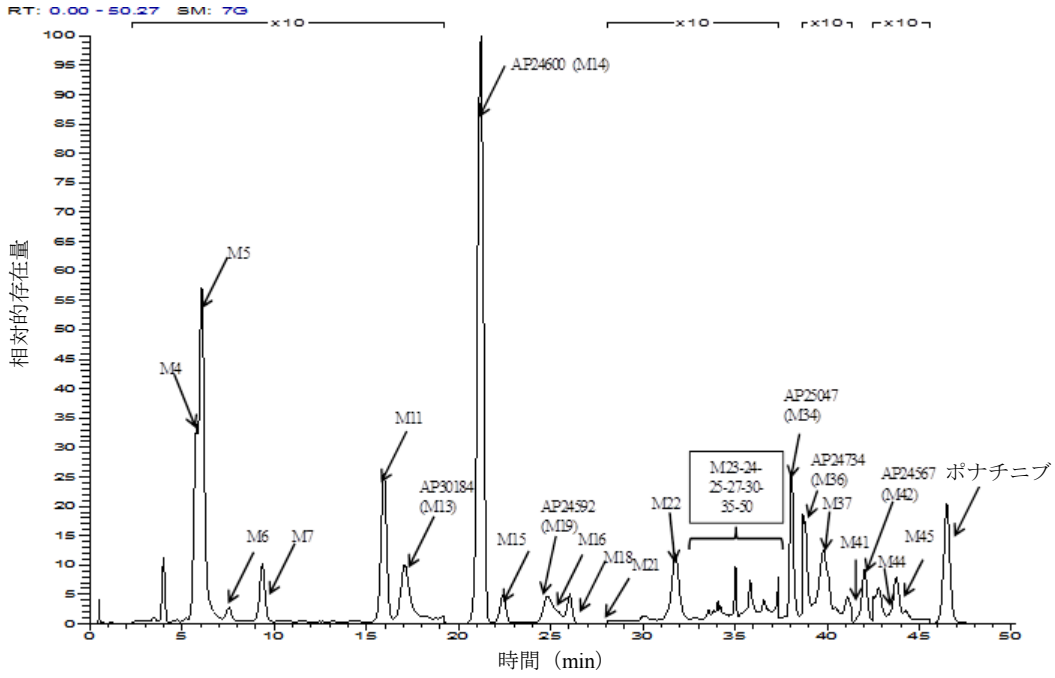


図 2.6.4-11　　マウスにポナチニブを経口投与したときの 0～24 時間プール血漿における代謝物の抽出イオンクロマトグラム

注：2.49～19.2 分，28.56～37.4 分，38.56～41.51 分及び 42.49～45.64 分の領域では，抽出イオンクロマトグラムを 10 倍増幅した。

代謝物の ID，保持時間，プロトン化分子の測定値，精密質量の理論値，測定値と理論値の質量差及び推定代謝物を表 2.6.4-17 に示す。また，推定代謝経路及び代謝物の構造を図 2.6.4-25 及び図 2.6.4-26 に示す。

全ての代謝物のプロトン化分子について，測定値と精密質量値の差が 3 mmu 未満であったことから，推定構造と一致する可能性が高いことが示された。本試験は非標識ポナチニブを用いて実施され，また，代謝物標品がなかったことから，代謝物の定量はできなかった。

表 2.6.4-17　　マウス血漿中のポナチニブの推定代謝物

代謝物 ID	保持時間（分）	MH^+イオンの m/z 測定値	m/z 理論値	質量差 (mmu)	推定代謝物
M4	5.75	450.1847	450.1846	- 0.1	AP24592 の N-グルクロニド
M5	6.02	466.1795	466.1796	0.1	水酸化 AP24592 の N-グルクロニド
M6	7.5	450.1845	450.1846	0.1	AP24592 の N-グルクロニド
M7	9.6	466.1797	466.1796	- 0.1	水酸化 AP24592 の N-グルクロニド（M5 の異性体）
M11	15.97	454.1243	454.1245	0.2	AP24600 のアシルグルクロニド 異性体 1
M13	17.06	260.1367	260.1369	0.2	AP24592 の N-脱メチル体（AP30184）
M14	21.21	278.0924	278.0924	0	AP24600
M15	22.41	454.1246	454.1245	- 0.1	AP24600 のアシルグルクロニド 異性体 2
M16	25.23	454.1246	454.1245	- 0.1	AP24600 のアシルグルクロニド 異性体 3
M18	26.05	385.0967	385.0965	- 0.2	AP24600 のタウリン抱合体
M19	24.79	274.1523	274.1526	0.3	AP24592
M21	27.38	308.1026	308.103	0.4	水酸化 AP24600 のメチルエステル
M22	31.76	316.1630	316.1631	0.1	AP24592 のアセチル化物
M23	34.23	465.1165	465.1169	0.4	ポナチニブの N-脱ピペラジニルカルボン酸（AP32318）
M24	35.53	725.2536	725.2541	0.5	水酸化ポナチニブのグルクロン酸抱合体
M25	37.63	563.2010	563.2013	0.3	ポナチニブの酸化及びラクタム化物
M27	37.66	535.2062	535.2064	0.2	水酸化 AP24567
M30	36.89	739.2331	739.2334	0.3	ポナチニブのメチルピペラジン部分が代謝されたカルボン酸のグルクロン酸抱合体
M34	38.07	292.1078	292.1081	0.3	AP24600 のメチルエステル（AP25047）
M35	37.67	561.1854	561.1856	0.2	ピペラジンの 2 箇所のラクタム化物
M36	38.66	549.2218	549.2220	0.2	ポナチニブの N-オキシド（AP24734）
M37	39.61	545.1906	545.1907	0.1	ピペラジンの不飽和化及びラクタム化物 異性体 1
M40	42.81	545.1906	545.1907	0.1	ピペラジンの不飽和化及びラクタム化物 異性体 2
M42	42.03	519.2111	519.2115	0.4	ポナチニブの N-脱メチル体（AP24567）
M43	37.40	547.2422	547.2428	0.6	ポナチニブのメチル化物
M44	43.77	545.1904	545.1907	0.3	ピペラジンの不飽和化及びラクタム化物 異性体 3
M45	43.90	563.1832	-		未知
M50	35.24	567.2327	567.2326	0.1	ポナチニブのジヒドロジオール体
AP24534	46.47	533.2263	533.2271	0.8	ポナチニブ

注：抽出イオンクロマトグラムにおいて，代謝物を容易に視覚化できるように，4.5～18.2 分及び 26.0～46.0 分の 2 つの領域を 10 倍に増幅した。マウス血漿中の主要代謝物は AP24600（M14）であり，この他に検討対象となる代謝物は M15，M36 及び M42 であった。

ヒト血漿中で（図 2.6.4-21），ポナチニブ及び代謝物が血漿中総放射能に対する割合は，ポナチニブ：25.5%，AP24600（M14）：14.9%，M15：3.4%，AP32318（M23）：7.0%，M24：2.1%及び M29：6.0%であった。M29 を除くこれら全ての代謝物がマウス血漿中でも定性的に検出された。

M29 は検出されなかったが，M29 の水酸化体（M24）が検出されたことから，マウス血漿中でも M29 が生成していると推定された。マウス血漿中の主要代謝物は AP24600 であった。

結論

マウス血漿中の主要代謝物は AP24600 であり，AUC レベルでポナチニブの 291%に相当した。マウス血漿中の代謝物は主に，加水分解により生成した AP24600 及び AP24592 が更に代謝されて生成したものであった。ヒト全身循環中に存在するポナチニブ代謝物の全てがマウス血漿中にも定性的に確認されたことから，小核試験及び安全性薬理試験においてマウスが適切な動物種であることが立証された。

2.6.4.5.2　　ラットに ^{14}C-ポナチニブを単回経口投与したときの代謝及び排泄

報告書番号 ARP260，データを 2.6.5.9.2 に示す。

目的

ラットを用いたこの試験の目的は，1）SD 雄ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの放射能の胆汁，尿及び糞中への排泄量を測定し，2）血液，胆汁，尿及び糞中の代謝物組成を明らかにし，代謝物を特定することであった。投与，試料採取，試料処理，代謝物検索及び構造解析について下記に説明した。

方法

3 群の SD 雄ラットに ^{14}C-ポナチニブの溶液製剤（25 mmol/L クエン酸緩衝液，pH 2.75 を用いて調製）を単回経口投与した。3 群の内訳は，1）BDC ラット（1M 群，n＝6），2）正常ラット（2M 群，n＝4）及び 3）正常ラット（3M 群，n＝14）であった。ラットの体重は平均で 297 g（範囲：263～319 g）であり，週齢は約 7～10 週齢であった。ラットは投与前に一晩絶食させた。投与量（及び投与放射能）は，1M 群：9.39 mg/kg（198.9 μCi/kg），2M 及び 3M 群：9.47 mg/kg（200.6 μCi/kg）であった。

胆汁試料は 1M 群において，投与前並びに投与後 0～8，8～16，16～24，24～48 及び 48～72 時間に採取した。尿及び糞試料は，1M 及び 2M 群で投与前並びに投与後 0～24，24～48 及び 48～72 時間，2M 群では更に投与後 72～96 及び 96～120 時間に採取した。1M 及び 2M 群のラットはそれぞれ，投与後 72 及び 120 時間に安楽死させた。各試料の採取後，ケージを水で洗浄し，洗浄液を回収した。試験終了時（投与後 72 及び 120 時間）には，ケージ洗浄及び拭き取りを実施し，試料を採取した。3M 群では，投与後 1，4，6 及び 8 時間に各時点につきラット 2 例から，投与後 24 及び 48 時間に各時点につきラット 3 例から血液を採取し，血漿を調製した。

結果

^{14}C-ポナチニブを約 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，1M 群のラットの胆汁中から 54.36%の放射能が回収された。2M 群のラットでは，放射能は主に糞中に排泄され（88.38%），尿中排泄は少量であった（10.15%）。

血漿中代謝物

3M 群のラットから採取した血漿をプールしてアセトニトリルで抽出した。溶媒抽出段階における放射能の回収率は 85～109%であり，量的にほぼ回収された。血漿中代謝物の HPLC-ラジオクロマトグラムを図 2.6.4-12，投与後 1，4，6，8 及び 24 時間並びに 0～24 時間のプール血漿中の代謝物の割合を表 2.6.4-18 に示す。また，推定代謝経路及び代謝物の構造を図 2.6.4-25 及び図

2.6.4-26 に示す。

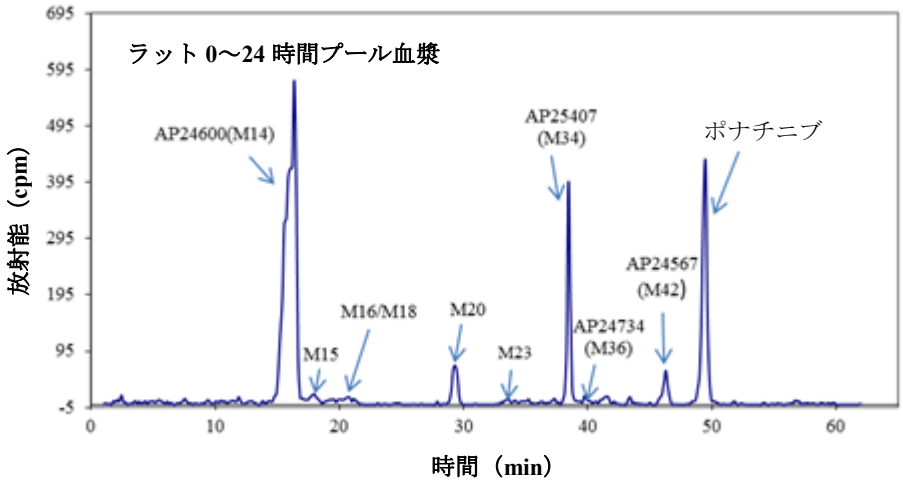


図 2.6.4-12　　ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～24 時間プール血漿のラジオクロマトグラム

表 2.6.4-18　　ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの血漿中代謝物の総放射能に対する割合

代謝物 ID	保持時間（分）	血漿試料中総放射能に対する%[a]					
		1 時間	4 時間	6 時間	8 時間	24 時間	0～24 時間
M10	9.5-10.2	NR	NR	1.0	NR	NR	NR
M11	11.1-11.8	NR	NR	1.4	NR	NR	NR
M14 (AP24600)[b]	15.5-18.0	78.4	56.8	49.4	34.1	29.8	50.2
M15	16.5-18.8	5.3	2.0	5.6	1.0	1.0	1.6
M16/M18	17.0-22.0	4.9	2.5	8.2	5.6	1.9	1.2/1.0
M20	29.0-31.5	NR	3.2	2.4	10.6	11.7	3.4
M34 (AP25047)	38.0-40.0	2.5	8.3	3.0	4.7	6.6	12.1
M36 (AP24734)	38.8-41.2	< 0.1	0.7	0.4	0.5	0.9	0.6
M42 (AP24567)	45.5-46.6	0.2	1.3	2.2	4.5	6.4	2.5
ポナチニブ	48.9-53.9	7.0	15.7	18.6	22.5	25.8	19.1

a: 各試料中の総放射能に対する割合が 0.5%を超えるピークのみを示した。ただし，*in vitro* における主要代謝物である AP24734 及び AP24567 も含めた。この他，総放射能に対する割合が 0.5%未満の複数の代謝物が認められたが，ラジオクロマトグラムでは顕著なピークではなく，この表には示していない。MS 分析により，血漿中に微量の AP24592 のアセチル化物（M22）が検出された。

b: AP24600 とともに微量の AP24600 のグルクロン酸抱合体（M15a）が溶出した。

NR - 報告せず（存在しないか，又は 1%未満）。

ラットの 0～24 時間プール血漿において，放射能の大部分はアミド加水分解により生成した代謝物 AP24600（M14）及びその代謝物であった。AP24600，ポナチニブ及び A25047（M34）が主要成分であり，それぞれ血漿中総放射能の 50.2%，19.1%及び 12.1%であった。この他に，AP24600 のグルクロン酸抱合体（M15a，M15，M16），AP24600 のメチルスルフィド（M20）及び AP24600 のタウリン抱合体（M18）がそれぞれ血漿中総放射能の 0.5%，1.6%，1.2%，3.4%及び 1.0%であった。また，AP24567（M42）及び AP24734（M36）は血漿中総放射能の 2.5%及び 0.6%であった。

クロマトグラフィーでは分離されなかった多数の微量代謝物が認められ，これらのピークを合計すると総放射能の約 8%であった（各ピークは総放射能の 0.5%未満）。図 2.6.4-12 には示していないが，微量代謝物として M11，M12，M15a，M17，M21，AP32318（M23），M27，M31，M38，M39，M40 及び M43 が認められた。

胆汁中代謝物

胆汁中代謝物の HPLC-ラジオクロマトグラムを図 2.6.4-13 に示すとともに，胆汁中代謝物の割合を表 2.6.4-19 に示す。

胆汁中のポナチニブの主要代謝物は AP24600，AP25047，AP24600 の GSH 抱合体（M8）及びシステイン抱合体（M9）であった。0～72 時間胆汁において，AP24600（M14），AP25047（M34），M8 及び M9 が胆汁中総放射能に対する割合はそれぞれ，8.4%，23.0%，8.4%及び 7.0%であった。また，AP24600 の GSH 抱合体から生成する代謝物（M2，M3，M10，M12 及び M20）が特定され，それぞれ放射能の 2.1%，2.5%，1.5%，1.9%及び 0.5%であった。これらの代謝物は，AP24600 の N-アセチルシステイン-スルホキシド抱合体（M2），AP24600 の γ グルタミルシステイン抱合体（M3），AP24600 のシステイン-グリシン抱合体（M10），AP24600 のメルカプツール酸（M12）及び AP24600 のメチルスルフィド（M20）と同定された。また，AP24600 のアミノ酸抱合体として，AP24600 のグリシン抱合体（M17）及びタウリン抱合体（M18）が同定され，それぞれ総放射能の 0.5%及び 1.1%だった。さらに，AP24600 からアシルグルクロニドも生成し，分子内トランスエステル化により O-グルクロニドの異性体（M11，M15 及び M16）を生成し，それぞれ胆汁中総放射能の 1.0%，1.9%及び 0.5%であった。また，微量ではあるが，2 種類の水酸化 AP24600 メチルエステル（M21 及び M28）も検出された。

33～38 分に溶出した代謝物は胆汁中総放射能の 15%であり，これには M21，M23，M25，M27，M28，M29，M31，M32，M33 及び M35 が含まれていた。各代謝物の胆汁中放射能に対する割合は約 0.5～3%であり，これらの代謝物の大部分はピペラジン環の酸化，すなわち水酸化及びラクタム化によるものであった。胆汁中での広範な代謝は，手術後の酵素変化に関連している可能性がある（Bachir-Cherif, 2011）。

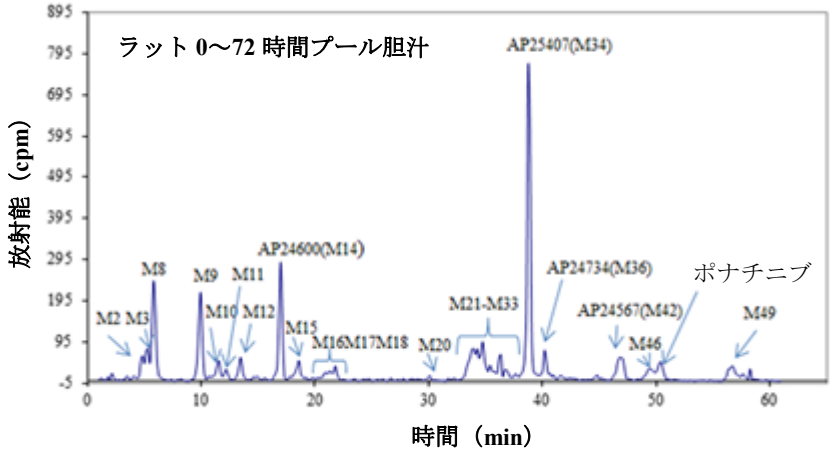


図 2.6.4-13　　ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～72 時間プール胆汁のラジオクロマトグラム

表 2.6.4-19　　ラット胆汁中の ^{14}C-ポナチニブ及び代謝物の割合

代謝物 ID	保持時間（分）	胆汁試料中総放射能に対する%[a,b]		
		0～24 時間	0～48 時間	0～72 時間
M2	3.5-4.5	2.3	-	2.1
M3	4.5-5.2	2.5	-	2.5
M8	5.8-6.0	9.1	4.9	8.4
M9	5.8-6.0	8.0	4.6	7.0
M10	9.5-10.2	2.7	1.1	1.5
M11	11.1-11.8	1.1	0.5	1.0
M12	12.0-12.4	2.2	1.7	1.9
M14 (AP24600)	15.5-18.0	9.8	9.6	8.4
M15	16.5-18.8	2.2	2.3	1.9
M16	17.0-19.0	0.9	0.9	0.5
M17	20.5-21.5	0.6	0.5	0.5
M18	21.0-22.0	1.2	1.1	1.1
M20	29.0-31.5	0.5	0.5	0.5
M21-M33[c]	29.2-38.5	12.3	17.6	15.0
M34 (AP25047)	38.0-40.0	23.9	27.0	23.0
M36 (AP24734)	38.8-41.2	2.6	3.3	2.9
M42 (AP24567)	45.5-47.0	2.2	3.5	3.6
M46	45.8-47.2	2.0	3.6	2.3
ポナチニブ	48.9-53.9	2.4	2.1	1.9
M49	55.2-58.8	1.6	1.7	1.8

a　各試料中の総放射能に対する割合が 0.5%を超えるピークのみを示した。AP24592 及びそれが更に代謝されて生成した AP24592 の N-グルクロニド及び水酸化 AP24592 の N-グルクロニド等の代謝物は MS 分析によってのみ検出された。

b　M35，M38，M39，M40，M41，M43，M44 及び M45 を含む代謝物が MS 分析によって検出されたが，各代謝物の胆汁中放射能に対する割合は 0.5%未満であった。

c　M21-M33 ピーククラスター（29.2～38.5 分）には，M21，M23，M25，M27，M28，M29，M31，M32，M33 及び共に溶出するその他の代謝物が含まれていた。

尿中代謝物

投与した総放射能の 10.15%が尿中に排泄された。0～72 時間における尿中代謝物の HPLC-ラジオクロマトグラムを図 2.6.4-14 に，尿中の主要代謝物及び総放射能に対する割合を表 2.6.4-20 に示す。ラット尿中の代謝物は主に AP24600 に由来するものであった。0～72 時間のラット尿中主要代謝物は AP24600 のスルホキシド（M1，30.9%）及び AP24600（M14，30.4%）であった。この他に，AP24734（M36，総放射能の 4.1%），並びに代謝物 M9，M12，M15，M16，M18 及び M34（それぞれ総放射能の約 2～3%）も認められた。

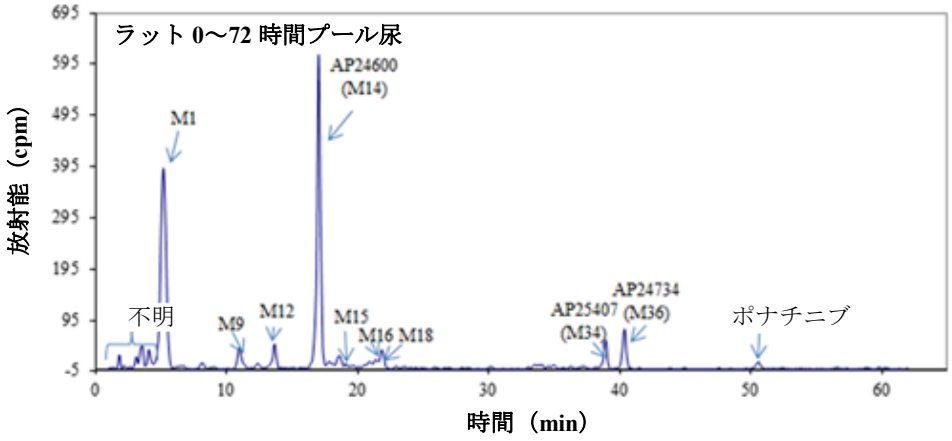


図 2.6.4-14　　ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～72 時間尿のラジオクロマトグラム

糞中代謝物

0～72 時間における糞中代謝物の HPLC-ラジオクロマトグラムを図 2.6.4-15 に示すとともに，糞中の代謝物の割合を表 2.6.4-20 に示す。

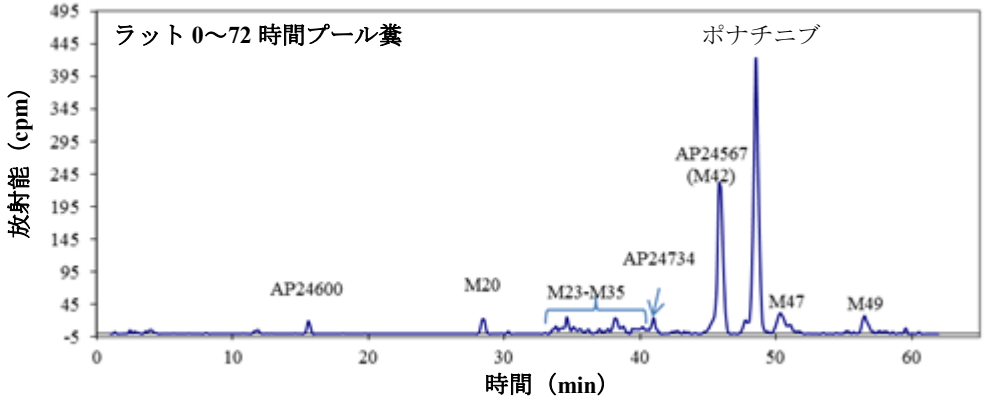


図 2.6.4-15　　ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～72 時間糞試料のラジオクロマトグラム

表 2.6.4-20　　ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの尿又は糞中総放射能に対する代謝物の割合

代謝物 ID	保持時間（分）	試料中放射能に対する%[a]			
		尿			糞
		0～24 時間	0～48 時間	0～72 時間	0～72 時間
未知代謝物	1.5-3.8	5.4	7.2	4.3	ND
M1	4.2-4.5	34.6	31.8	30.9	ND
M9	5.8-6.0	2.8	2.8	2.6	ND
M12	12.0-12.4	1.8	1.8	2.7	ND
M14 (AP24600)	15.5-16.0	34.1	32.8	30.4	1.2
M15	17.2-17.8	2.0	1.6	2.6	ND
M16	19.6-20.2	1.1	2.2	1.8	ND
M18	20.2-20.8	2.1	1.3	2.7	ND
M20	28.50	ND	ND	ND	1.9
M23-M35[b]	29.2-40.5	ND	ND	ND	11.6
M34 (AP25047)	38.0-40.0	2.2	1.6	3.2	ND
M36 (AP24734)	41.0	4.6	4.0	4.1	1.9
M42 (AP24567)	45.8	ND	ND	ND	26.1
ポナチニブ	48.5	1.4	1.2	1.0	39.9
M47	49.2-50.3	ND	ND	ND	4.6
M49	58.1	ND	ND	ND	3.2

a 各試料中の総放射能に対する割合が 0.5%を超えるピークのみを示した。尿及び糞中の AP24592 及びそれが更に代謝されて生成した AP24592 の N-グルクロニド及び AP24592 のアセチル化物等の代謝物は MS 分析によってのみ検出された。

b M23-M35 ピーククラスター（29.2～38.5 分）には，M23，M25，M27，M31，M32，M33，M34，M35 及び共に溶出するその他の未知代謝物が含まれ，それぞれの糞中放射能に対する割合は約 0.5～3%であった。

ND - 検出されず。

ラットにおいて，投与量の 88.38%が糞中に排泄された。糞中代謝物は主にポナチニブ及び AP24567（M42）から構成され，それぞれ糞中総放射能の 39.9%及び 26.1%であった。この他に同定された代謝物は AP24600（M14），AP24600 のメチルスルフィド（M20），M47 及び M49 であり，それぞれ糞中総放射能の 1.2%，1.9%，4.6%及び 3.2%であった。代謝物 M47 及び M49 のプロトン化分子はいずれも m/z 547.2411 であり，メチル基が付加したものであることが示されたが，メチル基の正確な付加位置は特定できなかった。29～41 分の領域に溶出される代謝物は総放射能の 11.6%であった。この領域には，M23，M31，M32，M33，M35 及び共に溶出するその他の未知代謝物が含まれ，それぞれの糞中放射能に対する割合は約 0.5～3%であった。これらの代謝物の大部分は，ピペラジン環の代謝，すなわち水酸化及びラクタムへの酸化による生成物であった。代謝物 M21 及び M28 は水酸化 AP24600 のメチルエステルの異性体であると同定された。

ラット糞中に投与量の 35.3%（88.38% × 0.399）が未変化体として排泄された。

結論

ラットに ^{14}C-ポナチニブを約 10 mg/kg の用量で経口投与したときの血漿中の主要放射能成分は，AP24600（50.2%），AP25047（12.1%）及びポナチニブ（19.1%）であった。尿及び血漿中の代謝物の大部分は AP24600 及びその代謝物であり，糞中の主要代謝物は AP24567（26.1%）であった。糞中に認められた他の数種の微量代謝物は，その大部分はピペラジン環の代謝による生成物及び AP24600 の代謝物であった。胆汁中に非常に多数の代謝物が認められたが，胆汁中の主要代謝物

も AP24600 及びそのメチルエステルであった。ポナチニブの主要代謝経路は，糞中に排泄される AP24567 を生成する経路，並びに尿中に排泄される AP24600 及びそれに由来する代謝物を生成する経路であった。

2.6.4.5.3 ラットにポナチニブを経口及び静脈内投与したときの AP24600 の生成機序に関する検討

報告書番号 ARP261，データを 2.6.5.9.3 に示す。

目的

ラットに ^{14}C-ポナチニブを投与したときの血漿中の主要代謝物は AP24600 であった。AP24600 はポナチニブのアミド結合の加水分解によって生成するカルボン酸である。本試験の目的は，ポナチニブから AP24600 への *in vivo* 代謝にエステラーゼが関与しているかどうかを明らかにすることであった。

方法

4 群（各群 n = 3）の SD 雄ラット（約 8 週齢，体重範囲 246～307 g）を一晩絶食させた後，下表に示す投与を行った。エステラーゼ／アミダーゼの既知阻害薬である BNPP を経口投与し，30 分後にポナチニブを経口又は静脈内投与した。

群番号	ポナチニブ静脈内投与 3 mg/kg	ポナチニブ経口投与 15 mg/kg	BNPP 経口投与 25 mg/kg
1	-	√	-
2	-	√	√
3	√	-	-
4	√	-	√

ポナチニブ投与後の数時点で各ラットから血液を採取した。血液を処理して血漿を採取し，分析時まで−70°C で保存した。血漿中のポナチニブ，AP24600，AP24567 及び AP24734 濃度をバリデーション未実施の LC/MS/MS 法により測定した。

