テクフィデラカプセル 120mg
テクフィデラカプセル 240mg

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

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁
2.6.4.1 まとめ 7
2.6.4.2 分析法 8
2.6.4.2.1 マウス血漿分析法 9
2.6.4.2.2 ラット血漿分析法 9
2.6.4.2.3 イヌ血漿分析法 10
2.6.4.2.4 カニクイザル血漿分析法 11
2.6.4.2.5 ウサギ血漿分析法 12
2.6.4.3 吸収 12
2.6.4.3.1 単回投与薬物動態 12
2.6.4.3.1.1 ラット（試験番号 9217/95） 12
2.6.4.3.1.2 ラット（試験番号 6072a/90） 13
2.6.4.3.1.3 ラット（試験番号 5615-554/5） 15
2.6.4.3.1.4 イヌ（試験番号 6072b/90） 16
2.6.4.3.1.5 イヌ（試験番号 P00012-04-09） 17
2.6.4.3.1.6 イヌ（試験番号 P00012-04-15） 18
2.6.4.3.1.7 イヌ（試験番号 P00012-05-06） 19
2.6.4.3.2 反復投与薬物動態 21
2.6.4.4 分布 21
2.6.4.4.1 蛋白結合（試験番号 P00012-10-05） 21
2.6.4.4.2 血球への移行 22
2.6.4.4.3 臓器及び組織への分布 22
2.6.4.4.3.1 ラット（試験番号 P00012-07-03） 22
2.6.4.4.4 胎盤・胎児への移行 23
2.6.4.4.4.1 ラット（試験番号 P00012-06-02） 23
2.6.4.4.4.2 ウサギ（試験番号 P00012-06-01） 23
2.6.4.5 代謝 23
2.6.4.5.1 In vitro 試験 23
2.6.4.5.1.1 肝ミクロソーム及び肝細胞における代謝プロファイリング（試験番号 P00012-12-04） 23
2.6.4.5.1.2 DMF、MMF 及びフマル酸に対するフマル酸ヒドラターゼ（フマラーゼ）の基質特異性（試験番号 P00012-12-07） 24
2.6.4.5.1.3 酵素誘導及び阻害 25
2.6.4.5.1.4 P 糖タンパク質（P-gp）の阻害及び誘導 26
2.6.4.5.2 In vivo 試験（試験番号 P00012-07-03） 26
2.6.4.5.2.1 ラットにおける排泄物中の代謝物 26
2.6.4.5.2.2 ラットにおける血液中の代謝物 26

2.6.4.6 排泄 28
2.6.4.6.1 単回投与における排泄（試験番号 P00012-07-03） 28
2.6.4.6.2 反復投与における排泄 29
2.6.4.6.3 乳汁排泄 29
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 29
2.6.4.7.1 In vitro 薬物相互作用 29
2.6.4.7.2 In vivo 薬物相互作用 29
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 29
2.6.4.9 考察及び結論 30
2.6.4.10 図表 32
2.6.4.11 参考文献 33

表目次

頁

表 1 MMF、メトトレキサート、メタノール及びギ酸の血漿／血清中濃度分析法 9
表 2 ラットを用いた MMF 及び MMF-Ca 塩の 100 mg/kg の単回経口投与における薬物動態パラメーター 13
表 3 雌雄ラットに ^{14}C-DMF を 10.3 mg/kg の名目用量で経口又は静脈内投与したときの血漿中放射能の薬物動態パラメーター 15
表 4 ラットに ^{14}C-DMF を 10.3 mg/kg の名目用量で単回経口又は静脈内投与したときの呼気、尿及び糞中における放射能の総回収率 16
表 5 ビーグル犬の腸管部位へ DMF（5 mg/kg）を単回投与したときの薬物動態パラメーター. 18
表 6 雄イヌに DMF カプセル製剤を投与したときの MMF の血漿中薬物動態パラメーター 19
表 7 雄イヌに DMF を 75 mg/kg の用量でカプセル投与したときの MMF の薬物動態パラメーター 20
表 8 ラット、イヌ、サル及びヒトにおける血漿蛋白に対する MMF の非結合率（%） 22
表 9 血中及び血漿中の薬物動態パラメーター 23
表 10 DMF を肝細胞と 60 分インキュベートしたときに同定された代謝物の比率（%）[1)] 24
表 11 ラットに ^{14}C-DMF を単回経口投与したときの代謝物量のまとめ 27
表 12 ラットに ^{14}C-DMF を単回経口投与した後の呼気、尿及び糞中における放射能の総回収率 29

図目次

頁

図 1 ラットに MMF を 100 mg/kg の用量で単回投与したときの MMF の血漿中濃度推移 13
図 2 ラットに Fumaderm（30 mg/kg）又は DMF（16.7 mg/kg）を単回投与したときの MMF の血漿中濃度推移 14
図 3 ビーグル犬に Fumaderm（30 mg/kg）又は DMF（16.7 mg/kg）を単回投与したときの

MMF の血漿中濃度推移 17
図 4 ビーグル犬の腸管部位へ DMF（5 mg/kg）を単回投与したときの MMF の血漿濃度推移 18
図 5 ビーグル犬に DMF カプセル製剤を投与したときの MMF の血漿中濃度推移 19
図 6 雄イヌに DMF 及びプロトタイプ製剤を 75 mg/kg の用量で経口投与したときの MMF の血漿中濃度推移 21
図 7 DMF、MMF 又はフマル酸とフマラーゼのインキュベート後における代謝物の HPLC ラジオクロマトグラム 25
図 8 ラットにおける DMF の推定代謝経路 28
図 9 DMF 及び MMF の TCA 回路への組込み並びに CO_2 産生 31

略語・略号一覧

略号	略していない表現	
	英語	日本語
ADME	absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AUC	area under the concentration-time curve	血清中濃度時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the concentration-time curve from time zero to time t	0 時間から t 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}/AUC_{0-inf}$	area under the concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間まで外挿した濃度-時間曲線下面積
BID	twice daily dose	1 日 2 回
CL	systemic clearance	全身クリアランス
CL/F	clearance corrected for bioavailavility	バイオアベイラビリティで補正したみかけのクリアランス、経口クリアランス
C_{max}	maximum drug concentration	最高血中濃度
CRL	Charles River Labs	-
CTD	common technical document	コモン・テクニカル・ドキュメント
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DMF	dimethyl fumarate; BG00012	フマル酸ジメチル ; BG00012
EC	ethylcellulose	エチルセルロース
ECD	electro conductivity detector	電気伝導度検出器
ECL	enteric coating level	腸溶性コーティングレベル
eq	equivalent	フマル酸ジメチル分子量当量
ERCL	extended release coating level	徐放性コーティングレベル
FID	flame ionization detector	水素炎イオン化検出器
GC	gas chromatograpphy	ガスクロマトグラフィー
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
GSH	glutathione	グルタチオン
HPC	hydroxypropylcellulose	ヒドロキシプロピルセルロース
HPLC	high pressure liquid chromatography	高圧液体クロマトグラフィー
IC	ion chromatography	イオンクロマトグラフィー
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
K_2EDTA	di-potassium ethylenediaminetetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸二カリウム
LC	liquid chromatograph	液体クロマトグラフィー
LC/MS/MS	liquid chromatography-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 quantitation	定量限界
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
LLE	liquid-liquid extraction	液-液抽出
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数
MEF	monoethyl fumarate	フマル酸モノエチル
MHF	methyl hydrogen fumarate	フマル酸メチル水素
MMF	monomethyl fumarate	フマル酸モノメチル
MRM	multiple-reaction-monitoring	多重反応モニタリング

略号	略していない表現	
	英語	日本語
MS	mass spectrometry	質量分析
MS	multiple sclerosis	多発性硬化症
NA (N/A)	not applicable	該当なし
ND	not detectable	不検出
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PPE	protein precipitation extraction	タンパク質沈殿による抽出
SD	Sprague Dawley	Sprague Dawley（ラット）
SPE	solid phase extraction	固相抽出
$t_{1/2}$	terminal elimination half life	消失半減期
TCA	tricarboxylic acid	トリカルボン酸
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	time to peak plasma concentration	最高血中濃度到達時間
UV spectrometry	ultraviolet spectrometry	紫外分光分析
v/v	Volume to volume	-

2.6.4.1 まとめ

フマル酸ジメチル（DMF）及びその一次活性代謝物であるフマル酸モノメチル（MMF）の薬物動態試験は、DMF 及び MMF に特異的かつバリデートされた UV 検出又は質量分析（MS）検出と組み合わせた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法を用いて実施した。薬物動態試験では、毒性試験に対応する動物種・系統〔Sprague-Dawley（SD）ラット及びビーグル犬〕を用いた。DMF 及び MMF の曝露量は、DMF を雄ビーグル犬の十二指腸、空腸及び結腸内に直接単回局所投与して求めた。代謝及び排泄試験は雌雄ラットで実施し、定量測定には ^{14}C-DMF〔(2, 3-^{14}C)フマル酸ジメチル〕用い、代謝物の同定には液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いた。吸収及び組織分布試験は、雌雄ラットに ^{14}C-DMF を単回経口投与又は静脈内投与して実施した。イヌで吸収部位を検討した試験以外の全 in vivo 試験では DMF を経口投与した。DMF は経口投与後、全身循環前に、速やかに MMF に加水分解されるため、薬物動態（PK）解析は MMF に対してのみ実施した。DMF の吸収は速く、速やかに MMF に代謝され、t_{max} は経口投与後 1 時間以内であった。MMF のクリアランスも速く、ラット及びイヌでは MMF の終末半減期は 1 時間未満であった。薬物動態の性差はラットにのみ認められ、雌の曝露量は雄に対して最大で 2 倍高かった。MMF の血漿蛋白結合率はラット、イヌ、サル及びヒトで低く（非結合率：55～100%）、濃度依存性はみられなかった。

毒性試験では、MMF の全身曝露量（AUC 及び C_{max}）は全動物種で用量とともに増加し、増加は全般的に用量比例的であった。DMF の反復投与トキシコキネティクス（TK）は、1 日 1 回及び 1 日 2 回（BID）（イヌのみ）投与で評価された。その結果、全動物種の全用量で蓄積はないか又は低かった（2 倍未満）。DMF はラット及びウサギで、胎盤を通過して胎児血に移行することが示され、血中濃度の胎児/母動物比はそれぞれ 0.48～0.64 及び 0.1 であった。

