カーバグル分散錠 200 mg

医薬品製造販売承認申請書　添付資料

第 2 部：CTD の概要（サマリー）

2.6.4　薬物動態試験の概要文

株式会社ポーラファルマ

目　次

2.6.4　薬物動態試験の概要文.....3
2.6.4.1　まとめ.....3
2.6.4.2　分析法.....4
2.6.4.3　吸収.....5
2.6.4.4　分布.....7
2.6.4.5　代謝.....9
2.6.4.6　排泄.....10
2.6.4.7　薬物動態学的相互作用.....10
2.6.4.8　その他の薬物動態試験.....11
2.6.4.9　考察及び結論.....11
2.6.4.10　図表.....12

略語一覧表

略語	定義（英語）	定義（日本語）
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-24}	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24h	投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-168}	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 168h	投与後 0 時間から 168 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome(s) P450	チトクローム P450
Diaza	Diaza-1,3-dione-2,4-carboxy-7-cycloheptane	ジアザ-1,3-ジオン-2,4-カルボキシ-7-シクロヘプタン
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
5-HPA	Hydantoin-5-propionic acid	ヒダントイン-5-プロピオン酸
LC-MS/MS	Liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析
LOQ	Limit of quantification	定量限界
LOD	Limit of detection	検出限界
$T_{1/2}$	Half-life	消失半減期
UV	Ultra violet	紫外線

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

カルグルミン酸の非臨床薬物動態試験の一覧は、概要表 2.6.5.1 に示した。動物種としては、薬効薬理試験、安全性薬理試験及び毒性試験において選択されたラット（SD 系）及びイヌ（ビーグル）を使用した。被験薬物の主要な投与経路は臨床投与経路である経口投与とし、一部の試験では主として生物学的利用率の評価のために静脈内投与を設定した。更に、ヒト及び動物において、*in vitro* の試験を行い、薬物代謝及び薬物相互作用について検討した。また、トキシコキネティクス（TK）試験も一部評価に加えた。

(1) 吸収

ラットとイヌにカルグルミン酸を単回経口投与した時、未変化体カルグルミン酸は投与後2～4時間でC_{max}を示した。反復経口投与後のC_{max}及びAUC_{0-24}は、初回投与時とほぼ同様であり、反復投与による蓄積性は認められなかった。ラットにおいてC_{max}は用量に従った増加傾向はほとんど認められておらず、AUC_{0-24}は用量増加よりも下回った増加傾向を示した。また、ラット、イヌともに吸収挙動において雌雄差は認められなかった。

妊娠ウサギにカルグルミン酸を単回経口投与した時の未変化体カルグルミン酸の曝露量は、用量依存的に増加したが、反復経口投与後の曝露量は、単回経口投与と比べて低かった。

イヌにおける単回経口投与と単回静脈内投与で得られたAUC比から得られた未変化体カルグルミン酸の吸収率は、32~33%であった。

(2) 分布

ラットに[^{14}C]カルグルミン酸を単回経口投与した 3 時間後の放射活性は各組織に広く分布し、標的器官である肝臓にも比較的高く分布した。96 時間後にはほとんどの組織で減少した。また、授乳期のラットを用いた試験において、乳汁への移行が認められた。

(3) 代謝

[^{13}C]又は[^{14}C]カルグルミン酸を投与したラット、イヌの代謝物を分析した結果、何れの動物種においても、未変化体のみが検出された。カルグルミン酸由来の想定代謝物はラット、イヌでは定量下限未満であった。また、ラット、ミニブタ、イヌ、カニクイザル及びヒトの培養肝細胞を用い、[^{14}C]カルグルミン酸の *in vitro* における代謝の有無を検討したが、何れの肝細胞においてもカルグルミン酸はほぼ未変化体のままで、代謝物は確認されなかった。

カルグルミン酸の最終的な代謝産物である CO_2 は、ラット、イヌで共通であったが、その割合は数%と少なかった。

(4) 排泄

イヌに[^{13}C]カルグルミン酸を静脈内投与、ラット及びイヌに[^{14}C]カルグルミン酸を経口投与した時の主排泄経路は尿中であった。ラット及びイヌでは、経口投与後速やかに尿、糞及び呼気中に排泄された。

(5) 薬物動態学的薬物相互作用

CYP各分子種に対するカルグルミン酸の誘導及び阻害作用をヒト肝細胞で検討した。

ヒト肝細胞におけるCYP1A1/2、CYP2B6及びCYP3A4/5肝酵素活性誘導に及ぼすカルグルミン酸の影響を検討した。カルグルミン酸はCYP1A1/2、CYP2B6及びCYP3A4/5の酵素活性を誘導しなかった。

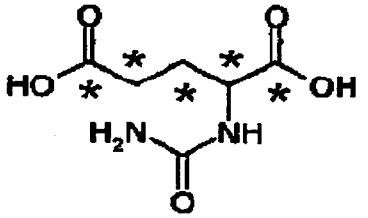
ヒト肝ミクロソームを用いて、各CYP分子種(CYP1A2、CYP2B6、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1及びCYP3A4/5)に対するカルグルミン酸の阻害作用を検討した。カルグルミン酸はこれらのCYP分子種の酵素活性を阻害しなかった。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 同位体標識カルグルミン酸

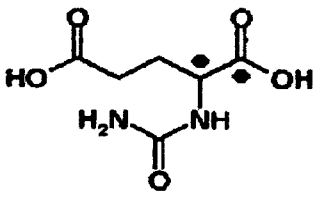
薬物動態試験には、[^{14}C]カルグルミン酸及び安定同位体標識体[^{13}C]カルグルミン酸を使用した。ラット及び *in vitro* 代謝試験では[^{14}C]カルグルミン酸を、イヌでは[^{14}C]カルグルミン酸及び[^{13}C]カルグルミン酸を用いて検討した。[^{14}C]カルグルミン酸及び[^{13}C]カルグルミン酸の構造式及び標識位置を**図 2.6.4.2-1** に、使用した[^{14}C]カルグルミン酸の放射化学的純度を**表 2.6.4.2-1** に示す。

生体試料中放射能は、液体シンチレーションカウンター（LSC）を用いて測定した。代謝物プロファイルの検討においては、高速液体クロマトグラフィー放射能連続検出器（UV 検出器の coupled detection）を用いて放射能を測定した。臓器・組織の放射能は、定量的全身オートラジオルミノグラフィーにより評価した。



(*) atoms labelled with ^{14}C

[^{14}C]カルグルミン酸



(•) atoms labelled with ^{13}C

[^{13}C]カルグルミン酸

図 2.6.4.2-1 同位体標識カルグルミン酸の構造式及び標識位置

表 2.6.4.2-1 [^{14}C]カルグルミン酸の比放射能及び放射化学的純度

バッチ	比放射能	放射化学的純度	使用した試験（添付資料）
2C-001207	60 mCi/mmol	>93%	026/01 005（4.2.2.2-1、4.2.2.4-1）
B1（CFQ14918）	9.62 GBq/mmol	96.1%	026/06 027（4.2.2.2-2）
B1（CFQ40597）	261 mCi/mmol	90.7%	026/08 143（4.2.2.4-2）

2.6.4.2.2 血漿、尿、糞及び乳汁中の未変化体あるいは想定代謝物の定量

非標識体あるいは安定同位体標識体を用いた試験における各種マトリックスの測定には、バリデートされたLC-MS/MS法を用いた。日内及び日間再現性の精度及び真度は±15%以内（定量下限は±20%以内）の判定基準を満たした。バリデーション結果は、**概要表 2.6.5.2**に示した。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 ラット

(1) 血漿中放射活性濃度（添付資料 4.2.2.2-1）

雌雄ラットに絶食下[^{14}C]カルグルミン酸500 mg/kg を単回経口投与し、血液及び血漿中の放射能濃度を測定した。血漿中放射能濃度は、投与後3時間（最初の測定時間）で最も高く、雄で73.4、雌で51.9 μg.eq./ gであった。この時点での血液/血漿中放射能の濃度比はそれぞれ0.6及び0.7であり、放射能分布は血漿の方が高かった。投与後96時間における血漿中濃度は、雄で1.9、雌で2.5 μg.eq./ gであった。血漿中放射能濃度推移において、雌雄による大きな差はないものと考えられた。

(2) 血漿中未変化体濃度（トキシコキネティクス評価）（添付資料 4.2.3.2-2）

反復投与毒性試験の一環として雌雄幼若ラットにカルグルミン酸500 mg/kg/日及び1000 mg/kg/日を26週間経口投与し、トキシコキネティクス試験を実施した。