結果

ポナチニブ及びの AP24600 の平均血漿中濃度を図 2.6.4-16（1 及び 2 群）及び図 2.6.4-17（3 及び 4 群）に示す。

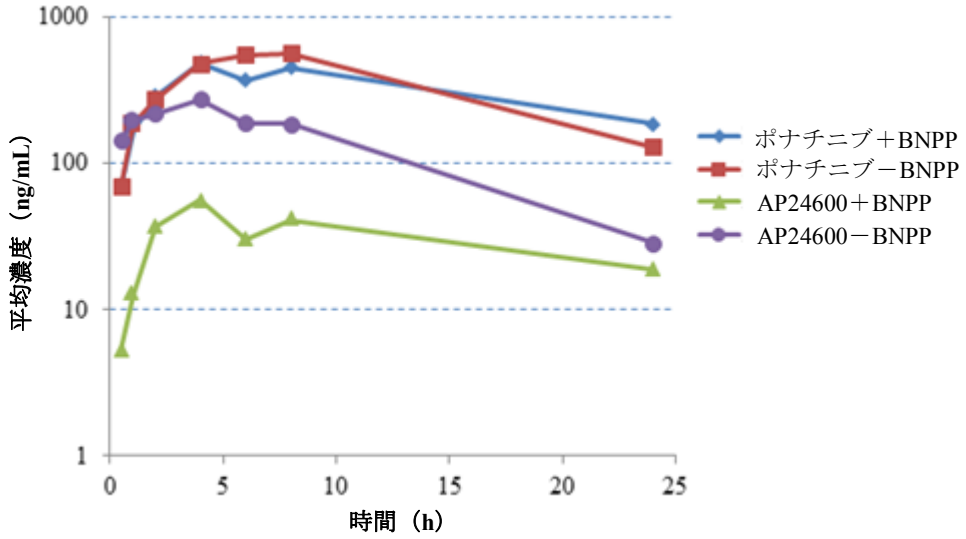


図 2.6.4-16　　ラットに BNPP の経口投与又は非投与下でポナチニブを経口投与したときのポナチニブ及び AP24600 の平均血漿中濃度

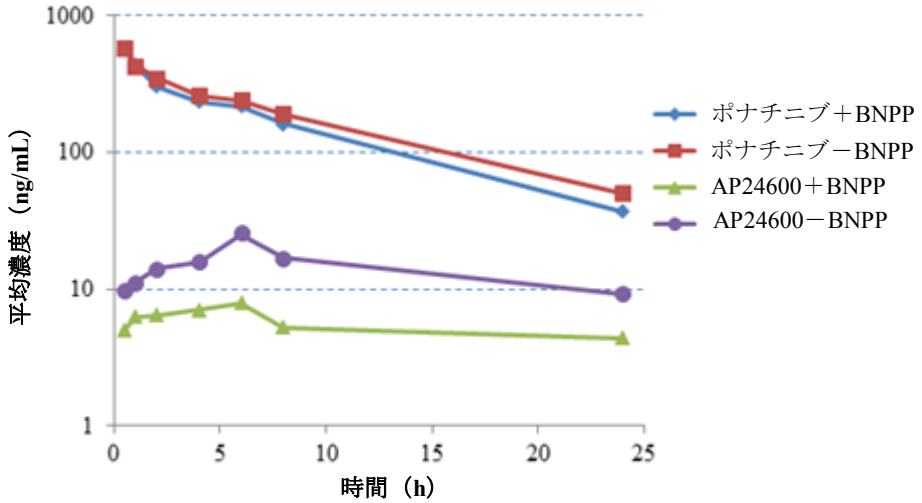


図 2.6.4-17　　ラットに BNPP の経口投与又は非投与下でポナチニブを静脈内投与したときのポナチニブ及び AP24600 の平均血漿中濃度

ポナチニブ及び AP24600 の個別血漿中濃度－時間データについて，WinNonlin（Version 5.1, Pharsight Corp, Mountain View, CA）を用いて，ノンコンパートメント法による薬物動態解析を実施した。ポナチニブ及び AP24600 の薬物動態パラメータの一部を表 2.6.4-21 に示すとともに，CYP を介して生成する他の 2 種類の代謝物 AP24567 及び AP24734 の薬物動態パラメータを表 2.6.4-22 に示す。

表 2.6.4-21　　BNPP の経口投与又は非投与下でポナチニブを投与したときのポナチニブ及び AP24600 の薬物動態パラメータ

投与経路及び投与量	薬物動態パラメータ	ポナチニブ			AP24600		
		(+)BNPP 第 4 群	(-)BNPP 第 3 群	阻害率 (%)	(+)BNPP 第 4 群	(-)BNPP 第 3 群	阻害率 (%)
静脈内 3 mg/kg	C_{max} (ng/mL)	575.0	578.4	1	7.84	25.3	69
	AUC_{last} (ng·h/mL)	3709	4450	17	129.2	341	62
	AUC_{last} (nmol· h/L)	6964	8356	NA[a]	466	1230	NA[a]
	平均曝露量比 [b]	NA[a]	NA[a]	NA[a]	0.06	0.15	NA[a]
投与経路及び投与量	薬物動態パラメータ	(+)BNPP 第 2 群	(-)BNPP 第 1 群	阻害率 (%)	(+)BNPP 第 2 群	(-)BNPP 第 1 群	阻害率 (%)
経口 15 mg/kg	C_{max} (ng/mL)	485.2	557.4	13	55.9	274.2	80
	AUC_{last} (ng·h/mL)	7841	8697	10	762	3366	77
	AUC_{last} (nmol·h/L)	14723	16331	NA[a]	2748	12139	NA[a]
	平均曝露量比 [b]	NA[a]	NA[a]	NA[a]	0.17	0.74	NA[a]

a　NA＝該当なし。

b　AUC_{last} (nmol·h/L)を用いて，ポナチニブに対する AP24600 の比を計算した。比を計算する前に，AUC (ng·h/mL)を最初に AUC (nmol·h/L)に変換した。

表 2.6.4-22　　BNPP の経口投与又は非投与下でポナチニブを投与したときの AP24567 及び AP24734 の薬物動態パラメータ

投与経路及び投与量	薬物動態パラメータ	AP24567		AP24734	
		(+)BNPP 第 4 群	(-)BNPP 第 3 群	(+)BNPP 第 4 群	(-)BNPP 第 3 群
静脈内 3 mg/kg	C_{max} (ng/mL)	17.89	38.35	6.72	6.95
	AUC_{last} (ng·h/mL)	113.2	146.8	4.55	25.44
投与経路及び投与量	薬物動態パラメータ	(+)BNPP 第 2 群	(-)BNPP 第 1 群	(+)BNPP 第 2 群	(-)BNPP 第 1 群
経口 15 mg/kg	C_{max} (ng/mL)	68.32	67.75	6.95	6.91
	AUC_{last} (ng·h/mL)	1133	1033	35.1	34.9

BNPP は不可逆的エステラーゼ阻害薬であり，ラットにポナチニブを投与する 30 分前に BNPP を経口投与することで大部分のエステラーゼが阻害された可能性が高い。ポナチニブを静脈内又は経口投与したときのポナチニブの C_{max} は，BNPP の経口投与によりわずかに影響を受けただけであった（1～13%）。静脈内投与後のポナチニブの AUC は，BNPP を投与した第 4 群で第 3 群と比較して 17%減少し，経口投与後のポナチニブの AUC は，BNPP を投与した第 2 群で第 1 群と比較して 10%減少した。これらの結果から，BNPP はポナチニブの薬物動態に影響せず，認められた軽度の差は，個体間での吸収及び試料採取のばらつきによるものであると考えられた。さらに，CYP 代謝で生成する AP24567 及び AP24734 の曝露量は，BNPP 投与による大きな影響を受けなかったことから（表 2.6.4-22），BNPP 阻害はエステラーゼ／アミダーゼに特異的であり，CYP 活性を変化させないことが示された。

BNPP は AP24600 の C_{max} 及び AUC に対して大きな影響を及ぼした。AP24600 の C_{max} 及び AUC は BNPP によって低下し，静脈内投与後の第 4 群では第 3 群に対してそれぞれ 69%及び 62%阻害され，経口投与後の第 2 群では第 1 群に対してそれぞれ 80%及び 77%阻害された。これらの阻害データから，ラットにおいてポナチニブから AP24600 への *in vivo* 加水分解に主に関与する酵素は

エステラーゼ及びアミダーゼであることが示唆された。AP24600 の生成において，BNPP によって阻害されないその他の酵素及び副次的な代謝経路が関与する割合は約 20%であると考えられた。

BNPP 非投与下でポナチニブを投与後の AP24600 は，静脈内投与後に比べて経口投与後で顕著に多く，ポナチニブを経口投与したときの AP24600／ポナチニブの AUC 比は 0.74 であったのに対して，静脈内投与後では 0.15 であった。このことから，ポナチニブから AP24600 への *in vivo* 加水分解は主に胃又は小腸で起こり，吸収後の生成量は無視しうる程度であることが示唆された。

結論

ラットへの BNPP 投与は経口投与後のポナチニブの薬物動態に影響せず，CYP によって生成する AP24567 及び AP24734 の薬物動態にも影響しない。ポナチニブの経口投与後の AP24600 の AUC は，非特異的エステラーゼ／アミダーゼ阻害薬である BNPP によって 77%抑制されたことから，AP24600 の生成には，主にエステラーゼ／アミダーゼが関与していることが示された。また，BNPP による阻害率が 77%にすぎなかったことから，ポナチニブから AP24600 が生成する別の代謝経路が存在する可能性がある。AP24600／ポナチニブの AUC 比は，静脈内投与後に比べて，経口投与後で 5 倍高かったことから，ポナチニブの加水分解による AP24600 の生成は全身ではなく，主に胃又は小腸内で起こることが示唆された。

2.6.4.5.4　カニクイザルにおける *in vivo* 代謝

報告書番号 ARP259，データを 2.6.5.9.4 に示す。

目的

カニクイザルを用いた試験の目的は，1）雄カニクイザルに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの放射能の尿及び糞中への排泄量を測定し，2）血液，尿及び糞中の代謝物組成を明らかにし，代謝物を特定することであった。

方法

雄カニクイザル 3 例（4～5 歳，体重 5.06～5.42 kg）に ^{14}C-ポナチニブの溶液製剤（25 mmol/L クエン酸緩衝液，pH 2.75 を用いて調製）を 14.89 mg/kg（30 µCi/kg）の用量で単回経口投与した。投与前少なくとも 8 時間及び投与後 2 時間にわたり，動物を絶食させた。血液は，ポナチニブの投与前並びに投与後 0.5，1，2，4，8，12，24 及び 48 時間に採取し，尿及び糞は，投与前並びに投与後 0～24，24～48，48～72，72～96，96～120，120～144 及び 144～168 時間の 24 時間間隔で採取した。ケージ残渣，ケージ洗浄液及びケージ拭き取りは，投与後 168 時間に採取した。

尿，糞，嘔吐物，ケージ残渣，ケージ洗浄液及びケージ拭き取りからの平均総放射能回収率は，投与後 168 時間までに 88.95 ± 4.07%（n = 3）であった。放射能の大部分（70.35 ± 11.02%）は糞中に排泄され，尿中には投与量の 2.2 ± 0.5%が排泄された。ケージ残渣，ケージ洗浄液及びケージ拭き取りの合計の回収率は 4.98%であった。動物 2 例（1M2 及び 1M3）で嘔吐が認められ，投与した放射能のそれぞれ 22.12%及び 12.22%が嘔吐物に含まれていた。

代謝物検索のため，サル血液，尿及び糞試料の処理及び LC/MS/MS 分析を行い，一般的分析方法の項で概説した方法と非常に類似した方法でデータ解析を実施した。

結果

血漿中代謝物

血漿をプールしてアセトニトリルで抽出した。溶媒抽出段階における放射能の回収率は 89～

95%であり，量的にほぼ回収された。血漿中代謝物の HPLC-ラジオクロマトグラムを図 2.6.4-18，投与後 2, 4, 8, 12 及び 24 時間の血漿並びに 0～24 時間プール血漿中の放射能の割合を表 2.6.4-23 に示す。また，推定代謝経路及び代謝物の構造を図 2.6.4-25 及び図 2.6.4-26 に示す。

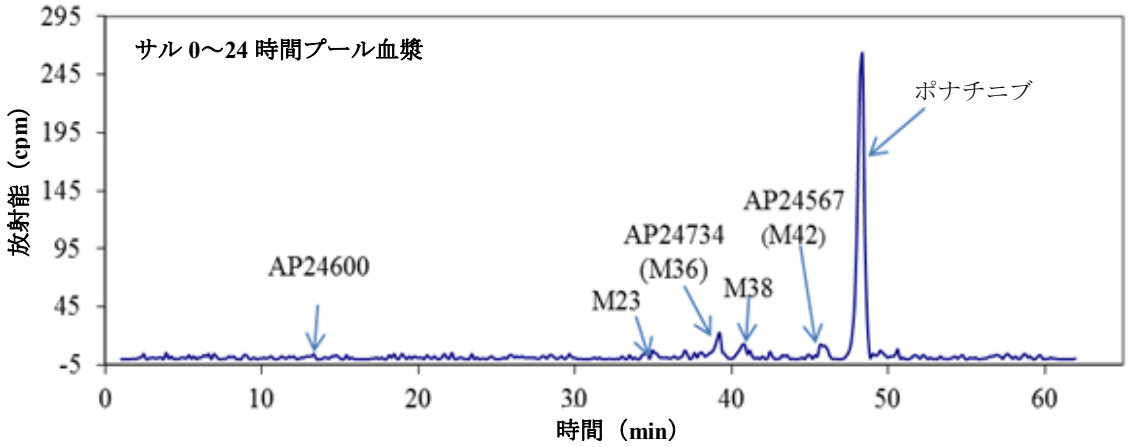


図 2.6.4-18　　サルに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～24 時間プール血漿のラジオクロマトグラム

表 2.6.4-23　　サル血漿中の ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合

代謝物 ID	保持時間（分）	プール血漿中総放射能に対する代謝物の%[a]					
		2 時間	4 時間	8 時間	12 時間	24 時間	0～24 時間
M36 (AP24734)	39.0-39.8	12.1	5.0	4.4	3.3	1.6	4.0
M38	40.2-41.0	1.1	2.2	2.6	1.2	0.9	2.9
M42 (AP24567)	45.3-45.9	1.5	2.7	4.3	2.7	4.2	3.0
ポナチニブ	48.1-48.8	64.2	62.7	69.8	66.5	69.3	56.3

a　各試料中の総放射能に対する割合が 1.0%を超えるピークのみを表示。この表には示さない複数の代謝物（それぞれ総放射能に対する割合が 1.0%未満）が存在していた。血漿中に非放射性代謝物として，微量の AP24592 のアセチル化体（M22）が MS 分析により検出された。

0～24 時間プール血漿中の主要放射能成分はポナチニブであり，総放射能の 56.3%であった。また，代謝物である AP24734（M36），AP24567（M42）及びラクタム（M38）がそれぞれ，血漿中放射能の 4.0%，3.0%及び 2.9%であった。クロマトグフィーによる分離が不十分であった多数の微量代謝物が認められ，これらのピーク合計は総放射能の約 10%であった（各ピークは総放射能の 1.0%未満）。図 2.6.4-18 には表示していないが，微量代謝物として AP24600（M14），AP32318（M23），M24，M25，M27，M29，M31，M32，AP25047（M34），M35 及び M40 が認められた。

尿中代謝物

尿中代謝物の HPLC-ラジオクロマトグラムを図 2.6.4-19 に示す。また，これらの各代謝物が尿中総放射能に対する割合を表 2.6.4-24 に示す。

サル 0～48 時間プール尿中における代謝物は，AP24600（M14），並びに AP24600 のアシルグルクロニドの異性体（M11，M15 及び M16）及び AP24600 のメチルエステル（AP25047，M34）から構成され，それぞれ尿中総放射能の 12%，8.6%，13.7%，15.0%及び 4.7%であった。また，ポ

ナチニブ，AP24734（M36）及び水酸化ポナチニブ（M31）が認められ，それぞれ尿中総放射能の 4.2%, 10.6%及び 1.1%であった。M23 と数種の代謝物が分離不十分な代謝物クラスターを形成し，このクラスターは総放射能の 15.7%であった。このクラスター内の主要ピークは AP32318（M23）であり，これと水酸化 AP24600 のメチルエステル（M21），ポナチニブの酸化及びラクタム化物（M25），水酸化 AP24567（M27）及びその他の代謝物が共に溶出した。このクラスター内のほとんどの代謝物は尿中放射能の約 0.5～3%であった。サルに投与したポナチニブの 1.76%が，アミド結合の加水分解を受けたと推定される。

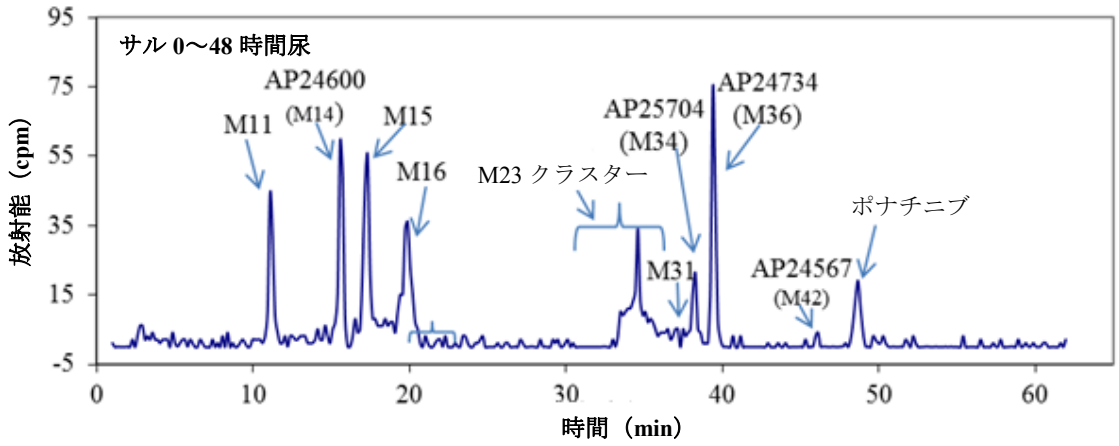


図 2.6.4-19　　サルに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの尿試料のラジオクロマトグラム

糞中代謝物

0～144 時間プール糞中代謝物の HPLC-ラジオクロマトグラムを図 2.6.4-20 に示すとともに，糞中代謝物の割合を表 2.6.4-24 に示す。

ポナチニブは糞中放射能の 34.8%であった。この他に糞中代謝物として AP24567（M42）並びに共に溶出するポナチニブのメチル化物（M43），水酸化ポナチニブ（M31）及び M31 の異性体（M32）が認められ，それぞれ糞中放射能の 10.9%，8.5%及び 5.0%であった。また，ポナチニブの 2 箇所のラクタム化物（M35）及び AP24734（M36）はそれぞれ，糞中放射能の 3.0%及び 2.0%であった。この他に特定された代謝物は M47/M48 及び M49 であり，糞中総放射能に対する割合はそれぞれ 2.4%及び 3.1%であった。

M23 クラスター（図 2.6.4-20）の糞中総放射能に対する割合は 17.2%であった。そのうちの主要ピークは AP32318（M23）であり，これと水酸化 AP24600 のメチルエステル（M21），ポナチニブの酸化及びラクタム化物（M25），ポナチニブの硫酸抱合体（M26），水酸化 AP24567（M27），ポナチニブのグルクロン酸抱合体（M29）及びその他の未知代謝物が共に溶出した。これらの各代謝物の糞中放射能に対する割合は約 0.5～3%であった。M38 クラスター（図 2.6.4-20）はクロマトグラフィーで分離不十分な多数の微量代謝物から構成され，これらの合計は総放射能の 6.9%であった。

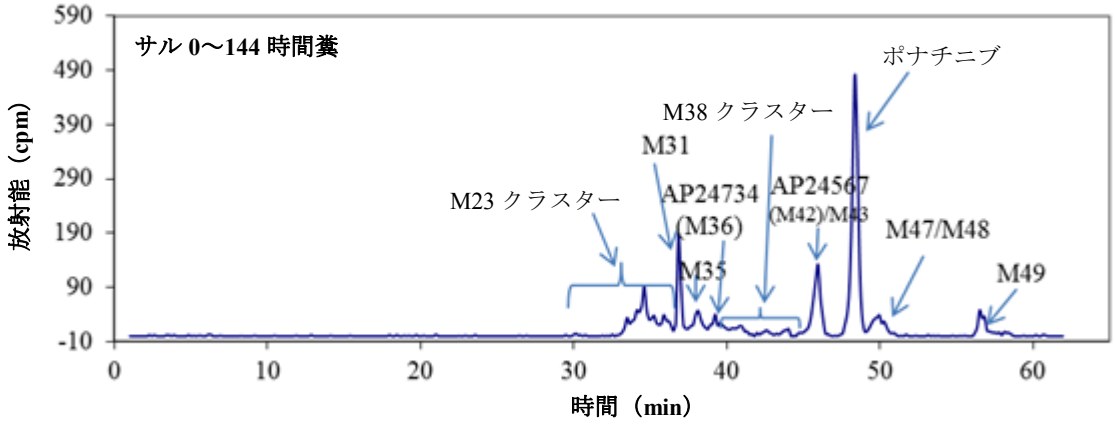


図 2.6.4-20　　サルに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの0～144時間糞試料のラジオクロマトグラム

代謝物 M43，M47 及び M49 のプロトン化分子は m/z 547.2411 であり，ポナチニブに 14 amu 付加したものと同等である。ポナチニブのメチル化物と推定されたが，構造を特定することはできなかった。代謝物 M48 のプロトン化分子は m/z 519.2205 であり，ポナチニブとの差は− 14.0157 amu である。しかし，この値は AP24567（m/z 519.2115）とは異なり，構造を特定することはできなかった。

要約すると，サルにポナチニブを 15 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，血漿中の総放射能に対するポナチニブの割合は 56.3%であった。血漿中に代謝物として AP24734，AP24567 及びラクタムが認められた。サル血漿中の AP24600 は微量（1%未満）であった。腎臓を介した排泄は重要ではなく，尿中代謝物は主に AP24600 に由来するもの及びその代謝物であった。糞中放射能は主に未変化体又は AP24567，水酸化ポナチニブ，ピペラジン環の 2 箇所のラクタム化物及び AP24734 として存在していた。

表 2.6.4-24　　サル尿及び糞中の ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合

代謝物 ID	保持時間（分）	総放射能に対する代謝物の%		
		尿 [a]		糞 [a]
		0～24 時間	0～48 時間	0～144 時間
M11	13.5-14.2	6.0	8.6	NR
M14 (AP24600)[b]	15.3-15.8	11.9	12.0	NR
M15	17.5-18.4	14.1	13.7	NR
M16/M17/M18[c]	19.5-20.2	14.6	15.0	NR
M23 クラスター[d]	33.0-37.2	13.1	15.7	17.2
M31	36.4-37.7	3.0	1.1	8.5
M32		NR	NR	5.0
M34 (AP25047)	38.0-38.5	4.8	4.7	NR
M35	37.7-38.0	NR	NR	3.0
M36 (AP24734)	38.9-39.5	12.1	10.6	2.0
M38 クラスター[e]	39.5-44.0	NR	NR	6.9
M42 (AP24567)/M43[f]	45.5-46.0	NR	NR	10.9
ポナチニブ	48.4-49.2	4.4	4.2	34.8
M47/M48[g]	49.5-50.0	NR	NR	2.4
M49	56.2-56.8	NR	NR	3.1

a 各試料中の総放射能に対する割合が 1%を超えるピークのみを示した。尿中に非放射性代謝物として AP24592 のアセチル化物が MS 分析により検出された。

b 微量の M15a が M14 と共に溶出した。

c 微量の M17 及び M18 が M16 と共に溶出した。

d M23 クラスター：代謝物 M23 が M22，M24，M25，M26， M27，M28，M29 及び M30 を含む複数の代謝物と共に溶出し，各代謝物の尿及び糞中に対する割合は約 0.5～3%であった。

e M38 クラスター: M38 及び M39 を含む数種の代謝物とその他の未知代謝物が共に溶出した。各代謝物の糞中総放射能に対する割合は約 0.1～1.0%であった。

f M42(AP24567)/M43：M42 と M43 が共に溶出した。

g M47/M48：M47 は M48 と共に溶出した。

NR：報告せず（存在しないか，又は 1%未満）。

2.6.4.5.5　　ヒトにおける *in vivo* 代謝

報告書番号 ARP257，データを 2.6.5.9.5 に示す。

ヒトに臨床適用投与量である 45 mg（100 μCi）の ^{14}C-ポナチニブを単回経口投与したときの排泄について検討した。被験者 6 例（年齢 19～45 歳）に ^{14}C-ポナチニブの 15 mg 原末充填カプセル 3 錠（それぞれ約 36.7 μCi 含有）を，空腹状態で非炭酸水 240 mL とともに経口投与した。退院時まで（投与後 10～14 日間，被験者によって異なる），血液，尿，糞及び拭き取りに使用したトイレットペーパーを採取した。血液は投与前, 投与後 0～24 時間内の設定した時間, 投与後 36 時間, 及びその後は 24 時間ごとに採取した。血液を処理して血漿を採取した。尿は投与前，投与後 0～24 時間の間は 6 時間ごと，投与後 36～72 時間の間は 12 時間ごと，及びその後は 24 時間ごとに採取してプールした。糞は投与前，及びその後は 24 時間ごとに採取してプールした。放射能検出器を接続した LC/MS/MS を用いて代謝物検索を行った。

尿及び糞中の総放射能回収率は 92.01 ± 1.88%であり，尿及び糞中への平均放射能排泄率は 5.38 ± 0.93%及び 86.63 ± 2.37%であった。

血漿中代謝物

被験者 6 例それぞれのプール血漿のラジオクロマトグラムは定性的及び定量的に類似していた。

ヒトプール血漿の代表的なクロマトグラムを図 2.6.4-21 に示す。投与後 5，10，12 時間及び 0～24 時間プール血漿中の代謝物の割合を表 2.6.4-25 に示す。この他に，ラジオクロマトグラムでは目立たないピークとして数種の代謝物（それぞれが総放射能の 2.0%未満）が認められたが，表 2.6.4-25 には示していない。また，推定代謝経路及び代謝物の構造を図 2.6.4-25 及び図 2.6.4-26 に示す。

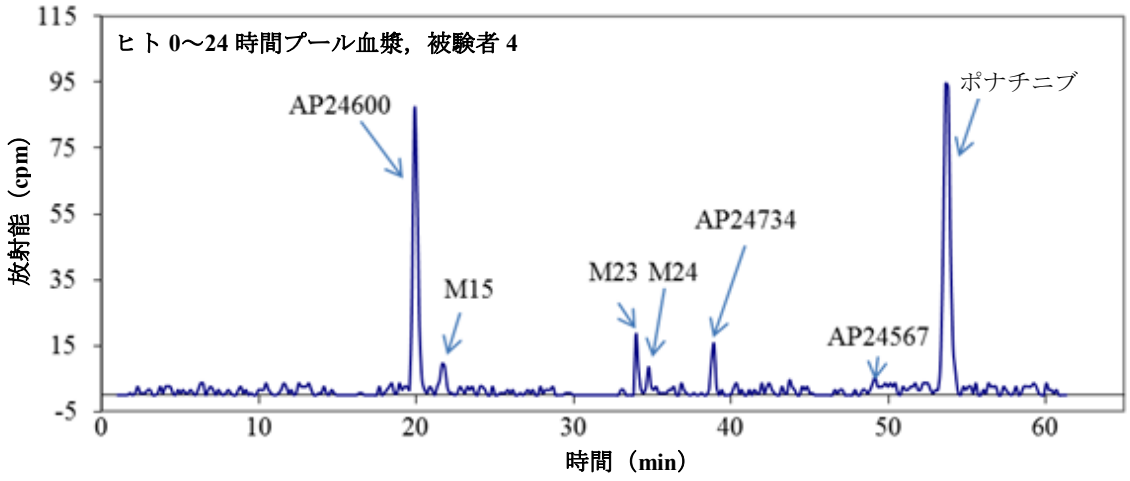


図 2.6.4-21　　ヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～24 時間プール血漿のラジオクロマトグラム

表 2.6.4-25　　ヒト血漿中の ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合

代謝物 ID	保持時間（分）	血漿 [a]			
		5 時間	10 時間	12 時間	0～24 時間（n = 6）
M14 (AP24600)	16.6-20.1	29	10.8	12.8	14.9
M15	20.2-21.8	2	2.4	-	3.4
M23 (AP32318)	32.1-34.2	-	3.4	2.4	7
M24	33.5-35.0	-	-	-	2.1
M29	38.2-39.2	3	4.3	6.0	6
M36 (AP24734)	38.2-42.5	約 0.5	約 0.5 -1.0	約 0.5 -1.0	約 0.5 -1.0
M42 (AP24567)	44.8-49.8	約 0.5 -1.0	約 0.5 -1.0	約 0.5 -1.0	約 0.5 -1.0
ポナチニブ	47.8-53.2	42.4	36.3	51.5	25.5

a　各試料中の総放射能に対する割合が 2.0%を超えるピークのみを示す。ただし，ポナチニブ並びに *in vitro* での主要代謝物である AP24734 及び AP24567 は例外とした。この他に，ラジオクロマトグラムでは目立たないピークとして，数種の代謝物（それぞれが総放射能の 2%未満）が認められたが，この表には示していない。

-：検出されず。

0～24 時間プール血漿において，ポナチニブは総放射能の 25.5%であった。また，代謝物である AP24600（M14）及び AP24600 のグルクロン酸抱合体（M15）は，血漿中放射能の 14.9%及び 3.4%であった。さらに，AP32318（M23），ポナチニブのグルクロン酸抱合体（M29），水酸化ポナチニブのグルクロン酸抱合体（M24），AP24734（M36）及び AP24567（M42）は，血漿中放射能の 7.0%，6.0%，2.1%，0.5%及び 0.5%であった。0～24 時間プール血漿における AP24600 量は，ポナチニブの 58.4%（100 × 14.9/25.5）であった。

報告書番号 ARP395，データを 2.6.5.9.6 に示す。

追加試験（ARP395）において，投与後 24 時間以降に採取した血漿試料を分析し，代謝物プロファイルを明らかにした。投与後 36，48，72，96，120 及び 144 時間の血漿試料を時間ごとにプールし，固相抽出カートリッジを用いて抽出した。この抽出段階における放射能回収率は 64～94%であった。放射能検出器を接続した LC/MS/MS を用いて，この血漿抽出物を分析した。

投与後 36 時間の血漿の HPLC ラジオクロマトグラムに 3 つの顕著なピークが認められ，AP24600（M14），AP32138（M23）及びポナチニブと同定された。投与後 48，72 及び 96 時間の血漿の HPLC ラジオクロマトグラムでは，M23 とポナチニブのみが認められた。投与後 120 及び 144 時間の血漿中には，顕著な放射能ピークは認められなかった。高分解能質量分析装置で得られたデータ及び利用可能な合成標品を用いて，M23 の構造はポナチニブの N-脱ピペラジニルカルボン酸（AP32318）であると同定された。代謝物 M23 の血漿からの消失動態は，ポナチニブと類似していることが明らかになった。

要約すると，ヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの投与後 24 時間以降の血漿試料中に，AP32318 及びポナチニブの 2 つの主要放射能成分が特定され，AP32318 の血漿からの消失動態がポナチニブと類似していることが明らかになった。AP32318 は，0～24 時間血漿試料中にも存在し，投与後 24 時間以降の血漿試料中に新たなポナチニブ代謝物は認められなかった。

尿中代謝物

尿中に排泄される未変化体及び代謝物の量は少なかった（投与量の 5.4%）。尿中代謝物のラジオクロマトグラムを図 2.6.4-22 に，0～24 時間，24～48 時間，48～72 時間及び 0～72 時間尿中の代謝物の割合を表 2.6.4-26 に示す。