DMF は非臨床試験で使用した動物種及びヒト肝ミクロソームでは 10 分以内に MMF に速やかかつ完全に代謝された。肝細胞浮遊培養系では、^{14}C-DMF は複数の経路で代謝され、ミクロソーム反応液では主として ^{14}C-MMF が速やかに生成された。^{14}C-DMF 及び ^{14}C-MMF はグルタチオン抱合体並びにその他の微量代謝物にも変換された。フマラーゼを用いた DMF、MMF 及びフマル酸の in vitro 試験では、非臨床試験動物種及びヒトで、DMF 及び MMF ではなく（フマラーゼの基質である）フマル酸のみが TCA 回路に入り、CO_2 及び H_2O に代謝されることが示された。

^{14}C-DMF はラットに経口投与すると速やかに吸収され、広範囲に分布した、消化管以外では、排泄器官、腺組織及び脳に最も高い曝露が認められた。投与放射能の総回収率は、雌雄ラットとも 89%超であった。投与放射能の大部分（約 63%）は、DMF がトリカルボン酸（TCA）回路を経て最終代謝物 CO_2 として呼気中に回収された。コハク酸モノ又はジメチルのシステイン又は N-アセチルシステイン抱合体は、ラットでは主な尿中代謝物として認められた。^{14}C-DMF 経口投与後の総放射能の絶対的バイオアベイラビリティは静脈内投与の 122.2%（雄）及び 122.5%（雌）であった。

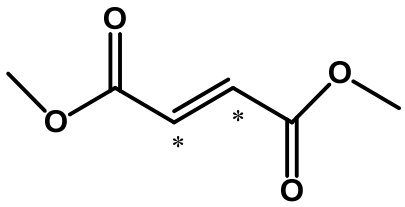
$AUC_{0\text{-}72h}$ 値に基づくと、血中放射能の大部分は代謝物由来であった。グルコースは主な血中代謝

物であり、ラット血漿中の抽出画分放射能の 50%を占めた。他の主な代謝物、フマル酸及びクエン酸は合計すると血中放射能の 33%を占めた。MMF はラット血漿中の総放射能の 0.2%未満であった。

2.6.4.2 分析法

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルにおける薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験では、DMF 及び MMF の血漿中濃度の測定に液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（LC/MS/MS）を用いた（[M2.6.6]）。一部のラット血漿中 DMF 及び MMF 濃度の測定には紫外検出式高速液体クロマトグラフィー（HPLC/UV）を用いた。サル血中／血清中のメタノール及びギ酸濃度の測定には水素炎イオン化検出（FID）式ガスクロマトグラフィー（GC）及び電気伝導度検出（ECD）式イオンクロマトグラフィー（IC）を用いた（表 1）。MMF 血漿濃度定量の内部標準としてフマル酸メチルエチル（MEF）又は $^{13}C_4$-MMF を用いた。非臨床試験動物種の血漿中の MMF、メトトレキサート、メタノール及びギ酸の薬物動態及びトキシコキネティクス測定には適切にバリデートされた生物学的分析法を用いた。

ラット in vivo 代謝試験では、放射能測定法を用いて、生体試料中の ^{14}C-DMF 由来放射能を測定した。



*は ^{14}C 標識位置を示す。

PK 解析は、extravascular input モデルを用いたノンコンパートメント解析によって実施された。

表 1 MMF、メトトレキサート、メタノール及びギ酸の血漿／血清中濃度分析法

試験番号	動物種	分析物質	内部標準物質	分析法	測定範囲 (µg/mL)
EBA00007LO	マウス	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
EBA00035LX	マウス	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
9217/95	ラット	MMF	MEF	HPLC-UV	0.05～400
EBAL-AD03	ラット	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
EBA00030LX	ラット	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
07588VSMB	ラット	メトトレキサート	d_3-メトトレキサート	LC/MS/MS	0.001～1
EBA00070LX	イヌ	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
EBA00013LA	イヌ	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
EBA0203LX	サル	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
6343.032310	サル	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5
6641.07071	サル	MMF	$^{13}C_4$-MMF	LC/MS/MS	0.05～5
07464VSMB	サル	メトトレキサート	d_3-メトトレキサート	LC/MS/MS	0.0005～1
NMS# 2836/EN-ALC04	サル	メタノール	プロパノール	GC	5.0～200
NMS#2134/HP-IFA02	サル	ギ酸		ECD	1.0～100
EBA00204LX	ウサギ	MMF	MEF	LC/MS/MS	0.05～5

2.6.4.2.1 マウス血漿分析法

記載箇所：参考[M4.2.2.1-1] EBA00007LO、参考[M4.2.2.1-2] EBA00035LX

マウスの生体試料分析法〔MHFU02、バリデーション報告書 EBA00007LO、Charles River Labs（CRL)〕は、内部標準物質としてフマル酸モノエチル（MEF）を用いたフッ化ナトリウム／ヘパリンリチウム処理血漿中 MMF 濃度分析法として開発､バリデートされた｡バリデートされた MMF の濃度範囲は 0.050 mL の試料量で 0.05～5 µg/mL であった。分析法の定量下限（LLOQ）は 0.05 µg/mL であった。血漿試料は、タンパク質沈殿抽出法（PPE）を用いて調製し、エレクトロスプレー陰イオン化及び多重反応モニタリング（MRM）モードの LC/MS/MS で解析した。HPLC カラムは Betasil Silica Javelin（20 × 4.0 mm、5 µm）を用いた。MMF 及び内部標準物質の MRM トランジションはそれぞれ 129→ 85 及び 143→ 99 であった。

試料量が少量のマウス DMF 試験用に、試料調製手順に軽微な修正を行い、少量の 25 µL の血漿試料量で MMF 濃度を測定する分析法（MHFU06、バリデーション報告書 EBA00035LX、CRL）を開発、バリデートした。その他の測定パラメーターはすべて、上述したものと同じである。

2.6.4.2.2 ラット血漿分析法

記載箇所：参考[M4.2.2.2-1] 9217/95、参考[M4.2.2.1-3] EBAL-AD03、
参考[M4.2.2.1-4] EBA00030LX、参考[M4.2.2.1-5] 07588VSMB

HPLC-UV 生体試料分析法は、ラット血漿中 MMF 濃度分析法として開発、バリデートされた。検量線（被験試料濃度に応じた 0.05～1、1～10 及び 20～400 µg/mL）は 0.500 mL の試料量で作成した。検量線に基づく本分析法の LLOQ は 0.05 µg/mL であった。内部標準物質として MEF を用い

た。血漿試料は、PPE 及び液-液抽出法（LLE）を用いて調製し、220 nm の波長で HPLC-UV によって解析した。HPLC カラムは Organic Acid Resin（強陽イオン交換体、250 × 4 mm、5 µm）を用いた。尿、糞及び他の組織の分析法も、同様の HPLC-UV 法を用いて開発した。尿試料は LLE を用いて調製し、糞及び組織試料は PPE 後に LLE を用いて調製した。尿、糞及び組織試料分析における検量線に基づく分析法の LLOQ はそれぞれ 10.01 µg/mL、5.00 µg/g 及び 1.00 µg/g であった（試験番号 9217/95）。

生体試料分析法（MHFU01、バリデーション報告書 EBAL-AD03-04-300、CRL）は、内部標準物質として MEF を用いたフッ化ナトリウム／ヘパリンリチウム処理ラット血漿中 MMF 濃度分析法として開発、バリデートされた。バリデートされた MMF の濃度範囲は 0.050 mL の試料量で 0.05～5 µg/mL であった。分析法の LLOQ は 0.05 µg/mL であった。血漿試料は、PPE を用いて調製し、エレクトロスプレー陰イオン化及び MRM モードの LC/MS/MS で解析した。HPLC カラムは Betasil Silica Javelin（20 × 4.0 mm、5 µm）を用いた。MMF 及び内部標準物質の MRM トランジションはそれぞれ 129 → 85 及び 143 → 99 であった。アップデートされた LC/MS/MS による MMF 生体試料分析法（MHFU04、バリデーション報告書 EBA00030LX、CRL）は、自動試料調製手順を用いて再バリデートされた。その他のパラメーターはすべて、上述したものと同じである。

DMF 及びメトトレキサート併用毒性試験用に、生体試料分析法（07588VSMB_BCM.DOC、Advion）は、内部標準物質として d_3-メトトレキサートを用いた K_2EDTA 処理ラット血漿中メトトレキサート分析法として開発、バリデートされた。バリデートされたメトトレキサートの濃度範囲は 25 µL の試料量で 0.001～1 µg/mL であった。分析法の LLOQ は 0.001 µg/mL であった。血漿試料は、固相抽出法（SPE）を用いて調製し、エレクトロスプレー陰イオン化及び MRM モードの LC/MS/MS によって解析した。HPLC カラムは Luna C18 (2)（30 × 2.0 mm、3 µm）を用いた。メトトレキサート及び内部標準物質の MRM トランジションはそれぞれ 455 → 175 及び 458 → 311 であった。

2.6.4.2.3 イヌ血漿分析法

記載箇所：参考[M4.2.2.1-6] EBA00070LX、参考[M4.2.2.1-7] EBA00013LA

生体試料分析法（MHFU05、バリデーション報告書 EBA00070LX、CRL）は、内部標準として MEF を用いたフッ化ナトリウム／ヘパリンリチウム処理イヌ血漿中 MMF 濃度分析法として開発、バリデートされた。バリデートされた MMF の濃度範囲は 0.050 mL の試料量で 0.05～5 µg/mL であった。分析法の LLOQ は 0.05 µg/mL であった。血漿試料は、PPE を用いて調製し、エレクトロスプレー陰イオン化及び MRM モードの LC/MS/MS によって解析した。HPLC カラムは Betasil Silica Javelin（20 × 4.0 mm、5 µm）を用いた。MMF 及び内部標準物質の MRM トランジションはそれぞれ 129 → 85 及び 143 → 99 であった。