初回投与において、いずれの投与量でも、投与後2～4時間にC_{max}を示し、その濃度は、500 mg/kg/日群では、雄で76.7、雌で68.7 μg/mL、1000 mg/kg/日群では、雄で85.9、雌で95.5 μg/mLであった。血漿中カルグルミン酸の$T_{1/2}$は、500 mg/kg/日群では、雄で3.2、雌で4.2時間、1000 mg/kg/日群では、雄で3.5、雌で3.7時間であった。AUC_{0-24}は、500 mg/kg/日群では、雄で475、雌で317 μg.h/mL、1000 mg/kg/日群では、雄で882、雌で997 μg.h/mLとほぼ用量に比例して増加した。

最終投与において、いずれの投与量でも、投与後 2～3 時間に C_{max} を示し、その濃度は、500 mg/kg/日群では、雄で 71.6、雌で 83.0 μg/mL、1000 mg/kg/日群では、雄で 78.0、雌で 103.8 μg/mL であった。血漿中カルグルミン酸の $T_{1/2}$ は、500 mg/kg/日群では、雄で 2.8、雌で 2.7 時間、1000 mg/kg/日群では、雄で 3.4、雌で 3.2 時間であった。AUC_{0-24} は、500 mg/kg/

日群では、雄で535、雌で562 μg.h/mL、1000 mg/kg/日群では、雄で708、雌で804 μg.h/mLであった。

両投与群においては、反復投与による蓄積性は認められなかった。また、血漿中未変化体濃度推移に、雌雄差はほとんどないものと考えられた。

2.6.4.3.2 ウサギ

(1) 血漿中未変化体濃度（トキシコキネティクス評価）（添付資料4.2.3.5.2-1）

生殖発生毒性試験の一環として妊娠ウサギにカルグルミン酸 250 mg/kg/日及び 1000 mg/kg/日を12日間経口投与し、トキシコキネティクス試験を実施した。

初回投与において、250 mg/kg/日群では、投与後4時間にC_{max}を示し、その濃度は12.5 μg/mLであった。$T_{1/2}$は5.1時間、AUC_{0-24}は175.6 μg.h/mLであった。1000 mg/kg/日群では、投与後8時間にC_{max}を示し、その濃度は42.2 μg/mLであった。$T_{1/2}$は8.8時間、AUC_{0-24}は654.4 μg.h/mLであった。C_{max}及びAUC_{0-24}はほぼ用量に比例した。

最終投与において、いずれの投与量でも、投与後2時間にC_{max}を示し、その濃度は、250 mg/kg/日群では6.2、1000 mg/kg/日群では19.9 μg/mL であった。$T_{1/2}$は、250 mg/kg/日群では3.4、1000 mg/kg/日群では6.0時間であった。AUC_{0-24}は、250 mg/kg/日群では76.2、1000 mg/kg/日群では125.8 μg.h/mLであった。

妊娠ウサギにおいて、いずれの投与量でも、反復投与後、C_{max}及びAUC_{0-24}は50%以上減少した。

2.6.4.3.3 イヌ

(1) 血漿中未変化体及び放射能濃度（添付資料4.2.2.2-2）

雌雄イヌに[^{13}C]カルグルミン酸及び[^{14}C]カルグルミン酸500 mg/kgを単回経口投与し、血漿中カルグルミン酸濃度並びに放射能濃度を測定した。

血漿中カルグルミン酸濃度は、雄で投与後2時間、雌で2.5時間にC_{max}を示し、それぞれ112及び111 μg/mLであった。その後2相性の消失を示した。AUC_{0-168}は雄で486、雌で455 μg.h/mLであった。また、血漿中放射能濃度は、同様の推移を示し、雄で投与後2時間、雌で2.5時間にC_{max}を示し、それぞれ126及び131 μg.eq/mLであった。AUC_{0-168}は雄で994、雌で1098 μg.eq.h/mLであった。吸収過程において未変化体濃度に近い値を示した。

経口投与後7日間の休薬期間を経て、同じ雌雄イヌに[^{13}C]カルグルミン酸及び[^{14}C]カルグルミン酸500 mg/kg相当量 を単回静脈内投与（15分間の点滴）した。

[^{14}C]カルグルミン酸を経口及び静脈内投与した際の血漿中放射能のAUC比から算出した吸収率は53.1-55.8%であった。また、同様に[^{13}C]カルグルミン酸を投与した際の血漿中カルグルミン酸のAUC比から算出した吸収率は31.6-32.9%であった。

経口投与、静脈内投与共に、2 相性の消失を示し、投与 24 時間以降の血漿中カルグルミン酸の推移は緩徐で、24～168 時間の $T_{1/2}$ は、経口投与で雄は 21.0、雌は 19.2 時間、静脈内

投与で雄は 29.1、雌は 31.1 時間であった。また、カルグルミン酸及び放射能濃度の推移、薬物動態学的パラメータに雌雄の差はないものと考えられた。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 組織内分布（添付資料 4.2.2.2-1）

雌雄ラットに[^{14}C]カルグルミン酸500 mg/kgを単回経口投与し、投与後3時間及び96時間に定量的全身オートラジオグラフィーを行い、[^{14}C]カルグルミン酸組織内分布を評価した。その結果を**表2.6.4.4-1** に示す。

投与後3時間後で、放射能は各組織に広く分布し、特に、盲腸、小腸間膜で高い値を示し、次いで腎臓、肝臓、腸間膜リンパ、軟骨（大腿部）、唾液腺、副腎、ハーダー腺、精嚢、褐色脂肪、卵巣で高かった。脳、精巣、心臓及び骨格筋では極めて少なかった。投与後96時間後には、腎臓及び肝臓に比較的限局して分布した。投与後3時間におけるそれぞれの組織の放射能濃度は、投与量の0.431～0.925%及び0.458%であったが、投与後96時間では0.018～0.025%及び0.025%へと減少した。また、その他のいずれの組織においても減少した。

表 2. 6. 4. 4-1 雌雄ラットに[^{14}C]カルグルミン酸を単回経口投与した際の組織中放射能濃度

	Time post administration	
	3 hours	96 hours
caecum	13.181	BLQ
small intestine membrane	3.644	0.004
stomach contents	2.220	BLQ
kidney (iner cortex)	0.925	0.025
small intestine contents	0.767	BLQ
kidney (cortex)	0.539	0.018
liver	0.458	0.025
kidney (medulla)	0.431	0.020
mesenteric lymph nodes	0.102	0.011
cartilage (femur)	0.088	0.005
salivary glands	0.069	0.006
pancreas	0.066	0.006
adrenal gland	0.066	0.009
Harderian glands	0.065	0.010
seminal vesicles	0.055	0.007
brown fat	0.053	0.007
ovary	0.053	0.011
stomach mucosa	0.052	0.006
sublingual glands	0.048	BLQ
skin-hair	0.048	0.005
blood (heart cavity)	0.046	0.003
lungs	0.043	0.003
thyroid	0.042	BLQ
bone marrow (femur)	0.041	0.006
hypophysis	0.038	0.004
bone marrow (vertebrae)	0.037	0.005
spleen	0.036	0.006
white fat	0.034	0.009
epididymis	0.033	0.004
tongue	0.032	0.003
thymus	0.029	0.009
cartilage (vertebrae)	0.029	BLQ
perirenal fat	0.028	0.008
myocardium	0.024	0.003
uveal tract	0.023	BLQ
testis	0.019	BLQ
muscle (skeletal)	0.012	0.002
epididymal fat	0.007	0.007
cerebrum	0.007	0.002
spinal cord	0.007	0.003
cerebellum	0.006	0.002
stomach membrane	NQ	BLQ
artery wall	BLQ	BLQ
choroid plexus	BLQ	BLQ
eye	BLQ	BLQ
seminal membrane	BLQ	BLQ

BLQ : less than 0.002 % dose

数字は%（投与量）/g（組織）で表した。雌雄各 1 例ずつの平均

2.6.4.4.2 乳汁への移行（添付資料 4.2.3.5.3-1）

生殖発生毒性試験の一環として、授乳期の雌ラットにカルグルミン酸 500 mg/kg及び2000 mg/kgを単回経口投与し、トキシコキネティクス試験を実施した。投与後4時間に血漿中カルグルミン酸濃度及び乳汁中カルグルミン酸濃度を測定した。血漿中及び乳汁中カルグルミン酸濃度は、500 mg/kg投与時で、それぞれ69.8 μg/mL及び12.3 μg/mL、2000 mg/kg投与時でそれぞれ179.6 μg/mL及び36.2 μg/mLであった。カルグルミン酸の乳汁中への移行率は500 mg/kg群で16%、2000 mg/kg群で21%であった。

2.6.4.5 代謝

5-HPA 及び Diaza は、本薬の不純物であり生体内においても生成される可能性があること、L-グルタミン酸は、腸内細菌叢による本薬の加水分解により生成される可能性があることから、本薬由来の想定代謝物として、代謝試験によりその存在の有無を確認した。