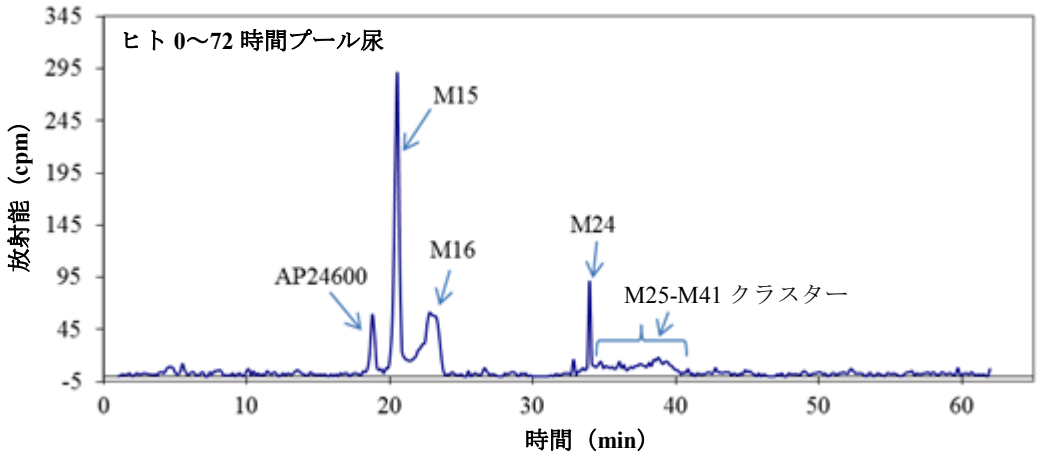


図 2.6.4-22　　ヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～72 時間プール尿のラジオクロマトグラム

尿中の主要代謝物は，AP24600（M14）並びにそのグルクロン酸抱合体である M15 及び M16 であった。0～72 時間尿において，M14，M15 及び M16 の尿中総放射能に対する割合はそれぞれ 5.6%，28.1%及び 19.8%であった。水酸化ポナチニブのグルクロン酸抱合体（M24）は，尿中総放射能の 5.1%であった。35～41 分に溶出する代謝物クラスター（M25-M41）は，M25，M29，M30，M31，

M32，M33，M34，M35，M36，M38，M39，M41 及び共に溶出するその他の代謝物から構成されていた。このクラスターに含まれる各代謝物の尿中総放射能に対する割合は約 0.1～3%であり，合計では 14.0%であった。

表 2.6.4-26　　ヒト尿中の ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合

代謝物 ID	保持時間（分）	尿中総放射能に占める%[a]			
		0～24 時間	24～48 時間	48～72 時間	0～72 時間
M11	16.25-17.96	ND	4.6	ND	ND
M14 (AP24600)	16.6-20.1	12.5	33	3.7	5.6
M15	20.2-21.8	31.6	7.1	18.4	28.1
M16	22.5-24.5	14.6	8.4	7.8	19.8
M24	33.5-35.0	2.8	12.5	9.8	5.1
M25-M41 クラスター[b]	35.0-41.0	17.8	18.1	19.2	14.0
ポナチニブ	47.8-53.2	< 1.0	1.4	3	< 1.0

a　各試料中の総放射能に対する割合が 1.5%を超えるピークのみを示した。

b　M25-M41 クラスター（35～41 分）には，M25，M29，M30，M31，M32，M33，M34，M35，M36，M38，M39，M41 及び共に溶出するその他の代謝物が含まれ，それぞれが尿中放射能に対する割合は約 0.1～3%であった。

ND：検出せず。

M24 及び M25-M41 クラスターは，アミド結合の加水分解に由来する代謝物ではないことから，加水分解による代謝物（AP24600 及びその代謝物）が尿中総放射能に占める割合は，以下の式によって，最大で約 80%と算出された。

100［%］-（M24［%］+ M25-M41 クラスター［%］+ ポナチニブ［%］）

AP24600 由来の代謝物は糞中には認められず，尿中回収率が 5.38%であったことから，投与量の約 4.3%（5.38% × 0.80）が AP24600 に加水分解されたと考えられる。

糞中代謝物

投与した放射能の 86.6%が糞中に排泄された。0～144 時間の糞中代謝物のラジオクロマトグラムを図 2.6.4-23 に，糞中ポナチニブ及び代謝物の放射能の割合を表 2.6.4-27 に示す。

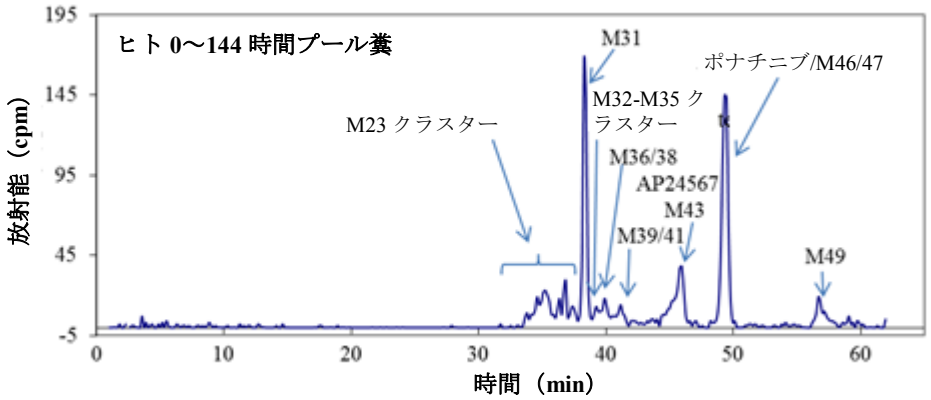


図 2.6.4-23　　ヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの 0～144 時間プール糞のラジオクロマトグラム

表 2.6.4-27　　ヒト糞中の ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合

代謝物 ID	保持時間（分）	糞[a]				
		0～24 時間	24～48 時間	48～72 時間	72～144 時間	0～144 時間
M23 クラスター[b]	32.1-37.6	7.2	9.8	16.4	21.8	17.2
M31	38.0-38.9	6.2	15.2	23.1	29.4	20.4
M32-M35 クラスター[c]	38.5-39.5	NR	4.0	1.5	1.6	2.1
M36/M38	39.2-40.5	NR	1.7	4.1	1.8	3.2
M39/M41	40.1-41.5	NR	4	3.3	2.2	3.0
M42(AP24567)/M43	44.8-49.8	10.4	11.5/0.1	12.1	6.1	9.6/3.4
ポナチニブ/M46 及び M47	47.8-54.0	51.1	40.1/1.2	24.8	16.7	23.7/3.2
M49	55.4-57.5	NR	4.4	3.4	4	3.1

a　各試料中の総放射能に占める割合が 1.5%を超えるピークのみを示した。

b　M23（脱ピペラジニルカルボン酸）クラスター（33.0～37.6 分）には，M23，M24，M25，M26，M27 及び共に溶出するその他の未知代謝物が含まれ，それぞれが糞中放射能に対する割合は約 0.1～3%であった。

c　M32-M35 クラスターには，M32，M33，M35 及び共に溶出するその他の未知代謝物が含まれ，それぞれが糞中放射能に対する割合は約 0.1～1.0%であった。

NR：報告せず（検出されないか，又は 1%未満）。

ヒト糞中では，ポナチニブに加えて，水酸化ポナチニブ及び AP24567 の 2 つが主要代謝物として認められた。0～144 時間の糞において，ポナチニブが糞中放射能に占める割合は 23.7%であった。水酸化ポナチニブ（M31）及び AP24567（M42）は放射能のそれぞれ 20.4%及び 9.6%を占めていた。クロマトグラフィーでは分離不十分な複数の代謝物ピークがクラスター（M23 クラスター，33.0～37.6 分）を形成し，合計で糞中放射能の 17.2%を占めていたが，個々の代謝物の割合は 2～3%にすぎなかった。この他に糞中に認められた代謝物は，M32，M33，M35，M36，M38，M39 及び M41 であり，それぞれが総放射能に占める割合は約 0.5～2%で，合計では糞中総放射能の 8.3%であった。4 種類のポナチニブのメチル化物（プロトン化分子の精密質量は m/z 547.2411，メチル化物の理論値との差 2.4 mmu）として M43，M46，M47 及び M49 が認められ，これら 4 つの代謝物で糞中総放射能の 9.7%を占めていた。

ヒト尿及び糞中でのポナチニブの主要消失経路のまとめ

ヒト尿中の主要代謝物として AP24600，AP24600 のグルクロン酸抱合体及び水酸化ポナチニブのグルクロン酸抱合体が認められ，尿中総放射能に占める割合はそれぞれ，5.6%，47.9%及び 5.1%であった。

ヒト糞中の主要放射能成分はポナチニブであり，糞中放射能の 23.7%を占めていた。水酸化ポナチニブ（20.4%）も糞中の主要代謝物であり，N-脱メチル体である AP24567 は放射能の 9.6%を占めていた。4 種類のポナチニブのメチル化物が存在し，合計で糞中総放射能の 9.7%を占めていた。糞中では，水酸化，N-脱メチル化及びメチル化の 3 つの代謝経路を経て生成する主要代謝物が認められた。

各代謝物が消失経路にどの程度寄与しているかについて，生体試料中での割合及び投与量に対する割合として表 2.6.4-28 に示す。尿又は糞中総放射能に対する割合が 3%未満の代謝物については，計算に含めなかった。さらに，0～72 時間尿中代謝物のプロファイル及び 0～144 時間糞中代謝物のプロファイルは，0～264 時間プール試料での各試料中代謝物のプロファイルとみなした。

表 2.6.4-28　　尿及び糞中の ^{14}C-ポナチニブ及びその主要代謝物の割合

代謝経路	代謝物 ID	試料中の%[a]		投与量に対する%[b]		投与した放射能に対する尿及び糞合計の%
		尿	糞	尿	糞	
		0～72 時間	0～144 時間	0～72 時間	0～144 時間	
水酸化	M31	NA	20.4	NA	17.67	17.67
N-脱メチル化	M42 (AP24567)	NA	9.6	NA	8.32	8.32
アミド加水分解	M14 (AP24600)	5.6	NA	0.30		0.30
メチル化	M43， M46，M47，M49	NA	9.7	NA	8.40	8.40
水酸化及びグルクロン酸抱合	M24	5.1		0.27		0.27
AP24600 のグルクロン酸抱合体	M11, M15, M16	47.9		2.58		2.58
ポナチニブ	NA		23.7		20.53	20.53

a 各試料中の代謝物において，総放射能に対する割合が 3.0%を超えるピークのみを示す。ただし，ポナチニブ及び他の数種の代謝物は例外とする。

b 投与量に対する% = 試料中の% × 投与量に対する試料中の回収率。例えば，代謝物 M31 は糞中放射能の 20.4%であり，糞中の投与量に対する放射能回収率は 86.6%（0.866）であったことから，M31 に変換された投与量%は，20.4% × 0.866 = 17.67%と算出される。

NA：該当なし

尿及び糞中の主な代謝経路を図 2.6.4-24 に示す。

CYP3A4 は *in vitro* におけるポナチニブの酸化的代謝のほぼ全てに関与する分子種であることから，AP24567（M42）及び水酸化体 M31 は，ポナチニブの CYP3A4 による代謝産物であると推定される。メチル化物 M43，M46，M47 及び M49 は，糞中のみに認められ，腸内細菌叢中のメチルトランスフェラーゼによる代謝物と推定される。AP24600（M14）はエステラーゼ／アミダーゼによるポナチニブの加水分解によって生成する可能性がある。グルクロン酸抱合体 M11，M15，M16 及び M24 は，最初に生成する代謝物である AP24600 又は M31 がグルクロン酸転移酵素によって代謝されて生成する。

ポナチニブを 45 mg の用量で経口投与したときの主な代謝経路は，水酸化，N-脱メチル化及びメチル化であり，それぞれ投与量の 17.67%，8.32%及び 8.40%に相当した。水酸化体は更にグルクロン酸抱合を受けた（投与量の 0.27%）。全体として，ポナチニブの総クリアランスに対するいずれか単一の代謝経路によるクリアランスの割合は 30%未満である。

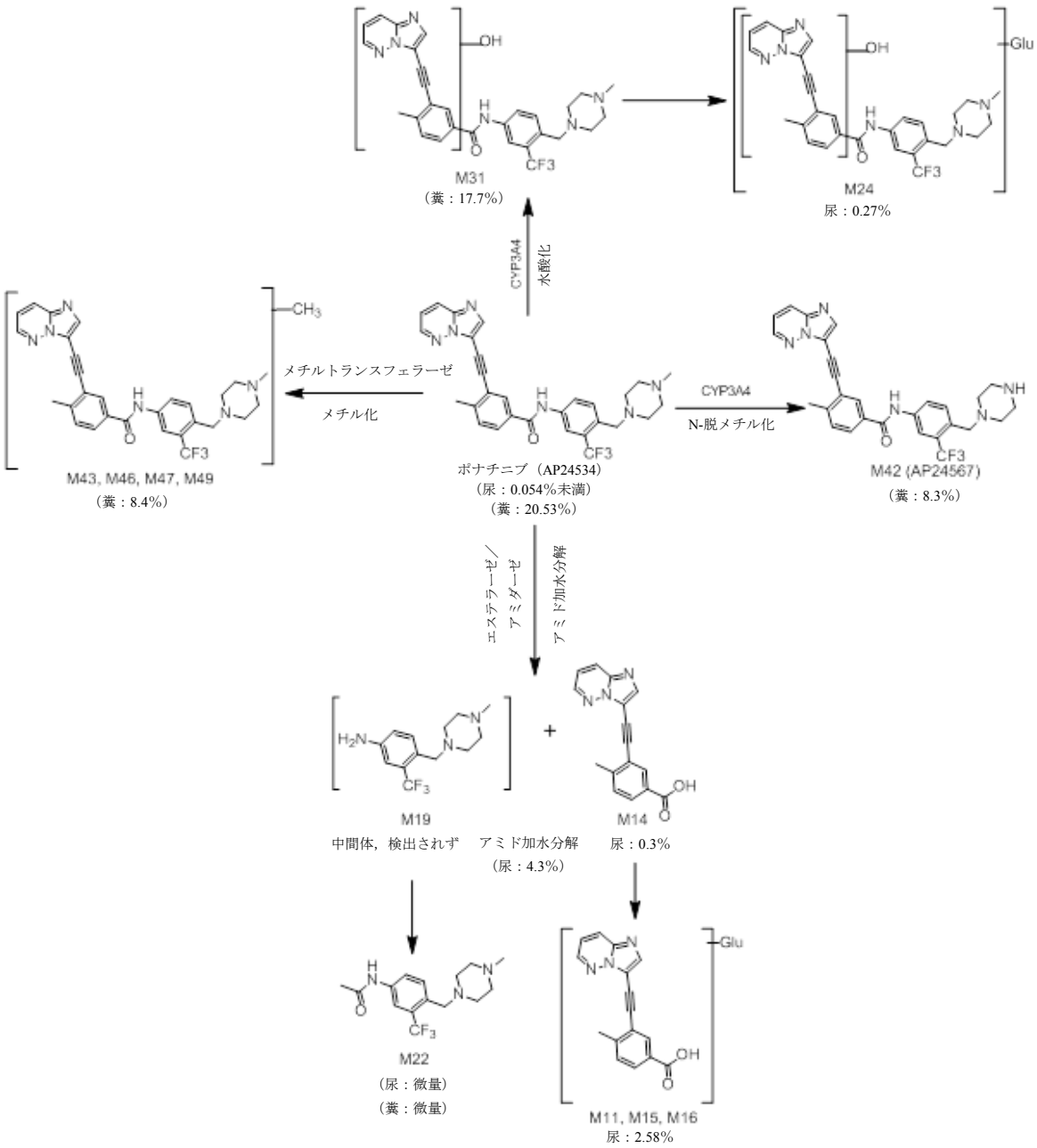


図 2.6.4-24　　ヒト尿及び糞中でのポナチニブの推定消失経路及び関与する酵素

結論

ヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの血漿中の主要放射能成分はポナチニブ及び代謝物 AP24600 であった。AP24600 の量は，ポナチニブの 58.4%であった。尿中の主要代謝物は AP24600 及びそのグルクロン酸抱合体であり，糞中では加水分解を受けていないポナチニブからの代謝物であった。糞中放射能に対するポナチニブの割合は 23.7%であり，ポナチニブは広範な代謝を受けて糞中に排泄された。この他に同定された糞中代謝物は水酸化ポナチニブ，N-脱メチル体及び複数の修飾によって生成する数種の微量代謝物であった。これらの代謝物の中で，ポナチニブの総クリアランスに対する寄与が大きい（30%を超える）ものはなかった。

In vivo における推定代謝経路

ラット，サル及びヒトにおける *in vivo* 推定代謝経路，並びに代謝物の構造及び対応する代謝物識別番号を図 2.6.4-25 及び図 2.6.4-26 に示す。

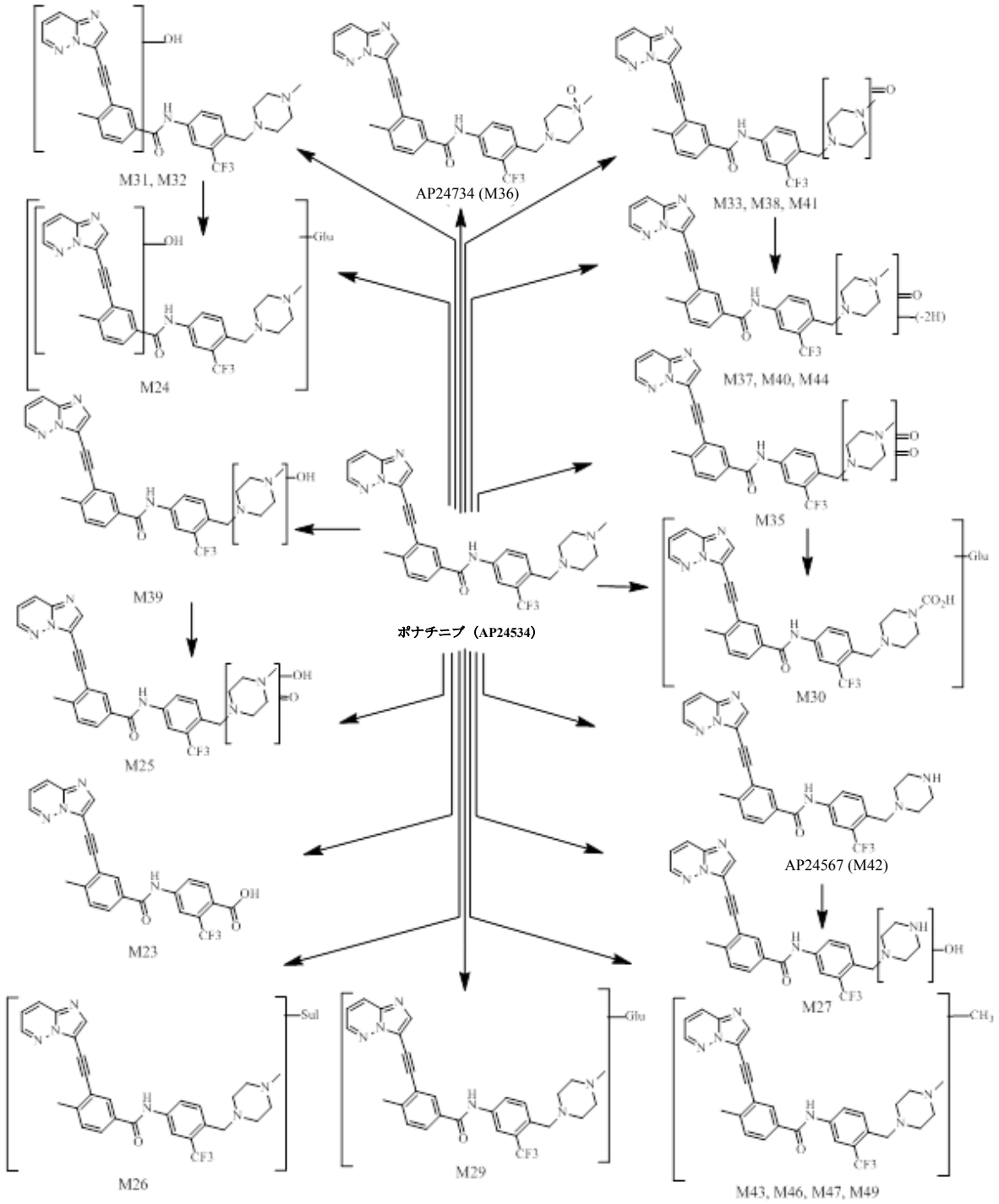


図 2.6.4-25　　ポナチニブの *in vivo* における推定代謝経路 ― パート I

注：　-OH は水酸化に至る一酸素原子添加反応，　=O は水酸化及びその後のケトン体（又はアルデヒド体）への酸化に至る一酸素原子添加反応を示す。

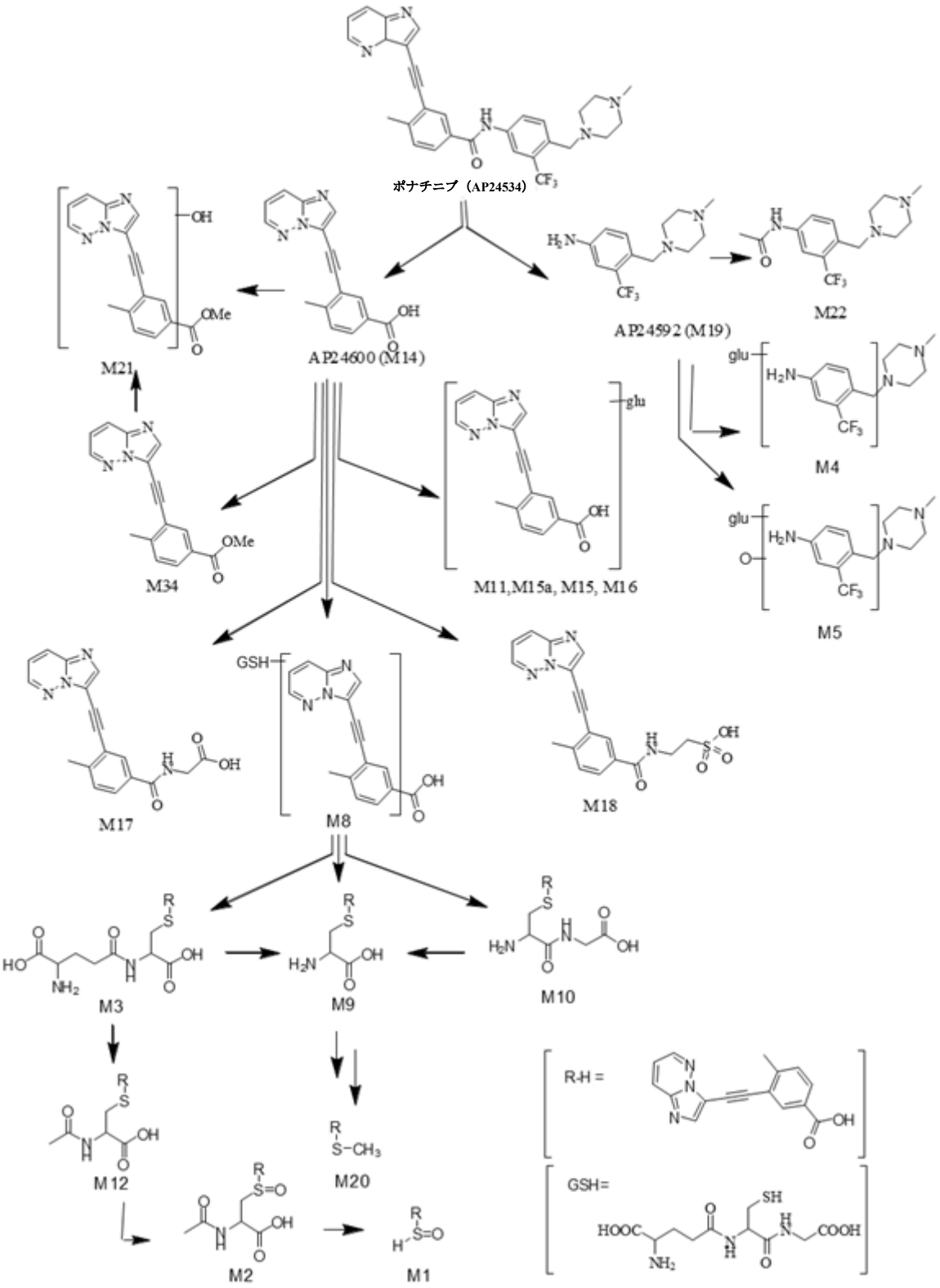


図 2.6.4-26　　ポナチニブの *in vivo* における推定代謝経路 — パート II

2.6.4.5.6　肝ミクロソーム，肝細胞及び cDNA 発現ヒト CYP によるポナチニブの *in vitro* 代謝

報告書番号 ARP258，データを 2.6.5.10.1～2.6.5.10.3 に示す。

目的

本試験の目的は，1）ラット，サル，ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞によるポナチニブの *in vitro* 代謝物を特定して代謝物組成を比較し，2）ポナチニブの代謝に関与する主なヒト CYP 分子種を特定することであった。

方法

^{14}C-ポナチニブとミクロソームのインキュベーションは，ポナチニブ濃度を 10 µmol/L として 37°C で 0～60 分間にわたり実施した。ミクロソームタンパク質濃度は，代謝物プロファイル試験及び CYP 阻害試験でそれぞれ 1.0 及び 0.5 mg/mL とし，rhCYP とのインキュベーション試験では各分子種で 100 pmol/mL とした。肝ミクロソームとのインキュベーションでは陽性対照としてテストステロン（10 µmol/L）を使用し，rhCYP とのインキュベーションでは CYP 特異的基質を使用した。

^{14}C-ポナチニブと肝細胞のインキュベーションは，ポナチニブ濃度を 10 µmol/L として 37°C で 0～120 分間にわたり実施した。肝細胞濃度は 4×10^6 個/mL とした。陽性対照としてテストステロン及び 7-エトキシクマリンを使用した。

インキュベーション終了時，氷冷メタノールを添加することにより代謝反応を停止させ，代謝物を抽出した。LC/MS/MS 分析及びデータ解析は，*in vivo* 試料で実施した方法（2.6.4.5 参照）と同じ方法とした。

結果

肝ミクロソームによる代謝

ポナチニブとミクロソームをインキュベーションした後のポナチニブ代謝物のラジオクロマトグラムを図 2.6.4-27 に示す。緩衝液のみ及び NADPH 非存在下でのインキュベーションでは，分解物は認められなかった。ラット及びヒト肝ミクロソームではポナチニブが広範に代謝されることはなかったが，サル肝ミクロソームでは中等度に代謝された。ラット，サル及びヒト肝ミクロソームとの 60 分間のインキュベーションで，それぞれポナチニブの 14.3%，39.4%及び 11.7%が代謝された（図 2.6.4-27）。ラット，サル及びヒト肝ミクロソームによる代謝速度は，それぞれ 23.8，65.7 及び 19.5 pmol/min/mg of protein であった。肝ミクロソームにおける主要代謝経路は，AP24567（M42）及び AP24734（M36）が生成する経路であった。サル肝ミクロソームでは，これ以外にも，脱ピペラジニルカルボン酸（M23）水酸化 AP24567（M27），水酸化ポナチニブ（M31）及びポナチニブのジヒドロジオール体（M50）が検出された。ヒト肝ミクロソームにより生成した代謝物の全てがサル及びラット肝ミクロソーム中にも存在していた。アミド結合の加水分解により生成する AP24600 は，肝ミクロソームとのインキュベーションでは認められなかった。

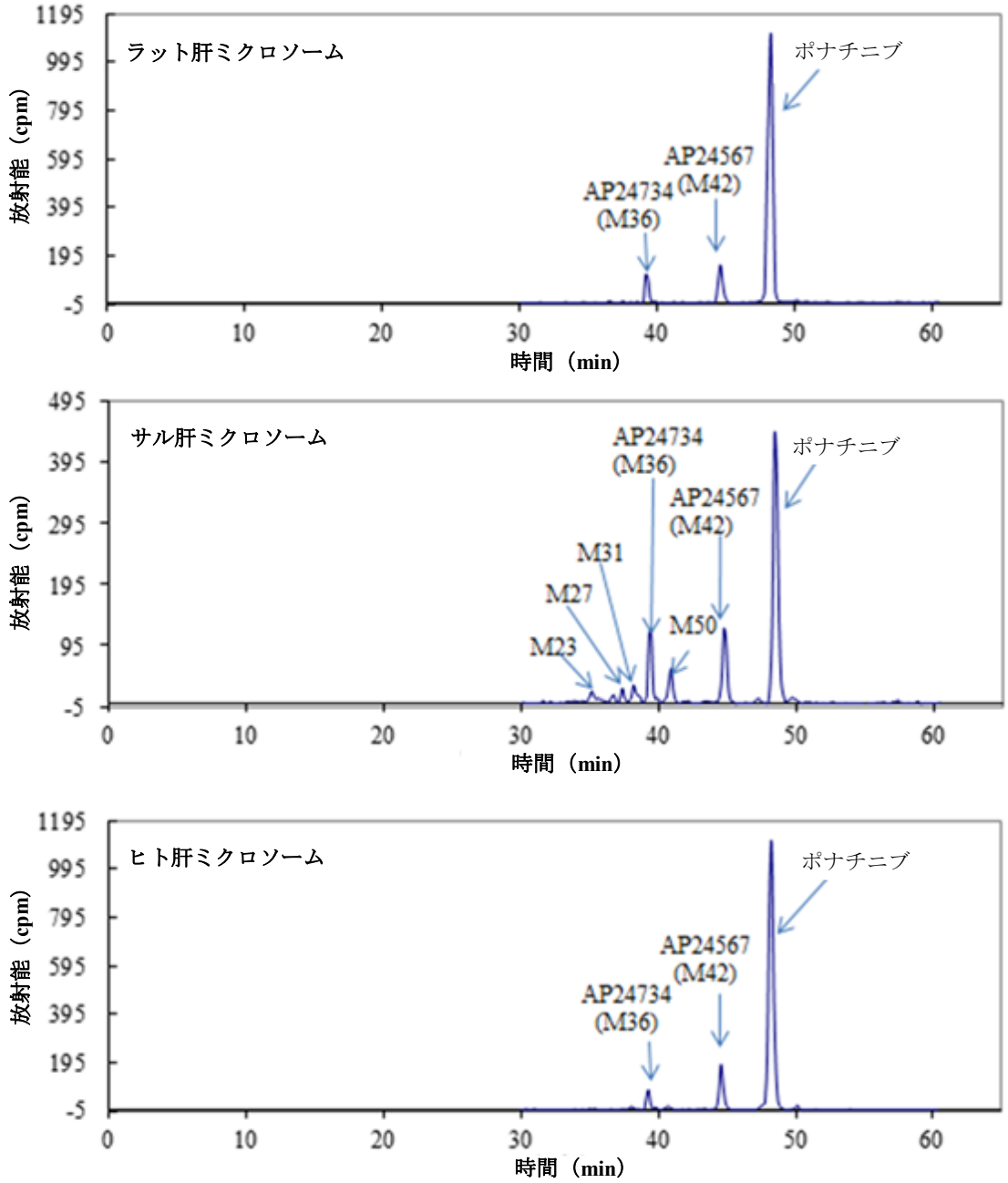


図 2.6.4-27　　ラット，サル及びヒト肝ミクロソームにより ^{14}C-ポナチニブを代謝させたときのラジオクロマトグラム

肝細胞による代謝

インキュベーション緩衝液中で ^{14}C-ポナチニブは安定であった。肝細胞中でポナチニブが広範に代謝されることはなかった。肝細胞によるポナチニブの代謝速度はラット ＜ ヒト ＜ サルの順であった。肝細胞における代謝物プロファイルは，肝ミクロソームでの代謝物プロファイルと定性的に非常に類似していた。ラット，サル及びヒト肝細胞と 120 分間インキュベーションした後のポナチニブ及び代謝物のラジオクロマトグラムを図 2.6.4-28 に示す。