フッ化ナトリウム／ヘパリンナトリウム処理及びフッ化ナトリウム／ヘパリンリチウム処理イヌ血漿中 MMF 濃度分析法（MHFU03、バリデーション報告書 EBA00013LA、CRL）もバリデートされた。本測定法のパラメーターはすべて、上述したものと同じである。

2.6.4.2.4 カニクイザル血漿分析法

記載箇所：参考[M4.2.2.1-8] EBA0203LX、参考[M4.2.2.1-9] 6343.032210、
参考[M4.2.2.1-10] 6441.070710、参考[M4.2.2.1-11] 07464VSMB、
参考[M4.2.2.1-12] NMS #2836/EN-ALC04、参考[M4.2.2.1-13] NMS #2134/HP-IFA02

生体試料分析法（MHFU08、バリデーション報告書 EBA0203LX、CRL）は、内部標準物質として MEF を用いたフッ化ナトリウム／ヘパリンリチウム処理カニクイザル血漿中 MMF 濃度分析法として開発、バリデートされた。バリデートされた MMF の濃度範囲は 0.050 mL の試料量で 0.05～5 µg/mL であった。本測定法の LLOQ は 0.05 µg/mL であった。血漿試料は、PPE を用いて調製し、エレクトロスプレー陰イオン化及び MRM モードの LC/MS/MS によって解析した。HPLC カラムは [redacted]（20 × 4.0 mm、5 µm）を用いた。MMF 及び内部標準物質の MRM トランジションはそれぞれ 129→ 85 及び 143 → 99 であった。

MMF 分析法は後に [redacted] に移管され、[redacted] でバリデートされた（バリデーション報告書 6343.032210）。分析法は、安定同位体標識内部標準（$^{13}C_4$-MMF）の入手後、再バリデートされた（バリデーション報告書 6441.070710）。内部標準物質の MRM トランジションを 133 → 88 に変更したが、それ以外の他のパラメーターはすべて、上述したものと同じである。

DMF 及びメトトレキサート併用毒性試験用に、内部標準物質として d_3-メトトレキサートを用いた K_2EDTA 処理カニクイザル血漿中メトトレキサート生体試料分析法（07464VSMB_BCM.DOC、[redacted]）を開発、バリデートした。バリデートされたメトトレキサートの濃度範囲は 50 µL の試料量で 0.0005～1 µg/mL であった。本測定法の LLOQ は 0.0005 µg/mL であった。血漿試料は、SPE を用いて調製し、エレクトロスプレー陰イオン化及び MRM モードの LC/MS/MS によって解析した。HPLC カラムは [redacted]（30 × 2 mm、3 µm）を用いた。メトトレキサート及び内部標準物質の MRM トランジションはそれぞれ 455 → 134 及び 458 → 311 であった。

DMF の代謝によって生じる可能性があるメタノール曝露の影響を評価するため、非 GLP の GC 分析法（NMS # 2836/EN-ALC04、[redacted]）は、内部標準物質としてプロパノールを用いたシュウ酸カリウム／フッ化ナトリウム処理カニクイザル血中メタノール分析法として用いられた。バリデートされた定量範囲は 0.50 mL の試料量で 5.0～200 µg/mL であった。分析法の LLOQ は 5.0 µg/mL であった。投与後の血液にはメタノールが通常含まれているため、検量線試料のマトリックスとして水を使用した。ロットごとに 3 段階の対照試料（理論濃度 30.0、100 及び 250 µg/mL のメタノール含有サル血液試料）を測定した。試料は、[redacted]キャピラリーカラム（30 m × 内径 0.53 mm、3.0 µm）を用いた [redacted]ガスクロマトグラフによって解析した。

DMF の代謝によって生じる可能性があるギ酸曝露の影響を評価するため、非 GLP の LC-ECD 分析法（NMS #2134/HP-IFA02、[redacted]）は、カニクイザルの血清中ギ酸分析法として用いられた。バリデートされた定量範囲は 0.10 mL の試料量で 1.0～100 µg/mL であった。

分析法の LLOQ は 1.0 µg/mL であった。サル血清には内因性のギ酸が含まれているため、標準試料は水を用いて調製した。ロットごとに 3 段階の対照試料（理論濃度 5.0、25.0 及び 70.0 µg/mL のギ酸含有サル血清試料）を測定した。試料は、[redacted]グラジエントポンプ、[redacted]電気伝導検出器及び Thermo Separation AS3500 オートサンプラーを用いたイオンクロマトグラフィーによって解析した。HPLC カラムはイオン交換分析用カラム[redacted]（4 × 250 mm）を用いた。

2.6.4.2.5 ウサギ血漿分析法

記載箇所：参考[M4.2.2.1-14] EBA00204LX

生体試料分析法（MHFU09、バリデーション報告書 EBA00204LX、CRL）は、内部標準物質として MEF を用いたフッ化ナトリウム／ヘパリンリチウム処理ウサギ血漿中の MMF 濃度分析法として開発、バリデートされた。バリデートされた MMF の濃度範囲は 0.050 mL の試料量で 0.05～5 µg/mL であった。分析法の LLOQ は 0.05 µg/mL であった。血漿試料は PPE を用いて調製し、エレクトロスプレー陰イオン化及び MRM モードの LC/MS/MS によって解析した。HPLC カラムは[redacted]（20 × 4.0 mm、5 µm）を用いた。MMF 及び内部標準物質の MRM トランジションはそれぞれ 129 → 85 及び 143 → 99 であった。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与薬物動態

2.6.4.3.1.1 ラット（試験番号 9217/95）

記載箇所：参考[M4.2.2.2-1] 9217/95

本試験の目的は、ラットに MMF 又はフマル酸モノメチルカルシウム塩（MMF-Ca）を単回経口投与したときの MMF の吸収、分布及び排泄を検討することであった。合計 120 例の Sprague-Dawley ラット（雌雄各 30 例/群）に、100 mg/kg の MMF 又は MMF-Ca を単回強制経口投与した。投与前、並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び 24 時間後に雌雄各 2 例/被験物質群から採血した。MMF 血漿濃度は、バリデートされた HPLC-UV を用いて測定した。MMF の尿、糞、皮膚、肝臓及び腎臓中濃度も測定した。測定時点ごとに平均値を求め、MMF 濃度推移は 2-コンパートメント法により解析した。MMF の薬物動態パラメーターを表 2 に示す。

表 2 ラットを用いた MMF 及び MMF-Ca 塩の 100 mg/kg の単回経口投与における薬物動態パラメーター

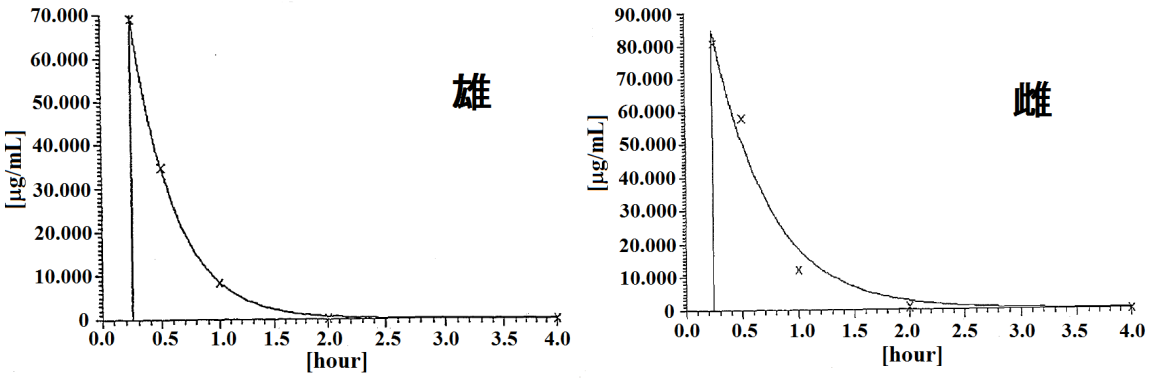
被験物質	性別	C_{max} (μg/mL)	t_{max} (h)	$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	$t_{1/2}$* (h)	CL/F (mL/min/kg)	$AUC_{0-\infty}$/投与量# (μg·h·kg/mL/mg)	C_{max} /投与量# (μg·kg/mL/mg)
MMF	雄	69.9	0.25	25.5	1.34	65.3	0.26	0.70
	雌	84.4	0.24	42.6	1.34	39.1	0.43	0.85
MMF-Ca	雄	51.3	0.24	31.3	1.34	53.4	0.41	0.67
	雌	107	0.24	37.3	1.34	44.7	0.49	1.39

Data source：[M4.2.2.2-1] 9217/95-text-Table 1
平均値（n＝2、ラット／群／測定時）。各 PK パラメーターの算出及びデータ解析に 2-コンパートメント法を用いた。
* $t_{1/2\beta}$（終末相半減期）
# 遊離酸として投与量を算出

MMF 及び MMF-Ca 投与のいずれでも、MMF は経口投与後速やかに吸収され、t_{max} は投与 0.25 時間以内、C_{max} は 51～107 μg/mL（図 1）であった。MMF 及び MMF-Ca 単回経口投与後の MMF 曝露量に差は認められなかった。雄に比べて、雌で曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$の両方）が高値であった（表 2）。性差は臨床でも評価され、性差が認められた場合と認められなかった場合があった（[M2.7.2]）。ラットの薬物動態の性差はよく知られており、ホルモン濃度の差や代謝速度・量の差により生じている可能性がある。

未変化体 MMF は、尿中にはほとんど検出されず、糞中には全く検出されなかった。皮膚中には初回測定時点でのみ検出された。

図 1 ラットに MMF を 100 mg/kg の用量で単回投与したときの MMF の血漿中濃度推移



Data source：[M4.2.2.2-1] 9217/95-text-Figure 1, Figure 2
平均値（n＝2）

2.6.4.3.1.2 ラット（試験番号 6072a/90）

記載箇所：参考[M4.2.2.2-2] 6072a/90

本試験の目的は、ラットに Fumaderm®（成分含量：DMF 55.5%、Ca-MEF 39.8%、Mg-MEF 2.4%、Zn-MEF1.49%及びフマル酸 0.98%）又は個々の被験物質（DMF 及び MEF）を単回経口投与した