2.6.4.5.1 *In vivo* 代謝物解析

(1) ラット（添付資料 4.2.2.2-1）

雌雄ラットに[^{14}C]カルグルミン酸 500 mg/kgを単回経口投与し、投与後の血漿、尿及び呼気中代謝物を、ラジオ-UV検出器付きHPLC法で検討した。血漿及び尿中には未変化体のみのピークが検出され、想定あるいはその他の代謝物に由来するピークは検出されなかった。雌雄各1例において呼気中では、投与後72時間までに総放射能の約9%が$^{14}CO_2$として検出された。カルグルミン酸はCO_2へと代謝され、呼気中に排泄されると考えられた。

(2) イヌ（添付資料4.2.2.2-2）

雌雄イヌに[^{13}C]カルグルミン酸又は[^{14}C]カルグルミン酸500 mg/kgを単回静脈内及び経口投与し、血漿、尿及び糞中代謝物をLC-MS/MS法で検討した。血漿、尿及び糞中には未変化体のみが検出され、カルグルミン酸の想定代謝物である5-HPA、Diaza及びL-グルタミン酸は検出限界以下であった。呼気中では、$^{14}CO_2$として静脈内投与後45分及び経口投与後60分と早い時間から排出され、投与後24時間までに、静脈内投与では総放射能の0.57（雄）及び0.65（雌）%、経口投与では総放射能の1.34（雌）及び0.99（雄）%が検出された。

2.6.4.5.4 *In vitro* 代謝試験

(1) ラット及びヒトの肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験（添付資料 4.2.2.4-1）

ラット（SD 系）及びヒトの冷凍保存肝細胞と 25 μM 及び 250 μM の[^{14}C]カルグルミン酸を37℃で 24 時間培養し、継時的にラジオ-UV 検出器付き HPLC 法で[^{14}C]カルグルミン酸を測定した。さらに想定代謝物である 5-HPA、Diaza についても LC-MS 又は LC-MS/MS にて測定した。

培養 24 時間にかけて[^{14}C]カルグルミン酸はほとんど変化しなかった。また、5-HPA 及び

Diazaについても検出されなかった。

(2) 各種動物及びヒトの肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験（添付資料 4. 2. 2. 4-2）

ラット（SD 系）、イヌ（ビーグル）、ミニブタ（GÖttingen）、カニクイザル及びヒトの冷凍保存肝細胞を用いて、各種動物あるいはヒトの肝細胞と 25 μM 及び 250 μM の[^{14}C]カルグルミン酸を 37℃で 24 時間培養し、継時的にラジオ-UV 検出器付き HPLC 法で[^{14}C]カルグルミン酸及び想定代謝物である 5-HPA、Diaza を測定した。

培養 24 時間後の[^{14}C]カルグルミン酸は、全ての動物種においてほとんど変化しなかった。また、5-HPA 及び Diaza のピークは全ての測定時点で検出されなかった。

In vitro の代謝試験において、カルグルミン酸の代謝に対する肝臓の寄与は極めて少ないものと考えられた。

2.6.4.6 排泄

2. 6. 4. 6. 1 排泄の経路及び程度

(1) ラット（添付資料 4. 2. 2. 2-1）

雌雄ラットに[^{14}C]カルグルミン酸 500 mg/kgを単回経口投与し、尿、糞及び呼気中の排泄率を検討した。投与後12時間まで（呼気中のみ投与後11時間まで）の排泄率は、尿中において40.5%、糞中において22.5%、呼気中（$^{14}CO_2$）において6.9%であった。投与後96時間まで（呼気中のみ投与後72時間まで）の排泄率は、尿中において48.5%、糞中において37.2%、呼気中（$^{14}CO_2$）において8.8%であった。排泄は投与後数時間で速やかであり、12時間までに60%以上が排泄された。

(2) イヌ（添付資料 4. 2. 2. 2-2）

雌雄イヌに[^{14}C]カルグルミン酸500 mg/kgを単回経口投与し、尿、糞及び呼気中の排出率を検討した。投与後168時間までの排泄率は、尿中で雄は49.9、雌は41.7%、糞中で雄は17.9、雌は 35.2%、呼気中（$^{14}CO_2$）で雄は1.34、雌は0.99%であった。同様に雌雄イヌに単回静脈内投与した場合、投与後168時間までの排泄率は尿中で雄は81.3、雌は79.2%、糞中で雄は0.45、雌は0.38%、呼気中（$^{14}CO_2$）で雄は0.57、雌は 0.65%であった。排泄は投与後12時間まで速やかに排泄され、24時間までにほぼ全てが排泄された。

2.6.4.7 薬物動態学的相互作用

(1) CYP各分子種に対するカルグルミン酸の誘導及び阻害作用（添付資料4. 2. 2. 6-1～3）

CYP各分子種に対するカルグルミン酸の誘導及び阻害作用をヒト肝細胞で検討した。

ヒト肝細胞におけるCYP1A1/2、CYP2B6及びCYP3A4/5肝酵素活性誘導に及ぼすカルグル

ミン酸の影響を検討した。カルグルミン酸は200 μMまでの濃度で、CYP1A1/2、CYP2B6及びCYP3A4/5の酵素活性を誘導しなかった。

ヒト肝ミクロソームを用いて、各CYP分子種(CYP1A2、CYP2B6、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1及びCYP3A4/5)に対するカルグルミン酸の阻害作用を検討した。カルグルミン酸は200 μMまでの濃度で、これらのCYP分子種の酵素活性を阻害しなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当する試験は実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

(1) 吸収

ラットとイヌにカルグルミン酸を単回経口投与した時、未変化体カルグルミン酸は投与後2～4時間でC_{max}を示した。反復経口投与後のC_{max}及びAUC_{0-24}は、初回投与時とほぼ同様であり、反復投与による蓄積性は認められなかった。ラットにおいてC_{max}は用量に従った増加傾向はほとんど認められておらず、AUC_{0-24}は用量増加よりも下回った増加傾向を示した。また、ラット、イヌともに吸収挙動において雌雄差は認められなかった。

妊娠ウサギにカルグルミン酸を単回経口投与した時の未変化体カルグルミン酸のAUC_{0-24}は、用量依存的に増加したが、反復経口投与後のAUC_{0-24}は、単回経口投与のAUC_{0-24}と比べて減少した。この反復経口投与によるAUC_{0-24}低下の原因は不明であるが、要因の一つとしてカルグルミン酸の自己誘導代謝の可能性が考えられた。

イヌにおける単回経口投与と単回静脈内投与で得られたAUC比から得られた未変化体カルグルミン酸の吸収率は、32~33%であった。

(2) 分布

ラットに[^{14}C]カルグルミン酸を単回経口投与した 3 時間後の放射活性は各組織に広く分布し、標的器官である肝臓にも比較的高く分布した。96 時間後にはほとんどの組織で減少した。また、授乳期のラットを用いた試験において、乳汁への移行が認められた。

(3) 代謝

カルグルミン酸の代謝物として、5-HPA、Diaza 及び L-グルタミン酸が想定されていたが、ラット及びイヌの血漿中及び尿中には、これらの代謝物は LC-MS/MS 法あるいはラジオ-UV 検出器付き HPLC 法にて検出されなかった。また、ラット、ミニブタ、イヌ、カニクイザル及びヒトの培養肝細胞を用い、[^{14}C]カルグルミン酸の *in vitro* における代謝の有無を検討

したが、何れの肝細胞においてもカルグルミン酸はほぼ未変化体のままで、代謝物は確認されなかった。

ラット及びイヌにおいて共通して検出されたのは、呼気中のカルグルミン酸由来の CO_2 のみであった。CO_2 は最終代謝産物であり、中間代謝物を経由するものと考えられるが、現時点ではその経路は明らかにされていない。

(4) 排泄

イヌに[^{13}C]カルグルミン酸を静脈内投与、ラット及びイヌに[^{14}C]カルグルミン酸を経口投与した時の主排泄経路は尿中であった。ラット及びイヌでは、経口投与後速やかに尿、糞及び呼気中に排泄された。

(5) 薬物動態学的相互作用

ヒト肝細胞において、カルグルミン酸は200 μMまでの濃度で、CYP1A1/2、CYP2B6及びCYP3A4/5の酵素活性を誘導しなかった。

ヒト肝ミクロソームにおいて、カルグルミン酸は200 μMまでの濃度で、CYP1A2、CYP2B6、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1及びCYP3A4/5の酵素活性を阻害しなかった。