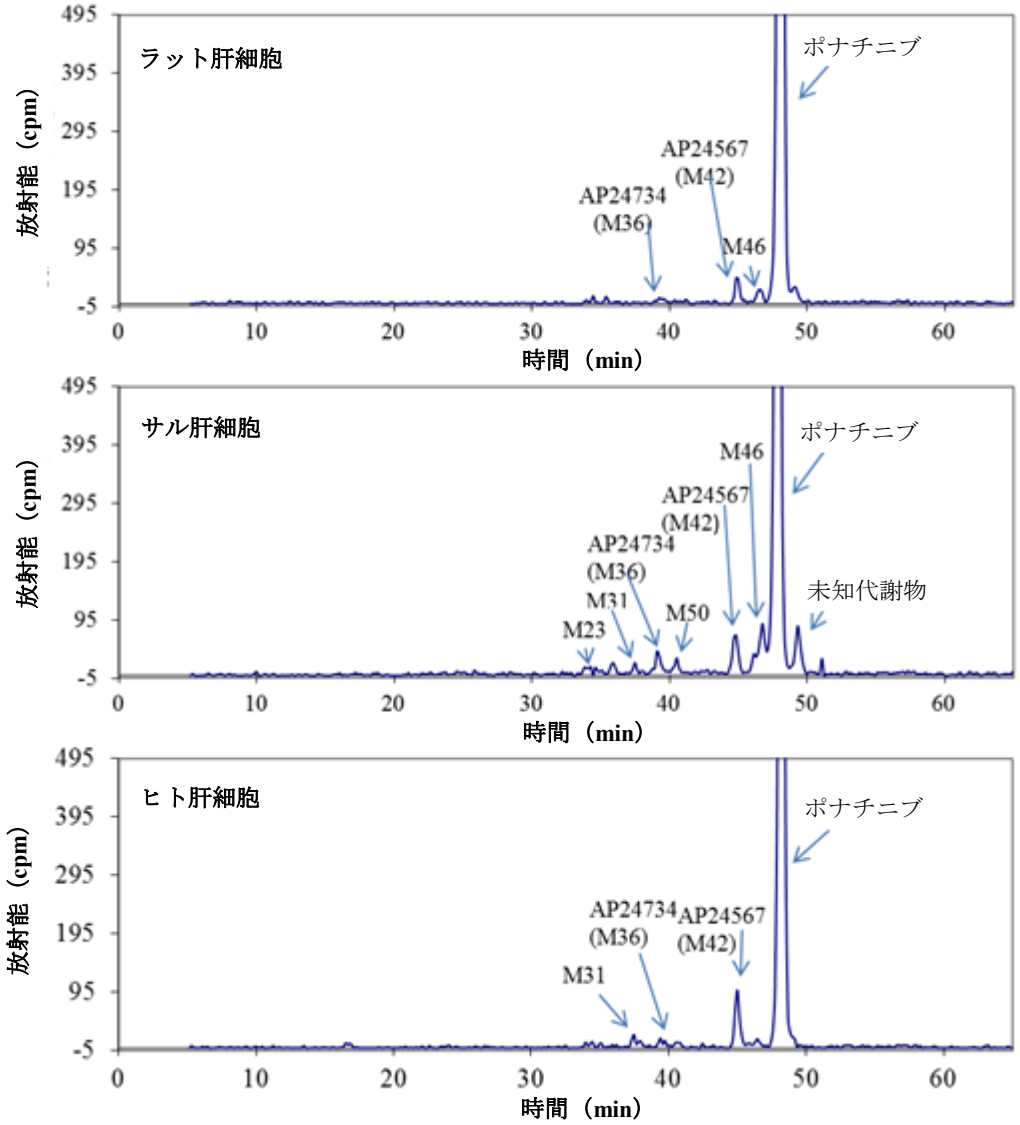


図 2.6.4-28　　ラット，サル及びヒト肝細胞により ^{14}C-ポナチニブを代謝させたときのラジオクロマトグラム

AP24567（M42）は，ラット，サル及びヒト肝細胞による主要代謝物（1.3～3.8%）であり，AP24734（M36）は 2%未満であった。ラジオクロマトグラムにおいて微量の代謝物（放射能の 1%未満）が認められ，高分解能質量分析装置で得られたデータより，これらは M46（ラット），M23，M31（サル）及び M31，M36（ヒト）であると特定された。サル肝細胞においてポナチニブのメチル化物（M46）が認められ，総放射能の 3.5%であった。ヒト肝細胞で認められた代謝物は全てサル及びラット肝細胞でも存在していた。

ポナチニブの代謝に関与する CYP 分子種の反応表現型解析

(a)組換えヒト CYP による代謝

^{14}C-ポナチニブを 8 種類の各 rhCYP（CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 及び CYP3A5）とインキュベーションした。陽性対照が各 rhCYP に特異的な代謝物に代謝されたことから，代謝反応系が有効であることが示された。rhCYP とインキュベーションした

ときの ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合を表 2.6.4-29 に示す。

表 2.6.4-29　　組換えヒト CYP とともにインキュベーションしたときの ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合

代謝物 ID	放射能%[a]		
	AP24734（M36）	AP24567（M42）	ポナチニブ
対照	ND	ND	95.0
CYP3A4	7.8	38.8	43.0
CYP2C8	3.7	21.9	64.6
CYP2D6	3.1	4.9	80.6
CYP3A5	0.8	1.6	91.1
CYP2C19	ND	ND	92.3
CYP2C9	ND	ND	93.6
CYP1A2	ND	ND	93.6
CYP2E1	ND	ND	92.0

a　各試料中の総放射能に対する割合が 0.5%以上のピークのみを示した。
ND：検出されず。

ポナチニブは rhCYP の CYP1A2，CYP2C9 及び CYP2E1 による代謝を受けなかった。一方，CYP3A5 及び CYP2C19 はポナチニブを AP24567 及び AP24734 へと代謝したが，割合は 3～5%と非常にわずかであった。ポナチニブは主に CYP3A4（52%代謝）によって代謝され，中等度で CYP2C8（30.4%代謝）及び少量が CYP2D6（14.4%代謝）によって代謝された。CYP3A4 によるポナチニブの代謝様式は，ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞による代謝と同等であった。これらの rhCYP を用いた試験で得られた結果から，ポナチニブを代謝する触媒能は CYP3A4 及び CYP2C8 で高く，続いて高いのは CYP2D6 及び CYP3A5 であることが示された。

(b)化学阻害薬及び抗 CYP 抗体による阻害試験

ポナチニブの代謝に関与する CYP についてさらなる評価を行うため，CYP 分子種特異的阻害薬及びモノクローナル抗体存在下及び非存在下で，ポナチニブのヒト肝ミクロソームによる代謝反応を実施した。化学阻害薬及びモノクローナル抗体によるポナチニブ代謝の阻害率，並びに AP24567 及び AP24734 生成の阻害率を表 2.6.4-30 に示す。

対照群（阻害薬なし）のインキュベーションによるポナチニブの代謝の程度は低く（12%），主に AP24734 が 3.2%，AP24567 が 8.1%生成しただけであった。変換率が非常に低かったことから，代謝物の生成に対する阻害率データの解釈は困難であった。AP24734 の生成は CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 特異的化学阻害薬によって約 40%阻害されたが，rhCYP2C9 及び rhCYP2C19 はポナチニブを代謝せず，AP24734 を生成しないことから，このデータの解釈には注意が必要である。

表 2.6.4-30　^{14}C-ポナチニブを各 CYP 特異的阻害薬及び抗 CYP 抗体存在下ヒト肝ミクロソーム（HLM）中で代謝したときの ^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物の割合

CYP 特異的阻害薬	CYP	試料中総放射能に対する%			阻害率（%）[b]	
		AP24734	AP24567	ポナチニブ	AP24734 の生成	AP24567 の生成
HLM (NADPH 非存在下)	-	0.8	0.4	91.9	-	-
HLM 対照 (NADPH 存在下)	-	4.0	8.5	79.9	0	0
フラフィリン (20 µmol/L)	1A2	3.6	7.8	79.4	12.5	8.6
モンテルカスト (5 µmol/L)	2C8	2.7	6.9	82.1	40.6	19.8
スルファフェナゾール (10 µmol/L)	2C9	2.5	7.0	81.3	46.9	18.5
ベンジルニルバノール (15 µmol/L)	2C19	2.7	6.9	82.6	40.6	19.8
キニジン (2 µmol/L)	2D6	2.6	5.0	83.5	43.8	43.2
ケトコナゾール (1 µmol/L)	3A4/5	0.9	2.0	87.7	96.9	80.2
トロレアンドマイシン (50 µmol/L)	3A4/5	0.9	2.2	90.1	96.9	77.8
モノクローナル抗体 (µL)[a]	CYP	試料中総放射能に対する%			阻害率（%）[b]	
		AP24734	AP24567	ポナチニブ	AP24734 の生成	AP24567 の生成
HLM (NADPH 非存在下)	-	0.8	0.4	91.9	-	-
HLM 対照 (NADPH 存在下)	-	3.2	8.9	74.2	0	0
1 µl	1A2	3.1	8.5	74.3	4.2	4.7
2 µl	2C8	3.1	8.2	76.4	4.2	8.2
5 µl	2C9	3.0	9.0	78.5	8.3	- 1.2
10 µl	2C19	3.2	7.6	80.9	0	15.3
2 µl	2D6	3.1	7.0	81.0	4.2	22.4
10 µl	3A4/5	1.4	3.6	82.6	75	62.4

a 他の CYP に影響することなく，ヒトミクロソームタンパク質 100 µg 中の特異的 CYP の最大阻害を誘発するのに十分な量。

b 阻害率%＝100 ×（1 －（阻害薬 －HLM［NADPH 非存在下］）/（HLM 対照 －HLM［NADPH 非存在下］））

－：該当せず。

CYP3A4 の強力な阻害薬であるケトコナゾール（1 µmol/L）及び CYP3A4 の強力な代謝依存的阻害薬であるトロレアンドマイシン（50 µmol/L）は，ポナチニブからの AP24734 の生成を完全に阻害した。CYP3A4/5 では AP24734 の生成が完全に阻害されたが，AP24734 の生成に CYP2C8 及び CYP2D6 が関与している可能性を否定することはできなかった。ポナチニブからの AP24734 生成は主に CYP3A4/5 によって触媒され，CYP2C8 及び CYP2D6 の関与はこれより少ないと考えられる。

AP24567 の生成は CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2C19 特異的阻害薬によって約 20%阻害され，CYP2D6 特異的阻害薬では約 40%，CYP3A4/5 特異的阻害薬では約 80%阻害された。rhCYP2C9 はポナチニブを代謝しないこと及び，肝臓における CYP2C19 発現量が少ないことから，AP24567 の生成に CYP2C9 及び CYP2C19 が関与している可能性は低いと考えられた。AP24567 の生成には主に CYP3A4 が関与し，CYP2D6 及び CYP2C8 の関与はこれより少ないと考えられる。ヒトミクロソーム CYP 阻害試験において，ポナチニブ代謝に対する CYP3A4 及び CYP3A5 の寄与率を区別することはできなかったが，rhCYP3A5 に比べて，rhCYP3A4 ははるかに多量のポナチニブを代謝したこと及び肝ミクロソームにおける発現量は CYP3A4 の方がはるかに多いことから，ポナチニブの代謝に関与する主な酵素は CYP3A4 であると考えられた。

モノクローナル抗体を用いた試験から，これらの抗体によるポナチニブの代謝阻害は不完全であることが明らかになった。抗CYP3A4モノクローナル抗体はAP24734（75%）及びAP24567（62.4%）の生成を阻害し，抗 CYP2D6 モノクローナル抗体は AP24567（22.4%）の生成を阻害した。他のモノクローナル抗体については，代謝物の生成を効率的に阻害するものはなかった。

これらの阻害試験の結果から，ポナチニブは主に CYP3A4 によって代謝され，これより少ない程度で CYP2D6，CYP2C8 及び CYP3A5 によって代謝されることが示された。

ミクロソーム及び肝細胞によるポナチニブの主要代謝経路は，N-脱メチル化及び N-オキシド生成反応であった。AP24600 は肝ミクロソーム，肝細胞及び rhCYP を用いた *in vitro* 試験系では生成しないことから，これらの試験系ではポナチニブのアミド結合の加水分解は起こらない。ヒト肝ミクロソーム／肝細胞中での *in vitro* 代謝物の全てがラット又はサル肝ミクロソーム／肝細胞のいずれかでも認められた。*In vitro* において，ポナチニブは主に CYP3A4 によって代謝され，これより少ない程度で CYP2D6，CYP2C8 及び CYP3A5 によって代謝された。

ポナチニブの in vitro における推定代謝経路

ポナチニブの *in vitro* における推定代謝経路，並びに代謝物の構造及び対応する代謝物識別番号を図 2.6.4-29 に示す。

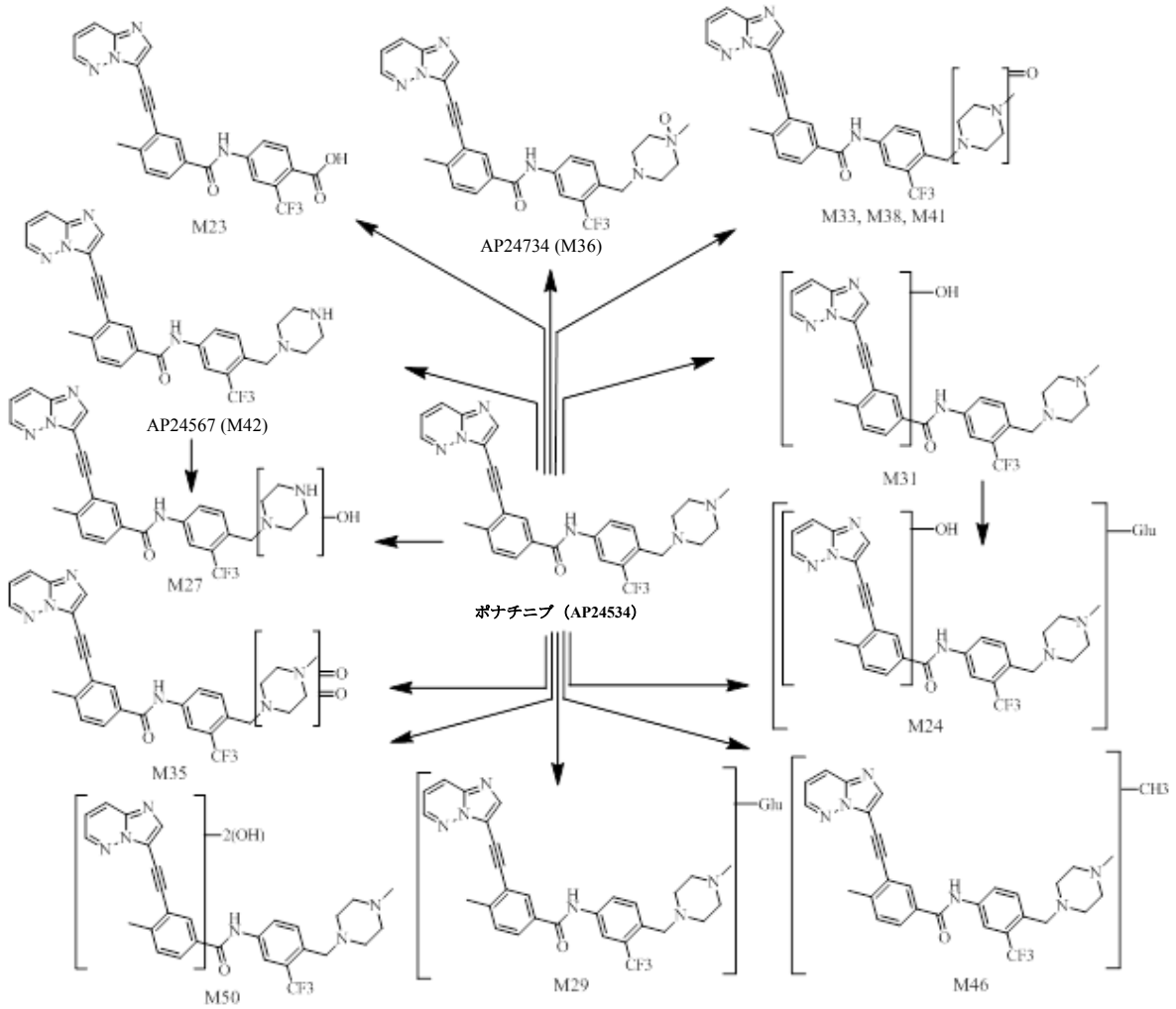


図 2.6.4-29　　ポナチニブの *in vitro* における推定代謝経路

2.6.4.5.7　ポナチニブ代謝における AP24600 生成に関する *in vitro* 検討

報告書番号 ARP319。

目的

以下に示す *in vitro* 試験の目的は，アミド結合の加水分解及び AP24600 の生成に関与する酵素を探索することであった。

1)　^{14}C-ポナチニブと組換えヒトカルボキシエステラーゼとのインキュベーション

2)　ラット，サル，ヒト肝 S9，小腸 S9，及び小腸ミクロソームによる ^{14}C-ポナチニブの代謝

方法

0.1 mol/L リン酸カリウム緩衝液（pH 7.4）中で 10 µmol/L の ^{14}C-ポナチニブを組換えヒトカルボキシエステラーゼ 1b/1c 及び 2 とともに 37°C で 60 分間インキュベーションし，氷冷アセトニトリルを添加して反応を停止させた。陰性対照として，熱不活化カルボキシエステラーゼとのインキュベーション及びインキュベーション 0 分間を設定した。このインキュベーション混合液を溶媒で抽出し，放射能検出器を接続した質量分析装置を用いて分析し，既知 *in vitro* 代謝物及び AP24600 を定量した。

10 µmol/L の ^{14}C-ポナチニブをラット，サル，ヒト肝 S9，小腸 S9 及び小腸ミクロソームとともに 37°C で 60 分間インキュベーションし，氷冷アセトニトリルを添加して反応を停止させた。試料をボルテックスミキサーにて撹拌した後，遠心分離し，得られた上清中の既知 *in vitro* 代謝物及び AP24600 について LC/MS/MS 法により分析した。

結果

検討した全ての試験系が p-ニトロフェニル酢酸を効率的に加水分解したことから，これらの試験系がエステラーゼ活性を有することが示された。肝 S9，腸 S9 及び腸ミクロソームとともにインキュベーションしたとき，ポナチニブは酸化的代謝物である AP24567 及び AP24734 に代謝された。一方，肝 S9，小腸 S9 及び小腸ミクロソームとともにインキュベーションしても，ポナチニブが AP24600 に代謝されることはなく，組換えヒトカルボキシエステラーゼによってもポナチニブが AP24600 に加水分解されなかった。

結論

ヒト，サル及びラット肝 S9，小腸 S9 及び小腸ミクロソーム中でポナチニブが AP24600 へと加水分解されることはなかった。さらに，ヒトカルボキシエステラーゼはポナチニブから AP24600 への加水分解を触媒しなかった。

2.6.4.5.8　ポナチニブのヒトチトクローム P450 阻害作用の評価

報告書番号 ARP267，データを 2.6.5.12.1 に示す。

目的

本試験の目的は，ポナチニブ及び AP24600 が *in vitro* においてヒト肝ミクロソーム中の主要 CYP 酵素（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4/5）を阻害する可能性について検討することであり，ポナチニブが併用投与される薬物の代謝を阻害する可能性について評価することであった。

方法

ポナチニブによるCYP活性の可逆的阻害（RI）を評価するため，ポナチニブ存在下又は非存在下で，各CYP分子種特異的マーカー基質（それぞれの見かけのミカエリス定数［Km］値にほぼ等しい濃度）をヒト肝ミクロソームとともにインキュベーションした。また，代謝依存的阻害（MDI）を評価するため，マーカー基質を添加してインキュベーションする前に，ポナチニブをヒト肝ミクロソーム及びNADPHとともに30分間プレインキュベーションした。さらに，時間依存的阻害（TDI）を評価するため，ポナチニブをヒト肝ミクロソームとともに30分間プレインキュベーションした後，NADPH及びマーカー基質を添加した。ヒト肝ミクロソームタンパク質濃度及びマーカー基質濃度は各CYP分子種によって異なり，ポナチニブ濃度は0～100 µmol/Lの範囲（7濃度）とした。インキュベーションは全て，マーカー基質を添加してから5分間実施した。内標準物質を含む氷冷アセトニトリルを添加することにより，反応を停止させた。得られた混合液を遠心分離し，上清をLC/MS/MS法で分析してプローブ基質の代謝物を定量した。得られた定量データよりマーカー基質からの代謝物生成速度，阻害薬濃度0 µmol/Lの時の活性に対する比率，及び各阻害薬濃度での阻害率を算出した。ソフトウェアXLfitバージョン5.2.0.0（ID Business Solutions Ltd，UK）を用いて，濃度 - 阻害率データから，IC_{50}値を算出した。

結果

a）可逆的阻害薬，b）代謝依存的阻害薬及びc）時間依存的阻害薬としてのポナチニブのCYP阻害に関するIC_{50}値を表 2.6.4-31に示す。

表 2.6.4-31　　ポナチニブの可逆的，代謝依存的及び時間依存的 CYP 阻害作用（IC_{50}値）

CYP分子種	CYP特異的プローブ基質の反応	ポナチニブ(IC_{50} µmol/L)			IC_{50}値の比 RI/MDI	IC_{50}値の比 RI/TDI	AP24600 (IC_{50} µmol/L) RI
		RI[a]	MDI[b]	TDI[c]			
CYP1A2	フェナセチン *O*-脱エチル化	13.3	16.1	32.2	0.82	0.41	> 100
CYP2B6	ブプロピオン水酸化	5.6	4.0	8.3	1.40	0.67	> 100
CYP2C8	アモジアキン *N*-脱アルキル化	6.1	4.6	9.1	1.32	0.67	> 100
CYP2C9	ジクロフェナク 4′-水酸化	10.8	15.2	21.6	0.71	0.50	> 100
CYP2C19	S-メフェニトイン 4′-水酸化	5.2	6.8	8.6	0.76	0.60	> 100
CYP2D6	デキストロメトルファン *O*-脱メチル化	11.6	18.1	21.9	0.64	0.53	> 100
CYP3A4/5	テストステロン 6β-水酸化	8.3	7.9	11.2	1.05	0.74	> 100
	ミダゾラム 1′-水酸化	13.6	11.1	21.9	1.22	0.62	> 100

a　RI - 可逆的阻害

b　MDI - 代謝依存的阻害

c　TDI - 時間依存的阻害

ポナチニブはCYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6及びCYP3A4/5（テストステロン6β-水酸化及びミダゾラム1′-水酸化の両方による評価）の直接的阻害薬であり，IC_{50}値はそれぞれ，13.3，5.6，6.1，10.8，5.2，11.6，8.3及び13.6 µmol/Lであった。代謝依存的阻害薬として，NADPH存在下で30分間プレインキュベーションしたときのIC_{50}値は4.0～18.1 µmol/Lの範囲であり，時間依存的阻害薬として，NADPH非存在下で30分間プレインキュベーションしたときのIC_{50}値は8.3～32.2 µmol/Lの範囲であった。いずれのCYPについても，IC_{50}値の比（RI/MDI）

は 1.40 以下であり，さらに，IC_{50} 値の比（RI/TDI）は 0.74 以下であった。いずれの IC_{50} 値の比についても 2 未満であったことから，ポナチニブは代謝依存的阻害薬及び時間依存的阻害薬ではないと考えられた。

全ての CYP に対する可逆的阻害の Ki 値（IC_{50}/2）は 2.6～6.8 μmol/L の範囲であった。阻害薬としての C_{max}/Ki 比が 0.1 未満である場合（Guidance for Industry: Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling - Recommendations, Draft Guidance, Center for Drug Evaluation and Research［CDER］, February 2012），また，Ki が非結合型濃度の 50 倍より大きい場合（CHMP guideline on the investigation of drug interactions［CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 - 21 June 2012］），DDI が生じる可能性は低い。

ヒトにポナチニブを 1 日 1 回 45 mg の用量で投与したときの定常状態の C_{max} は 0.145 μmol/L（77.4 ng/mL）であり（Study AP24534-07-101 CSR），Ki の最低値 2.6 μmol/L の 18 分の 1 未満である。また，ヒト定常状態におけるポナチニブの非結合型 C_{max} は 0.000116 μmol/L であり，Ki の最低値 2.6 μmol/L の 22400 分の 1 未満である。したがって，*in vivo* でポナチニブによって CYP 酵素が阻害されるリスクは低いと考えられる。ポナチニブは各 CYP に対して時間依存的及び代謝依存的阻害作用を示さなかった。また，ヒト血漿中主要代謝物であり薬理学的に不活性である AP24600 による 7 種類の CYP 阻害に対する IC_{50} 値は 100 μmol/L を超えており，AP24600 による CYP 阻害によって DDI が起こる可能性は非常に低いと考えられる。

結論

ポナチニブの治療濃度で，ポナチニブによる CYP 阻害に基づく臨床的な DDI が起こる可能性は低いと考えられた。

2.6.4.5.9 ヒト肝細胞を用いたポナチニブのチトクローム P450 遺伝子発現誘導作用の評価

報告書番号 XT103117，データを 2.6.5.12.2 に示す。

目的

本試験の目的は，用時調製した初代培養ヒト肝細胞をポナチニブで処理したときの CYP 遺伝子発現及び酵素活性に対する影響について検討することであった。

方法

初代培養ヒト肝細胞（n = 3）をポナチニブ（0.05，0.2，0.6 及び 2 μmol/L）で 72 時間処理した後の CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 誘導作用を評価した。CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 の既知誘導薬であるオメプラゾール（50 μmol/L），フェノバルビタール（750 μmol/L）及びリファンピシン（10 μmol/L）を陽性対照として使用した。処理後，細胞を回収してミクロソームを調製し，フェナセチン *O*-脱アルキル化（CYP1A2 のマーカー），ブプロピオン水酸化（CYP2B6 のマーカー）及びテストステロン 6β 水酸化（CYP3A4/5 のマーカー）について，LC/MS/MS 法により分析した。さらに，処理肝細胞から RNA を単離し，定量的リアルタイム PCR 法により CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4 及び MDR1 の mRNA 発現量に対するポナチニブの影響を評価した。この試験において，ヒト肝細胞を溶媒（ジメチルスルホキシド），ポナチニブ（最高 2 μmol/L）又は既知 CYP 誘導薬で処理しても，肝細胞形態に異常は認められなかったことから，本試験条件下では，肝細胞に対する毒性作用はないことが示された。

結果

全ての肝細胞を陽性対照で処理したとき，CYP 活性及び mRNA 発現が誘導された。

肝細胞にポナチニブを 2 µmol/L まで処理したとき，濃度依存的に CYP1A2 活性及び mRNA 発現量の増加が認められた（平均値でそれぞれ最大 3.86 倍及び 3.74 倍）。CYP1A2 誘導作用は，陽性対照であるオメプラゾールによる誘導作用の 11%以下（酵素活性）及び 6%以下（mRNA 発現量）であった。0.2 µmol/L のポナチニブ処理による CYP1A2 活性誘導作用は，溶媒対照との比較で 2 倍未満（1.75 倍）であり，陽性対照であるオメプラゾールの 2.7%にすぎなかった。

肝細胞にポナチニブを 2 µmol/L まで処理しても，CYP2B6 活性及び mRNA 発現量はほとんど変化しないか，又は全く変化しなかった（平均値で 2 倍未満の増加及び陽性対照であるフェノバルビタールによる誘導作用の 10%未満）。同様に，MDR1 の mRNA 発現量にもほとんど又は全く変化はみられなかった（2 倍未満の増加）。

肝細胞にポナチニブを 2 µmol/L まで処理したとき，CYP3A4/5 活性及び CYP3A4 の mRNA 発現量に平均値で 2 倍未満の増加が認められた。薬理作用濃度（0.2 µmol/L）のポナチニブによる誘導作用は平均値で 2 倍未満であり，リファンピシンによる CYP3A4/5 活性誘導の 10.4%にすぎなかった（個別値の範囲 2.09～18.9%）。

結論

薬理作用濃度（最高 0.2 µmol/L）のポナチニブは，CYP1A2，CYP2B6，CYP3A4 及び MDR1 活性若しくは mRNA 発現を誘導しなかった。これより高濃度（0.6 µmol/L 以上）では，（溶媒対照と比較して）平均値で CYP2B6（最高 1.54 倍）及び CYP3A4/5 活性（最高 1.63 倍）に 2 倍未満の誘導が認められたが，CYP1A2 活性についてはこれよりやや高い誘導作用が認められた（最高 3.86 倍）。しかし，検討した最高濃度である 2 µmol/L においても，ポナチニブによる CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4/5 活性誘導作用は，それぞれの陽性対照誘導薬による誘導レベルの 10.8%，4.47%及び 10.6%にすぎなかった。また，ポナチニブを 2 µmol/L まで処理しても，MDR1 の mRNA 発現量にほとんど又は全く変化は認められず，誘導作用は 2 倍未満であった。

2.6.4.5.10　培養ヒト肝細胞を用いたポナチニブのチトクローム P450 発現誘導作用の評価ーII

報告書番号[redacted]133050，データを 2.6.5.12.3 に示す。

目的

本試験の目的は，凍結保存した培養ヒト肝細胞をポナチニブ（最高 10 µmol/L までの濃度）で処理したときの CYP 酵素誘導の可能性について検討することであった。

方法

肝細胞（n = 3）を用いて，0.2，2，5，7 及び 10 µmol/L のポナチニブによる誘導作用を評価した。初代培養ヒト肝細胞をメタノール（0.1% v/v，溶媒対照），フルマゼニル（25 µmol/L，陰性対照），ポナチニブのいずれか 1 濃度，又は 3 種類の既知ヒト CYP 誘導薬（オメプラゾール［50 µmol/L］，フェノバルビタール［750 µmol/L］及びリファンピシン［20 µmol/L］）のいずれかで 3 日間，1 日 1 回処理した。処理後，マーカー基質を添加してインキュベーションし，フェナセチン *O*-脱アルキル化（CYP1A2 のマーカー），ブプロピオン水酸化（CYP2B6 のマーカー）及びミダゾラム 1’-水酸化（CYP3A4/5 のマーカー）代謝物を LC/MS/MS 法により分析した。イ