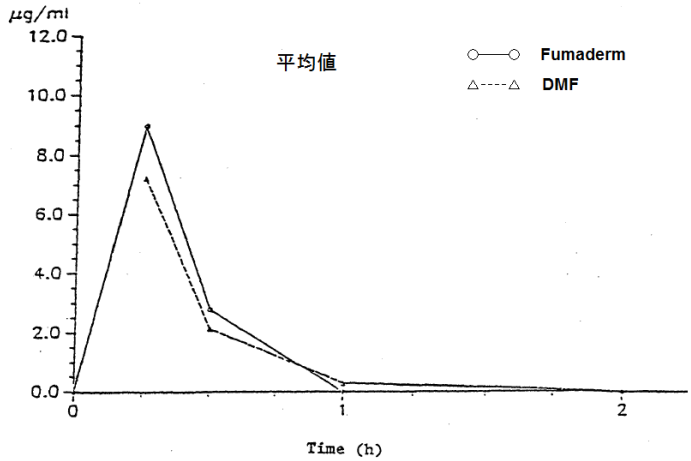
ときの DMF、MMF、フマル酸モノエチル（MEF）及びフマル酸（FA）の薬物動態を検討することであった。合計 156 例の Sprague-Dawley ラット（雌雄各 26 例/群）に、Fumaderm を 30 mg/kg、DMF を 16.7 mg/kg 又は MEF を 13.3 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、48、72 及び 96 時間後に雌雄各 2 例/被験物質群から採血した。MMF、DMF、MEF 及び FA の血漿濃度は、バリデートされた HPLC-UV 又は GC を用いて測定した（バリデーション報告書 6072a/90）。MMF の尿、糞、皮膚、肝臓及び腎臓中濃度も測定した。測定時点ごとに平均値を求め、MMF 濃度推移はノンコンパートメント法により解析した。

Fumaderm 単回経口投与後、有効成分（MEF 及び MMF として検出される DMF）は急速に吸収され、t_{max} は 0.5～1 時間であった。フマル酸、MEF 及び MMF の血漿中 C_{max} は、投与後 0.3 時間でそれぞれ 0.8 µg/mL（雄）／2.0 µg/mL（雌）、9.2 µg/mL（雄）／17.2 µg/mL（雌）及び 7.8 µg/mL（雄）／10.2 µg/mL（雌）であった（図 2）。MEF 及び MMF の消失半減期は約 0.17 時間であった。DMF は、いずれの被験物質でも血漿中に検出されなかった。

投与量の平均 26.6%は尿中に MEF として排泄され、平均 2.66%は MMF として排泄された。糞中への排泄はほとんど検出されなかった。DMF は、測定した 3 組織では検出されなかった。MMF は 3 組織中に初回測定時点でのみ検出された。

DMF 又は MEF を個々に単回経口投与したとき、吸収は短時間（約 0.5～1 時間）でほぼ完了した。MMF の血漿中 C_{max} は DMF 経口投与後 0.3 時間で 9.3 µg/mL（雄）及び 5.1 µg/mL（雌）であった（図 2）。MMF 血漿濃度は投与後 1 時間で検出限界未満であった。DMF 経口投与後に、フマル酸濃度が生理的濃度以上に増加することはなかった。以上から、TCA 回路の中間体であるフマル酸は、比較的速やかに CO_2 に代謝され、呼気を介して排泄されたことが示唆された。

図 2　ラットに Fumaderm（30 mg/kg）又は DMF（16.7 mg/kg）を単回投与したときの MMF の血漿中濃度推移



Data source：[M4.2.2.2-2] 6072a/90-Figure 3
平均値（各測定時点 n = 4）
Fumaderm：DMF 55.5%、Ca-MEF 39.8%、Mg-MEF 2.4%、Zn-MEF1.49%及びフマル酸 0.98%

2.6.4.3.1.3 ラット（試験番号 5615-554/5）

記載箇所：参考[M4.2.2.2-3] 5615-554/5

本試験の目的は、ラットに経口及び静脈内投与したときの ^{14}C-DMF の薬物動態、分布、及び排泄を検討することであった。合計 24 例（雌雄各 12 例）の Long-Evans ラット（各投与経路で雌雄各 3 例／各薬物動態及び分布・排泄）に名目投与量 10.3 mg/kg の ^{14}C-DMF を単回経口又は静脈内投与した。ラットに ^{14}C-DMF を 10.3 mg/kg の名目用量で経口投与したとき、血漿中放射能は全動物で最初のサンプリング時点で最も高く、t_{max} は雄で投与後 0.56 時間、雌で投与後 0.62 時間で、C_{max} は 12.86 µg·eq/mL（雄）及び 10.43 µg·eq/mL（雌）であった。$t_{1/2}$ はそれぞれ 41.7 時間（雄）及び 38.7 時間（雌）、0 時間から無限大時間まで外挿した $AUC_{0-\infty}$ は投与量補正後それぞれ 12.50 µg·eq·h/mL/mg（雄）及び 15.89 µg·eq·h/mL/mg（雌）であった。経口投与したときの $AUC_{0-\infty}$ から算出した吸収率は 122.2%（雄）及び 122.5%（雌）であった（表 3）。

^{14}C-DMF の経口投与 96 時間後までに、投与された放射能の平均 98.00%（雄）及び 97.54%（雌）が呼気中〔68.32%（雄）及び 62.91%（雌）〕、尿中〔22.30%（雄）及び 23.64%（雌）〕、糞中〔2.36%（雄）及び 3.45%（雌）〕、並びに組織中〔4.54%（雄）及び 6.08%（雌）〕に回収された（いずれも平均値、表 4）。^{14}C-DMF の静脈内投与 96 時間後までに、投与された放射能の平均 104.53%（雄）及び 107.33%（雌）が呼気中〔52.69%（雄）及び 58.86%（雌）〕、尿中〔39.21%（雄）及び 31.17%（雌）〕、糞中〔2.76%（雄）及び 2.97%（雌）〕、並びに組織中〔4.54%（雄）及び 6.08%（雌）〕に回収された（いずれも平均値、表 4）。

表 3 雌雄ラットに ^{14}C-DMF を 10.3 mg/kg の名目用量で経口又は静脈内投与したときの血漿中放射能の薬物動態パラメーター

投与経路	投与量 (mg/kg)	C_{max} [b] (µg·eq/mL)	t_{max} [c] (h)	$AUC_{0-\infty}$ [b] (µg·eq·h/mL)	$t_{1/2}$ [b] (h)	$AUC_{0-\infty}$/投与量 [b] (µg·eq·h·kg/mL/mg)	C_{max}/投与量 [b] (µg·eq·kg/mL/mg)	吸収 [b] (%)
雄 [a]								
経口	11.50	12.86	0.56	144.0	41.7	12.50	1.12	122.2
静脈内	10.66	23.42	0.07	109.1	55.7	10.23	2.20	
雌 [a]								
経口	10.42	10.43	0.62	165.5	38.7	15.89	1.00	122.5
静脈内	11.04	36.39	0.05	143.45	44.5	12.97	3.25	

Data source：[M4.2.2.2-3]-5615-554/5-Section B-Table 7.25, Table 7.26, Table 7.27, Table 7.28
静脈内投与後、他の動物との差異が大きかった雌 1 例（動物番号 1625F）を除いて薬物動態パラメーターを求めた。
[a] プールサンプル（n = 3）の測定値
[b] 平均値
[c] 中央値
eq：当量

表 4 ラットに ^{14}C-DMF を 10.3 mg/kg の名目用量で単回経口又は静脈内投与したときの呼気、尿及び糞中における放射能の総回収率

排泄経路（0～96 時間）	呼気（投与量に対する割合）(%)	尿（投与量に対する割合）(%)	糞（投与量に対する割合）(%)	組織（投与量に対する割合）(%)	総回収率 [a]（投与量に対する割合）(%)
雄					
経口	68.32	22.30	2.36	4.54	98.00
静脈内	52.69	39.21	2.76	7.09	104.53
雌					
経口	62.91	23.64	2.45	6.08	97.54
静脈内	58.86	31.17	2.97	8.46	107.33

Data source: [M4.2.2.2-3]-5615-554/5-Section B-Table 7.1, Table 7.6, Table 7.11, Table 7.16

[a] ケージ洗浄液を含む。

2.6.4.3.1.4 イヌ（試験番号 6072b/90）

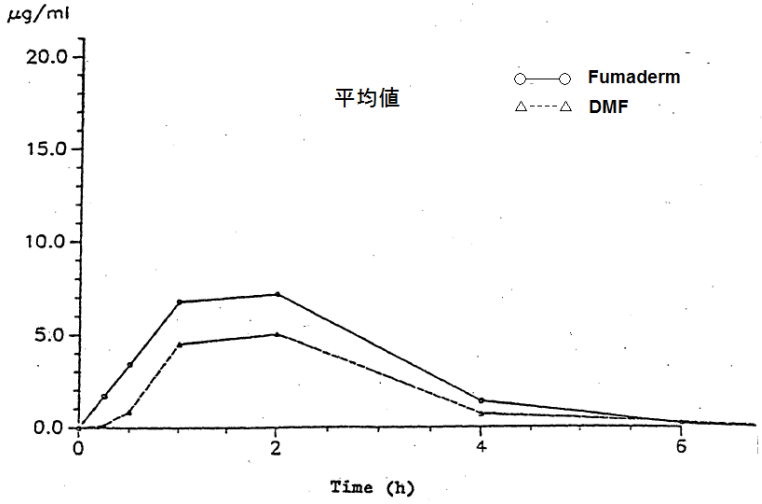
記載箇所：参考[M4.2.2.2-4] 6072b/90

本試験の目的は、ビーグル犬に Fumaderm（30 mg/kg）〔有効成分 DMF（16.7 mg/kg）及び MEF（13.3 mg/kg）〕を単回経口投与したときの MMF、MEF、DMF 及びフマル酸の薬物動態を検討することであった。これら 3 種類の被験物質のカプセル製剤は、雌雄各 2 例/被験物質群に単回投与した。投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、48、72 及び 96 時間後に血液を採取した。MMF、MEF、DMF 及びフマル酸の血漿中濃度は HPLC-UV 法、糞及び尿中濃度は HPLC 又は GC を用いて（バリデーション報告書 6072b/90）測定した。