カルグルミン酸は培養肝細胞で代謝されないこと、また、CYP分子種の酵素活性を誘導又は阻害しないことから、薬物動態学的相互作用を示す可能性は低いと考えられた。

2.6.4.10 図表

各項目に記載した。

カーバグル分散錠 200 mg

医薬品製造販売承認申請書　添付資料

第 2 部：CTD の概要（サマリー）

2.6.5　薬物動態試験概要表

株式会社ポーラファルマ

目　次

2.6.5　薬物動態試験概要表.....2
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表.....2
2.6.5.2　分析法及びバリデーション試験.....3
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与.....5
2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与.....7
2.6.5.5　薬物動態試験：分布.....9
2.6.5.6　薬物動態試験：タンパク結合.....11
2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠または授乳動物における試験.....12
2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験.....12
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：*In vivo*.....13
2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In vitro*.....15
2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路.....19
2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害.....19
2.6.5.13　薬物動態試験：排泄.....20
2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中.....23
2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用.....24
2.6.5.16　薬物動態試験：その他.....29

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

被験物質：カルグルミン酸

試験の種類	動物種	投与方法	実施場所	試験番号	記載場所
分析方法及びバリデーション	(2.6.5.2 項)				
吸収：単回投与					
血漿中放射活性濃度	ラット、雌雄	経口	[redacted]	026/01 005[a)]	4.2.2.2-1
	イヌ、雌雄	経口、静脈内	[redacted]	026/06 027[a)]	4.2.2.2-2
血漿中未変化体濃度	イヌ、雌雄	経口、静脈内	[redacted]	026/06 027[a)]	4.2.2.2-2
吸収：反復投与					
血漿中未変化体濃度	ラット、雌雄	経口	[redacted]	20330TCR[a)]	4.2.3.2-2
	ウサギ、雌	経口	[redacted]	24241RSL[a)]	4.2.3.5.2-1
分布					
単回投与後の組織分布	ラット、雌雄	経口	[redacted]	026/01 005[a)]	4.2.2.2-1
血球移行性	ラット、雌雄	経口	[redacted]	026/01 005[a)]	4.2.2.2-1
全身オートラジオグラフィー	ラット、雌雄	経口	[redacted]	026/01 005[a)]	4.2.2.2-1
乳汁への移行	ラット、雌	経口	[redacted]	24242RSR[a)]	4.2.3.5.3-1
代謝					
単回投与後の血漿中、尿中、糞中、呼気中代謝物	ラット、雌雄	経口	[redacted]	026/01 005[a)]	4.2.2.2-1
	イヌ、雌雄	経口	[redacted]	026/06 027[b)]	4.2.2.2-2
In vitro 代謝試験：肝細胞	ラット、ヒト	*In vitro*	[redacted]	026/00080	4.2.2.4-1
	ラット、ミニブタ、イヌ、サル、ヒト	*In vitro*	[redacted]	026/08 143	4.2.2.4-2
排泄					
単回投与後の尿、糞、呼気中排泄	ラット、雌雄	経口	[redacted]	026/01 005[a)]	4.2.2.2-1
	イヌ、雌雄	経口、静脈内	[redacted]	026/06 027[b)]	4.2.2.2-2
薬物動態学的薬物相互作用					
酵素誘導：肝細胞	ヒト	*In vitro*	[redacted]	[redacted]-083[a)]	4.2.2.6-1
酵素阻害：肝ミクロソーム	ヒト	*In vitro*	[redacted]	[redacted]-084[a)]	4.2.2.6-2
酵素阻害：肝ミクロソーム（再試験）	ヒト	*In vitro*	[redacted]	[redacted]-284[a)]	4.2.2.6-3

[a)]：GLP 試験、[b)]：糞以外は GLP 試験

2.6.5.2 分析法及びバリデーション試験

被験物質：カルグルミン酸

測定対象：カルグルミン酸					
動物種/マトリックス		ラット/血漿	ラット/尿	ラット/乳汁	ウサギ/血漿
分析法		LC-MS/MS			
定量範囲		100~10000 ng/mL	20~1000 μg/mL	2000~100000 ng/mL [a)]	50~10000 ng/mL
日内再現性	真度(%)	88.9~93.1	91.7~101	93.0~105 108（2000 ng/mL）	118（50 ng/mL） 102~107
	精度(%)	1.73~5.12	2.14~7.90	5.7（2000 ng/mL のみ）	3.3~7.5
日間再現性	真度(%)	91.7~103	96.0~101		120（50 ng/mL） 105~110
	精度(%)	4.02~10.8	3.90~8.53		4.1~5.8
試験番号		20330TSR(TK 試験)		24242RSR(TK 試験)	24241RSL(TK 試験)
記載箇所		4.2.3.2-2		4.2.3.5.3-1	4.2.3.5.2-1

[a)]：乳汁中濃度は、血漿で 10 倍希釈したサンプルを 200~10000 ng/mL の血漿中濃度の定量範囲にて算出

測定対象：[^{13}C]カルグルミン酸				
動物種/マトリックス		イヌ/血漿	イヌ/尿	イヌ/糞
分析法		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
定量範囲		50~10000 ng/mL	20~1000 μg/mL	20~1000 μg/g
日内再現性	真度(%)	96.4~101	93.0~98.9	85.7~101
	精度(%)	1.7~4.9	1.4~3.2	2.8~3.8
日間再現性	真度(%)	95.6~101	91.0~97.5	86.2~98.8
	精度(%)	2.2~13.0	2.4~5.0	4.3~10.8
試験番号		026/06 027		
記載箇所		4.2.2.2-2		

2.6.5 薬物動態試験概要表

測定対象：[^{14}C]カルグルミン酸				
動物種/マトリックス	ラット/血漿、血液、各種組織、尿、糞、ケージ洗浄、呼気	イヌ/血漿、血液、尿、糞、ケージ洗浄、呼気	ヒト及びラット/肝細胞	ラット、イヌ、ミニブタ、カニクイザル及びヒト/肝細胞
分析法	LSC，ラジオ-UV 検出器付き HPLC	LSC	ラジオ-UV 検出器付き HPLC	
試験番号	026/01 005	026/06 027	026/00080	026/08 143
記載箇所	4.2.2.2-1	4.2.2.2-2	4.2.2.4-1	4.2.2.4-2

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与
2.6.5.3.1　ラット血漿中放射活性濃度

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.2-1]
試験番号：026/01 005

動物種	ラット（SD）					
性別／動物数	雌雄／3,8時間は各2、24~96時間は各1					
給餌	18時間絶食					
媒体／投与形態	1%CMC水溶液／懸濁					
投与方法／投与回数	経口／単回投与					
投与量（mg/kg）	500 (150 μCi/kg)					
放射性核種	^{14}C					
比放射能	60 mCi/mmoL					
試料（全血、血漿、血清、その他）	全血、血漿					
定量法	LSC					
定量（対象）物質	総放射能					
時間（hr）	放射能（μg eq./g）					
	全血		血漿		全血/血漿	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
3	45.5 (43.5, 47.8)	34.8 (32.9, 36.6)	73.4 (69.8, 77.0)	51.9 (49.4, 54.4)	0.6	0.7
8	19.0 (17.2,20.9)	16.1 (14.9,17.2)	26.9 (23.0,31.1)	20.6 (18.3,23.0)	0.7	0.8
24	7.7	10.5	7.5	9.4	1.0	1.1
48	5.5	6.1	4.4	4.7	1.2	1.3
96	3.6	3.9	1.9	2.6	1.8	1.5

n=2の場合、平均値（個別値）で表示

2.6.5.3.2 イヌ血漿中放射活性濃度及び[^{13}C]カルグルミン酸濃度

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸、[^{13}C]カルグルミン酸
試験番号：026/06 027
CTDにおける記載場所：[4.2.2.2-2]

動物種	イヌ（ビーグル）							
性別／動物数	雌雄／各3							
給餌	絶食							
媒体／/投与形態	1%CMC水溶液／懸濁又は精製水溶液							
投与方法／投与回数	経口／単回投与，静脈内／単回（15分持続点滴）投与							
投与量（mg/kg/）	[^{14}C]：500 (1.85 MBq/kg)、[^{13}C]：500							
放射性核種	^{14}C							
比放射能	60 mCi/mmoL							
試料（全血、血漿、血清、その他）	全血、血漿							
定量法	LSC又はLC-MS/MS							
定量（対象）物質	総放射能							
PKパラメータ								
被験物質	[^{13}C]カルグルミン酸				[^{14}C]カルグルミン酸			
投与方法	経口		静脈内		経口		静脈内	
雌雄	雄[1)]	雌[2)]	雄[2)]	雌[1)]	雄[1)]	雌[2)]	雄[2)]	雌[1)]
T_{max}(h)	2.0±0.0	2.5 (2, 3)	0.25 (0.25,0.25)	0.25±0.0	2.0±0.0	2.5 (2, 3)	0.25 (0.25,0.25)	0.25±0.0
C_{max}(μg/mL or μg eq./mL)	111.5±21.4	111.0 (89.2,132.8)	2168.7 (1870.6,2466.7)	2098.3±414.2	126±16.2	130.5 (108,153)	1817.5 (1753,1882)	1938±322.1
$T_{1/2(24\sim168h)}$(h)	21.0±1.95	19.2 (18.2, 20.2)	29.1 (24.4,33.8)	31.1±3.9	74.6±6.2	80.5 (76.1,84.8)	76.9 (73.7,80.1)	85.7±19.1
$AUC_{0\text{-}168}$((μg・h/mL or μg eq.・h/mL)	486.1±69.9	455.0 (399.0,510.9)	1476.8 (1191.1,1762.5)	1440.4±187.1	994±17.6	1098 (985,1211)	1871.5 (1757,1986)	1968±152.5
BA(%)	32.9	31.6	-	-	53.1	55.8	-	-