ンキュベーション後の肝細胞から RNA を単離し，定量的リアルタイム PCR 法により，CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現量を測定した。培地中への乳酸脱水素酵素の遊離及び培養期間中の顕微鏡検査により，細胞の完全性を確認した。

培養ヒト肝細胞をメタノール(溶媒), 既知 CYP 誘導薬, 又は低濃度のポナチニブ(最高 2 µmol/L)で処理しても，乳酸脱水素酵素濃度は正常であった。しかし，5 µmol/L 以上のポナチニブ処理により，3 例中 2 例において処理濃度依存的な細胞形態変化及び 1 例において乳酸脱水素酵素濃度の変化が確認された。

結果

陽性対照誘導薬で肝細胞を処理したとき，予想された酵素活性の増加が認められた。培養ヒト肝細胞を最高 10 µmol/L のポナチニブで処理しても，CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4/5 活性が誘導されることはなく（2 倍未満の変化又は陽性対照の 20%未満），CYP3A4/5 活性では，むしろ濃度依存的な低下が認められた。同様に最高 10 µmol/L までのポナチニブで処理しても，CYP1A2 の mRNA 発現量が増加することはなく，培養肝細胞 3 検体中 2 検体において，2 µmol/L 以上のポナチニブでむしろ減少が認められた。同様に, CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現量についても，培養肝細胞 3 検体中 2 検体において，2 µmol/L 以上のポナチニブで一貫した減少が認められた。この減少は，5 µmol/L 以上のポナチニブで認められた形態学的変化と一致していた。2 µmol/L ポナチニブで処理したときの CYP3A4 の mRNA 発現量は，1 例において 2 倍をわずかに超える増加を示し，他の 2 例では 2 倍未満の増加であった。これらの軽度増加は，陽性対照であるリファンピシンの 15%未満であった。

結論

初代培養ヒト肝細胞を用いた検討において, 10 µmol/L までのポナチニブ処理により, CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 の発現が誘導されることはなかった。

2.6.4.6　排泄

これらの試験の目的は，放射性標識体を投与したときの尿及び糞中回収率を測定し，主な消失経路を明らかにすることであった。ラット，サル及びヒトに放射性標識体を投与したマスバランス試験における回収率を示す。

2.6.4.6.1　ラット，サル及びヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときのマスバランス

報告書番号 ARP260，ARP259，ARP257，データを 2.6.5.13.1～2.6.5.13.3 及び 2.6.5.14.1 に示す。

ラット

方法

3 群の SD 雄ラットに ^{14}C-ポナチニブを溶液（25 mmol/L クエン酸緩衝液, pH 2.75 を用いて調製）として単回経口投与した。3 群の内訳は，1）BDC ラット（1M 群，n = 6），2）正常ラット（2M 群，n = 4）及び 3）正常ラット（3M 群，n = 14）であった。ラットの体重は平均 0.297 kg（範囲：0.263～0.319 kg）であり，約 7～10 週齢であった。投与前にラットを一晩絶食させた。投与量（及び投与放射能）は，1M 群で 9.39 mg/kg（198.9 μCi/kg），2M 及び 3M 群で 9.47 mg/kg（200.6 μCi/kg）であった。

胆汁，排泄物及びケージ洗浄液／拭き取り試料中の放射能濃度は，直接又は燃焼処理後，LSC 法により測定した。

結果

BDC ラットにおける胆汁，尿，糞，屍体，ケージ洗浄液及びケージ拭き取り試料からの投与後 72 時間までの平均総放射能排泄率は，103.21 ± 1.62%（n = 6）であった。放射能は主に胆汁中に排泄されたことから（54.36 ± 1.27%），肝臓がポナチニブの主要な消失器官であることが示唆された。72 時間の試料採取期間における糞及び尿中への放射能排泄率はそれぞれ，28.70 ± 3.44 及び 9.68 ± 1.55%であった。投与後 72 時間の屍体中に，投与した放射能の 9.07 ± 3.37%が残存していた。^{14}C-ポナチニブを投与したときの放射能の吸収率は，胆汁，尿及び屍体中回収率の合計から，73.1%と算出された。

正常（非 BDC）ラットにおける尿，糞，屍体，ケージ洗浄液及びケージ拭き取り試料からの投与後 120 時間までの平均総放射能回収率は，101.44 ± 1.51%（n = 4）であった。放射能の大部分（88.38 ± 2.38%）は糞中に排泄され，尿中には投与放射能の 10.15 ± 1.24%が排泄された。屍体中には，投与した放射能の 2.09 ± 0.17%が残存していた。投与後 0～72 時間における尿及び糞中の放射能排泄率が 97.3%であったことから，経口投与した放射能が 3 日間でほぼ完全に排泄されることが示された。正常（非 BDC）ラットにおける尿及び糞中回収率は 95.85%であり，BDC ラットの胆汁，尿及び糞中排泄率 92.74%と同程度であった。

結論

ラットに ^{14}C-ポナチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，投与した放射能の大部分（73.1%）が吸収された。放射能は主に糞中に排泄され（88.38%），尿中排泄は少量であった（10.15%）。

カニクイザル

方法

雄カニクイザル 3 例（体重 5.06～5.42 kg）に ^{14}C-ポナチニブを溶液（25 mmol/L クエン酸緩衝液，pH 2.75 を用いて調製）として 14.89 mg/kg（30 μCi/kg）の用量で単回経口投与した。投与前少なくとも 8 時間及び投与後 2 時間，動物を絶食させた。採血は投与前並びに投与後 0.5，1，2，4，8，12，24，48 時間に実施した。尿及び糞は，投与前並びに投与後 0～24，24～48，48～72，72～96，96～120，120～144 及び 144～168 時間の 24 時間間隔で採取した。ケージ残渣，ケージ洗浄液及びケージ拭き取り試料は，投与後 168 時間に採取した。動物 2 例が嘔吐したため，別の試料として回収した。血液，血漿，排泄物，嘔吐物及びケージ洗浄液／拭き取り試料中の放射能濃度は，直接又は燃焼処理後，LSC 法により測定した。

結果

血漿及び血液中の ^{14}C-ポナチニブ放射能濃度（μg eq./g）は，投与後 4 時間から 12 時間までほぼ一定であり，12 時間以降は低下した。放射能の血液／血漿比（B/P）は，投与後 24 時間にわたり 0.77～0.91 であり，ポナチニブ及びその代謝物が赤血球中に特異的に分布することはないことが明らかになった。

投与した放射能の投与後 168 時間までの平均総回収率は 88.95 ± 4.07%（n = 3）であった。サル 2 例で嘔吐が認められ，投与した放射能のそれぞれ 22.12%及び 12.22%が嘔吐物に含まれていた。投与量の 70.35 ± 11.02%が糞中に排泄されたが，嘔吐物中の回収率を含めた場合，糞と嘔吐物中放射能は合計で投与量の 81.80 ± 3.65%に相当した。尿中には投与後 168 時間までに，投与した放射能の 2.17 ± 0.47%のみが排泄された。ケージ残渣，ケージ洗浄液及びケージ拭き取り試料中の回収率は，全回収率のそれぞれ，3.38 ± 1.30%，0.40 ± 0.12%及び 1.20 ± 1.18%であった。

結論

サルに ^{14}C-ポナチニブを 15 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，放射能は主に糞中に排泄され（81.80%），尿中への排泄は僅かであった（2.17%）。^{14}C-ポナチニブ及びその代謝物が赤血球中に特異的に分布することはなかった。

ヒト

方法

ヒトに臨床適用投与量である 45 mg（100 μCi）の ^{14}C-ポナチニブを単回経口投与したときの排泄について検討した。被験者 6 例（年齢 19～45 歳）のそれぞれに ^{14}C-ポナチニブ（乾燥原末充填カプセル）を 15 mg カプセル剤（それぞれ約 36.7 μCi 含有）3 錠として，空腹状態で非炭酸水 240 mL とともに経口投与した。退院時まで（投与後 10～14 日間，被験者によって異なる），血液及び血漿，尿，糞及び拭き取りに使用したトイレットペーパーを採取した。血液及び血漿は投与前並びに投与後 0～24 時間の間の設定した時間，投与後 36 時間，投与後 48 時間及びその後 24 時間ごとに採取した。尿は投与前，投与後 0～24 時間の間は 6 時間ごと，投与後 36～72 時間の間は 12 時間ごと，その後 24 時間ごとに採取してプールした。糞は投与前，及びその後 24 時間ごとに採取してプールした。血漿は血液から調製した。糞は，水を添加してホモジネート（糞/水 = 1/4，重量比）とした後に，放射能を測定した。トイレットペーパー試料の放射能測定は行わなかった。その他の試料は全て，直接又は燃焼処理後，LSC 法により，総放射能を測定した。

結果

健康被験者に ^{14}C-ポナチニブを 45 mg の用量で経口投与したとき，血液及び血漿中放射能濃度の平均 C_{max} はそれぞれ，86.2 ± 22.2 及び 137.7 ± 33.9 ng eq./g であり，t_{max} はそれぞれ 8 及び 5 時間であった。投与後 0～96 時間における放射能の血液／血漿比（B/P）は 0.71 ± 0.13 であり，ポナチニブ及びその代謝物が赤血球中に特異的に分布することはなかった。

尿及び糞中の総放射能排泄率は 92.01 ± 1.88%であり，尿及び糞それぞれの平均放射能排泄率は 5.38 ± 0.93%及び 86.63 ± 2.37%であった。投与量の大部分（回収放射能の 96.77%）が投与後 192 時間以内に排泄された。

ラット，サル及びヒトに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの尿及び糞中排泄率を以下の表 2.6.4-32 に示す。全ての動物種において，経口投与したポナチニブは主に糞中に排泄された。

表 2.6.4-32　　ラット，サル及びヒトに ^{14}C-ポナチニブを単回経口投与したときの総放射能排泄率

動物種	投与量 (mg/kg)	投与経路	尿中排泄率 (%)	糞中排泄率 (%)	ケージ洗浄液／拭き取り／残渣及び屍体中回収率(%)	総回収率 (%)[a]
ラット[b]	9.31	経口	9.68 ± 1.55	83.06 ± 3.67[c]	10.47 ± 3.40	103.21 ± 1.62
ラット[d]	9.47	経口	10.15 ± 1.24	88.38 ± 2.38	2.91 ± 0.37	101.44 ± 1.51
サル	14.89	経口	2.17 ± 0.47	81.80 ± 3.65[e]	4.98 ± 1.76	88.95 ± 4.07
ヒト	45	経口	5.38 ± 0.93	86.63 ± 2.37	NA	92.01 ± 1.88

a　試料採取期間は，BDC ラット：0～72 時間，正常ラット：0～120 時間，サル：0～168 時間，ヒト：0～264 時間であった。

b　この試験では BDC ラットを使用した。

c　糞中排泄率には，糞中回収率 28.7 ± 3.44%及び胆汁中回収率 54.36 ± 1.27%が含まれる。

d　この試験では非 BDC ラットを使用した。

e　サルの糞中排泄率には，サル 3 例の糞中回収率 70.35 ± 11.02%並びにサル 2 例の嘔吐物中回収率 22.12%及び 12.22%が含まれる。

NA：該当なし。

2.6.4.6.2　　乳汁排泄

ポナチニブのヒト乳汁排泄を評価するための試験は実施しなかった。

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

非臨床試験動物種を用いた *in vivo* 薬物相互作用試験は実施しなかった。

in vitro 試験において，イブプロフェン，ニフェジピン，プロプラノロール，サリチル酸，ワルファリンのような高血漿タンパク結合型薬物によって，ポナチニブがヒト血漿タンパク質の結合部位から置換されることはなかった。したがって，臨床においてポナチニブの血漿タンパク結合部位からの置換によって薬物相互作用が起きる可能性は低いと考えられた。

ポナチニブの CYP による *in vitro* 代謝試験により，ポナチニブは主に CYP3A4 によって代謝され，これより少ない程度で CYP2D6，CYP2C8 及び CYP3A5 によって代謝されることが明らかとなった。したがって，CYP3A4 誘導薬及び阻害薬を併用投与したとき，薬物相互作用によって薬物動態が変動する可能性がある。ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 阻害試験において，CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A に対するポナチニブの IC_{50} 値は 5.2～13.6 µmol/L の範囲であり，Ki 値（IC_{50}/2）は 2.6～6.8 µmol/L の範囲であった。ヒトにポナチニブを 1 日 1 回 45 mg の用量で投与したときの定常状態の C_{max} は 0.145 µmol/L（77.4 ng/mL）であり（Study AP24534-07-101 CSR），Ki の最低値 2.6 µmol/L の 18 分の 1 未満である。また，ヒト定常状態におけるポナチニブの非結合型 C_{max} は 0.000116 µmol/L であり，Ki の最低値 2.6 µmol/L の 22400 分の 1 未満である。ポナチニブは代謝依存的及び時間依存的阻害薬ではなく，薬理学的に不活性なヒト血漿中主要代謝物 AP24600 も CYP の阻害薬ではない。以上のことから，臨床適用量においてポナチニブの CYP 阻害に基づく薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

培養ヒト肝細胞を最高 10 µmol/L のポナチニブで処理しても，CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4/5 活性が誘導されることはなかった。したがって，臨床的な血漿中濃度においてポナチニブの CYP 誘導に基づく薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

ポナチニブは排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP の基質ではなく，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 の基質でもなかった。また，ポナチニブは OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT1，OAT3 及び OCT2 を阻害しないが，P-gp，BCRP 及び BSEP をそれぞれ，IC_{50} 値 0.491，0.013 及び 32.0 µmol/L で阻害した。したがって，P-gp 又は BCRP の基質をポナチニブと同時投与した場合，それらの血漿中濃度を上昇させる可能性がある。評価したその他のトランスポーターに対する阻害薬及び基質とポナチニブが臨床的な薬物相互作用を起こす可能性は低いと考えられる。

2.6.4.8　考察及び結論

ポナチニブをラット及びサルに経口投与したときの吸収は比較的速やかであり，t_{max} は 4～6 時間であった。ラット及びサルに経口投与したときのバイオアベイラビリティはそれぞれ 54%及び 20.6%であった。静脈内投与後の血漿中の $t_{1/2}$ は，ラット及びサルでそれぞれ，9.72 及び 5.3 時間であった。ラットにおける血中クリアランスは中程度に高く，カニクイザルでは低かった。ラット, サル及びヒトに放射性標識ポナチニブを経口投与したとき, 放射能は主に糞中に排泄された。尿中排泄率は投与量の約 10%以下であり，サル及びヒトにおいて，尿中排泄は重要な排泄経路ではなかった。ラット，サル及びヒトにおいて，ポナチニブは主に代謝によって消失した。

ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したとき，放射能は速やかに全身に分布した。^{14}C-ポナチニブ由来放射能が有色ラットの脳髄膜及び眼のブドウ膜に結合したことから，メラニンへの結合性が示唆された。ポナチニブの血漿タンパク結合率は高く，マウス，ラット，サル及びヒト血漿でそれぞれ，99.99%，99.99%，99.78%及び 99.92%であった。また，*in vitro* 試験において，他の高血漿タンパク結合型薬物によって，ヒト血漿タンパク質の結合部位でポナチニブが置換されることはなかった。ポナチニブが赤血球に選択的に結合することはなく，血液／血漿分配率に濃度依存的な変動は認められなかった。ポナチニブは P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 の基質ではなかった。また，ポナチニブは OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT1，OAT3 及び OCT2 を阻害しないが，P-gp，BCRP 及び BSEP をそれぞれ，IC_{50} 値 0.491，0.013 及び 32.0 μmol/L で阻害した。

ポナチニブは各 CYP 分子種に対し可逆的阻害作用を示し, IC_{50} 値は 5.2～13.6 μmol/L であった。臨床適用量の血漿中濃度でポナチニブが CYP を介した併用薬の代謝を阻害する可能性は低いと考えられた。また，ポナチニブは CYP の代謝依存的又は時間依存的阻害薬ではなかった。ヒト血漿中の主要代謝物である AP24600 の各 CYP 分子種に対する阻害作用は認められなかった。また，初代培養ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験において, ポナチニブは 10 μmol/L の濃度まで, CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 の発現を誘導しなかった。

ミクロソーム及び肝細胞におけるポナチニブの主な代謝経路は，N-脱メチル化及び水酸化であった。肝臓及び小腸のミクロソーム及び S9，肝細胞，並びに組換えヒトカルボキシエステラーゼ 1b/1c/2 によるポナチニブの *in vitro* 代謝において，加水分解による AP24600 の生成は認められなかった。*In vitro* において，ポナチニブは主に CYP3A4 によって代謝され，これより少ない程度で CYP2D6，CYP2C8 及び CYP3A5 によって代謝された。ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞による *in vitro* 代謝物の全てが，ラット又はサルの肝ミクロソーム若しくは肝細胞のいずれかでも認められた。

In vivo において，ポナチニブはアミド結合で，おそらくエステラーゼ／アミダーゼによる加水分解を受けて，AP24600 及び AP24592 を生成した。AP24600 はラット及びヒト血漿中の主要代謝物であったが，サル血漿中では微量であった。AP24600 のラット，サル及びヒト血漿中濃度は，ポナチニブ濃度のそれぞれ，263%，1%未満及び 58.4%であった。ラットにおけるポナチニブの主要代謝経路は，糞中に排泄される AP24567 の生成及び尿中に排泄される AP24600（及びその代謝物）の生成である。サルにおいて，腎臓を介した排泄経路は重要ではなかった。サル糞中では，薬物由来放射能は主に未変化体，AP24567，水酸化ポナチニブ，ポナチニブの 2 箇所のラクタム

化物及び AP24734 であった。0～24 時間のヒトプール血漿において，ポナチニブは総放射能の 25.5%を占めていた。AP24600，AP24600 のグルクロン酸抱合体及び AP32318 はそれぞれ，血漿中放射能の 14.9%，3.4%及び 7%を占めていた。投与 24 時間以降のヒト血漿試料中に，AP32318 及びポナチニブの 2 つの主要放射能成分が特定され，AP32318 の血漿からの消失動態はポナチニブと同様であった。投与 24 時間以降の血漿試料の代謝物プロファイルは，それ以前の試料と一致しており，投与 24 時間以降も血漿中に新たな代謝物は認められなかった。

ヒト糞中において，ポナチニブが総放射能に占める割合は 23.7%であり，ポナチニブは広範に代謝された。未変化体以外にヒト糞中で特定された代謝物は，水酸化ポナチニブ，AP24567 及び複数の修飾によって生成する数種の微量代謝物であった。ポナチニブを経口投与したときの主要代謝経路は，水酸化，N-脱メチル化及びメチル化であり，それぞれ投与量の 17.67%，8.32%及び 8.40%であった。これらの代謝物の中で，投与量に占める割合が 30%を超えるものはなく，これらの代謝経路で全消失に大きく寄与するものはないことが示唆された。

2.6.4.9　参考文献

Bachir-Cherif D, Blum D, Braendli-Baiocco A, Chaput E, Pacheco GC, Flint N, Haiker M, Hoflack JC, Justies N, Neff R, Starke V, Steiner G, Tournillac CA, Singer T, Ubeaud-Séquier G, Schuler F., Xenobiotica. 2011 Aug;41(8):701-11.

アイクルシグ錠 15 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.5 薬物動態試験概要表

大塚製薬株式会社

目次

目次 2
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 6
2.6.5.3 薬物動態試験： 吸収：単回投与 10
2.6.5.4 薬物動態試験： 吸収：反復投与 14
2.6.5.5 薬物動態試験： 分布 16
2.6.5.6 薬物動態試験： タンパク結合 22
2.6.5.7 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験 26
2.6.5.8 薬物動態試験： その他の分布試験 27
2.6.5.9 薬物動態試験： 代謝：*In Vivo* 35
2.6.5.10 薬物動態試験： 代謝：*In Vitro* 46
2.6.5.11 薬物動態試験： 推定代謝経路 49
2.6.5.12 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害 55
2.6.5.13 薬物動態試験： 排泄 58
2.6.5.14 薬物動態試験： 排泄：胆汁 61
2.6.5.15 薬物動態試験： 薬物相互作用 62
2.6.5.16 薬物動態試験： その他 63

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表

2.6.5.1.1　薬物動態試験　一覧表（1）　被験物質：ポナチニブ，AP24600

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Absorption					
Absorption after a Single Dose	Female CD-1 Mice	Single Oral	API[a]	ARP073	4.2.2.2
Absorption after a Single Dose	Male Sprague-Dawley Rats	Single Intravenous/ Oral	[redacted][b]	12ARIAP3	4.2.2.2
Absorption after a Single Dose	Male Cynomolgus Monkeys	Single Oral (Solution, Capsules)	[redacted][c]/API[a]	ARP049	4.2.2.2
Absorption after a Single Dose	Male Cynomolgus Monkeys	Single Intravenous/ Oral (Capsules)	[redacted][c]/API[a]	ARP050	4.2.2.2
Absorption after a Single Dose	Beagle dogs	Oral - Capsule	[redacted][b]/ API[a]	ARP289	4.2.2.2
Absorption after Repeated Doses	Male and Female Sprague-Dawley Rats	14 Daily Oral Doses (Solution)	[redacted][d]	805799[e]	4.2.2.2
Distribution					
Tissue Distribution in Rats	Male albino Sprague-Dawley and pigmented Long-Evans Rats	Single Oral	[redacted][f]	280N-1101	4.2.2.3
Plasma Protein Binding and Human Liver Microsomal Protein Binding	Mouse, Rat, Cynomolgus Monkey and Human	*In Vitro*	API[a]	ARP053	4.2.2.3
AP24600 Protein Binding	Rat and Human Plasma	*In Vitro*	API[a]	ARP312	4.2.2.3
Blood-to-Plasma Partition Ratio	Mouse, Rat, Cynomolgus Monkey and Human	*In Vitro*	API[a]	ARP053	4.2.2.3
Displacement of Human Plasma Protein Bound Ponatinib by Highly Protein Bound Concomitant Medications	Human Plasma	*In Vitro*	API[a]	ARP350	4.2.2.6
Transporter Studies	HEK/Caco-2/CPT-P1 cells	*In Vitro*	[redacted][b]	11ARIAP5R1	4.2.2.6

（続く）

2.6.5.1.1　　薬物動態試験　　一覧表（1）　　被験物質：ポナチニブ，AP24600

（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Metabolism – *In Vivo*					
Metabolism in Mouse Following a Single Oral Dose	Male CD-1 Mice	Single Oral	API[a]	ARP265	4.2.2.4
Metabolism in Rats Following a Single Oral Dose	Male Sprague-Dawley Rats	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][h]	ARP260	4.2.2.4
Pharmacokinetics of AP24600 and Ponatinib in Rats	Male Sprague-Dawley Rats	Single Intravenous/Oral	API[a]	ARP261	4.2.2.4
Metabolism in Monkeys Following a Single Oral Dose	Male Cynomolgus Monkeys	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][h]	ARP259	4.2.2.4
Metabolism in Human (samples from AP24534-11-104)	Male Human	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][i]/[redacted][j]	ARP257	4.2.2.4
Metabolite profiling in post 24 h plasma samples from human ADME study AP24534-11-104	Male Human	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][i]/[redacted][j]	ARP395	4.2.2.4
Metabolism – *In Vitro*					
Metabolism in Liver Microsomes, Hepatocytes and in cDNA-expressed Human CYP Isozymes	Rat, Monkey and Human liver Microsomes and Hepatocytes	*In Vitro*	API[a]	ARP258	4.2.2.4
Evaluation of Ponatinib as an Inhibitor of Human Liver Cytochrome P450s	Human Liver Microsomes	*In Vitro*	API[a]	ARP267	4.2.2.6
Evaluation of Ponatinib as an Inducer of Cytochrome P450s in Human Hepatocytes	Human Hepatocytes	*In Vitro*	[redacted][k]	XT103117	4.2.2.6
Evaluation of Ponatinib as an Inducer of Cytochrome P450s in Human Hepatocytes - II	Human Hepatocytes	*In Vitro*	[redacted][k]	[redacted]133050	4.2.2.6

（続く）

（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Excretion					
Excretion in Rat	Male Sprague-Dawley Rats	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][h]	ARP260	4.2.2.4
Excretion in Monkey	Male Cynomolgus Monkeys	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][h]	ARP259	4.2.2.4
Excretion in Human	Male Human	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][i]/[redacted][j]	ARP257	4.2.2.4
Excretion into Bile	Male Sprague-Dawley Rats	Single Oral	API[a]/[redacted][g]/[redacted][h]	ARP260	4.2.2.4
Pharmacokinetic Drug Interactions					
No nonclinical drug-drug interaction studies were performed.					

a: API = ARIAD Pharmaceuticals Inc. Cambridge, MA
b: [redacted]
c: [redacted]
d: [redacted] Canada
e: This study was conducted in compliance with GLP.
f: [redacted]
g: [redacted]
h: [redacted]
i: [redacted]
j: [redacted]
k: [redacted]

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1　分析方法及びバリデーション試験（1）　被験物質：ポナチニブ，AP24567，AP24600

Study No.	Species/Strain	GLP	LC/MS/MS Method Details
Mouse			
QAA00123	Mouse/CD-1	Yes	Assay Matrix: Mouse Plasma Analyte: Ponatinib, AP24567 Internal Standard: AP024691 ([d_4]-Ponatinib); AP024693 ([d_3]-AP24567) Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 1 to 1000 ng/mL Validation Method: [Ref. [redacted]609VSLZ_ACM.DOC] Storage stability: Plasma: 31 days at both - 20°C and - 70°C
ARP024.0	Mouse/CD-1	No	Assay Matrix: Mouse Plasma Analyte: Ponatinib, AP24567 Internal Standard: AP23848 Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 1.2 to 3000 ng/mL Validation Method: Laboratory method with QCs

（続く）

（続き）

Study No.	Species/Strain	GLP	LC/MS/MS Method Details
Rat			
QAA00120 QAA00122 QAA00193 20009232	Rat/Sprague-Dawley Rat/Sprague-Dawley Rat/Sprague-Dawley Rat/Sprague-Dawley	Yes Yes Yes Yes	Assay Matrix: Rat Plasma Internal Standard: AP024691 ([d_4]-Ponatinib); AP024693 ([d_3]-AP24567) Analyte: Ponatinib, AP24567 Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 1 to 1000 ng/mL Validation Method: [Ref. [redacted]608VSLZ_ACM.DOC] Storage stability: Plasma: 603 days at - 70°C for ponatinib and AP24567
20011779	Rat/Long-Evans	Yes	Assay Matrix: Rat Plasma/ Long- Evans Internal Standard: AP024691 ([d_4]-Ponatinib) Analyte: Ponatinib Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 1 to 1000 ng/mL Validation Method: [Ref. [redacted]608VSLZ_ACM.DOC] Storage stability: Plasma: 603 days at - 70°C for ponatinib and AP24567

（続く）

（続き）

Study No.	Species/Strain	GLP	LC/MS/MS Method Details
Mouse			
ARP037.0	Rat/Sprague-Dawley	No	Assay Matrix: Rat Plasma Internal Standard: AP23848 Analyte: Ponatinib Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 1.2 to 3000 ng/mL Validation Method: Laboratory method with QCs
ARP038.0	Rat/Sprague-Dawley	No	Assay Matrix: Rat Plasma Internal Standard: AP24658 Analyte: Ponatinib, AP24567 Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 1.2 to 3000 ng/mL Validation Method: Laboratory method with QCs
Monkey			
QAA00121 QAA00124 QAA00194	Monkey/Cynomolgus Monkey/Cynomolgus Monkey/Cynomolgus	Yes Yes Yes	Assay Matrix: Cynomolgus Monkey Plasma Internal Standard: AP024691 ([d_4]-Ponatinib); AP024693 ([d_3]-AP24567) Analyte: Ponatinib, AP24567 Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 1 to 1000 ng/mL Validation Method: [Ref. [redacted]607VSLZ_ACM.DOC] Storage stability Plasma: 713 days at - 70°C for ponatinib and AP24567
QAA00113	Monkey/Cynomolgus	No	Assay Matrix: Cynomolgus Monkey Plasma Analyte: Ponatinib, AP24567 Internal Standard: AP23848 Sample Processing: Protein precipitation procedure Assay Range: 3 to 1200 ng/mL Validation Method: Laboratory method with QCs

（続く）

（続き）

Study No.	Species/Strain	GLP	LC/MS/MS Method Details
Rat (PK)			
805799	Rat/Sprague-Dawley	Yes	Assay Matrix: Rat Plasma Analyte: Ponatinib, AP24600 Internal Standard: AP24691 ([d_4]-Ponatinib); AP30376 ([d_6]-AP24600) Sample Processing: Solid-phase extraction Assay Range: 0.5 to 250 ng/mL Validation Method: [redacted]0078VRM_ACM_R1 Storage stability Plasma: 181 days at - 70°C for ponatinib and AP24600

2.6.5.3　薬物動態試験：　吸収：単回投与

2.6.5.3.1　　薬物動態試験　　吸収：単回投与（1）　　被験物質：ポナチニブ

マウス

報告書番号：ARP073，資料番号：4.2.2.2

Species:	CD-1 Mouse
Gender (M/F)/Number of animals:	F/3 mice/group/time point
Feeding condition:	Fed
Analytes:	Ponatinib, AP24567
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer, pH 2.74 (2.5, 5, 10 and 100 mg/kg), water (30 mg/kg)
Method of Administration:	Oral
Doses (mg/kg):	2.5, 5, 10, 30, and 100
Sample:	Plasma
Time Points (h):	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, and 24 post-dose
Assay:	LC/MS/MS

PK Parameters					
Oral Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC (ng·h/mL)	AUC/Dose (ng·h/mL)/(mg/kg)	$t_{1/2}$ (h)
Ponatinib					
2.5	47.7	2.0	485.1	194.1	3.6
5	122.7	2.0	995.2	199.0	3.2
10	209.9	2.0	2086.4	208.6	3.2
30	416.3	2.0	4714.1	157.1	2.9
100	3906.7	2.0	36608.5	366.1	4.7
AP24567					
100	774.0	2.0	8045.0	80.5	1.8

2.6.5.3.2　　薬物動態試験　　吸収：単回投与（2）　　被験物質：ポナチニブ

SD ラット

報告書番号：12ARIAP3，資料番号：4.2.2.2

Species:	Sprague-Dawley Rats	
Study Number:	12ARIAP1R1	12ARIAP3
Gender (M/F)/Number of animals:	M/N = 3/Group	M/N = 3/Group
Analytes:	Ponatinib, AP24600	
Feeding condition:	Fasted	
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75	
Method of Administration:	Oral	Intravenous
Doses (mg/kg):	15	3
Time Points (h):	1, 2, 4, 6, 8, and 24 post-dose	0.083, 0.50, 1, 2, 4, 8 and 24 post-dose
Sample:	Plasma	
Assay:	LC/MS/MS	

PK Parameters	Values[a]							
	Ponatinib		AP24600		Ponatinib		AP24600	
	PV plasma	JV plasma	PV plasma	JV plasma	PV plasma	JV plasma	PV plasma	JV plasma
C_0 (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	392 ± 267	427 ± 298	NA	NA
C_{max} (ng/mL)	924 ± 289	453 ± 68.7	736 ± 529	535 ± 381	NA	NA	35.9 ± 32.1	32.2 ± 28.8
t_{max} (h)	4.3 ± 2.9	6.0 ± 0.0	2.7 ± 2.9	2.0 ± 1.7	NA	NA	3.3 ± 1.2	1.7 ± 2.1
$t_{1/2}$ (h)	8.22[b]	9.95 ± 2.17	5.89 ± 1.14	5.96 ± 0.33	10.7 ± 3.15	9.72 ± 1.73	11.8 ± 1.7	13.2 ± 2.6
AUC_{last} (ng·h/mL)	9690 ± 1775	6457 ± 1120	6240 ± 3868	5023 ± 3451	2673 ± 1883	2497 ± 1694	512 ± 416	481 ± 432
AUC_{∞} (ng·h/mL)	10970[b]	8320 ± 1786	6747 ± 4243	5397 ± 3759	3490 ± 2597	3088 ± 2090	664 ± 540	636 ± 541
CL (mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA	30.3 ± 34.0	26.5 ± 24.2	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA	NA	NA	18.7 ± 14.7	17.7 ± 12.4	NA	NA
Oral Bioavailability (%)	NA	54 ± 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA

a: The values represent mean ± SD (n = 3), unless mentioned otherwise.

b: Value represents mean of n = 2 ; hence standard deviation was not calculable.