Fumaderm 単回経口投与後、有効成分（MEF、及び MMF として測定した DMF）は急速に吸収され、t_{max} は 0.5～2 時間であった。MEF の血漿中 C_{max} の平均値は投与後 1.5 時間（雄）及び 0.8 時間（雌）でそれぞれ 9.4 µg/mL（雄）及び 14.3 µg/mL（雌）であった。MMF の血漿中 C_{max} の平均値は投与後 3 時間（雄）及び 1.5 時間（雌）でそれぞれ 4.7 µg/mL（雄）及び 16.3 µg/mL（雌）であった。MEF 及び MMF の血漿中消失半減期の平均値はそれぞれ 0.598 時間及び 0.670 時間であった。DMF は、いずれの被験物質も血漿中に検出されなかった。

DMF 経口投与後の MMF の血漿中 C_{max} の平均値は雄で投与後 1.5 時間及び雌で投与後 2 時間でそれぞれ 5.3 µg/mL 及び 6.3 µg/mL であった（図 3）。MMF 血漿濃度は、投与後 4 時間で検出限界未満であった。糞中からフマル酸はほとんど検出されず、経口投与された被験物質が完全に吸収されたことが示された。いずれの被験物質でも、フマル酸濃度が生理的濃度を超えて増加することはなかった。

図 3 ビーグル犬に Fumaderm（30 mg/kg）又は DMF（16.7 mg/kg）を単回投与したときの MMF の血漿中濃度推移



Data source：[M4.2.2.2-4] 6072b/90-Figure 3
平均値（各測定時点 n = 4）
Fumaderm：DMF 55.5%、Ca-MEF 39.8%、Mg-MEF 2.4%、Zn-MEF1.49%及びフマル酸 0.98%

2.6.4.3.1.5 イヌ（試験番号 P00012-04-09）

記載箇所：参考[M4.2.2.7-1] P00012-04-09

本試験の目的は、外科的に植え込んだポートを用いて、雄ビーグル犬の十二指腸、空腸、回腸又は結腸の各部位に 5 mg/kg の用量の DMF を直接単回投与したときの DMF 及び MMF の相対全身曝露量を検討することであった。十二指腸、空腸、回腸又は結腸のいずれか 1 部位にカテーテル 2 本を外科的に挿入留置した合計 8 例のビーグル犬を各群に割り当てた。いずれの個体も、一方のポートから DMF を 5 mg/kg の用量で単回投与し、48～72 時間のウォッシュアウト期間後、未使用の第二のポートから DMF を 5 mg/kg の用量で単回投与し、投与 0（投与前）、5、15、30 及び 45 分並びに 1、1.5、2、3、4 及び 5 時間後に血漿を採取した。

DMF 濃度はすべて LLOQ 未満であった。そのため、薬物動態解析は MMF に対してのみ行った。

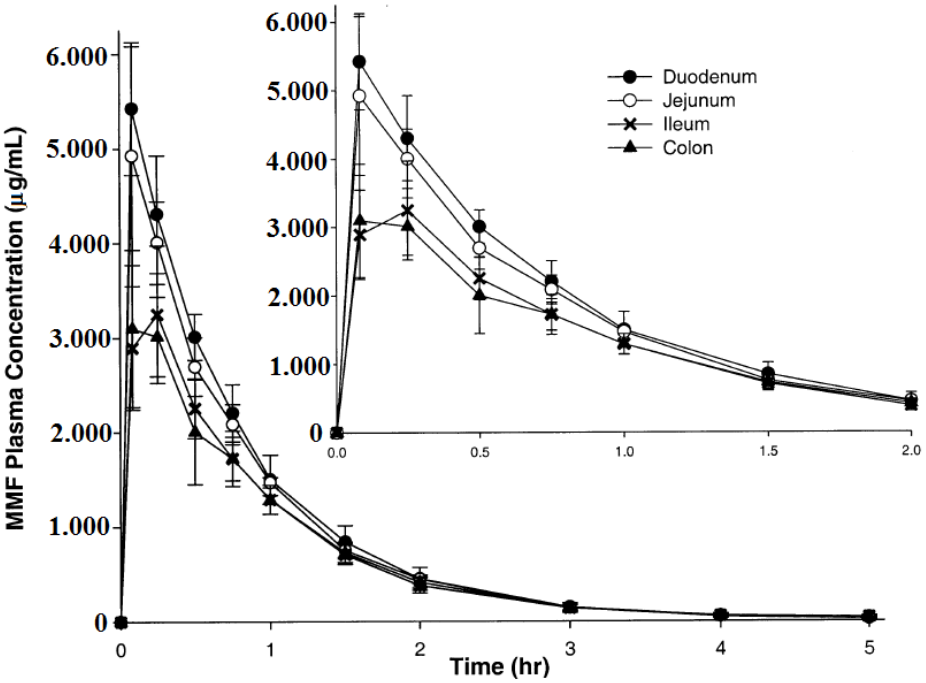
MMF の吸収プロファイルは腸管各部位間で比較的一致していた。ただし、曝露量は回腸及び結腸内投与に比べて、十二指腸及び空腸内投与で高い傾向が認められた（図 4）。十二指腸及び空腸内投与の C_{max} は回腸及び結腸内投与の約 1.5 倍であった（それぞれ 5.43 及び 5.10 μg/mL 対 3.33 及び 3.49 g/mL）。$AUC_{0-\infty}$ も、回腸及び結腸内投与（それぞれ 4.13 μg·h/mL 及び 3.32 μg·h/mL）に比べて、十二指腸及び空腸内投与（それぞれ 4.44 μg·h/mL 及び 4.13 μg·h/mL）でわずかに高かった。CL/F もまた、十二指腸及び空腸内投与（それぞれ 1.14 及び 1.22 L/h/kg）に比べて、回腸及び結腸内投与（それぞれ 1.51 及び 1.53 L/h/kg）で高かった。MMF の消失半減期も、腸管各部位間で一致しており、平均 0.679 ± 0.029 時間であった（表 5）。以上から、MMF の大部分は十二指腸及び空腸で吸収され、回腸及び結腸で残りの大部分が吸収されることが示唆された。

表 5　ビーグル犬の腸管部位へ DMF（5 mg/kg）を単回投与したときの薬物動態パラメーター

投与部位	$AUC_{0\text{-last}}$ (μg·h/mL)	$AUC_{0\text{-inf}}$ (μg·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	C_{max} (μg/mL)	CL/F (L/h/kg)
十二指腸	4.41 ± 0.689	4.44 ± 0.681	0.653 ± 0.115	5.43 ± 0.810	1.14 ± 0.160
空腸	4.11 ± 0.474	4.13 ± 0.485	0.720 ± 0.128	5.10 ± 1.14	1.22 ± 0.151
回腸	3.35 ± 0.406	4.13 ± 1.61	0.664 ± 0.121	3.33 ± 0.898	1.51 ± 0.198
結腸	3.30 ± 0.435	3.32 ± 0.447	0.679 ± 0.112	3.49 ± 0.695	1.53 ± 0.183

Data source：[M4.2.2.7-1] P00012-04-09-Pharmacokinetic report-Table 1
平均値 ± 標準偏差（n = 4）

図 4　ビーグル犬の腸管部位へ DMF（5 mg/kg）を単回投与したときの MMF の血漿濃度推移



Data source：[M4.2.2.7-1] P00012-04-09-Pharmacokinetic report-Figure 1
平均値 ± 標準偏差（n = 4）

2.6.4.3.1.6　イヌ（試験番号 P00012-04-15）

記載箇所：参考[M4.2.2.7-2] P00012-04-15

本試験の目的は、現在の DMF 市販製剤を腸溶性コーティングマイクロ錠としてイヌに投与し、薬物動態及び忍容性を評価することであった。合計 8 例のビーグル犬は 4 例ずつ 2 群（第 1 群及び第 2 群）に割り当てられ、腸溶性コーティングマイクロ錠を充填したカプセルとして DMF をそれぞれ 5 及び 50 mg/kg の用量で単回経口投与した。少なくとも 1 週間のウォッシュアウト期間後、イヌ 2 例は 75 mg/kg（第 3 群）、他の 2 例は 100 mg/kg（第 4 群）の用量で DMF を追加投与した。DMF の血漿中薬物動態を評価するため、投与 0（投与前）、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5 及び 8 時間後に血液を採取した。DMF 濃度はいずれも LLOQ 未満であった。そのため、各動物の MMF 血漿濃度を薬物動態パラメーターの算出に用いた（図 5）。

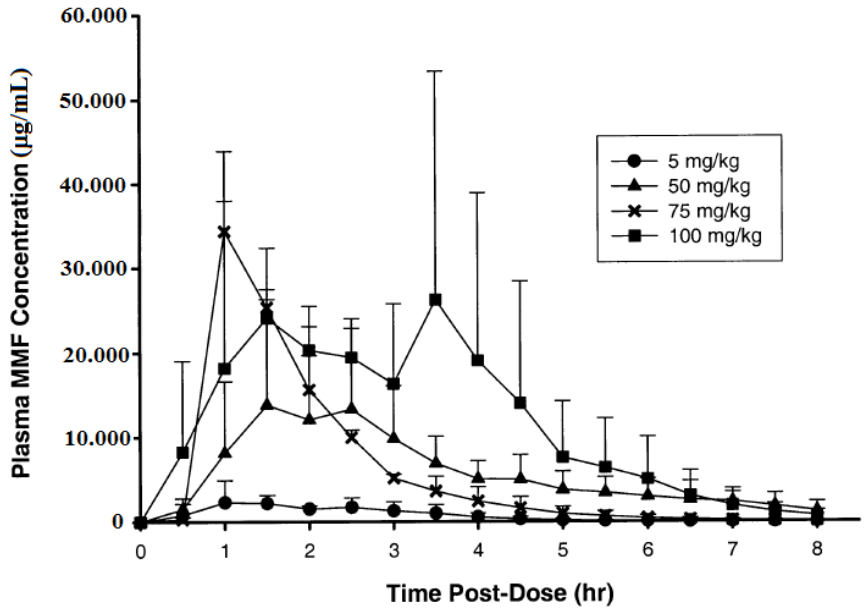
$AUC_{0\text{-last}}$ は、5、50 及び 100 mg/kg 投与群間でほぼ用量比例的であった。75 mg/kg 群の $AUC_{0\text{-last}}$ は用量比を下回ったが、これは数例に発現した嘔吐による可能性がある。CL/F 及び消失半減期（$t_{1/2}$）の平均値は用量に依存しないと考えられた。C_{max} の平均値は、用量比未満の増加を示した（表 6）。