[1)]：n=3、[2)]：n=2
BA：経口投与時と静脈内投与時の$AUC_{0\text{-}168}$値（平均値）の比較から算出
各パラメータの数字：平均値±標準偏差で表示、n=2の場合は、平均値（個別値）で表示

2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.1　ラット血漿中カルグルミン酸濃度（トキシコキネティクス）

被験物質：カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.3.2-2]
試験番号：20330TCR

動物種		ラット（SD）			
性別／動物数		雌雄／投与1日：各3、投与26週：各2			
給餌		自由摂食			
媒体／投与形態		1%CMC水溶液／懸濁			
投与方法／投与期間		経口/26週間			
投与量（mg/kg/日）		500、1000			
試料（全血、血漿、血清、その他）		血漿			
定量（対象）物質		カルグルミン酸			
定量法		LC-MS/MS			
PKパラメータ					
投与量（mg/kg/日）		500		1000	
性別		雄	雌	雄	雌
投与1日	C_{max}(μg/mL)	76.7±10.0	68.7±12.5	85.9±13.7	95.5±13.5
	AUC_{0-24}((μg・h/mL)	474.6	317.0	882.2	996.9
	T_{max}(h)	2	2	4	2
	$T_{1/2}$(h)	3.18	4.20	3.52	3.68
投与26週	C_{max}(μg/mL)	71.6 (70.2,72.9)	83.0 (76.0,89.9)	78.0 (72.0,84.0)	103.8 (94.6,113.0)
	AUC_{0-24}((μg・h/mL)	534.9	562.3	708.1	804.4
	T_{max}(h)	3	2	3	2
	$T_{1/2}$(h)	2.84	2.67	3.36	3.19

各パラメータの数字：平均値（C_{max}については平均値±標準偏差）で表示、n=2の場合は、平均値（個別値）で表示

2.6.5.4.2　ウサギ血漿中カルグルミン酸濃度（トキシコキネティクス）

被験物質：カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.3.5.2 -1]
試験番号：24241RSL

動物種		ウサギ（New Zealand White）	
性別／動物数		雌／各群3	
給餌		自由摂食	
媒体／投与形態		1%CMC水溶液／懸濁	
投与方法／投与期間		経口／13日間（交尾後6日～18日）	
投与量（mg/kg/日）		250、1000	
試料（全血、血漿、血清、その他）		血漿	
定量（対象）物質		カルグルミン酸	
定量法		LC-MS/MS	
PKパラメータ			
投与量（mg/kg/日）		250[1)]	1000
投与1日（交尾後6日）	C_{max}(μg/mL)	12.6 (5.57,19.4)	42.2±20.9
	AUC_{0-24}((μg・h/mL)	175.6	654.4
	T_{max}(h)	4	8
	$T_{1/2}$(h)	5.07	8.75
投与13日（交尾後18日）	C_{max}(μg/mL)	6.2±3.8	19.9±7.6
	AUC_{0-24}((μg・h/mL)	76.2	125.8
	T_{max}(h)	2	2
	$T_{1/2}$(h)	3.40	6.00

1)：n=2（1匹は妊娠していなかったため、除外）
各パラメータの数字：平均値（C_{max}については平均値±標準偏差）で表示、n=2の場合は、平均値（個別値）で表示

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 ラットにおける組織中放射活性濃度

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.2-1]
試験番号：026/01 005

動物種	ラット（SD）
性別／動物数	雌雄／各測定時点／雌雄各1
給餌	18時間絶食
媒体／投与形態	1%CMC水溶液／懸濁
投与方法／投与回数	経口／単回投与
投与量（mg/kg/日）	500 (150 μCi/kg)
放射性核種	^{14}C
比放射能	60 mCi/mmoL
試料（全血、血漿、血清、その他）	全血、血漿
定量法	LSC
定量（対象）物質	総放射能

2.6.5.5.1 ラットにおける組織中放射活性濃度（続き）
投与3時間後

Tissues/Organs	% of administered dose/g of tissue		Tissues/Organs	% of administered dose/g of tissue	
	male	female		male	female
caecum	10.391	15.972	bone marrow (femur)	0.043	0.039
small intestine membrane	5.282	2.005	hypophysis	0.046	0.030
stomach contents	2.146	2.294	bone marrow (vertebrae)	0.045	0.029
kidney (iner cortex)	1.179	0.671	spleen	0.039	0.033
small intestine contents	1.030	0.505	white fat	0.035	0.033
kidney (cortex)	0.626	0.452	epididymis	0.033	-
liver	0.489	0.427	tongue	0.038	0.027
kidney (medulla)	0.265	0.597	thymus	0.027	0.032
mesenteric lymph nodes	0.137	0.067	cartilage (vertebrae)	0.032	0.026
cartilage (femur)	0.098	0.079	perirenal fat	0.046	0,009
salivary glands	0.079	0.059	myocardium	0,031	0,017
pancreas	0.080	0.052	uveal tract	0,025	0.021
adrenal gland	0.033	0.098	testis	0,019	-
Harderian glands	0.057	0.072	muscle (skeletal)	0,014	0,009
seminal vesicles	0.055	-	epididymal fat	0,007	-
brown fat	0.054	0.053	cerebrum	0,007	0,007
ovary	-	0.053	spinal cord	0,006	0,007
stomach mucosa	0.067	0.037	cerebellum	0,006	0,007
sublingual glands	0.055	0.042	stomach membrane	NQ	NQ
skin-hair	0.056	0.040	artery wall	BQL	BQL
blood (heart cavity)	0.055	0.038	choroid plexus	BQL	BQL
lungs	0.049	0.036	eye	BQL	BQL
thyroid	0.052	0.033	seminal membrane	BQL	-

BQL: less than 0.002% dose

2.6.5.5.1 ラットにおける組織中放射活性濃度（続き）
投与96時間後

Tissues/Organs	% of administered dose/g of tissue		Tissues/Organs	% of administered dose/g of tissue	
	male	female		male	female
caecum	BQL	BQL	bone marrow (femur)	0.006	0.007
small intestine membrane	0.006	BQL	hypophysis	0.005	0.003
stomach contents	BQL	BQL	bone marrow (vertebrae)	0.005	0.005
kidney (iner cortex)	BQL	0.048	spleen	0.006	0.007
small intestine contents	BQL	BQL	white fat	0.009	0.008
kidney (cortex)	0.014	0.021	epididymis	0.004	-
liver	0.021	0.029	tongue	BQL	0.004
kidney (medulla)	0.035	0.004	thymus	0.008	0.009
mesenteric lymph nodes	0.009	0.013	cartilage (vertebrae)	BQL	BQL
cartilage (femur)	0.008	BQL	perirenal fat	0.007	0,010
salivary glands	0.006	0.007	myocardium	0,004	0,003
pancreas	0.005	0.007	uveal tract	BQL	BQL
adrenal gland	0.008	0.010	testis	BQL	-
Harderian glands	0.009	0.011	muscle (skeletal)	0,003	BQL
seminal vesicles	0.007	-	epididymal fat	0,007	-
brown fat	0.004	0.009	cerebrum	0,002	0,003
ovary	-	0.011	spinal cord	0,003	0,003
stomach mucosa	0.006	0.007	cerebellum	0,002	0,003
sublingual glands	BQL	BQL	stomach membrane	BQL	BQL
skin-hair	0.007	0.003	artery wall	BQL	BQL
blood (heart cavity)	0.003	0.004	choroid plexus	BQL	BQL
lungs	0.003	0.003	eye	BQL	BQL
thyroid	BQL	BQL	seminal membrane	BQL	-

BQL: less than 0.002% dose

2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合
該当資料無し

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠または授乳動物における試験

2.6.5.7.1 授乳ラットにおける乳汁移行

被験物質：カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.3.5.3-1]
試験番号：24242RSR