NA : Not Applicable

JV: Jugular vein

PV: Portal vein

2.6.5.3.3　　薬物動態試験　　吸収：単回投与（3）　　被験物質：ポナチニブ

カニクイザル

報告書番号：ARP049，ARP050，資料番号：4.2.2.2

Species:	Cynomolgus Monkeys			
Study Number:	ARP049[a]		ARP050	
Gender (M/F)/Number of animals:	Male/5		Male/5	
Analyte:	Ponatinib, AP24567			
Feeding condition:	Fasted		Fasted (On Day 8, fasting for 12-14 hours prior to dosing)	
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75 (solution)	Capsules	Solution (pH 3.5 water)	Capsules
Method of Administration:	Oral	Oral	IV	Oral
Dose (mg/kg):	6 (Day 1)	6 (Day 8)	1 (Day 1)	2 - 3 (Day 8)
Sample:	Plasma			
Time Points (h):	0.25, 0.5,1, 2, 4, 8, 16, 24, 48, and 72 post-dose		0.083, 0.25, 0.5,1, 2, 4, 8, 16, 24, 48, and 72 post-dose	
Assay:	LC/MS/MS			

PK parameters				
C_0 (ng/mL)	NA	NA	NA	NA
C_{max} (ng/mL)	540 ± 254	443 ± 251	1219 ± 525	96 ± 57
t_{max} (h)	4	4	NA	4
AUC_{last} (ng·h/mL)	7366 ± 3583	5796 ± 3634	2065 ± 758	835 ± 438
AUC_{∞} (ng·h/mL)	7509 ± 3523	5831 ± 3618	2096 ± 772	942 ± 438
CL (mL/min/kg)	NA	NA	8.7 ± 2.4	NA
Vd_{ss} (L/kg)	NA	NA	2.6 ± 0.9	NA
$t_{1/2}$ (h)	7.9 ± 3.3	7.0 ± 1.6	5.3 ± 2.6	7.1 ± 2.3
Bioavailability (%)	NA	NA	20.6 ± 13.9	

a: In study # ARP049, emesis was observed in one monkey after one minute of oral solution dosing. Therefore data from that monkey 1002 was excluded from computation of mean in both the solution as well as capsule dosing regimens.

NA: Not Applicable

2.6.5.3.4　　薬物動態試験　　吸収：単回投与（4）　　被験物質：ポナチニブ遊離塩基、
ポナチニブ一塩酸塩、
ポナチニブビス硫酸塩、
ポナチニブビスシュウ酸塩

ビーグル犬

報告書番号：ARP289、資料番号：4.2.2.2（参考資料）

Species:	Beagle Dogs
Gender (M/F)/Number of animals:	M / 3 (4 legs)
Analyte:	Ponatinib, AP24567
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Capsule
Method of Administration:	Oral
Doses (mg/kg):	2.0
Time Point:	Pre, 10, 20, 40 minutes, 1, 2, 4, 6, 8, and 24 hours
Sample:	Plasma
Assay:	LC/MS/MS

PK Parameters[a]					
Test Compound	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{∞} (ng·h/mL)	AUC_{∞}/Dose (ng·h/mL/mg)
Ponatinib Free base	12.8	6.0	8.7	230.8	115.4
Ponatinib Hydrochloride	10.7	8.0	9.2	208.4	104.2
Ponatinib Bissulfate salt	22.3	4.0	7.7	338.6	169.3
Ponatinib Bisoxalate salt	19.6	4.0	9.2	326.3	163.2

a: The values are the mean of n=3.

2.6.5.4　薬物動態試験：　吸収：反復投与

2.6.5.4.1　薬物動態試験　吸収：反復投与（1）　被験物質：ポナチニブ

ポナチニブ 14 日間反復経口投与後のポナチニブ及び AP24600 の薬物動態

報告書番号：805799，資料番号：4.2.2.2

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M/F)/Number of animals:	M + F/35/per gender
Analytes:	Ponatinib, AP24600
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75
Method of Administration:	Oral
Doses (mg/kg):	1.5 and 3.0 daily for 14 days
Time Points (h):	0.5, 1, 2, 4, 8, 16 and 24 post-dose (N = 5 mice/time point)
Sample:	Plasma
Assay:	LC/MS/MS

PK Parameters	Ponatinib (1.5 mg/kg) Group 2		Ponatinib (3.0 mg/kg) Group 3		Ponatinib (1.5 mg/kg) Group 2		Ponatinib (3.0 mg/kg) Group 3	
	Ponatinib	Ponatinib	Ponatinib	Ponatinib	AP24600	AP24600	AP24600	AP24600
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	34.1	42.2	88.1	81.5	52.4	54.6	83.4	113
t_{max} (h)	8	8	8	8	4	4	1	4
$t_{1/2}$ (h)	7.23	7.21	5.66	RNR	5.73	5.44	5.38	6.99
AUC_{last} (ng·h/mL)	484	539	1087	1100	424	527	830	1080

（続く）

ポナチニブ 14 日間反復経口投与後のポナチニブ及び AP24600 の薬物動態

（続き） 報告書番号：805799，資料番号：4.2.2.2

PK Parameters	Ponatinib (1.5 mg/kg) Group 2		Ponatinib (3.0 mg/kg) Group 3		Ponatinib (1.5 mg/kg) Group 2		Ponatinib (3.0 mg/kg) Group 3	
	Ponatinib	Ponatinib	Ponatinib	Ponatinib	AP24600	AP24600	AP24600	AP24600
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Day 7								
C_{max} (ng/mL)	35.1	42.5	76.5	74.1	49.4	72.4	134	156
t_{max} (h)	8	4	8	8	4	4	1	1
$t_{1/2}$ (h)	7.55	RNR	RNR	RNR	5.60	5.63	5.74	8.06
AUC_{last} (ng·h/mL)	528	616	1282	1127	445	670	1271	1484
Day 14								
C_{max} (ng/mL)	36.3	50.2	92.3	94.8	52.7	97.5	167	222
t_{max} (h)	8	4	8	8	4	4	1	1
$t_{1/2}$ (h)	RNR	RNR	RNR	RNR	6.10	6.47	5.91	10.2
AUC_{last} (ng·h/mL)	652	700	1723	1615	543	876	1695	2198

RNR: Result not reported because the AUC_{∞} was extrapolated by more than 20% or Rsq was < 0.800.

2.6.5.5　薬物動態試験：　分布

2.6.5.5.1　薬物動態試験　分布（1）　被験物質：^{14}C-ポナチニブ

組織内分布：白色ラット

報告書番号：280N-1101，資料番号：4.2.2.3

Species:	Sprague-Dawley Rats			
Gender (M/F)/Number of animals:	Male/3			
Feeding condition:	Fasted overnight			
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75			
Method of Administration:	Oral Gavage			
Dose (mg/kg):	10 (radioactive dose of approximately 200 µCi/kg body weight)			
Radionuclide:	^{14}C			
Specific Activity:	21.30 µCi/mg			
Time Points (h):	1, 24 and 168 post-dose			
Analyte:	^{14}C-Ponatinib derived radioactivity			
Assay:	Liquid Scintillation Counting (LSC), Phosphor Imaging (QWBA)			
Tissue Type	Concentration (µg eq./g) of Radioactivity			
	Tissue	1h	24h	168h
Vascular/Lymphatic	Blood (cardiac)	2.673	0.624	BQL
	Bone Marrow	3.031	4.868	0.093
	Lymph Nodes	2.665	7.988	0.125
	Spleen	9.418	10.308	0.241
	Thymus	1.742	5.717	0.068
Excretory/Metabolic	Bile (in duct)	61.895	17.697	0.383
	Renal Cortex	15.626	8.065	0.311
	Renal Medulla	9.982	7.155	0.358
	Liver	38.038	7.334	0.269
	Urinary Bladder	5.802	1.695	0.440
	Urinary Bladder (contents)	23.921	4.940	BQL

（続く）

2.6.5.5.1　　薬物動態試験　　分布（1）　　被験物質：^{14}C-ポナチニブ

組織内分布：白色ラット

（続き）　　報告書番号：280N-1101，資料番号：4.2.2.3

Tissue Type	Concentration (µg eq./g) of Radioactivity			
	Tissue	1h	24h	168h
Central Nervous System	Brain (cerebellum)	0.185	0.232	BQL
	Brain (cerebrum)	0.143	0.353	BQL
	Brain (medulla)	0.155	0.287	BQL
	Spinal Cord	0.180	0.263	BQL
Endocrine	Adrenal Gland	6.372	22.336	5.984
	Pituitary Gland	5.256	18.266	0.764
	Thyroid	9.448	12.436	0.325
Secretory	Harderian Gland	2.203	70.620	5.298
	Mammary Gland Region	2.111	0.622	BQL
	Pancreas	6.320	6.864	0.304
	Salivary Gland	4.517	7.595	0.197
Fatty	Adipose (brown)	5.584	3.096	0.146
	Adipose (white)	1.153	0.959	0.046
Dermal	Skin (non-pigmented)	1.268	3.549	0.098
Reproductive	Epididymis	0.906	3.553	0.437
	Prostate Gland	1.996	3.140	0.162
	Seminal Vesicles	0.599	0.822	0.075
	Testis	0.301	2.046	0.083
Skeletal/Muscular	Bone	0.075	0.249	BQL
	Heart (myocardium)	5.522	2.623	0.427
	Heart (endocardium)	6.499	4.847	1.610
	Skeletal Muscle	0.985	1.332	0.085
Respiratory Tract	Lung	15.149	11.722	0.217

（続く）

組織内分布：白色ラット

（続き）　　報告書番号：280N-1101，資料番号：4.2.2.3

Tissue Type	Concentration (µg eq./g) of Radioactivity			
	Tissue	1h	24h	168h
Alimentary Canal	Cecum	2.897	5.183	0.146
	Cecum (contents)	0.048	72.412	0.063
	Esophagus	61.889	2.324	0.077
	Large Intestine	1.623	2.574	0.147
	Large Intestine (contents)	BQL	89.516	0.172
	Oral Mucosa	2.172	10.061	0.044
	Small Intestine	144.519	4.489	0.238
	Small Intestine (contents)	*563.912	37.460	0.074
	Stomach (gastric mucosa)	8.568	2.427	0.137
	Stomach (contents)	196.578	0.828	0.037
Ocular	Eye (uveal tract)	1.632	2.099	0.071
	Eye (lens)	BQL	0.061	BQL

BQL = Below the quantitation limit

QWBA = Quantitative whole-body autoradiography

*: AQL = Above quantitation limit

LLOQ = (0.00070600 µCi/g) / (0.0213 µCi/µg) = 0.033 µg eq./g of tissue

ULOQ = (7.41040495 µCi/g) / (0.0213 µCi/µg) = 347.906 µg eq./g of tissue

2.6.5.5.2　　薬物動態試験　　分布（2）　　被験物質：^{14}C-ポナチニブ

組織内分布：有色ラット

報告書番号：280N-1101，資料番号：4.2.2.3

Species:	Long-Evans Rats
Gender (M/F)/Number of animals:	Male/9
Feeding condition:	Fasted overnight
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75
Method of Administration:	Oral Gavage
Dose (mg/kg):	10 (radioactive dose of approximately 200 µCi/kg body weight)
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity:	21.30 µCi/mg
Time Points (h):	1, 2, 4, 8, 24, 48, 96, 168, and 672 post-dose
Analyte:	^{14}C-Ponatinib derived radioactivity
Assay:	LSC, QWBA

Tissue Type	Concentration (µg eq./g) of Radioactivity									
	Tissue	1h	2h	4h	8h	24h	48h	96h	168h	672h
Vascular/ Lymphatic	Blood (cardiac)	1.317	2.160	1.986	1.162	0.418	0.082	0.034	BQL	BQL
	Bone Marrow	1.492	9.250	12.341	12.710	3.409	0.433	0.161	0.071	0.046
	Lymph Node	1.325	7.572	8.644	11.726	4.665	0.764	0.312	0.163	0.060
	Spleen (entire)	4.400	26.383	30.133	24.034	6.634	1.185	0.805	0.235	0.131
	Spleen (red pulp)	4.920	31.128	35.206	22.619	6.154	0.926	0.576	0.281	0.173
	Spleen (white pulp)	1.909	7.944	10.719	41.136	12.030	3.685	3.363	0.242	BQL
	Thymus	0.882	4.826	7.650	8.400	4.067	0.783	0.189	0.044	BQL
Excretory/ Metabolic	Bile (in duct)	43.308	59.913	98.620	42.682	10.478	1.611	0.263	0.213	BQL
	Kidney Cortex	7.935	24.815	27.952	19.170	6.361	1.221	0.667	0.330	0.077
	Kidney Medulla	4.496	19.884	16.944	16.473	5.910	1.308	0.710	0.316	0.070
	Liver	18.847	46.806	43.465	23.297	6.969	1.659	1.200	0.388	0.071
	Urinary Bladder	1.606	3.233	4.823	3.426	2.300	0.565	0.859	0.448	0.068
	Urinary Bladder (contents)	13.752	23.735	88.452	11.601	3.201	0.110	BQL	BQL	BQL

（続く）

組織内分布：有色ラット

（続き）　報告書番号：280N-1101，資料番号：4.2.2.3

Tissue Type	Concentration (μg eq./g) of Radioactivity									
	Tissue	1h	2h	4h	8h	24h	48h	96h	168h	672h
Central Nervous System	Brain (cerebellum)	0.074	0.415	0.327	0.402	0.103	0.039	BQL	BQL	BQL
	Brain (cerebrum)	0.070	0.484	0.437	0.663	0.144	0.044	BQL	BQL	BQL
	Brain (medulla)	0.052	0.386	0.364	0.393	0.091	0.041	BQL	BQL	BQL
	Brain (meninges)	0.741	3.149	1.542	1.874	12.199	71.284	51.836	26.650	6.700
	Spinal Cord	0.058	0.345	0.366	0.406	0.111	BQL	BQL	BQL	BQL
Endocrine	Adrenal Gland	4.041	20.760	28.925	37.850	21.036	10.696	8.928	3.697	2.572
	Pituitary Gland	2.349	19.548	25.746	44.505	19.920	2.862	2.399	1.119	0.285
	Thyroid	3.915	27.559	16.874	20.309	10.085	1.108	0.699	0.406	0.200
Secretory	Harderian Gland	0.908	8.403	13.008	29.884	34.568	22.525	18.731	3.166	0.197
	Mammary Gland Region	0.612	2.875	3.055	3.114	0.470	BQL	BQL	BQL	BQL
	Pancreas	2.288	13.022	15.006	13.265	4.124	0.864	0.463	0.279	0.108
	Salivary Gland	2.029	13.864	14.493	16.168	5.802	0.584	0.263	0.145	0.058
Fat	Adipose (brown)	2.040	9.439	10.373	5.933	2.519	0.382	0.222	0.094	BQL
	Adipose (white)	0.552	3.032	5.218	2.944	0.556	0.076	0.056	BQL	BQL
Dermal	Skin (non-pigmented)	0.431	2.191	2.827	3.763	1.150	0.451	0.293	0.076	0.037
	Skin (pigmented)	0.451	1.668	2.185	3.854	5.695	0.653	0.153	0.078	BQL
Reproductive	Epididymis	0.226	1.183	1.453	3.158	1.717	0.580	0.383	0.310	0.109
	Prostate Gland	0.322	3.951	5.445	5.982	1.429	0.671	0.468	0.171	BQL
	Seminal Vesicles	0.157	1.089	0.853	2.153	0.721	0.211	0.109	0.066	BQL
	Testis	0.129	0.742	0.772	1.433	0.889	0.197	0.091	0.063	BQL
Skeletal/Muscular	Bone	0.116	0.215	0.457	0.234	0.126	0.047	BQL	BQL	BQL
	Heart (myocardium)	1.971	9.832	8.743	5.976	2.406	1.103	0.760	0.598	0.123
	Heart (endocardium)	2.094	10.461	12.060	3.224	5.087	3.224	2.060	1.228	1.019
	Skeletal Muscle	0.475	2.315	2.717	3.375	0.848	0.239	0.094	0.062	BQL
Respiratory Tract	Lung	6.686	29.878	47.722	48.075	12.332	0.889	0.454	0.122	0.039

（続く）

組織内分布：有色ラット

（続き）　報告書番号：280N-1101，資料番号：4.2.2.3

Tissue Type	Concentration (µg eq./g) of Radioactivity									
	Tissue	1h	2h	4h	8h	24h	48h	96h	168h	672h
Alimentary Canal	Cecum	1.347	6.908	7.667	11.120	3.312	1.969	0.209	0.067	0.084
	Cecum (contents)	3.345	199.040	22.265	276.383	42.931	15.605	0.534	0.128	BQL
	Esophagus	106.414	18.697	9.284	6.812	1.546	0.778	0.171	0.155	BQL
	Large Intestine	1.602	8.219	8.488	9.416	3.646	0.749	0.203	0.153	0.063
	Large Intestine (contents)	0.122	0.394	4.661	186.656	123.668	9.656	0.845	0.183	BQL
	Oral Mucosa	9.100	3.929	4.581	4.434	1.741	0.667	0.127	0.089	0.047
	Small Intestine	98.716	*691.179	*533.277	7.883	2.481	0.346	0.168	0.151	0.077
	Small Intestine (contents)	*931.255	*963.333	*1238.467	63.837	16.876	1.139	0.357	0.051	BQL
	Stomach (gastric mucosa)	6.706	13.102	19.911	5.998	1.604	0.387	0.212	0.082	0.041
	Stomach (contents)	*882.004	124.211	171.853	39.927	0.760	BQL	BQL	BQL	BQL
Ocular	Eye (uveal tract)	1.767	12.034	21.939	49.579	81.565	65.977	86.632	59.734	46.655
	Eye (lens)	BQL	BQL	0.050	0.058	0.103	0.161	0.135	0.124	0.104

BQL = Below the quantitation limit

QWBA = Quantitative whole-body autoradiography

*: AQL = Above the quantitation limit

LLOQ = (0.00070600 µCi/g) / (0.0213 µCi/µg) = 0.033 µg eq./g of tissue

ULOQ = (7.41040495 µCi/g) / (0.0213 µCi/µg) = 347.906 µg eq./g of tissue

2.6.5.6　薬物動態試験：　タンパク結合

2.6.5.6.1　薬物動態試験　タンパク結合（1）　被験物質：ポナチニブ

マウス，ラット，サル及びヒトにおけるポナチニブの *in vitro* 血漿タンパク結合率

報告書番号：ARP053，資料番号：4.2.2.3

Test System:	Mouse/Rat/Monkey/Human Plasma
Test article:	Ponatinib
Test Article Concentration:	100, 300, 1000, 3000 ng/mL
Experimental Method:	Equilibrium dialysis methods using RED-device (Rapid Equilibrium Dialysis Device)
Analytical Method:	LC/MS/MS
Positive Control:	Testosterone (2500 ng/mL)

Ponatinib Concentration (ng/mL)	% Protein Bound[a]			
	Mouse	Rat	Monkey	Human
100	100.00	100.00	99.55	99.91
300	100.00	100.00	100.00	99.94
1000	99.98	100.00	99.61	99.93
3000	99.97	99.97	99.95	99.91
Mean	99.99	99.99	99.78	99.92

a: Mean of quadruplicate values at each concentration

ラット及びヒトにおける AP24600 の血漿タンパク結合率

報告書番号：ARP312，資料番号：4.2.2.3

Test System:	Rat and Human Plasma
Test Article Concentration:	0.2, 1, 5 µmol/L
Analyte:	AP24600
Experimental Method:	Equilibrium dialysis methods using RED (Rapid Equilibrium Dialysis) Device
Analytical Method:	LC/MS/MS
Positive Control:	Testosterone

Species	Nominal Concentration (µmol/L)	Zero-Time Concentration (µmol/L)	Equilibrium Concentration in Buffer (µmol/L)		Equilibrium Concentration in Plasma (µmol/L)		% Fraction Unbound	% Protein Bound
			Mean	SD	Mean	SD		
AP24600								
Rat	0.2	0.201	0.003	0.000	0.182	0.002	1.4	98.6
	1.0	0.850	0.008	0.027	0.737	0.042	1.1	98.9
	5.0	4.998	0.591	0.328	4.378	0.423	13.5	86.5
							Mean	94.7
Human	0.2	0.206	0.013	0.005	0.175	0.002	7.2	92.8
	1.0	0.710	0.040	0.015	0.583	0.014	6.9	93.1
	5.0	5.572	0.239	0.059	4.471	0.062	5.4	94.6
							Mean	93.5

Data are mean of triplicate values at each concentration
SD = standard deviation

ポナチニブの *in vitro* 血液／血漿分配率

報告書番号：ARP053，資料番号：4.2.2.3

Test System:	Mouse/Rat/Monkey/Human Fresh Blood
Experimental Method:	Incubation/centrifugation
Test Article Concentration:	120, 300, 1000, and 3000 ng/mL
Analytical Method:	LC/MS/MS

Blood Conc. (ng/mL)	Ratio Cb/Cp				% Distribution into Erythrocytes			
	Mouse	Rat	Monkey	Humans	Mouse	Rat	Monkey	Humans
120	1.14	1.12	1.18	0.94	46.5	48.4	51.6	45.8
300	1.21	1.09	1.07	0.94	49.8	46.6	46.6	45.6
1000	1.19	1.18	1.06	0.99	48.9	50.7	46.2	48.4
3000	1.26	1.15	1.13	0.97	51.4	49.5	49.6	47.4
Mean	1.20	1.13	1.11	0.96	49.2	48.8	48.5	46.8

高タンパク結合型併用薬によるポナチニブのヒト血漿タンパク結合置換

報告書番号：ARP350，資料番号：4.2.2.6

Test System:	Human Plasma
Test Article Concentration:	Ponatinib (0.145 µmol/L), ibuprofen (195 µmol/L), nifedipine (0.09 µmol/L), propranolol (0.4 µmol/L), salicylic acid (5.6 µmol/L), warfarin (1.6 µmol/L)
Experimental Method:	Equilibrium dialysis methods using Rapid Equilibrium Dialysis Device
Analytical Method:	LC/MS/MS

Ponatinib or Ponatinib + Co-medication	Protein Binding of Ponatinib[a]			
	% Free	SD	% Bound	SD
Ponatinib	0.47	0.07	99.53	0.07
Ibuprofen	0.44	0.13	99.56	0.13
Nifedipine	0.38	0.03	99.62	0.03
Propranolol	0.39	0.04	99.61	0.04
Salicylic Acid	0.41	0.06	99.59	0.06
Warfarin	0.50	0.05	99.50	0.05

a: Mean of eight replicates

SD = Standard deviation

2.6.5.7　　薬物動態試験：　妊娠又は授乳動物における試験

試験は実施しなかった。

2.6.5.8　薬物動態試験：　その他の分布試験

2.6.5.8.1　　薬物動態試験　　その他の分布試験（1）　　被験物質：ポナチニブ

取込みトランスポーターの基質性評価

報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

Test System:	Human embryonic kidney epithelial cells (HEK293) transfected with individual uptake transporters (OATP1B1, OATP1B3, OCT1)	
Experimental Method:	Cell Lines OATP1B1, OATP1B3-transfected, and vector control-transfected cells OCT1-transfected and vector control-transfected cells	Plate Type 12-well, poly-D-lysine-coated plates 24-well, poly-D-lysine-coated plates
Test Article:	Ponatinib	
Test Article Concentration:	0.5, 1, 2 µmol/L	
Analytical Method:	LC/MS/MS	

Uptake Rate in Vector Control- and Transporter-Transfected HEK Cells (pmol/min/mg protein)										
Concentration of Ponatinib (µmol/L)	Incubation Time (min)	5			10			20		
	Cell Line[a]	VC	1B1	1B3	VC	1B1	1B3	VC	1B1	1B3
0.5	Mean	39.2	43.5	41.4	30.9	32.3	28.0	28.6	24.0	21.5
	Ratio[b,c]	NA[d]	1	1	NA[d]	1	1	NA[d]	1	1
1.0	Mean	76.7	82.3	79.3	57.5	59.1	51.3	53.9	46.8	39.1
	Ratio[b,c]	NA[d]	1	1	NA[d]	1	1	NA[d]	1	1
2	Mean	124	129	131	92.0	99.2	81.6	87.9	75.4	63.6
	Ratio[b,c]	NA[d]	1	1	NA[d]	1	1	NA[d]	1	1

（続く）

取込みトランスポーターの基質性評価

（続き） 報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

Uptake Rate in Vector Control- and OCT1-Transfected HEK Cells (pmol/min/mg protein)							
Concentration of Ponatinib (µmol/L)	Incubation Time (min)	2		5		10	
	Cell Line[a]	VC	OCT1	VC	OCT1	VC	OCT1
0.5	Mean	38.1	49.8	36.3	47.3	24.4	30.3
	Ratio[b,c]	NA[d]	1	NA[d]	1	NA[d]	1
1	Mean	62.4	94.8	60.7	71.2	39.5	47.1
	Ratio[b,c]	NA[d]	1	NA[d]	1	NA[d]	1
2	Mean	130	184	113	131	73.9	93.8
	Ratio[b,c]	NA[d]	1	NA[d]	1	NA[d]	1

Uptake Rate in Vector Control- and Transporter-Transfected HEK Cells (pmol/min/mg protein)								
Concentration of Atorvastatine (µmol/L)	Incubation Time (min)	2			Concentration of MPP^+ (µmol/L)[e]	Incubation Time (min)	2	
	Cell Line[a]	VC	1B1	1B3		Cell Line[a]	VC	OCT1
0.15	Mean	0.421	5.50	1.88	5	Mean	7.11	346
	Ratio[b,c]	NA[d]	13	4		Ratio[b,c]	NA[d]	49
Results:	Ponatinib is not a substrate of OATP1B1, OATP1B3 and OCT1.							

a: VC: vector control-transfected cells; 1B1: OATP1B1-transfected cells; 1B3: OATP1B3-transfected cells; OCT1: OCT1-transfected cells

b: Ratio: from Equation [$IR_{(TF)}$/ $IR_{(VC)}$]

c: Experimental ratios were rounded to one significant digit.

d: NA: not applicable

e: Atorvastatin and MPP^+ are the positive control uptake substrates for the cell lines.