表 6　雄イヌに DMF カプセル製剤を投与したときの MMF の血漿中薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg)	$AUC_{0\text{-last}}$[a] (μg·h/mL)	$t_{1/2}$[a] (h)	C_{max}[a] (μg/mL)	t_{max}[b] (h)	CL/F[a] (mL/h/kg)
5	5.92 ± 0.798	0.676 ± 0.067	3.47 ± 1.57	1.75 (0.50~2.50)	856 ± 124
50	46.53 ± 15.3	1.20 ± 1.02	19.6 ± 9.43	1.25 (1.00~2.50)	1070 ± 334
75	54.81	1.17	41.1	1.00 (-)	1369
	46.26	0.753	27.6	1.00 (-)	1621
100	73.78	0.990	32.2	1.00 (-)	1355
	119.13	0.680	45.4	3.50 (-)	839

Data source：[M4.2.2.7-2] P00012-04-15-Pharmacokinetic Report-Table 1
5 及び 50 mg/kg（n = 4）：
[a] 平均値 ± 標準偏差
[b] 中央値（範囲）
75 及び 100 mg/kg（n = 2）：個別値

図 5　ビーグル犬に DMF カプセル製剤を投与したときの MMF の血漿中濃度推移



Data source：[M4.2.2.7-2] P00012-04-15-Pharmacokinetic Report-Figure 1
平均値 ± 標準偏差（5 及び 50 mg/kg：n = 4）及び（75 及び 100 mg/kg：n = 2）

2.6.4.3.1.7　イヌ（試験番号 P00012-05-06）

記載箇所：参考[M4.2.2.7-3] P00012-05-06

DMF の市販製剤（腸溶性コーティングマイクロ錠）及び徐放性マルチパーティクルのプロトタイプ製剤 5 種類を DMF 投与歴のある雄ビーグル犬にクロスオーバー法で経口投与したときの薬物動態を検討した。雄ビーグル犬 4 例に以下の 75 mg カプセル製剤を順次経口投与した：DMF 市販製剤（腸溶性コーティングマイクロ錠）、DMF1〔エチルセルロース（EC）/ヒドロキシプロピルセ

ルロース（HPC）75/25、徐放性コーティングレベル（ERCL）：15%、腸溶性コーティングレベル（ECL）：10%〕、DMF2（EC/HPC 75/25、ERCL：20%、ECL：10%）、DMF3（EC/HPC 75/25、ERCL：25%、ECL：10%）、DMF5（オイドラギット RS/RL 85/15、ERCL：15%、ECL：5%）及び DMF6（EC/HPC 75/25、ERCL：15%、ECL：0%）。各投与期で、投与前夜から投与後約 4 時間まで絶食させた。各投与期の間には、1 週間のウォッシュアウト期間を設置した。血漿中 MMF 濃度は、LC/MS/MS 法を用いて解析した。

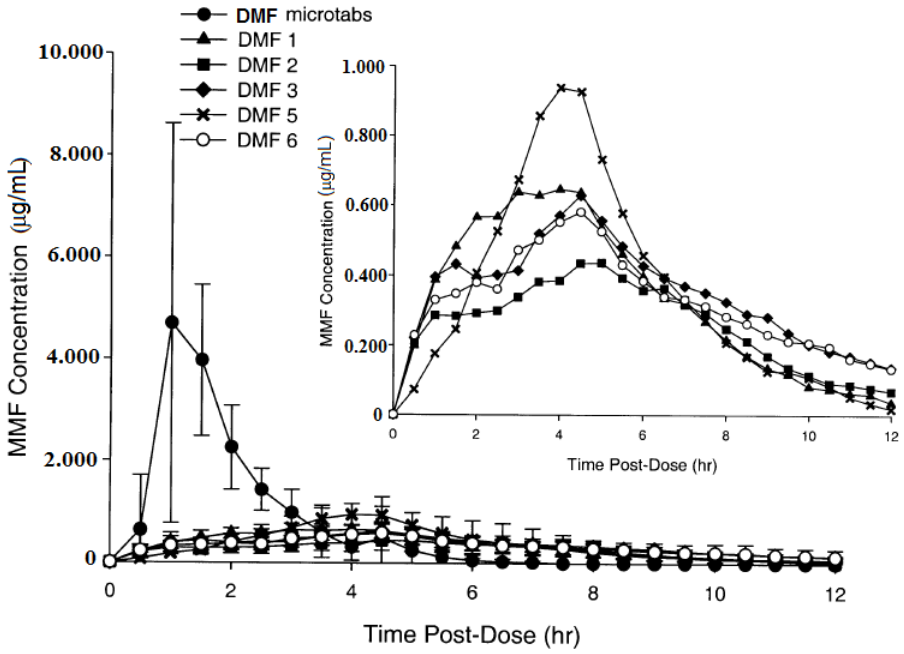
In vivo 薬物動態プロファイルは各製剤間で異なっていた（表 7）。プロトタイプ製剤では、DMF 市販製剤に比べて、$t_{1/2}$ の延長、C_{max} の低下及び t_{max} の延長が認められた。プロトタイプ製剤の t_{max} は約 3～4 時間であった。本試験で検討した各プロトタイプ製剤の $t_{1/2}$ は 0.8～3.9 時間、C_{max} は 0.478～1.010 μg/mL であった。DMF 市販製剤に比べて、各プロトタイプ製剤の相対的バイオアベイラビリティは 43%～64%であった（表 7）。以上、イヌでは、現在の DMF 市販製剤は、プロトタイプ製剤に比べて最も適した薬物動態プロファイルを示した。

表 7 雄イヌに DMF を 75 mg/kg の用量でカプセル投与したときの MMF の薬物動態パラメーター

製剤		$t_{1/2}$[a] (h)	t_{max}[b](h)	C_{max}[a] (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$[a] (μg·h/mL)	相対的 BA[a] (%)[#]
DMF マイクロタブレット	平均値	0.517	1.00 (1.00~1.50)	6.16	7.91	N/A
	標準偏差	0.118		2.38	1.44	N/A
DMF1	平均値	2.20	4.00 (2.00~4.50)	0.701	4.20	53.1
	標準偏差	0.584		0.126	0.909	63.0
DMF2	平均値	2.53	4.75 (0.50~6.50)	0.478	3.42	43.2
	標準偏差	0.416		0.190	1.40	97.3
DMF3	平均値	3.93	4.50 (4.00~4.50)	0.631	5.05	63.8
	標準偏差	2.27		0.171	0.792	54.9
DMF5	平均値	0.823	4.25 (3.50~4.50)	1.01	4.31	54.5
	標準偏差	0.112		0.145	1.78	123
DMF6	平均値	2.65	3.25 (1.50~4.50)	0.607	4.68	59.1
	標準偏差	1.65		0.163	1.90	132

Data source：[M4.2.2.7-3] P00012-05-06-text-Table 1
各群 n = 4
[a] 平均値 ± 標準偏差
[b] 中央値（範囲）
[#] DMF 市販製剤に対するバイオアベイラビリティ（%）
BA：バイオアベイラビリティ、N/A：該当せず
DMF1〔エチルセルロース（EC）/ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）75/25、徐放性コーティングレベル（ERCL）：15%、腸溶性コーティングレベル（ECL）：10%〕
DMF2（EC/HPC 75/25、ERCL：20%、ECL：10%）
DMF3（EC/HPC 75/25、ERCL：25%、ECL：10%）
DMF5（オイドラギット RS/RL 85/15、ERCL：15%、ECL：5%）
DMF6（EC/HPC 75/25、ERCL：15%、ECL：0）

図 6 雄イヌに DMF 及びプロトタイプ製剤を 75 mg/kg の用量で経口投与したときの MMF の血漿中濃度推移



Data source：[M4.2.2.7-3] P00012-05-06-Figure 1
平均値 ± 標準偏差（n = 4）
左下パネル：全製剤の動態プロファイルを示す。右上挿入パネル：プロトタイプ製剤のみの動態プロファイルを示す。
DMF1〔エチルセルロース（EC）/ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）75/25、徐放性コーティングレベル（ERCL）：15%、腸溶性コーティングレベル（ECL）：10%〕
DMF2（EC/HPC 75/25、ERCL：20%、ECL：10%）
DMF3（EC/HPC 75/25、ERCL：25%、ECL：10%）
DMF5（オイドラギット RS/RL 85/15、ERCL：15%、ECL：5%）
DMF6（EC/HPC 75/25、ERCL：15%、ECL：0）

2.6.4.3.2 反復投与薬物動態

DMF 及び MMF の反復投与後の薬物動態試験は実施していないが、MMF を用いたマウス、ラット、イヌ及びサルを用いた反復投与毒性試験で曝露量（AUC 及び C_{max}）の推移を得た（[M2.6.6]）。TK プロファイルについては[M2.6.7.3]に示す。MMF の全身曝露量は、全動物種で用量とともに増加し、全般的には用量比例的に増加した。全動物種の全用量で蓄積はないか又は低かった（2 倍未満）。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 蛋白結合（試験番号 P00012-10-05）

記載箇所：参考[M5.3.2.1-2] P00012-10-05

ラット、イヌ、サル及びヒトに対する MMF の血漿蛋白非結合率を 50、500 及び 5000 nM の名目濃度で平衡透析法により測定した。MMF の血漿蛋白結合率は全動物種で低かった（非結合率が 55～100%であった）。ラット、イヌ、サル及びヒトの血漿蛋白結合率には濃度依存性が認められ