動物種	ラット（SD）	
性別／動物数	雌／各群3	
給餌	自由摂食	
媒体／投与形態	1%CMC水溶液／懸濁	
投与方法／投与期間	経口／妊娠6日～分娩後21日	
投与量（mg/kg）	500、2000	
試料（全血、血漿、血清、その他）	血漿、乳汁	
定量（対象）物質	カルグルミン酸	
定量法	LC-MS/MS	
測定時期	分娩後17日目の投与後4時間	
投与後4時間の血漿中及び乳汁中濃度（μg/mL）		
投与量（mg/kg/日）	500	2000
血漿	69.8±28.8	179.6±50.6
乳汁	12.3±9.5	36.2±2.6
乳汁/血漿比	0.16±0.06	0.21±0.05

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当資料無し

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In vivo*

2.6.5.9.1 ラット

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.2-1]
試験番号：026/01 005

動物種		ラット（SD）	
性別／動物数		雌雄／雌雄各測定時点／雌雄各1	
給餌		18時間絶食	
媒体／投与形態		1%CMC水溶液／懸濁	
投与方法／投与回数		経口／単回投与	
投与量（mg/kg）		500 (150 μCi/kg)	
放射性核種		^{14}C	
比放射能		60 mCi/mmoL	
試料（全血、血漿、血清、その他）		血漿、尿、呼気	
定量法		ラジオ-UV検出器付きHPLC、LSC	
定量（対象）物質		放射能	
血漿中（尿中）放射能組成			
試料	測定時間（h）	[^{14}C]未変化体ピーク	[^{14}C]未変化体以外のピーク
血漿	3	100%	<LOQ
尿	0~4 4~8 8~12 12~24	100% 100% 100% 100%	<LOQ <LOQ <LOQ <LOQ
呼気中放射能の測定結果			
試料	測定時間（h）	$^{14}CO_2$（% of administered dose）	
呼気	0~11 11~24 24~48 48~72	6.92（雌：5.84、雄：8.00） 0.99（雌：0.81、雄：1.18） 0.61（雌：0.64、雄：0.59） 0.27（雌：0.24、雄：0.30）	

LOQ：480 cpm
$^{14}CO_2$の値は、n=2（雌雄各1）の平均値

2.6.5.9.2 イヌ

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸、[^{13}C]カルグルミン酸
CTDにおける記載場所：[4.2.2.2-2]
試験番号：026/06 027

動物種	イヌ（ビーグル）
性別／動物数	雌雄／各3
給餌	絶食
媒体／/投与形態	1%CMC水溶液／懸濁又は精製水溶液
投与方法／投与回数	経口／単回投与，静脈内／単回（15分持続点滴）投与
投与量（mg/kg）	[^{14}C]：500 (1.85 MBq/kg)、[^{13}C]：500
放射性核種	^{14}C
比放射能	60 mCi/mmoL
試料（全血、血漿、血清、その他）	全血、血漿
定量法	LSC又はLC-MS/MS
定量（対象）物質	総放射能

[^{13}C]カルグルミン酸投与時のLC-MS/MSの結果

測定時間（h）	試料	想定代謝物					
		経口			静脈内		
		[^{13}C]-5HPA	[^{13}C]-Diaza	[^{13}C]-LGA	[^{13}C]-5HPA	[^{13}C]-Diaza	[^{13}C]-LGA
0~168	血漿	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	尿	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	糞	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

呼気中放射能の測定結果

測定時間（h）	試料	性別	$^{14}CO_2$（% of administered dose）	
0~24	呼気	雄	1.34±0.19	0.57±0.15
		雌	0.99±0.54	0.65±0.01

$^{14}CO_2$の値は、n=3の平均値±標準偏差で表示

各想定代謝物の各試料中の検出限界（LOD）			
試料	[^{13}C]-5HPA	[^{13}C]-Diaza	[^{13}C]-LGA
血漿（ng/mL）	47.3	12.8	92.8
尿　（μg/mL）	3.97	0.79	8.35
糞　（μg/g）	2.99	0.206	7.66

2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In vitro*

2.6.5.10.1　ラット及びヒトの肝細胞を用いた*in vitro*代謝試験

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.4-1]
試験番号：026/00080

試験系	ラット及びヒトの肝細胞を用いた*in vitro*代謝試験
試験方法	ラット及びヒトの肝細胞にカルグルミン酸を添加し、生成したピーク面積（%）を算出した。
カルグルミン酸添加濃度（μM）	25、250
比放射能	60 mCi/mmoL
定量（対象）物質	[^{14}C]カルグルミン酸
定量法	ラジオ-UV検出器付きHPLC（LC coupled with Flo-One detection）
培養時間（h）	0、0.5、2、6、24

2.6.5.10.1 ラット及びヒトの肝細胞を用いた*in vitro*代謝試験（続き）

添加総放射能量に対する%					
サンプル	Conc.（μM）	培養時間	I1 (RT=2.3)	I2 (RT=6.1)	[^{14}C]カルグルミン酸 (RT＝18.7)
ヒト　ドナー1	0	0	-	-	-
		24	-	-	-
	25	0	-	4.9	95.1
		0.5	-	5.1	94.9
		2	1.1	4.7	94.2
		6	1.5	4.8	93.7
		24	1.1	4.0	95.0
	250	0	0.9	4.7	94.3
		0.5	1.0	5.0	94.0
		2	-	5.0	95.0
		6	1.0	4.2	94.8
		24	1.4	4.0	94.5
ヒト　ドナー2	0	0	-	-	-
		24	-	-	-
	25	0	-	4.6	95.4
		0.5	-	4.9	95.1
		2	0.9	4.8	94.3
		6	1.0	4.6	94.4
		24	1.2	3.7	95.1
	250	0	1.0	5.1	93.9
		0.5	-	4.8	95.2
		2	-	4.7	95.3
		6	-	5.0	95.0
		24	-	4.1	95.9

I1:[^{14}C]カルグルミン酸の不純物1
I2:[^{14}C]カルグルミン酸の不純物2
RT:保持時間
-:未定量ピーク

・想定代謝物の5-HPA及びDiazaは、LC-MS及びLC-MS/MSにて検出されなかった。

2.6.5.10.1　ラット及びヒトの肝細胞を用いた*in vitro*代謝試験（続き）

添加総放射能量に対する%						
サンプル	Conc.（μM）	培養時間	Met.X (RT=1.1)	I1 (RT=2.3)	I2 (RT=6.1)	[^{14}C]カルグルミン酸 (RT＝18.7)
ラット　ドナー1	0	0	-	-	-	-
		24	-	-	-	-
	25	0		1.0	5.0	94.0
		0.5		1.0	5.0	94.0
		2		1.1	3.5	95.4
		6	1.0	1.5	1.8	95.7
		24	1.7	1.1	-	97.2
	250	0			4.9	95.1
		0.5		1.0	4.2	94.9
		2			4.2	95.8
		6	1.1	1.6	1.8	95.4
		24	1.5	1.0	-	97.4
ラット　ドナー2	0	0	-	-	-	-
		24	-	-	-	-
	25	0	-	-	4.8	95.2
		0.5	-	-	5.3	94.7
		2	-	-	3.6	96.4
		6	-	1.5	2.3	96.2
		24	2.0	1.6	-	96.5
	250	0	-	0.8	4.9	94.3
		0.5	-	0.8	4.8	94.4
		2	-	1.0	2.8	96.2
		6	-	1.6	1.6	96.8
		24	1.5	1.3	-	97.3

I1:[^{14}C]カルグルミン酸の不純物1
I2:[^{14}C]カルグルミン酸の不純物2
RT:保持時間
-:未定量ピーク

・想定代謝物の5-HPA及びDiazaは、LC-MS及びLC-MS/MSにて検出されなかった。

2.6.5.10.2 各種動物及びヒトの肝細胞を用いた*in vitro*代謝試験

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.4-2]
試験番号：026/08 143

試験系	各種動物及びヒトの肝細胞を用いた*in vitro*代謝試験									
試験方法	ラット、イヌ、ミニブタ、カニクイザル及びヒトの肝細胞にカルグルミン酸を添加し、生成したピーク面積（%）を算出した。									
カルグルミン酸添加濃度（μM）	25、250									
比放射能	261 mCi/mmol									
定量（対象）物質	[^{14}C]カルグルミン酸									
定量法	ラジオ-UV検出器付きHPLC（LC coupled with Flo-One detection）									
培養時間（h）	0.5、2、6、24									
[^{14}C]クロマトグラムピーク面積比（%）										
動物種／性別	SDラット（雌雄）		ビーグル犬（雄）		ミニブタ（雄）		カニクイザル（雌雄）		ヒト（男女）	
測定時間（h）	0	24	0	24	0	24	0	24	0	24
添加濃度　生成ピーク										
25 μM　未変化体	95.6	96.9	97.5	97.2	96.8	95.5	96.1	96.5	97.2	95.6
M1	0	0.44	0	1.05	0	1.42	0	0.94	0	1.85
M2	4.42	2.69	2.52	1.74	3.22	3.10	3.89	2.59	2.80	2.60
250 μM　未変化体	96.2	96.6	98.2	97.3	98.7	96.0	97.5	97.1	96.7	95.5
M1	0	0.20	0	0.89	0	1.18	0	0.81	0	1.58
M2	3.81	3.19	1.78	1.79	1.33	2.84	2.51	2.11	3.26	2.91