排出トランスポーターの基質性評価

報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

Test System:	Caco-2 Cells
Experimental Method:	12-well transwell culture plates
Test Article:	Ponatinib
Test Article Concentration:	0.5, 1, 5 µmol/L
Probe Substrate/Conc.:	Digoxin (10 µmol/L, P-gp Probe Substrate); Estrone-3-Sulfate (5 µmol/L, BCRP Probe Substrate)
Analytical Method:	LC/MS/MS

Concentration of Ponatinib (µmol/L)	$P_{app} \times 10^{-6}$ (cm/s)		Efflux Ratio
	A → B Direction	B → A Direction	
	Mean[b] ± SD	Mean[b] ± SD	
0.5 (cell lysate)[a]	4.63 ± 0.65	12.1 ± 1.86	2.61
0.5	4.56 ± 0.54	8.91 ± 2.18	1.95
1	4.30 ± 0.38	7.17 ± 1.86	1.67
5	4.46 ± 0.39	8.32 ± 0.61	1.87
10 (Digoxin)	0.78 ± NA[c]	14.5 ± 0.64	18.6
5 (Estrone-3-Sulfate)	0.36 ± 0.10	35.4 ± 0.91	99.5
Results:	Not a Substrate of P-gp or BCRP		

a: Cell monolayers were lysed at the end of transport experiment. The amount of ponatinib in cell lysates was included in recovery calculation.
b: Mean of triplicates
c: NA - Not applicable
A = Apical
B = Basolateral
SD = standard deviation
Efflux ratio calculated as B→A/A→B

取込みトランスポーターに対する阻害作用評価

報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

Test System:	Human embryonic kidney epithelial cells (HEK293) transfected with individual uptake transporters (OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3)	
Experimental Method:	Cell Lines OATP1B1-, OATP1B3-transfected, and vector control-transfected cells OAT1, OCT1-transfected and vector control-transfected cells OAT3-transfected and vector control-transfected cells OCT2-transfected and vector control-transfected cells	Plate Type 12-well, poly-D-lysine-coated plates 24-well, poly-D-lysine-coated plates 24-well, collagen-coated plates 24-well, poly-D-lysine-coated plates
Test Article:	Ponatinib	
Test Article Concentration:	2 µmol/L	
Probe Substrate/Conc.:	Atorvastatin (0.15 µmol/L), MPP^+ (5 µmol/L), PAH (40 µmol/L), Furosemide (5 µmol/L)	
Analytical Method:	LC/MS/MS	

OATP1B1 and 1B3 Inhibitor Assessment				
Uptake Rate (pmol/min/mg protein)				
Treatment		HEK Vector Control Cells	OATP1B1 - HEK Cells	OATP1B3 - HEK Cells
0.15 µmol/L Atorvastatin	Mean	0.421	5.50	1.88
0.15 µmol/L Atorvastatin + 2 µmol/L Ponatinib	Mean	0.379	5.50	2.19
	Percentage Inhibition (%)	NA	0	0
0.15 µmol/L Atorvastatin + 50 µmol/L Rifamycin SV	Mean	0.522	0.651	NA
	Percentage Inhibition (%)	NA	97.5	
0.15 µmol/L Atorvastatin + 50 µmol/L Rifampicin	Mean	0.472	NA	0.505
	Percentage Inhibition (%)	NA		97.7

（続く）

取込みトランスポーターに対する阻害作用評価

（続き）　報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

OCT1 and OCT2 Inhibitor Assessment				
Uptake Rate (pmol/min/mg protein)				
Treatment		HEK Vector Control Cells	OCT1 - HEK Cells	OCT2 - HEK Cells
5 µmol/L MPP^+	Mean	4.23	346	488
5 µmol/L MPP^+ + 2 µmol/L Ponatinib	Mean	4.26	326	417
	Percentage Inhibition (%)	NA	5.98	14.7
5 µmol/L MPP^+ + 150 µmol/L Repaglinide	Mean	3.88	94.5	NA
	Percentage Inhibition (%)	NA	73.5	
5 µmol/L MPP^+ + 100 µmol/L Imipramine	Mean	2.92	NA	76.3
	Percentage Inhibition (%)	NA		84.8

OAT3 Inhibitor Assessment			
Uptake Rate (pmol/min/mg protein)			
Treatment		HEK Vector Control Cells	OAT3 - HEK Cells
5 µmol/L Furosemide	Mean	1.87	128
5 µmol/L Furosemide + 2 µmol/L Ponatinib	Mean	3.75	126
	Percentage Inhibition (%)	NA	3.49
5 µmol/L Furosemide + 100 µmol/L Probenecid	Mean	3.62	8.38
	Percentage Inhibition (%)	NA	96.2

（続く）

取込みトランスポーターに対する阻害作用評価

（続き）　報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

OAT1 Inhibitor Assessment			
Uptake Rate (pmol/min/mg protein)			
Treatment		HEK Vector Control Cells	OAT1 - HEK Cells
40 µmol/L PAH	Mean	1.31	147
40 µmol/L PAH + 2 µmol/L Ponatinib	Mean	1.11	151
	Percentage Inhibition (%)	NA	0
40 µmol/L PAH + 100 µmol/L Probenecid	Mean	1.71	6.06
	Percentage Inhibition (%)	NA	97.0
Results:	Ponatinib is not an inhibitor of OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3		

NA: not applicable

MPP^+ = 1-methyl-4-phenylpyridinium iodide

PAH = para-aminohippurate

P-gp 及び BCRP に対する IC_{50} 値の評価

報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

Test System:	Caco-2 cells (for P-gp); CPT-P1Cells (for BCRP)
Experimental Method:	12-well transwell culture plates
Test Article:	Ponatinib
Test Article Concentration:	0, 0.0165, 0.0494, 0.148, 0.444, 1.33, 4.00, 12.0 µmol/L
Probe Substrate/Conc.:	Digoxin (Caco-2 cells), cladribine (CPT-P1Cells) /10 µmol/L
Controls: Inhibitors/Conc.:	For P-gp: Cyclosporine A (5 µmol/L), Ketoconazole (20 µmol/L) For BCRP: Ko143 (10 µmol/L), Fumitremorgin C (10 µmol/L)
Analytical Method:	LC/MS/MS

	P-gp IC_{50}	BCRP IC_{50}
Nominal Ponatinib Concentration (µmol/L)	Corrected Efflux Ratio of Digoxin[a]	Corrected Efflux Ratio of Cladribine[a]
12.0	0.195	0
4.00	1.56	0.208
1.33	4.69	0.965
0.444	14.1	1.36
0.148	18.1	3.66
0.0494	24.0	5.41
0.0165	22.9	8.85
0.001[b]	24.6	16.2
Cyclosporine A (5 µmol/L)(P-gp) Ko143 (10 µmol/L) (BCRP)	0.01	0.5
Ketoconazole (20 µmol/L) (P-gp) Fumitremorgin C (10 µmol/L) (BCRP)	0.3	0.32
IC_{50} (µmol/L)	0.491	0.0132
95% Confidence level (µmol/L)	0.342 - 0.706	0.00767 - 0.0229
Goodness of fit (R^2)	0.9903	0.9979

a: Efflux ratio = Papp_(BL-to-AP) / Papp_(AP-to-BL), Corrected Efflux Ratio = Efflux ratio - 1

b: For the purpose of the fit, the efflux ratio of the ponatinib-free group was included in the IC_{50} calculation and assigned the value of 0.001 µmol/L.

BSEP 阻害に対する IC_{50} 値の評価

報告書番号：11ARIAP5R1，資料番号：4.2.2.6

Test System:	BSEP Vesicles, 50 µg
Experimental Method:	96-well plates
Test Article:	Ponatinib
Test Article Concentration:	0, 0.14, 0.41, 1.23, 3.70, 11.1, 33.3, 100 µmol/L
Probe Substrate/Conc.:	^{3}H-TCA/1 µmol/L
Controls: Inhibitors/Conc.:	Cyclosporine A/10 µmol/L
Analytical Method:	LSC

Ponatinib Concentration (µmol/L)	^{3}H-TCA Uptake Rate (pmol/min/mg protein)			Activity Remaining (%)	Inhibition (%)
	Avg. Cofactor ATP	Avg. Cofactor AMP	Net Rate[a]		
100	0.304	0.237	0.066	3.6	96.4
33.3	1.027	0.269	0.759	41.4	58.6
11.1	1.685	0.249	1.44	78.5	21.5
3.70	1.992	0.223	1.77	96.7	3.3
1.23	2.052	0.289	1.76	96.3	3.7
0.41	1.899	0.273	1.63	88.8	11.2
0.14	2.031	0.239	1.79	97.9	2.1
0.001[b]	2.124	0.294	1.83	100	0.0
10 µmol/L cyclosporine A	0.492	0.267	0.225	12.3	87.7
IC_{50} (µmol/L)	31.5				
95% Confidence level (µmol/L)	16.8 - 59.1				
Goodness of fit (R^2)	0.9899				

a: Net rate: mean ATP value minus mean AMP value

b: Control: in the absence of inhibitor

Note: ATP = Adenosine Triphosphate, AMP = Adenosine Monophosphate

2.6.5.9　薬物動態試験：　代謝：*In Vivo*

2.6.5.9.1　　薬物動態試験　　代謝：*In Vivo*（1）　　被験物質：ポナチニブ

マウス代謝

報告書番号：ARP265，資料番号：4.2.2.4

Species/Gender(M/F)/Number of animals:	CD-1 mice (15/M)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	18.5 mg/mL solution in 25 mmol/L, pH 2.75 citrate buffer
Method of Administration:	Oral
Dose (mg/kg):	375
Analytes:	Ponatinib, AP24567, AP24734, AP24600
Analytical Method:	LC/MS/MS

Time (h)	Mean Concentrations in Plasma			
	Ponatinib (ng/mL)	AP24600 (ng/mL)	AP24567(ng/mL)	AP24734 (ng/mL)
0.5	1384.2	3689.2	135.2	73.8
2	2998.1	5288.1	556.3	175.5
4	2159.9	4032.8	490.3	88.8
6	1639.9	2026.2	413.1	53.7
24	1194.9	1829.1	360.2	74.7
AUC (ng·h/mL)	38104	57733	9462	1768
AUC (nmol·h/L)	71548	208211	18247	3223
Ratio of AUC[a] Metabolite/Ponatinib (%)	100	291	25.5	4.5

a: Ratio calculated from AUC (nmol·h/L) values. AUC values were calculated using “PK Solutions 2.0” Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis software (Summit Research Solutions, Colorado, USA)

Note: Molecular weight of ponatinib free base is 532.56.

ラット代謝（1）：血漿及び排泄物中代謝物

報告書番号：ARP260，資料番号：4.2.2.4

Species/Gender(M/F)/Number of animals:	Sprague-Dawley/Rats (Male, Group1: n = 6, Group 2: n = 4, Group 3: n = 14)
Groups:	Group 1 - Bile duct cannulated Rats, Group 2 - Normal Rats, Group 3 - Intact rats for Plasma
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Aqueous 25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75
Method of Administration:	Oral
Dose (mg/kg):	10 (57.8 µCi)
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity:	21.18 µCi/mg (free base), 0.0195 mCi/mg (as Hydrochloride)
Analytical Method:	LC/MS/MS, LSC

2.6.5.9.2.1 正常ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの血漿中総放射能に対する代謝物量の割合（%）

Metabolite ID	Retention Time (min)	% of Radioactivity in Plasma[a]					
		1h	4h	6h	8h	24h	0-24h
M10	9.5 - 10.2	NR	NR	1.0	NR	NR	NR
M11	11.1 - 11.8	NR	NR	1.4	NR	NR	NR
M14 (AP24600)[b]	15.5 - 18.0	78.4	56.8	49.4	34.1	29.8	50.2
M15	16.5 - 18.8	5.3	2.0	5.6	1.0	1.0	1.6
M16/M18	17.0 - 22.0	4.9	2.5	8.2	5.6	1.9	1.2/1.0
M20	29.0 - 31.5	NR	3.2	2.4	10.6	11.7	3.4
M34 (AP25407)	38.0 - 40.0	2.5	8.3	3.0	4.7	6.6	12.1
M36 (AP24734)	38.8 - 41.2	< 0.1	0.7	0.4	0.5	0.9	0.6
M42 (AP24567)	45.5 - 46.6	0.2	1.3	2.2	4.5	6.4	2.5
Ponatinib	48.9 - 53.9	7.0	15.7	18.6	22.5	25.8	19.1

a: Only peaks containing > 0.5% of the total radioactivity in each matrix are listed, except for ponatinib N-oxide and N-desmethyl ponatinib which were major in vitro metabolites. There were several metabolites (each < 0.5% of the radioactivity), which are not prominent peaks in the radiochromatogram, and are not listed in this table. Trace amounts of AP24592 (aniline) acetylation (M22) were detected by LC/MS/MS in plasma.

b: Trace levels of AP24600-glucuronide(M15a) co-eluted with AP24600

NR: Not reported, either not present or below 1% of total radioactivity

（続く）

ラット代謝（1）：血漿及び排泄物中代謝物

（続き） 報告書番号：ARP260，資料番号：4.2.2.4

2.6.5.9.2.2 胆管カニュレーション（BDC）ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの胆汁中総放射能に対する代謝物量の割合（%）

Metabolite ID	Retention Time (min)	% of Radioactivity in Bile[a,b]		
		0 to 24h	0 to 48h	0 to 72h
M2	3.5 - 4.5	2.3	NR	2.1
M3	4.5 - 5.2	2.5	NR	2.5
M8	5.8 - 6.0	9.1	4.9	8.4
M9	5.8 - 6.0	8.0	4.6	7.0
M10	9.5 - 10.2	2.7	1.1	1.5
M11	11.1 - 11.8	1.1	0.5	1.0
M12	12.0 - 12.4	2.2	1.7	1.9
M14 (AP24600)	15.5 - 18.0	9.8	9.6	8.4
M15	16.5 - 18.8	2.2	2.3	1.9
M16	17.0 - 19.0	0.9	0.9	0.5
M17	20.5 - 21.5	0.6	0.5	0.5
M18	21.0 - 22.0	1.2	1.1	1.1
M20	29.0 - 31.5	0.5	0.5	0.5
M21-M33[c]	29.2 - 38.5	12.3	17.6	15.0
M34 (AP25407)	38.0 - 40.0	23.9	27.0	23.0
M36 (AP24734)	38.8 - 41.2	2.6	3.3	2.9
M42 (AP24567)	45.5 - 47.0	2.2	3.5	3.6
M46	45.8 - 47.2	2.0	3.6	2.3
Ponatinib	48.9 - 53.9	2.4	2.1	1.9
M49	55.2 - 58.8	1.6	1.7	1.8

a: Only peaks containing > 0.5% of the total radioactivity in each matrix were included. AP24592 (Aniline) and its further biotransformation metabolites such as AP24592 N-glucuronide and AP24592 hydroxy N-glucuronide were detected by LC/MS/MS only.

b: Metabolites include M35, M38, M39, M40, M41, M43, M44, M45 were detected by LC/MS/MS but individual metabolites accounted for less than 0.5% of the bile radioactivity.

c: M21-M33 Peak cluster (29.2-38.5 min): Several metabolites including M21, M23, M25, M27, M28, M29, M31, M32, M33 and other co-eluting metabolites were observed.

NR: Not reported

（続く）

ラット代謝（1）：血漿及び排泄物中代謝物

（続き） 報告書番号：ARP260，資料番号：4.2.2.4

2.6.5.9.2.3 正常ラットに ^{14}C-ポナチニブを経口投与したときの尿及び糞中総放射能に対する代謝物量の割合（%）

Metabolite ID	Retention Time (min)	% of Radioactivity in Sample[a]			
		Urine			Feces
		0 to 24h	0 to 48h	0 to 72h	0 to 72h
Unknown	1.5 - 3.8	5.4	7.2	4.3	ND
M1	4.2 - 4.5	34.6	31.8	30.9	ND
M9	5.8 - 6.0	2.8	2.8	2.6	ND
M12	12.0 - 12.4	1.8	1.8	2.7	ND
M14 (AP24600)	15.5 - 16.0	34.1	32.8	30.4	1.2
M15	17.2 - 17.8	2.0	1.6	2.6	ND
M16	19.6 - 20.2	1.1	2.2	1.8	ND
M18	20.2 - 20.8	2.1	1.3	2.7	ND
M20	28.50	ND	ND	ND	1.9
M23-M35[b]	29.2 - 40.5	ND	ND	ND	11.6
M34 (AP25407)	38.0 - 40.0	2.2	1.6	3.2	ND
M36 (AP24734)	41.0	4.6	4.0	4.1	1.9
M42 (AP24567)	45.8	ND	ND	ND	26.1
Ponatinib	48.5	1.4	1.2	1.0	39.9
M47	49.2 - 50.3	ND	ND	ND	4.6
M49	58.1	ND	ND	ND	3.2

a: Only peaks containing > 0.5% of the total radioactivity in each matrix were included. AP24592 (Aniline) and its further biotransformation reactions metabolites such as AP30184, AP24592 N-glucuronide and AP24592 acetylation were detected by LC/MS/MS in urine and feces.

b: M23-M35 Peak clusters (29.2-38.5 min): Several metabolites including M23, M25, M27, M31, M32, M33, M34, M35 and other co-eluting unknown metabolites individually account for approximately 0.5-3% of the feces radioactivity.

ND: Not Detected

ラット代謝（2）：BNPP 併用下におけるポナチニブ及び AP24600 の薬物動態

報告書番号：ARP261，資料番号：4.2.2.4

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M/F)/Number of animals:	M/3/Group
Analytes:	Ponatinib, AP24600, AP24567, AP24734
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75
Method of Administration:	Intravenous, Oral
Doses (mg/kg):	3 mg/kg intravenous, 15 mg/kg oral
Time Points (h):	0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 24 post-dose
Sample:	Plasma
Assay:	LC/MS/MS

PK Parameters	Mean Values (n = 3)						
	Dose and Route of Ponatinib	Ponatinib			AP24600		
		(+)BNPP Group 4	(-)BNPP Group 3	% Inhibition	(+)BNPP Group 4	(-)BNPP Group 3	% Inhibition
C_{max} (ng/mL)	Intravenous 3 mg/kg	575.0	578.4	1	7.84	25.3	69
AUC_{last} (ng·h/mL)		3709	4450	17	129.2	341	62
AUC_{last} (nmol·h/L)		6964	8356	NA[a]	466	1230	NA[a]
Mean Exposure Ratio[b]		NA[a]	NA[a]	NA[a]	0.06	0.15	NA[a]
PK Parameters	Dose and Route of Ponatinib	(+)BNPP Group 2	(-)BNPP Group 1	% Inhibition	(+)BNPP Group 2	(-)BNPP Group 1	% Inhibition
C_{max} (ng/mL)	Oral 15 mg/kg	485.2	557.4	13	55.9	274.2	80
AUC_{last} (ng·h/mL)		7841	8697	10	762	3366	77
AUC_{last} (nmol·h/L)		14723	16331	NA[a]	2748	12139	NA[a]
Mean Exposure Ratio[b]		NA[a]	NA[a]	NA[a]	0.17	0.74	NA[a]

（続く）

ラット代謝（2）：BNPP 併用下におけるポナチニブ及び AP24600 の薬物動態

（続き）　報告書番号：ARP261，資料番号：4.2.2.4

PK Parameters	Dose and Route of Ponatinib	Mean Values (n = 3)				
		AP24567		AP24734		
		(+)BNPP Group 4	(-)BNPP Group 3	(+)BNPP Group 4	(-)BNPP Group 3	
C_{max} (ng/mL)	Intravenous 3 mg/kg	17.89	38.35	6.72	6.95	NA
AUC_{last} (ng·h/mL)		113.2	146.8	4.55	25.44	
PK Parameters	Dose and Route of Ponatinib	(+)BNPP Group 2	(-)BNPP Group 1	(+)BNPP Group 2	(-)BNPP Group 1	
C_{max} (ng/mL)	Oral 15 mg/kg	68.32	67.75	6.95	6.91	
AUC_{last} (ng·h/mL)		1133	1033	35.1	34.9	

a: NA- Not applicable

b: Calculated using the AUC_{last} (nmol·h/L) ratio of AP24600 to ponatinib. AUC (ng·h/mL) was first converted to AUC (nmol·h/L) before the ratio was computed. Molecular weight of ponatinib free base is 532.56.

BNPP: Bis(p-nitrophenyl)phosphate, a known esterase/amidase inhibitor

2.6.5.9.4　　薬物動態試験　　代謝：*In Vivo*（4）　　被験物質：^{14}C-ポナチニブ

サル代謝

報告書番号：ARP259，資料番号：4.2.2.4

Gender(M/F)/Number of animals:	Male Cynomolgus monkeys/3
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Aqueous 25 mmol/L citrate buffer, pH 2.75
Method of Administration:	Oral (Single Dose)
Dose (mg/kg):	15 (~150 μCi/animal)
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity:	2.01 μCi/mg as ponatinib free base
Analytical Method:	LC/MS/MS, LSC

2.6.5.9.4.1　　^{14}C-ポナチニブをサルに経口投与したときの血漿中総放射能に対する代謝物量の割合（%）

Metabolite ID	Retention Time (min)	% of Radioactivity in Pooled Plasma[a]					
		2h	4h	8h	12h	24h	0-24h
M36 (AP24734)	39.0 - 39.8	12.1	5.0	4.4	3.3	1.6	4.0
M38	40.2 - 41.0	1.1	2.2	2.6	1.2	0.9	2.9
M42 (AP24567)	45.3 - 45.9	1.5	2.7	4.3	2.7	4.2	3.0
Ponatinib	48.1 - 48.8	64.2	62.7	69.8	66.5	69.3	56.3

a: Only peaks containing > 1.0% of the total radioactivity in each matrix are listed. There were several metabolites (each < 1.0% of the radioactivity) not listed in this table. Trace levels of non-radioactive acetyl AP24592 (M22) were detected in plasma by LC/MS/MS.

（続く）

（続き） 報告書番号：ARP259，資料番号：4.2.2.4

2.6.5.9.4.2 ^{14}C-ポナチニブをサルに経口投与したときの尿及び糞中総放射能に対する代謝物量の割合（%）

Metabolite ID	RT (min)	% Radioactivity in Metabolites		
		Urine[a]		Feces[a]
		0-24h	0-48h	0-144h
M11	13.5 - 14.2	6.0	8.6	NR
M14 (AP24600)[b]	15.3 - 15.8	11.9	12.0	NR
M15	17.5 - 18.4	14.1	13.7	NR
M16/M17/M18[c]	19.5 - 20.2	14.6	15.0	NR
M23 Cluster[d]	33.0 - 37.2	13.1	15.7	17.2
M31	36.4 - 37.7	3.0	1.1	8.5
M32		NR	NR	5.0
M34 (AP25047)	38.0 - 38.5	4.8	4.7	NR
M35	37.7 - 38.0	NR	NR	3.0
M36 (AP24734)	38.9 - 39.5	12.1	10.6	2.0
M38 Cluster[e]	39.5 - 44.0	NR	NR	6.9
M42 (AP24567)/M43[f]	45.5 - 46.0	NR	NR	10.9
Ponatinib	48.4 - 49.2	4.4	4.2	34.8
M47/M48[g]	49.5 - 50.0	NR	NR	2.4
M49	56.2 - 56.8	NR	NR	3.1

a: Only peaks containing > 1% of the total radioactivity in each matrix were included. Acetyl AP24592 (non-radioactive) was detected by LC/MS/MS in urine.

b: Trace amounts of M15a co-eluted with M14

c: Trace amounts of M17, M18 co-eluted with M16

d: M23 cluster. Metabolite M23 co-eluted with several metabolites including M22, M24, M25, M26, M27, M28, M29, M30 and metabolites individually accounted for approximately 0.5-3% of the feces radioactivity.

e: M38 cluster. Several metabolites including M38 and M39 and other unknown metabolites co-eluted. Individually each accounted for approximately 0.1-1.0% of the fecal radioactivity.

f: M42 (AP24567)/M43. M42 was co-eluting with M43.

g: M47/M48. M47 was co-eluting with M48.

NR: Not reported, due to < 1% of the total radioactivity

ヒト代謝（1）（AP24534-11-104 試験検体）

報告書番号：ARP257（AP24534-11-104 試験検体），資料番号：4.2.2.4

Gender(M/F)/Number of Volunteers:	Males/6
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Capsules
Method of Administration:	Oral
Dose (mg):	45 (Three 15 mg capsules)
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity:	2.45 µCi/mg
Analytical Method:	LC/MS/MS, LSC

Matrix	% of Radioactivity		
Metabolite ID	0-24h Pooled Plasma[a]	0-72h Urine[b]	0-144h Feces[b]
M14 (AP24600)	14.9	5.6	NR
M15	3.4	28.1	NR
M16	NR	19.8	NR
M23	7	NR	NR
M23 Cluster[c]	NR	NR	17.2
M24	2.1	5.1	NR
M25-M41 Cluster[d]	NR	14.0	NR
M29	6	NR	NR
M31	NR	NR	20.4
M32-M35 Cluster	NR	NR	2.1
M36 (AP24734)	~0.5 - 1.0	NR	NR
M36/M38	NR	NR	3.2
M39/M41	NR	NR	3.0
M42 (AP24567)	~0.5 - 1.0	NR	NR

（続く）

ヒト代謝（1）（AP24534-11-104 試験検体）

（続き） 報告書番号：ARP257（AP24534-11-104 試験検体），資料番号：4.2.2.4

Matrix	% of Radioactivity		
Metabolite ID	0-24h Pooled Plasma[a]	0-72h Urine[b]	0-144h Feces[b]
M42 (AP24567)/M43	NR	NR	9.6/3.4
Ponatinib	25.5	< 1.0	NR
Ponatinib/M46 & M47	NR	NR	23.7/3.2
M49	NR	NR	3.1

a: Only peaks containing > 2.0% of the total radioactivity in each matrix are listed, except ponatinib and ponatinib N-oxide and N-desmethyl ponatinib which were major in vitro metabolites.

b: Only peaks containing > 1.5% of the total radioactivity in each matrix were included.

c: M23 (despiperazine acid) Cluster (33.0 to 37.6 min). Several metabolites include M23, M24, M25, M26, M27 and other co-eluting unknown metabolites individually account for approximately 0.1-3% of the fecal radioactivity.

d: M32-M35 Cluster. Several metabolites include M32, M33, M35 and other co-eluting unknown metabolites individually account for approximately 0.1-1.0% of the fecal radioactivity.

NR: Not reported

ヒト代謝（2）

報告書番号：ARP395，資料番号：4.2.2.4

ARP395, is a follow up study of plasma samples from post 24h collections (samples from AP24534-11-104). The plasma samples were analyzed to determine the metabolite profile.

Gender(M/F)/Number of Volunteers:	Males/6
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Capsules
Method of Administration:	Oral
Dose (mg):	45 (Three 15 mg capsules)
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity:	2.45 μCi/mg
Analytical Method:	LC/MS/MS, LSC

Time Points (h)	% of Total Radioactivity			Radioactivity Ratio of M23 / Ponatinib	Ponatinib (ng/mL) (From CSR AP24534-11-104)	Ponatinib Concentration (nmol/L)[a]	M23 Concentration (nmol/L)[b]
	M14 (AP24600)	M23	Ponatinib				
36	2.4	3.9	4.2	0.93	17.7	33.3	30.9
48	BQL	5.4	9.4	0.57	13.2	24.8	14.3
72	BQL	10.7	12.8	0.84	6.6	12.4	10.4
96	BQL	6	13.2	0.45	3.8	7.2	3.3
120	BQL	BQL	BQL	ND	2.2	4.1	ND
144	BQL	BQL	BQL	ND	1.3	2.4	ND

a: Molecular weight of ponatinib free base = 532.56

b: M23 (nmol/L) = Ponatinib concentration (nmol/L) x Radioactivity Ratio of M23 / Ponatinib

BQL: Below Quantitation Limit

ND: Not Determined

2.6.5.10　薬物動態試験：　代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1　　薬物動態試験　　代謝：*In Vitro*（1）　　被験物質：^{14}C-ポナチニブ

肝ミクロソーム

報告書番号：ARP258，資料番号：4.2.2.4

Study System:	Rat, Monkey and Human Liver Microsomes
Test Article Concentration (μmol/L):	10
Protein Concentration (mg/mL):	1
Analytical Method:	LC/MS/MS, LSC

		% Radioactivity in Microsomal Incubation Samples[a]							
Metabolite ID		M23	M27	M31	AP24734	M50	AP24567	Ponatinib	% metabolismb and rate (pmol/min/mg)
Retention Time (min):		35.0 - 35.4	37.2 - 37.6	38.0 - 38.4	39.0 - 39.6	40.0 - 40.8	44.0 - 44.8	48.0 - 48.8	
Buffer	0 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	92.3	ND
	60 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	91.3	ND
RLM[c]	Deactivated	ND	ND	ND	ND	ND	ND	91.1	ND
	(-)NADPH	ND	ND	ND	ND	ND	ND	90.0	ND
	(+)NADPH	ND	ND	ND	6.3	ND	9.6	76.8	14.3, (23.8)
MLM[c]	Deactivated	ND	ND	ND	ND	ND	ND	89.9	ND
	(-)NADPH	ND	ND	ND	ND	ND	ND	90.1	ND
	(+)NADPH	2.2	2.0	3.6	11.4	5.6	13.0	50.5	39.4, (65.7)
HLM[c]	Deactivated	ND	ND	ND	ND	ND	ND	90.0	ND
	(-)NADPH	ND	ND	ND	ND	ND	ND	89.5	ND
	(+)NADPH	ND	ND	ND	4.2	ND	11.2	78.3	11.7, (19.5)

a: Only peaks containing > 1.5% of the total radioactivity in each matrix were included.

b: % metabolism = (% ponatinb deactivated) - (% ponatinb + NADPH). For example in rats, % metabolism = 91.1 - 76.8 = 14.3%.