なかった（表 8）。

表 8 ラット、イヌ、サル及びヒトにおける血漿蛋白に対する MMF の非結合率（%）

動物種	MMF 濃度（nM）	非結合率（%）	
		平均値	標準偏差
ラット	50	112.8	14.0
	500	101.6	13.3
	5000	104.6	2.4
イヌ	50	78.7	18.1
	500	76.0	7.1
	5000	77.2	9.9
サル	50	98.1	8.6
	500	90.0	5.0
	5000	103.5	5.1
ヒト	50	66.1	1.8
	500	55.1	2.1
	5000	58.9	7.0

Data source：[M5.3.2.1-2] P00012-10-05-Table 4
平均値、標準偏差（n = 3）

2.6.4.4.2 血球への移行

該当する試験は実施しなかった。

2.6.4.4.3 臓器及び組織への分布

2.6.4.4.3.1 ラット（試験番号 P00012-07-03）

記載箇所：参考[M4.2.2.2-5] P00012-07-03

雌雄 Long-Evans ラットに ^{14}C-DMF（10 mg/kg）を単回経口投与したときの組織分布を検討した。血液及び組織は、投与 72 時間後までの所定の時点で採取した。全身の放射能分布は投与 0.5、4、8、24 及び 72 時間後に評価した。組織試料はホモジナイズ後、乾式灰化器で燃焼処理し、液体シンチレーション計数法（LSC）によって放射能を分析した。^{14}C-DMF はラットに経口投与後速やかに吸収されて広範囲に分布し、放射能の最高濃度到達時間は、生殖器周囲脂肪を除く全組織で、初回サンプリング時点の投与 0.5 時間後であった。消化管以外での最高濃度は、排泄器官、腺組織及び脳で観察された。最高放射能濃度は、33200 及び 46300（それぞれ雄及び雌腎臓）から 1010（雌雄生殖器周囲脂肪）ng/g（^{14}C-DMF 換算値）までの範囲であった。最終サンプリング時点の投与 72 時間後でも雌雄ラットの全組織に放射能が検出され、投与 72 時間後の全組織の放射能濃度は 2750（雄肝臓）から 459（雌骨格筋）ng/g（^{14}C-DMF 換算値）までの範囲であった。明確な性差は認められず、またメラニン選択的結合性も認められなかった。

放射能の血中及び血漿中最高濃度（平均値）は、雌雄いずれも初回サンプリング時点の投与 0.5 時間後であった。放射能の血中及び血漿中消失半減期は、雄でそれぞれ 105 及び 37.3 時間、雌でそれぞれ 111 及び 47.1 時間であり、放射能の全身クリアランスは比較的緩やかであることが示された。この結果から、血球分画への放射能の残留性が認められた。全血中及び血漿中放射能の薬

物動態パラメーターの要約を表 9 に示す。

表 9 血中及び血漿中の薬物動態パラメーター

	C_{max}（平均値 ± 標準偏差）	t_{max}	$t_{1/2}$	AUC_{0-t}	$AUC_{0-\infty}$
性別	(ng.eq/g)	(h)	(h)	(ng·eq·h/g)	(ng·eq·h/g)
血液					
雄	7890 ± 940	0.500	105	134690	344520
雌	9140 ± 590	0.500	111	153045	401683
血漿					
雄	7660 ± 490	0.500	37.3	65885	85394
雌	8130 ± 1090	0.500	47.1	71090	101914

Data source：[M4.2.2.2-5] P00012-07-03-text-Table 7, text-Table 3, text-Table 4
平均値（n = 3、ラット／性／測定時）
eq：当量

放射能分布、組織中半減期及び組織/血漿中濃度比については[M2.6.5.6]に示す。

2.6.4.4.4 胎盤・胎児への移行

2.6.4.4.4.1 ラット（試験番号 P00012-06-02）

記載箇所：[M4.2.3.5.2-1] P00012-06-02

ラットを用いた胚・胎児発生試験では、妊娠ラットに DMF を 25、100 及び 250 mg/kg の用量で、妊娠 7 日目から 18 日目にかけて 11 日間反復強制経口投与した。妊娠 18 日目の投与後約 30 分に胎児血を採取した。その結果、MMF は胎盤を通過して胎児血に移行することが示され、血漿中 MMF 濃度の胎児/母動物比は 0.48～0.64 であった。

2.6.4.4.4.2 ウサギ（試験番号 P00012-06-01）

記載箇所：[M4.2.3.5.2-2] P00012-06-01

ウサギを用いた胚・胎児発生試験では、妊娠ウサギに DMF を 25、75 及び 150 mg/kg の用量で、妊娠 7 日目から 19 日目にかけて 13 日間反復強制経口投与した。妊娠 19 日目の投与後約 30 分に胎児血を採取した。その結果、MMF は胎盤を通過して胎児血に移行することが示され、血漿中 MMF 濃度の胎児/母動物比は約 0.1 であった。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 In vitro 試験

2.6.4.5.1.1 肝ミクロソーム及び肝細胞における代謝プロファイリング（試験番号 P00012-12-04）

記載箇所：参考[M4.2.2.4-1] P00012-12-04

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソーム並びにラット、サル及びヒトの肝細胞と ^{14}C-DMF をインキュベートして in vitro 代謝試験を行った。代謝物の同定は放射能検出器を備えた LC-MS/MS を用いて行った。

全動物及びヒト肝ミクロソームで DMF は 10 分以内に完全に代謝された。肝ミクロソーム反応液中の総放射能の 100%相当が代謝物である MMF であった。MMF の生成は、NADPH 非依存的であり、加水分解反応と一致した。肝ミクロソーム反応液中に MMF 以外の代謝物は認められなかった。

肝細胞浮遊培養系では、^{14}C-DMF は複数の経路で代謝された。すなわち、ミクロソーム反応液では主として ^{14}C-MMF が速やかに生成されたが、^{14}C-DMF 及び ^{14}C-MMF のグルタチオン（GSH）抱合体並びにその他の微量代謝物にも変換された。これらの微量代謝物のうち 2 種は、HPLC 上でフマル酸（FA）及びグルコース標準物質と同じ位置に溶出された（表 10）。肝細胞での DMF の GSH 抱合体の生成量は動物種によって異なり、ラットで最も多く、次いでヒトで多く、サルでは検出されなかった。MMF の GSH 抱合体はいずれの動物種でも微量代謝物として確認された。

表 10 DMF を肝細胞と 60 分インキュベートしたときに同定された代謝物の比率（%）[1)]

同定された代謝物	ラット	サル	ヒト
未知 1	4.4	ND	ND
M8（グルコース）	15.3	5.32	1.74
フマル酸	1.82	1.46	3.16
未知 2	13.4	7.97	9.33
GSH-MMF（M11）[2)]	1.79	2.18	2.32
MMF	50.8	83.1	82.4
GSH-DMF（M10）[3)]	12.4	ND	ND
DMF（未変化体）	ND	ND	ND

Data source：[M4.2.2.4-1] P00012-12-04-Table 3
1) 添加 ^{14}C-DMF に対する割合（%）、1 回測定値
2) GSH-MMF：MMF のグルタチオン抱合体
3) GSH-DMF：DMF のグルタチオン抱合体
ND：不検出

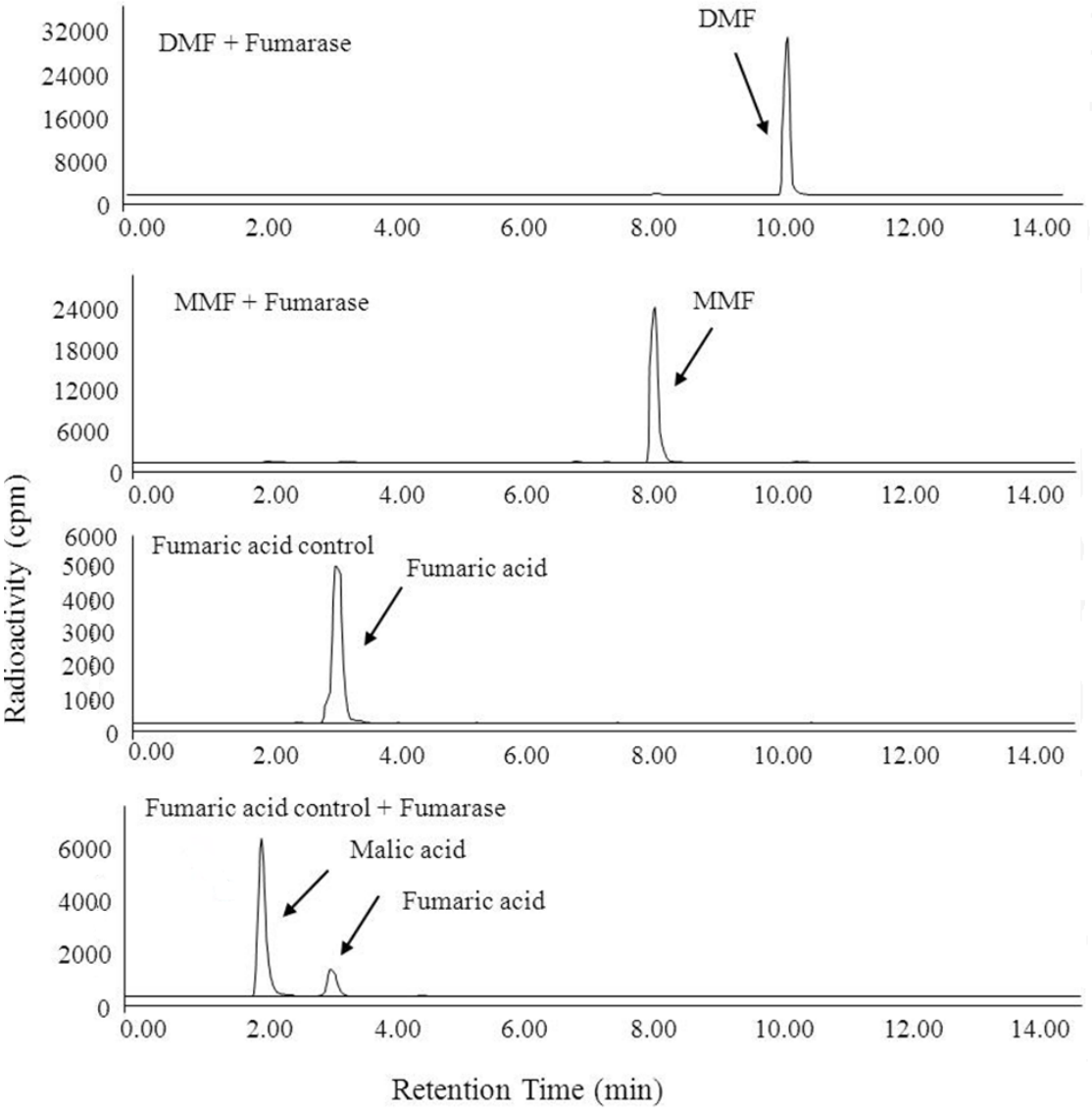
2.6.4.5.1.2 DMF、MMF 及びフマル酸に対するフマル酸ヒドラターゼ（フマラーゼ）の基質特異性（試験番号 P00012-12-07）