ピーク面積比： 検出されなかった生成ピークは0とし、n=3で平均値を算出
M1、M2：[^{14}C]カルグルミン酸の不純物

・本試験のクロマトグラム条件で、想定代謝物の5-HPA（RT:10.3分）及びDiaza（RT:15.5分）は、UV検出器で検出されなかった。

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路
該当試験無し

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害
該当試験無し

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 ラット

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.2-1]
試験番号：026/01 005

動物種	ラット（SD）
性別／動物数	雌雄／0~24時間は各2～3（尿、糞）、24~48時間は各2（尿、糞）、48~96時間は各1（尿、糞）、呼気、ケージは各1
給餌	18時間絶食
媒体／投与形態	1%CMC水溶液／懸濁
投与方法／投与回数	経口／単回投与
投与量（mg/kg）	500 (150 μCi/kg)
放射性核種	^{14}C
比放射能	60 mCi/mmoL
試料（全血、血漿、血清、その他）	尿、糞、呼気、ケージ洗浄
定量法	LSC
定量（対象）物質	総放射能

排出率（投与量に対する%）

試料	尿		糞		呼気		ケージ	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0~4 h	15.189 (9.96,20.418)	12.898±5.774	15.933±10.50	29.041±4.483	8.000[1)]	5.837[1)]	-	-
4~8 h	25.194±11.52	13.705±3.987						
8~12 h	8.761±3.087	5.217±1.012						
12~24 h	5.436±0.470	5.318±1.038	11.351±9.623	13.796±2.180	1.175[2)]	0.813[2)]	3.298[3)]	2.697[3)]
24~48 h	1.818 (1.782,1.853)	1.835 (1.650, 2.020)	2.669 (0.680,4.657)	1.453 (0.242, 2.663)	0.585	0.640	0.621[4)]	0.604[4)]
48~72 h	0.391	0.570	0.031	0.087	0.303	0.235	-	-
72~96 h	0.355	0.398	0.029	0.012	-	-	1.634[5)]	0.604[5)]
累積排出率(%)	57.144	39.941	30.013	44.389	10.063	7.525	5.553	3.905

[1)]:0~11時間、[2)]：11~24時間、[3)]：0~24時間、[4)]：0~48時間、[5)]：0~96時間
各パラメータの数字：平均値±標準偏差で表示、n=2の場合は、平均値（個別値）で表示

2.6.5.13.2 イヌ

被験物質：[^{14}C]カルグルミン酸
試験番号：026/06 027
CTDにおける記載場所：[4.2.2.2-2]

動物種	イヌ（ビーグル）
性別／動物数	雌雄／各3
給餌	絶食
媒体／/投与形態	1%CMC水溶液／懸濁又は精製水溶液
投与方法／投与回数	経口／単回投与，静脈内／単回（15分持続点滴）投与
投与量（mg/kg）	[^{14}C]：500 (1.85 MBq/kg)
放射性核種	^{14}C
比放射能	60 mCi/mmoL
試料（全血、血漿、血清、その他）	全血、血漿
定量法	LSC
定量（対象）物質	総放射能

2.6.5.13.2 イヌ（続き）

経口投与								
排出率（投与量に対する%）								
試料	尿		糞		呼気[1)]		ケージ	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0~12 h	39.01±16.57	20.77 (18.34,23.19)	11.37±19.69	24.43 (17.08,31.78)	1.34±0.19	0.99±0.54	15.79±14.01*	5.55 (1.98*,9.12*)
12~24 h	4.83±0.69	13.96 (6.11,21.81)	6.24±4.47	10.35 (9.21,11.48)			4.63±5.23**	2.97 (2.90**,3.04**)
24~48 h	3.91±0.57	4.70 (4.03, 5.36)	0.15±0.07	0.34 (0.29, 0.38)	-	-	0.46±0.29	0.56 (0.22,0.90)
48~72 h	1.22±0.08	1.23 (1.10, 1.36)	0.07±0.04	0.05 (0.04, 0.06)	-	-	0.21±0.15	0.14 (0.12,0.15)
72~96 h	0.52±0.11	0.50 (0.42, 0.58)	0.02±0.02	0.02 (0.01,0.03)	-	-	0.11±0.02	0.05 (0.04,0.05)
96~120 h	0.23±0.04	0.26 (0.23, 0.28)	0.02±0.02	BQL	-	-	0.03±0.01	0.02 (0.02,0.02)
120~144 h	0.13±0.02	0.13 (0.11, 0.14)	BQL	BQL	-	-	0.05±0.03	0.02 (0.01,0.02)
144~168 h	0.07±0.02	0.07 (0.06, 0.07)	BQL	BQL	-	-	0.02±0.01	0.02 (0.01,0.03)
累積排出率(%)	49.92	41.62	17.87	35.19	1.34	0.99	21.30	9.33

( )：2 例の平均、BQL：定量下限未満、*：0~8 時間、**：8~24 時間、1)：$^{14}CO_2$ の値
各パラメータの数字：平均値±標準偏差で表示、n=2 の場合は、平均値（個別値）で表示

2.6.5.13.2 イヌ（続き）

静脈内投与								
排出率（投与量に対する%）								
試料	尿		糞		呼気[1]		ケージ	
0~2 h	52.39±6.97	28.64±25.88	n.c	n.c	0.57±0.15	0.65±0.01	n.c	n.c
2~4 h	8.02±7.47	15.74±15.47	0.14±0.25[2]	0.00±0.01[2]			n.c	n.c
4~6 h	12.60±16.63	25.57±31.79	n.c	n.c			n.c	n.c
6~8 h	0.65±1.03	0.51±0.75	0.01±0.01[3]	0.04±0.04[3]			5.49±1.55[4]	8.37±4.48[4]
8~12 h	1.42±1.08	1.12±1.30	n.c	n.c	-	-	n.c	n.c
12~24 h	3.02±0.36	3.62±0.64	0.15±0.11	0.18±0.03	-	-	1.05±0.73[5]	0.66±0.44[5]
24~48 h	2.62±0.32	2.42±0.24	0.10±0.04	0.12±0.07	-	-	0.35±0.10	0.21±0.08
48~72 h	1.04±0.14	0.83±0.14	0.04±0.03	0.02±0.01	-	-	0.19±0.09	0.09±0.03
72~96 h	0.48±0.06	0.37±0.03	0.01±0.01	0.01±0.01	-	-	0.10±0.02	0.04±0.01
96~120 h	0.23±0.03	0.20±0.01	0.00±0.01	0.01±0.01	-	-	0.06±0.04	0.03±0.01
120~144 h	0.15±0.02	0.10±0.02	0.00±0.00	0.00±0.00	-	-	0.04±0.01	0.02±0.01
144~168 h	0.08±0.01	0.05±0.01	0.00±0.00	0.00±0.01	-	-	0.06±0.02	0.04±0.03
累積排出率(%)	82.70	79.17	0.45	0.38	0.57	0.65	7.34	9.46

1)：$^{14}CO_2$ の値、2)：0~4 時間、3)：4~8 時間、4)：0~8 時間、5)：8~24 時間、n.c：no collection
各パラメータの数字：平均値±標準偏差で表示、n=2 の場合は、平均値（個別値）で表示

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

該当試験無し

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1　ヒト肝細胞における酵素誘導試験（*In vitro*）

被験物質：カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.6-1]
試験番号：[redacted]-083

試験の種類	*In vitro*　酵素誘導試験		
試験系	ヒト肝細胞（collagen coated 48-well plates）		
被験物質濃度（μM）	0、1、10、25、100、200		
培養時間	72 時間		
陽性対照	オメプラゾール	フェノバルビタール	リファンピシン
溶媒対照	0.1% DMSO		
CYP 活性の溶媒対照に対する比			
CYP 分子種	CYP1A1/2	CYP2B6	CYP3A4/5
基質（代謝物）	フェナセチン (4-acetamidophenol)	ブプロピオン (hydroxybupuropion)	テストステロン (6 β -hydroxytestosterone)
溶媒対照（0.1%DMSO）	1.00	1.00	1.00
カルグルミン酸　0 μM	1.00	1.00	1.00
カルグルミン酸　1 μM	1.02±0.14	1.01±0.02	0.90±0.11
カルグルミン酸　10 μM	<1.05±0.13	<1.02±0.04	0.89±0.05
カルグルミン酸　25 μM	<1.02±0.07	<1.02±0.03	0.90±0.12
カルグルミン酸　100 μM	<1.01±0.17	1.01±0.01	0.90±0.01
カルグルミン酸　200 μM	<1.12±0.13	0.99±0.04	0.95±0.02
リファンピシン　10 μM	-	-	2.46±0.28
フェノバルビタール　500 μM	-	7.37±2.88	-
オメプラゾール　70 μM	54.6±18.5	-	-