Rate of metabolism (pmol/min/mg) = % metabolism x (10/100) × (1000/60)/1. For example in rats rate = 23.8 pmol/min/mg.

c: RLM = Rat Liver Microsomes, MLM = Monkey Liver Microsomes, HLM = Human Liver Microsomes

ND: Not detected

肝細胞

報告書番号：ARP258，資料番号：4.2.2.4

Study System:	Rat, Monkey and Human Hepatocytes
Drug Concentration (μmol/L):	10
Hepatocytes Concentration:	4×10^6 cells/mL
Analytical Method:	LC/MS/MS, LSC

	% Radioactivity in Hepatocytes Incubation Samples[a]					
Metabolite ID	AP24734	M50	AP24567	M46	Ponatinib	Unknown[c]
Retention Time (min):	39.4 - 39.9	40.1 - 40.5	44.5 - 44.9	46.5 - 46.9	47.8 - 48.4	49.0 - 49.5
KHB	ND[b]	ND	ND	ND	96.2	ND
Rat	ND	ND	1.3	1.0	90.6	ND
Monkey	1.7	1.1	3	3.5	74.6	3.2
Human	ND	ND	3.8	ND	86.3	ND

a: Only peaks containing at least 1.0% of the total radioactivity in each matrix were included in this table.

b: Not detected or < 0.5% of the total radioactivity

c: Unknown: Not detected in 0 min or Krebs-Henseleit Buffer (KHB) sample

KHB: Krebs-Henseleit Buffer

組換えヒト CYP

報告書番号：ARP258，資料番号：4.2.2.4

Study System:	Recombinant Human CYPs
Drug Concentration (μmol/L):	10
cDNA expressed recombinant human CYP enzymes (pmol/mL):	100
Analytical Method:	LC/MS/MS, LSC

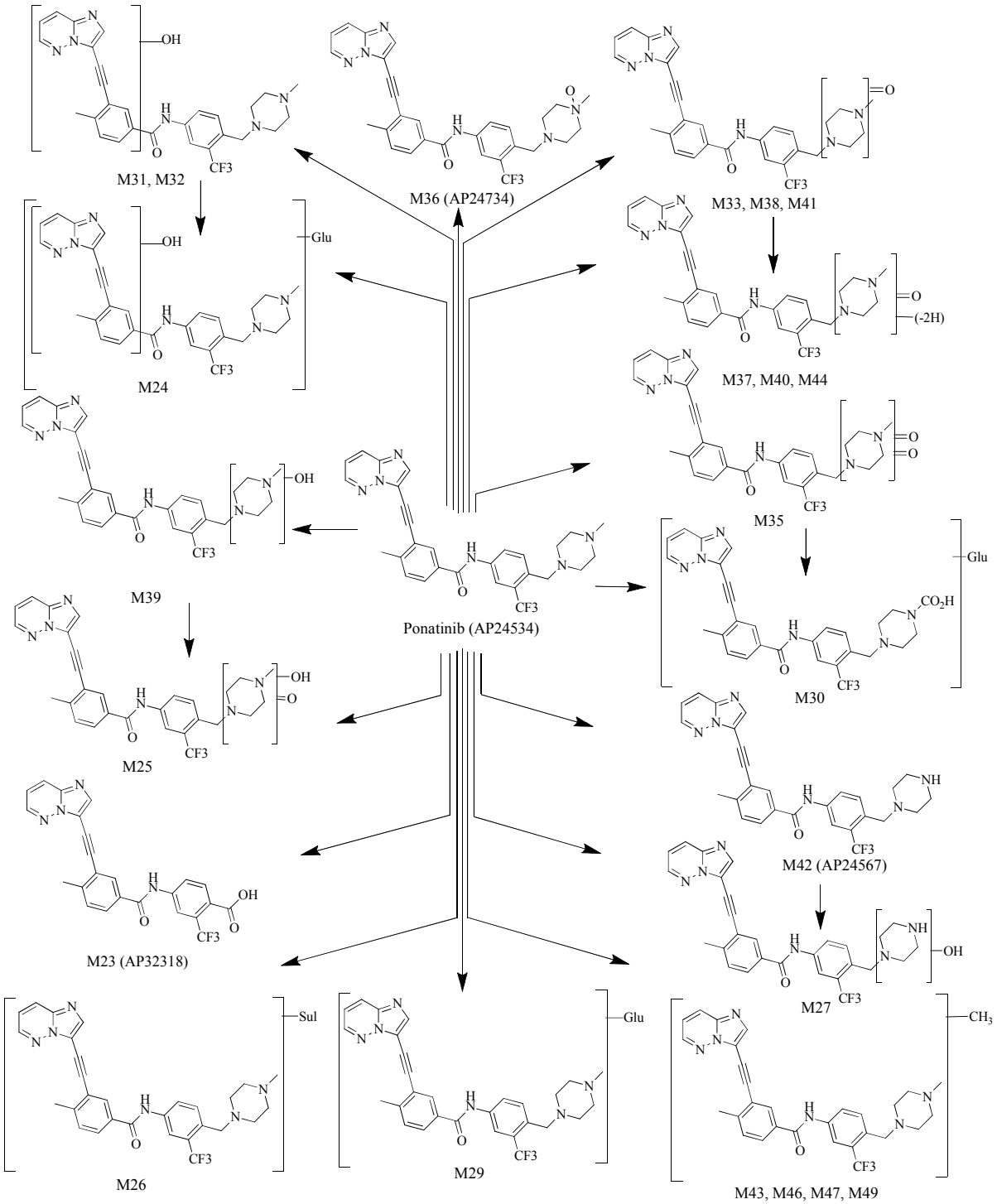
Metabolite ID	AP24734	AP24567	Ponatinib
Recombinant Human CYPs	% Radioactivity in Recombinant Human CYPs [a]		
Control	ND	ND	95.0
CYP3A4	7.8	38.8	43.0
CYP2C8	3.7	21.9	64.6
CYP2D6	3.1	4.9	80.6
CYP3A5	0.8	1.6	91.1
CYP2C19	ND	ND	92.3
CYP2C9	ND	ND	93.6
CYP1A2	ND	ND	93.6
CYP2E1	ND	ND	92.0

a: Only peaks containing ≥ 0.5% of the total radioactivity in each matrix were included.
ND: Not detected

2.6.5.11　薬物動態試験：　推定代謝経路

2.6.5.11.1　　薬物動態試験　　推定代謝経路（1）　　被験物質：ポナチニブ

ポナチニブの *in vivo* 推定代謝経路



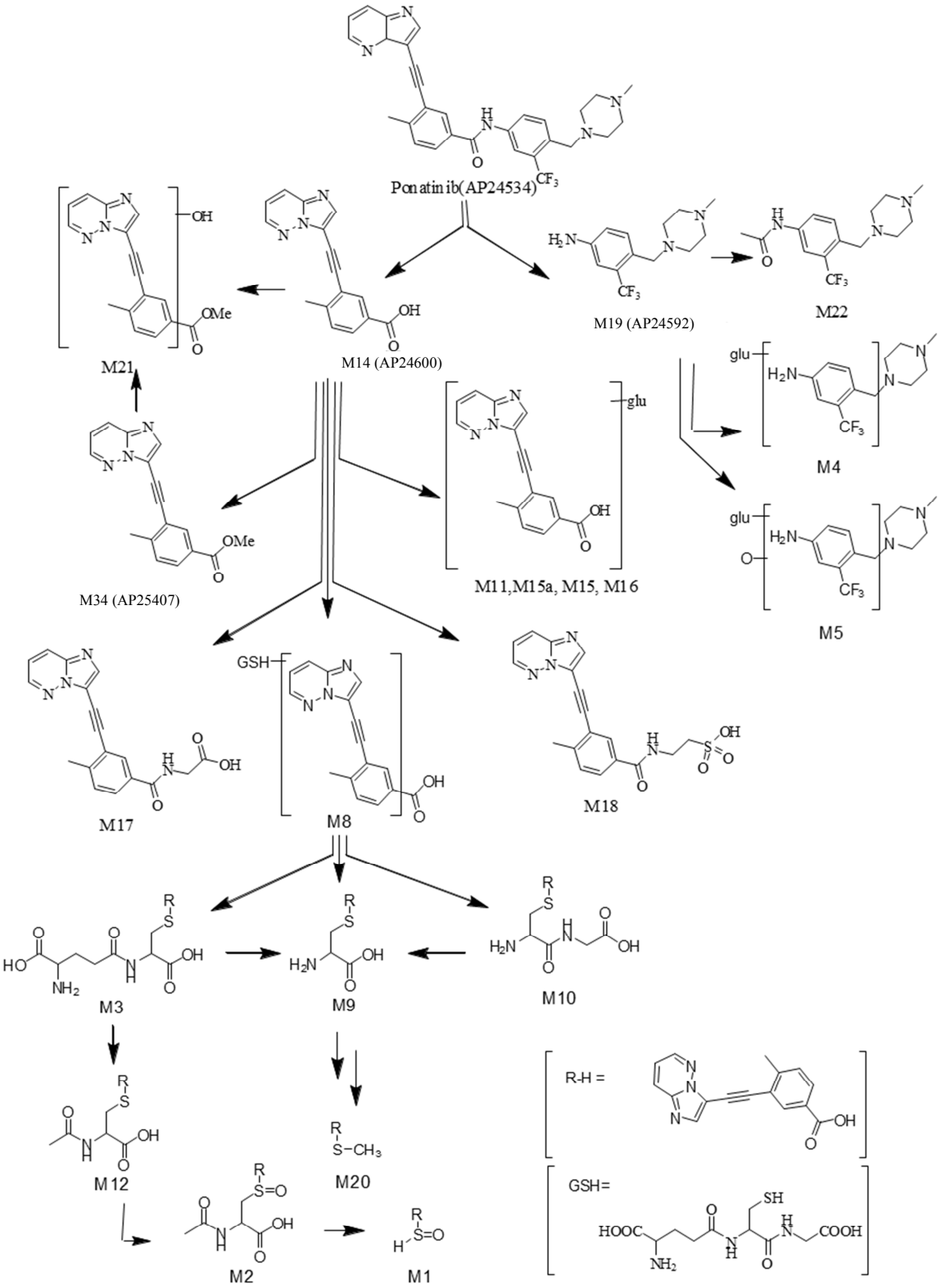
-OH: Monooxygenation leading to hydroxylation
=O: Monooxygenation leading to hydroxylation and then oxidation to ketone or aldehyde

（続く）

2.6.5.11.1　　薬物動態試験　　推定代謝経路（1）　　被験物質：ポナチニブ

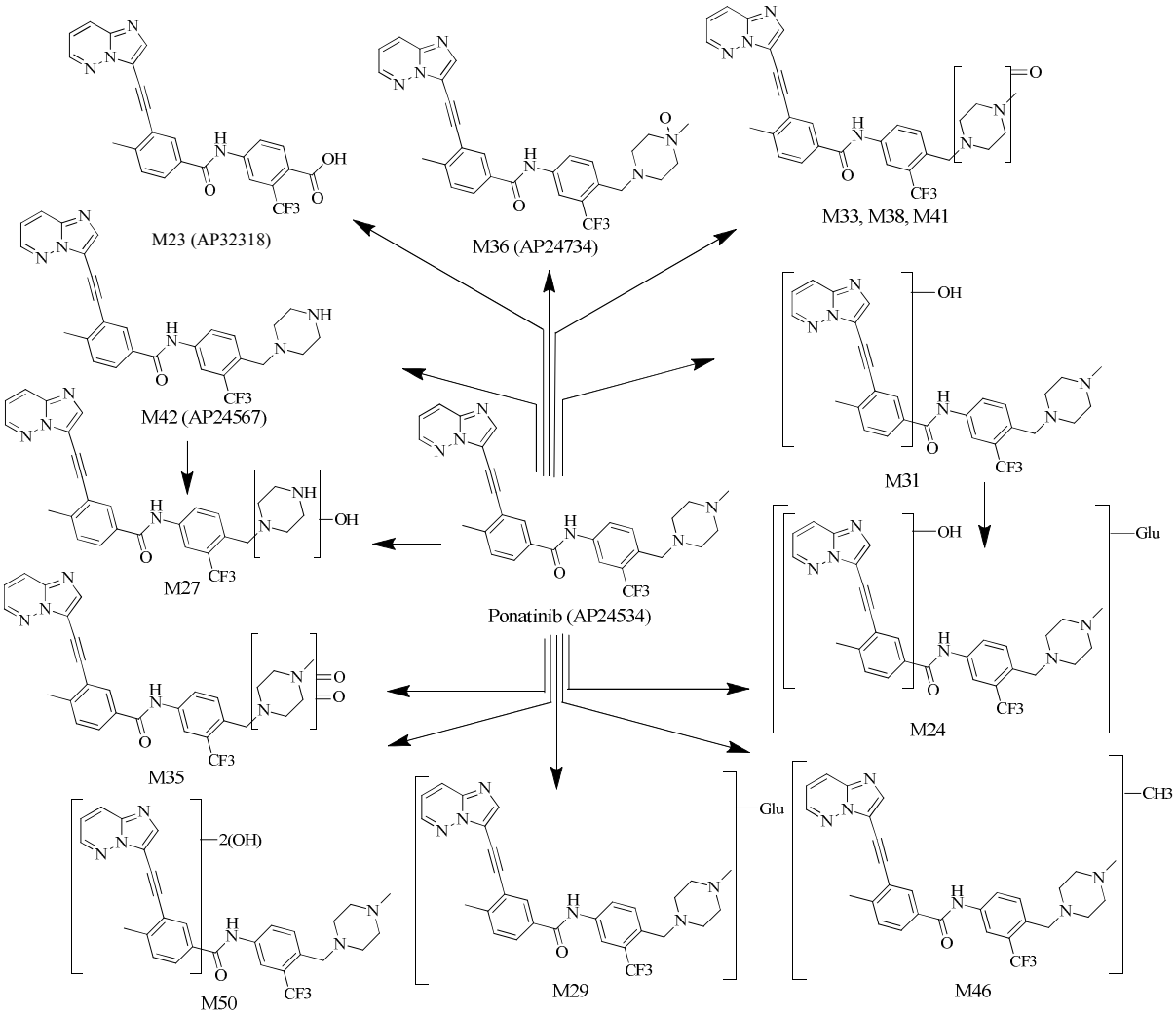
ポナチニブの *in vivo* 推定代謝経路

（続き）



2.6.5.11.2　　薬物動態試験　　推定代謝経路（2）　　被験物質：ポナチニブ

ポナチニブの *in vitro* 推定代謝経路



ポナチニブの *in vitro* 及び *in vivo* 代謝物並びにその代謝物が検出されたマトリックス

Met. ID	Proposed Biotransformation Pathway	Matrix	
		In Vitro	*In Vivo*/Rat, Monkey, Human
M1	AP24600 Sulfoxide	NR	Rat - Urine
M2	AP24600 N-acetyl-Cys-sulfoxide conjugate	NR	Rat - Bile
M3	AP24600 γGlu-Cys conjugate	NR	Rat - Bile
M4	Aniline Glucuronide	NR	Rat - Bile, Urine
M5	Aniline hydroxy glucuronide	NR	Rat - Bile, Urine
M6	Aniline Glucuronide	NR	NR
M7	Aniline hydroxy glucuronide	NR	NR
M8	AP24600 GSH conjugate	NR	Rat - Bile
M9	AP24600 S-Cysteine conjugation	NR	Rat - Urine, Bile
M10	AP24600 Cysteine Glycine	NR	Rat - Bile
M11	AP24600 Glucuronide	NR	Monkey - Urine Rat - Bile, Urine
M12	AP24600 mercapturic acid	NR	Rat - Bile, Urine
M14	AP24600	NR	Rat - Plasma, Bile, Urine, Feces Monkey - Plasma, Urine, Feces Human - Plasma, Urine, Feces
M15[a]	AP24600 Glucuronide	NR	Rat - Plasma Monkey - Urine
M15	AP24600 Glucuronide	NR	Rat - Plasma, Bile, Urine, Feces Monkey - Urine Human - Plasma, Urine, Feces
M16	AP24600 Glucuronide	NR	Rat - Plasma, Bile, Urine Monkey - Urine
M17	AP24600 Glycine conjugate	NR	Rat - Bile Monkey - Urine
M18	AP24600 taurine conjugate	NR	Rat - Plasma, Bile, Urine Monkey - Urine
M19[a]	Aniline	NR	Rat - Bile, Urine
M20	AP24600 Methyl Sulfide	NR	Rat - Plasma, Bile, Feces
M21	AP24600 Hydroxy methyl ester	NR	Rat - Bile
M22[a]	Aniline acetylation	NR	Rat - Plasma, Bile, Urine, Feces Monkey - Plasma, Urine Human - Plasma, Urine, Feces
M23	Ponatinib N-despiperazinyl acid	Liver Microsomes - M Hepatocytes - M	Rat - Plasma, Bile, Urine, Feces Monkey - Plasma, Urine Human - Plasma, Feces
M24	Ponatinib hydroxylation and glucuronidation	Hepatocytes - M	Monkey - Plasma Human - Plasma, Urine, Feces
M25	Oxidation and lactam formation of ponatinib	NR	Rat - Bile, Urine, Feces Monkey - Urine, Feces Human - Urine, Feces
M26	Ponatinib sulfate conjugation	NR	Monkey - Urine, Feces Human - Feces

（続く）

2.6.5.11.3　　薬物動態試験　　推定代謝経路（3）　　被験物質：ポナチニブ

ポナチニブの *in vitro* 及び *in vivo* 代謝物並びにその代謝物が検出されたマトリックス

（続き）

Met. ID	Proposed Biotransformation Pathway	Matrix	
		In Vitro	*In Vivo*/Rat, Monkey, Human
M27	Ponatinib N-Demethylation and hydroxylation	Liver Microsomes - M	Rat - Bile, Feces Monkey - Urine Human - Feces
M28	AP24600 hydroxy methyl ester	NR	Rat - Bile
M29	Ponatinib Glucuronidation	NR	Rat - Bile, Feces Monkey - Feces Human - Plasma, Urine
M30	Methylpiperazine to COOH and glucuronide conjugation	NR	Rat - Bile Monkey - Feces Human - Urine
M31	Hydroxylation on heterocyclic ring or benzylic hydroxylation	Liver Microsomes - M Hepatocytes - M	Rat - Bile Monkey - Urine, Feces Human - Urine, feces
M32	Hydroxylation on heterocyclic ring or benzylic hydroxylation	NR	Rat - Bile Monkey - Feces Human - Urine, Feces
M33	Ponatinib Lactam formation or N-oxidation with desaturation	NR	Rat - Bile Human - Urine, Feces
M34	AP24600 Methyl ester	NR	Rat - Plasma, Bile, Urine, Feces Monkey - Urine Human - Urine, Feces
M35	Ponatinib-double lactam on piperazine	NR	Rat - Bile, Feces Monkey - Feces Human - Urine, Feces
M36	Ponatinib N-hydroxylation	Liver Microsomes - R,M,H Hepatocytes - R,M,H	Rat - Plasma, Urine, Bile, Feces Monkey - Plasma, Urine, Feces Human - Plasma, Urine, Feces
M37	Ponatinib Lactam formation with desaturation	NR	Human - Urine, Feces
M38	Ponatinib Lactam formation or N-oxidation with desaturation	NR	Rat - Bile Monkey - Plasma, Feces Human - Urine, Feces
M39	Ponatinib Hydroxylation on piperazine ring	NR	Rat - Bile Monkey - Feces Human - Urine, Feces
M40	Ponatinib Lactam formation with desaturation	NR	Rat - Bile
M41	Ponatinib Lactam formation or N-oxidation with desaturation	NR	Rat - Bile Human - Urine, Feces
M42	Ponatinib N-Demethylation	Liver Microsomes - R,M,H Hepatocytes - R,M,H	Rat - Plasma, Bile, Feces Monkey - Plasma, Feces Human - Plasma, Feces

（続く）

ポナチニブの *in vitro* 及び *in vivo* 代謝物並びにその代謝物が検出されたマトリックス

（続き）

Met. ID	Proposed Biotransformation Pathway	Matrix	
		In Vitro	*In Vivo*/Rat, Monkey, Human
M43	Ponatinib Methylation	NR	Rat - Bile
M44	Ponatinib Lactam formation with desaturation	NR	Rat - Bile
M46	Ponatinib Methylation	Hepatocytes - R,M	Rat - Bile Human - Plasma, Feces
Parent	Ponatinib	Liver Microsomes - R,M,H Hepatocytes - R,M,H	Rat - Plasma, Bile, Urine, Feces Monkey - Plasma, Urine, Feces Human -Plasma, Urine, Feces
M47	Ponatinib Methylation	NR	Rat - Feces Monkey - Feces Human - Feces
M48	Ponatinib Demethylation	NR	Monkey - Feces
M49	Ponatinib Methylation	NR	Rat -Bile, Feces Monkey - Feces Human - Feces
M50	Ponatinib dihydrodiol	Liver Microsomes - M Hepatocytes - M	NR

a: Non-radioactive - determined only by mass spectrometry

R = Rat, M = Monkey, H = Human

Met.: Metabolite

NR: Not reported, either not detected or < 1% of the radioactivity in the matrix

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　　薬物動態試験　　薬物代謝酵素の誘導／阻害（1）　　被験物質：ポナチニブ，AP24600

肝ミクロソームにおける CYP 阻害作用

報告書番号：ARP267，資料番号：4.2.2.6

Type of Study:	CYP Inhibition by Ponatinib in Human Liver Microsomes
Analytical Method:	LC/MS/MS Assay of Metabolites of Isozyme Specific Probes
Test Article Concentration:	0.1 to 100 µmol/L

CYP Isozyme	CYP Specific Probe Substrate Reaction	Ponatinib (IC_{50}, µmol/L)[d]			IC_{50} Ratio RI/MDI	IC_{50} Ratio RI/TDI	AP24600 (IC_{50}, µmol/L) RI
		RI[a]	MDI[b]	TDI[c]			
CYP1A2	Phenacetin O-deethylation	13.3	16.1	32.2	0.82	0.41	> 100
CYP2B6	Bupropion hydroxylation	5.6	4.0	8.3	1.40	0.67	> 100
CYP2C8	Amodiaquine N-dealkylation	6.1	4.6	9.1	1.32	0.67	> 100
CYP2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	10.8	15.2	21.6	0.71	0.50	> 100
CYP2C19	S-Mephenytoin 4′-hydroxylation	5.2	6.8	8.6	0.76	0.60	> 100
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylation	11.6	18.1	21.9	0.64	0.53	> 100
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	8.3	7.9	11.2	1.05	0.74	> 100
	Midazolam 1′-hydroxylation	13.6	11.1	21.9	1.22	0.62	> 100

a: RI = Reversible (or) direct inhibition. Incubations with zero-minute pre-incubation.

b: MDI = Metabolism-dependent inhibition. Incubations with 30 minute pre-incubation of ponatinib with NADPH.

c: TDI = Time-dependent inhibition. Incubations with 30 minute pre-incubation of ponatinib without NADPH.

d: Mean data (i.e., percent of control activity) obtained from triplicate or duplicate samples for each test article concentration were used to calculate IC_{50} values. IC_{50} values were calculated with XL Fit.

培養ヒト肝細胞における CYP 発現誘導作用（1）

報告書番号：XT103117，資料番号：4.2.2.6

Type of Study:	CYP Induction by Ponatinib in Human Hepatocytes
Analytical Method:	LC/MS/MS Assay of Metabolites of Isozyme Specific Probes, mRNA Quantitation by RT-PCR
Test Article Concentration:	0.05, 0.2, 0.6, and 2 µmol/L

Tabulated Results:	Fold Change[a]							
Treatment	Concentration	Phenacetin O-dealkylation (CYP1A2)	Bupropion hydroxylation (CYP2B6)	Testosterone 6β-hydroxylation (CYP3A4/5)	mRNA levels			
					CYP1A2	CYP2B6	CYP3A4	MDR1
Dimethyl Sulfoxide	0.1% (v/v)	1.00 ± 0.25 [b]	1.00 ± 0.12 [b]	1.00 ± 0.68 [b]	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Ponatinib	0.05 µmol/L	1.18 ± 0.32	0.906 ± 0.177	1.44 ± 0.38	1.04 ± 0.11	0.963 ± 0.085	1.17 ± 0.08	0.971 ± 0.265
	0.2 µmol/L	1.75 ± 1.14	1.13 ± 0.51	1.56 ± 0.77	1.88 ± 0.50	1.08 ± 0.11	1.45 ± 0.26	1.12 ± 0.40
	0.6 µmol/L	2.63 ± 2.07	1.32 ± 0.58	1.91 ± 0.81	3.28 ± 1.40	1.38 ± 0.29	1.56 ± 0.23	1.13 ± 0.13
	2 µmol/L	3.86 ± 4.09	1.54 ± 0.91	1.63 ± 0.93	3.74 ± 2.20	1.89 ± 0.70	1.47 ± 0.30	1.28 ± 0.36
Omeprazole	50 µmol/L	**20.3 ± 9.1**	4.66 ± 0.62	2.92 ± 2.03	80.8 ± 38.9	NA	NA	NA
Phenobarbital	750 µmol/L	2.54 ± 0.63	**14.5 ± 5.1**	6.10 ± 3.65	NA	9.92 ± 2.17	NA	NA
Rifampin	10 µmol/L	1.86 ± 0.64	8.89 ± 2.64	**5.02 ± 3.19**	NA	NA	6.32 ± 1.08	2.53 ± 0.89

a: Values are the mean ± standard deviation of three determinations (human hepatocyte preparations H1017, H1018 and H1019).

b: CV (Coefficient of Variance) = Rate standard deviation / Mean Rate. CV is calculated instead of standard deviation to give a more realistic representation of variance among control samples. For CYP1A2, the positive control is omeprazole, for CYP2B6 the positive control is phenobarbital, and for CYP3A4, the positive control is rifampin; which are in bold text. Historical data at the Testing Facility show that treatment with omeprazole (50 µmol/L), phenobarbital (750 µmol/L) or rifampin (10 µmol/L) cause an average 20.1-, 12.5- and 10-fold increase in CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4/5 activity, respectively.

NA: Not applicable

培養ヒト肝細胞における CYP 発現誘導作用（2）

報告書番号：[redacted]133050，資料番号：4.2.2.6

Type of Study:	CYP Induction by Ponatinib in Human Hepatocytes
Analytical Method:	LC/MS/MS Assay of Metabolites of Isozyme Specific Probes, mRNA Quantitation by RT-PCR
Test Article Concentration:	0.2, 2, 5, 7, and 10 µmol/L

Tabulated Results:		Fold change[a]					
Treatment	Concentration	Phenacetin *O*-dealkylation (CYP1A2)	Bupropion hydroxylation (CYP2B6)	Testosterone 6β-hydroxylation (CYP3A4/5)	mRNA levels		
					CYP1A2	CYP2B6	CYP3A4
Methanol	0.1% (v/v)	1.00 ± 0.00[b]	1.00 ± 0.00[b]	1.00 ± 0.00[b]	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Ponatinib	0.2 µmol/L	1.83 ± 0.35	1.01 ± 0.13	0.906 ± 0.138	1.89 ± 0.09	0.978 ± 0.109	1.07 ± 0.26
	2 µmol/L	2.27 ± 1.58	1.00 ± 0.26	0.762 ± 0.202	2.65 ± 1.24	1.49 ± 0.29	1.62 ± 0.53
	5 µmol/L	1.23 ± 1.82	0.539 ± 0.693	0.302 ± 0.357	1.13 ± 1.53	0.944 ± 0.475	0.990 ± 0.730
	7 µmol/L	0.886 ± 1.419	0.829 (n = 1)	0.290 (n = 2)	1.66 ± 1.34	0.939 ± 0.530	1.16 ± 0.83
	10 µmol/L	1.68 (n = 1)	0.550 (n = 1)	0.393 (n = 1)	17.1 ± 13.7	2.23 ± 0.86	3.43 ± 0.70
Flumazenil	25 µmol/L	0.986 ± 0.151	1.19 ± 0.07	1.14 ± 0.06	1.09 ± 0.22	1.21 ± 0.06	1.17 ± 0.29
Omeprazole	50 µmol/L	26.3 ± 27.2	NA	NA	77.5 ± 41.5	NA	NA
Phenobarbital	750 µmol/L	NA	7.04 ± 1.65	NA	NA	9.40 ± 4.57	NA
Rifampin	20 µmol/L	NA	NA	5.40 ± 3.31	NA	NA	11.9 ± 5.3

a: Values are the mean ± standard deviation of three determinations (human hepatocyte preparations HC10-1, HC3-22 and HC5-25).

b: The error associated with the 0.1% methanol activity data is the CV (coefficient of variance). CV is calculated instead of standard deviation to give a more realistic representation of variance among control samples.

NA: Not applicable

Note: The fold change values at 5, 7 and 10 µmol/L ponatinib in HC10-1 and HC3-22, as well as 10 µmol/L ponatinib in HC5-25, are artificially high due elevated and variable Ct values for the endogenous control, GAPDH, which manifests as false induction and is indicative of a decline in hepatocyte integrity.

2.6.5.13　薬物動態試験：　排泄

2.6.5.13.1　　薬物動態試験　　排泄（1）　　被験物質：^{14}C-ポナチニブ

ラット

報告書番号：ARP260，資料番号：4.2.2.4

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M/F)/Number of animals:	Male/4
Feeding condition:	Fasted overnight
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer (pH 2.75)
Method of Administration:	Single oral dose
Dose (mg/kg):	10
Specific Activity:	21.18 µCi/mg (free base), 0.0195 mCi/mg (as Hydrochloride)
Analyte:	^{14}C-Ponatinib derived radioactivity
Analytical Method:	LSC

Collection Time Period (h)	Recovery (%) of Administered ^{14}C-Ponatinib (mean) in Intact Rats[a]		
	Urine	Feces	Total Dose Recovered (%)
0 - 8	3.18 ± 0.97	0.01 ± NA	3.19
8 - 24	4.82 ± 1.14	48.36 ± 5.88	53.18
24 - 48	1.64 ± 0.39	25.57 ± 7.62	27.21
48 - 72	0.33 ± 0.08	11.94 ± 8.05	12.27
72 - 96	0.12 ± 0.03	1.73 ± 0.23	1.85
96 - 120	0.05 ± 0.02	0.75 ± 0.09	0.8
Carcass, cage wash and wipes, at 0 - 120 h post-dose			2.91
Total Recovery	10.15 ± 1.24	88.38 ± 2.38	101.44 ± 1.51

a: Values represent mean ± SD (n = 4)

NA = Not applicable as n = 1

カニクイザル

報告書番号：ARP259，資料番号：4.2.2.4

Species:	Cynomolgus Monkeys
Gender (M/F)/Number of animals:	Male/3
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer (pH = 2.75)
Method of Administration:	Single oral dose
Dose (mg/kg):	15, Radioactivity
Specific Activity:	0.0195 mCi/mg (as Hydrochloride)
Analyte:	^{14}C-Ponatinib derived radioactivity
Analytical Method:	LSC

Collection Time Period (h)	Recovery (%) of Administered ^{14}C-Ponatinib in Cynomolgous Monkeys[a]		
	Urine	Feces	Total Dose Recovered (%)
0 - 24	1.11 ± 0.04	5.95 ± 5.77	7.06
24 - 48	0.61 ± 0.24	22.54 ± 14.95	23.15
48 - 72	0.21 ± 0.15	16.61 ± 12.30	16.82
72 - 96	0.11 ± 0.05	17.60 ± 13.79	17.71
96 - 120	0.07 ± 0.04	2.46 ± 1.84	2.53
120 - 144	0.04 ± 0.01	3.63 ± 5.14	3.67
144 - 168	0.03 ± 0.01	1.57 ± 1.74	1.6
Cage wash, wipes, debris and emesis collected at 168 h post-dose			22.15
Total Recovery	2.17 ± 0.47	70.35 ± 11.02	88.95 ± 4.07

a: Values represent mean ± SD (n = 3)

Note: Emesis was collected from 2 animals.

ヒト

報告書番号：ARP257，資料番号：4.2.2.4

Gender(M/F)/Number of Volunteers:	Male/6
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Capsules
Method of Administration:	Oral
Dose (mg):	45 (Three 15 mg capsules)
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity (for 4 capsules):	110.1 µCi/45 mg (1.303 mCi/mmol)
Analytical Method:	LSC

Collection Time Period (h)	Recovery (%) of Administered ^{14}C-Ponatinib		
	Urine	Feces	Total Cumulative Dose Recovered (%) in Urine and Feces
0 - 24	2.95	2.98	5.93
24 - 48	1.03	22.88	29.84
48 - 72	0.57	20.29	50.69
72 - 96	0.30	10.77	61.77
96 - 120	0.18	15.08	77.03
120 - 144	0.12	6.80	83.94
144 - 168	0.08	1.97	85.99
168 - 192	0.05	3.00	89.04
192 - 216	0.04	0.46	89.55
216 - 240	0.03	0.98	90.56
240 - 264	0.02	0.84	91.42
264 - 288	0.03	0.16	91.62
288 - 312	0.01	0.98	92.01
312 - 336	0.01	NA	NA
Total	5.38	86.63	92.01

NA: Not Applicable

2.6.5.14　薬物動態試験：　排泄：胆汁

2.6.5.14.1　　薬物動態試験　　排泄：胆汁（1）　　被験物質：^{14}C-ポナチニブ

胆管カニュレーション（BDC）ラット

報告書番号：ARP260，資料番号：4.2.2.4

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M/F)/Number of animals:	Male/6
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	25 mmol/L citrate buffer (pH 2.75)
Method of Administration:	Single oral dose
Dose (mg/kg):	10
Specific Activity:	21.18 µCi/mg (free base), 0.0195 mCi/mg (as Hydrochloride)
Analyte:	^{14}C-Ponatinib derived radioactivity
Analytical Method:	LSC

Time Points (h)	% of Total Dose Recovered in BDC Rats			
	Bile	Urine	Feces	Total
0 - 8	24.38 ± 2.28	NS	NS	24.38
8 - 16	10.57 ± 0.93	NS	NS	10.57
16 - 24 (Bile) / 0 - 24 (Urine, Feces)	4.91 ± 0.92	7.74 ± 1.24	15.68 ± 5.15	28.33
24 - 48	10.16 ± 1.15	1.40 ± 0.33	8.96 ± 1.82	20.52
48 - 72	4.34 ± 1.16	0.54 ± 0.18	4.06 ± 0.95	8.94
Carcass (at 72 h)				9.07
Cage wipes, washes (at 72 h)				1.40
Total Recovery	54.36 ± 1.27	9.68 ± 1.55	28.70 ± 3.44	103.21 ± 1.62

NS: No Sample (No 0 - 8 h and 8 - 16 h urine and feces samples were collected)

a: Values represent mean ± SD (n = 6)

2.6.5.15　薬物動態試験：　薬物相互作用

非臨床薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.6.5.16　薬物動態試験：　その他

（該当なし）