2.6.5.15.2 ヒト肝ミクロソームにおける酵素阻害試験（*In vitro*）

被験物質：カルグルミン酸
CTDにおける記載箇所：[4.2.2.6-2、4.2.2.6-3]
試験番号：[redacted]-084、[redacted]-284

試験の種類	*In vitro* 酵素阻害試験		
試験系	ヒト肝ミクロソーム		
被験物質濃度（μM）	0、1、3、10、30、100、200		
試験方法 1	同時培養法：ヒト肝ミクロソームに被験物質又は特異的阻害剤及び基質を加え、32℃で 15 分間培養する。		
試験方法 2	事前培養法：ヒト肝ミクロソームに被験物質又は特異的阻害剤を加え、32℃で 30 分間培養する。その後、基質を加え 32℃で 15 分間培養する。		
分子種	基質	代謝物	特異的阻害剤
CPY1A2	フェナセチン	4-acetamidophenol	Furafylline[2)]
CYP2A6	クマリン	7-hydrozycoumarin	Pilocarpine[1)]
CYP2B6	ブプロピオン	hydroxybupuropion	Selective CYP2B6 monoclonal antibody[1)]
CYP2C8	パクリタキシル	6-α-hydroxypaclitaxel	Quercetine[1)]
CYP2C9	トルブタミド	4-hydroxytolbutamide	Sulfaphenazole[1)]
CYP2C19	S-メフェニトイン	4-hydroxymephenytoin	Ticlopidine[1)]
CYP2D6	デキストロメトルファン	dextrophan	Quinidine[1)]
CYP2E1	クロルゾキサゾン	hydroxychlozoxazone	Chlomethiazole[2)]
CYP3A4/5	ミダゾラム	1'-hydroxymidazolam	Ketoconazole[1)]
	テストステロン	6-β-hydroxytestosterone	Ketoconazole[1)]

[1)]：試験方法 1)
[2)]：試験方法 2)

2.6.5.15.2 ヒト肝ミクロソームにおける酵素阻害試験（*In vitro*）（続き）

% of control activity									
分子種	試験方法	基質濃度（μM）	被験物質濃度（μM）						特異的阻害剤濃度（μM）
CYP1A2	1	フェナセチン	カルグルミン酸						Furafylline
			0	1	3	10	30	100	200	10
		20	100	107	105	109	106	100	101	-
		50	100	103	104	100	103	99.3	104	-
		100	100	116	108	110	103	104	107	-
		250	100	104	104	104	109	103	102	-
	2	20	100	104	104	106	105	106	104	<20.6
CYP2A6	1	クマリン	カルグルミン酸						Pilocarpine
			0	1	3	10	30	100	200	4
		5	100	101	101	98.4	98.1	100	106	23.8
		10	100	98.6	99.2	96.6	99.9	105	106	-
		20	100	105	107	103	100	104	106	-
		50	100	103	100	104	101	106	105	-
	2	5	100	98.5	98.7	99.3	100	98.0	99.2	-
CYP2B6	1	ブプロピオン	カルグルミン酸						Monoclonal antibody
			0	1	3	10	30	100	200	10.4 μg/mL
		50	100	96.5	89.9	91.6	97.2	93.0	101	21.9
		90	100	97.4	96.0	94.3	94.3	97.4	97.8	-
		180	100	84.7	88.8	89.4	91.9	87.2	94.4	-
		500	100	85.2	95.1	96.6	95.3	93.5	95.6	-
	2	50	100	112	110	117	123	102	120	-
CYP3A4/5	1	ミダゾラム	カルグルミン酸						Ketoconazole
			0	1	3	10	30	100	200	1
		5	100	80.1	80.6	91.0	88.8	87.8	88.4	7.98
		13	100	88.9	93.8	97.6	101	99.4	90.5	-
		26	100	103	115	103	108	111	98.7	-
		100	100	101	111	103	101	97.7	97.4	-
	2	5	100	90.6	96.9	94.5	92.1	92.5	92.3	-

% of control activity = 平均代謝物濃度（μM）/コントロールの平均代謝物濃度（μM）×100
（各試験における代謝物濃度は、2回の測定値の平均値を用いた。）

2.6.5.15.2 ヒト肝ミクロソームにおける酵素阻害試験（*In vitro*）（続き）

% of control activity									
分子種	試験方法	基質濃度（μM）	被験物質濃度（μM）						特異的阻害剤濃度（μM）
CYP3A4/5	1	テストステロン	カルグルミン酸						Ketoconazole
			0	1	3	10	30	100	200	1
		50	100	94.0	97.5	95.6	95.9	100	96.2	-
		70	100	99.5	95.5	97.9	94.1	101	96.5	<6.60
		140	100	121	123	125	119	117	124	-
		300	100	116	126	129	123	128	121	-
	2	70	100	89.0	94.8	95.5	97.1	92.6	93.5	-
CYP2C8	1	パクリタキシル	カルグルミン酸							Qercetine
			0	1	3	10	30	100	200	10
		10	100	140	141	151	143	120	115	-
		20	100	140	136	139	132	134	136	23.7
		40	100	113	110	117	111	113	114	-
		80	100	104	105	112	111	104	104	-
	2	20	100	102	80.3	85.6	83.2	69.6	<65.3	-
CYP2C8 再試験	1	パクリタキシル	カルグルミン酸							Qercetine
			0	1	3	10	30	100	200	50
		10	100	107	105	127	117	110	108	28.9
		20	100	107	107	112	106	105	107	-
		40	100	104	109	103	109	103	104	-
		80	100	107	108	112	112	108	106	-
	2	20	100	105	107	101	112	98.1	104	-
CYP2C9	1	トルブタミド	カルグルミン酸							Sulfaphenazole
			0	1	3	10	30	100	200	50
		50	100	93.1	95.9	93.9	95.8	96.4	92.4	-
		125	100	99.6	91.9	94.7	95.4	101	93.7	<18.9
		210	100	98.4	96.1	93.0	102	102	93.0	-
		500	100	96.9	96.0	97.5	92.4	91.8	91.3	-
	2	125	100	98.4	96.4	103	96.8	97.6	101	-

% of control activity = 平均代謝物濃度（μM）/コントロールの平均代謝物濃度（μM）×100
（各試験における代謝物濃度は、2回の測定値の平均値を用いた。）

2.6.5.15.2 ヒト肝ミクロソームにおける酵素阻害試験（*In vitro*）（続き）

% of control activity									
分子種	試験方法	基質濃度（μM）	被験物質濃度（μM）						特異的阻害剤濃度（μM）
CYP2C19	1	S-メフェニトイン	カルグルミン酸						Ticlopidine
			0	1	3	10	30	100	200	20
		15	100	97.7	94.9	101	98.5	96.7	91.0	-
		30	100	109	108	106	106	106	105	<7.89
		100	100	103	106	101	103	96.8	101	-
		250	100	107	103	107	99.9	105	104	-
	2	15	100	99.1	99.7	102	99.7	94.9	97.0	-
CYP2D6	1	デキストロメトルファン	カルグルミン酸						Quinidine
			0	1	3	10	30	100	200	5
		10	100	102	107	84.0	109	111	95.4	-
		20	100	92.0	98.7	97.5	97.9	96.2	89.9	<12.5
		40	100	97.6	94.4	97.2	96.9	99.3	99.3	-
		200	100	99.5	102	104	107	107	105	-
	2	20	100	106	109	104	108	111	112	-
CYP2D6 追試験	1	デキストロメトルファン	カルグルミン酸						Quinidine
			0	1	3	10	30	100	200	5
		10	100	97.9	99.3	102	104	100	98.1	-
		20	100	92.5	94.8	104	98.5	101	99.3	14.2
		40	100	113	111	104	110	105	107	-
		200	100	106	105	105	109	104	105	-
	2	20	100	103	102	106	103	96.6	97.0	-
CYP2E1	1	クロルゾキサゾン	カルグルミン酸						Chlormethiazole
			0	1	3	10	30	100	200	100
		20	100	98.5	94.5	101	104	104	97.8	-
		75	100	88.6	93.0	92.1	95.0	97.4	90.7	-
		150	100	95.9	92.2	83.0	104	88.5	102	-
		300	100	96.3	102	91.5	88.7	85.6	99.0	-
	2	20	100	99.4	100	105	102	99.0	98.0	36.7

% of control activity = 平均代謝物濃度（μM）/コントロールの平均代謝物濃度（μM）×100
（各試験における代謝物濃度は、2回の測定値の平均値を用いた。）

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

該当試験無し