記載箇所：参考[M4.2.2.4-2] P00012-12-07

本試験の目的は、フマル酸ヒドラターゼ（フマラーゼ）に対する DMF 及びその代謝物の基質特異性を確認することであった。^{14}C-DMF 及びその代謝物である ^{14}C-MMF 又は ^{14}C-フマル酸をニワトリ心フマラーゼとインキュベートした後、放射能検出器を備えた HPLC によって分析した。その結果、フマル酸存在下で ^{14}C-フマル酸から ^{14}C-リンゴ酸が生成されることが確認され、フマル酸

のみがフマラーゼの基質となることが確認された。^{14}C-DMF 又は ^{14}C-MMF の場合には、添加した反応基質以外の放射能ピークは認められず、DMF 及び MMF はフマラーゼの基質とはならないことが確認された（図 7）。

図 7　DMF、MMF 又はフマル酸とフマラーゼのインキュベート後における代謝物の HPLC ラジオクロマトグラム



Data source：[M4.2.2.4-2] P00012-12-07-Figure 2

2.6.4.5.1.3　酵素誘導及び阻害

MMF の CYP 誘導試験はヒト肝細胞、CYP 阻害試験はヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒト CYP 分子種を用いて実施した（[M2.7.2]）。

8 種類の主なヒト CYP 酵素（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4）に対する MMF の 50%阻害濃度（IC_{50}）はいずれも 50 μM 超であった。ヒト肝細胞に in vitro で MMF を曝

露したとき、CYPlA2、2B6 又は 3A4 酵素活性の顕著な誘導は認められなかった。DMF は、CYP 酵素の基質ではなく、処理能力が高いエステラーゼによって代謝される。以上から、MMF を介した CYP 阻害又は誘導による薬物相互作用が生じる可能性は低い（[M2.7.2]）。

2.6.4.5.1.4 P 糖タンパク質（P-gp）の阻害及び誘導

P 糖タンパク質（P-gp）を介したジゴキシンの輸送の DMF 又は MMF による阻害活性をヒト P-gp 発現 LLC-PK1 細胞単層培養及び Caco-2 細胞を用いて検討した[M2.7.2.2.3.2.4]。MMF による P-gp 誘導活性は、3 例から採取した初代培養ヒト肝細胞で評価した[M2.7.2.2.3.2.4]。試験結果から、DMF 及び MMF は P-gp を誘導及び阻害しないことが示された。

2.6.4.5.2 In vivo 試験（試験番号 P00012-07-03）

記載箇所：参考[M4.2.2.2-5] P00012-07-03

DMF の in vivo 代謝は、^{14}C-DMF を用いたラットの排泄試験で検討された。ラットにおける主な代謝経路を図 8 に示した。代謝物プロファイルに定性的な性差は認められなかった。代謝物の同定は、質量分析及びクロマトグラム上の保持時間に基づいて行った。可能な場合は、代謝物の同定は、標品の MS/MS フラグメントパターン及び保持時間と比較することによって確定した。血漿をアセトニトリル/水（v/v、2:1）で抽出し、抽出画分の総放射能を分析した。尿を遠心分離し、上清を分析した。代謝物の放射能プロファイルは、HPLC 溶出液を分取後、[redacted] マイクロプレートカウンターを用いた固体シンチレーション計数法により分析した。代謝物の構造解析と同定には [redacted] LC/MS/MS System を用いた。

2.6.4.5.2.1 ラットにおける排泄物中の代謝物

尿中に排泄された未変化体は投与量の 0.2%未満であったことから、^{14}C-DMF は吸収後高度に代謝されたことが示された。主な尿中放射能成分は、コハク酸モノメチルのシステイン又は N-アセチルシステイン抱合体（M6a、M6b、M6c、M9a、M9b）及びコハク酸ジメチルのシステイン又は N-アセチルシステイン抱合体（M7a、M7b）であり、尿（0～48 時間）中へのこれらの排泄は投与量の合計 10.5%（雄）及び 10.9%（雌）であった。尿中に排泄された M2（MMF）は投与量の 1.69%（雄）及び 0.56%（雌）であった（表 11 及び図 8）。

2.6.4.5.2.2 ラットにおける血液中の代謝物

Long-Evans ラット（雌雄各 15 例）に ^{14}C-DMF を 10 mg/kg の用量で単回経口投与した。雌雄各 3 例をそれぞれ投与 0.5、4、8、24 及び 72 時間後に安楽死させ、血液はヘパリンリチウム及びフッ化ナトリウム加試験管に採取し、血漿中代謝物の同定に用いた。血漿中 MMF 濃度は、投与 0.5 時間後を除く全サンプリング時点で定量限界未満（< 0.050 µg/mL）であった。合計 5 種類の血漿中代謝物が暫定的に同定された（表 11 及び図 8）。

表 11 ラットに ^{14}C-DMF を単回経口投与したときの代謝物量のまとめ

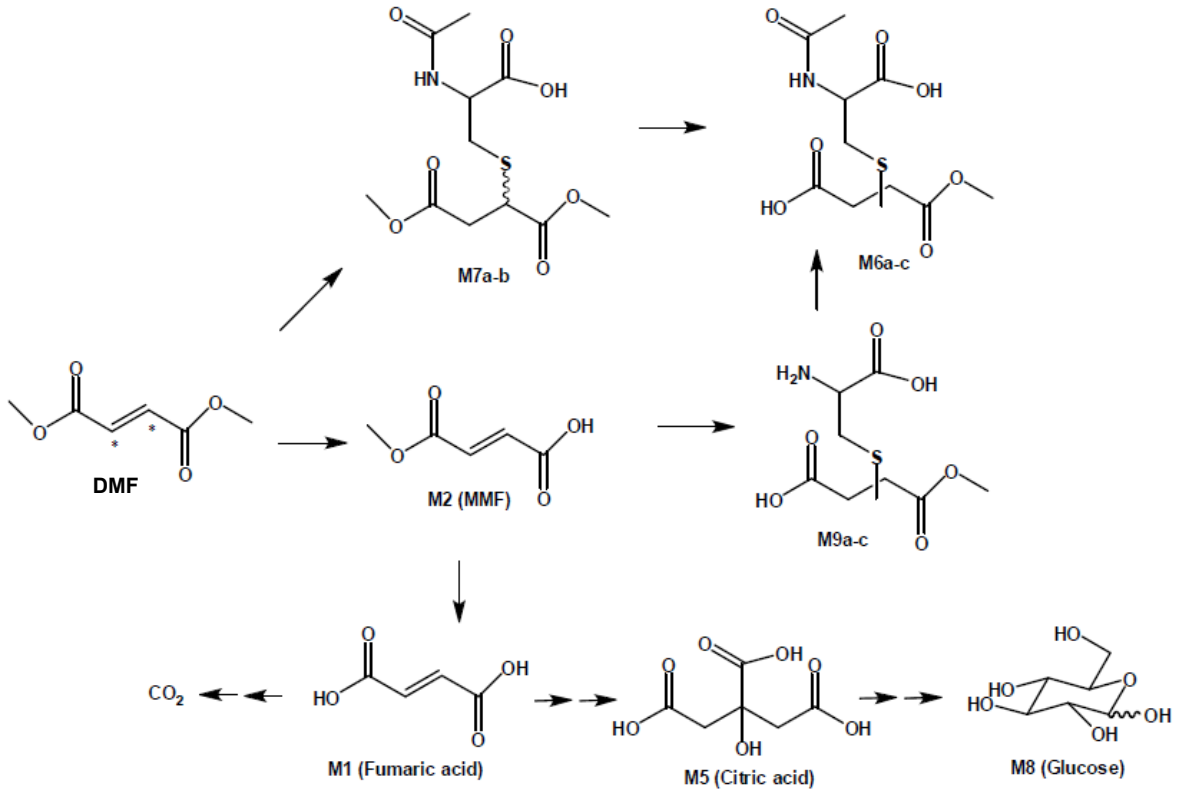
代謝物	血漿（総放射能に対する割合）（%）		尿（投与量に対する割合）（%）	
	雄	雌	雄	雌
DMF	ND	ND	0.15	0.15
M1 + M5	30.2	34.7	ND	ND
M2 (MMF)	0.16	0.22	1.69	0.56
M6a	0.25	0.14	5.30	5.49
M6b	0.05	0.05	0.51	0.52
M6c	0.04	ND	0.39	0.37
M7a	ND	ND	1.69	1.94
M7b	ND	ND	1.37	1.51
M8	48.8	47.6	ND	ND
M9a, M9b	ND	ND	0.54	0.54
M9c	ND	ND	0.67	0.51

Data source：[M4.2.2.2-5] P00012-07-03-Appendix 7-Table 12
プールサンプル（n= 3）を測定した。
ND：不検出

主な血漿中放射能成分はグルコース（M8）であり、血漿抽出画分の放射能に占める割合は 48.8%（雄）及び 47.6%（雌）であった。その他の血漿中の主な代謝物はフマル酸（M1）及びクエン酸（M5）の複合物であり、血漿抽出画分の放射能に占める割合は計 30.2%（雄）及び計 34.7%（雌）であった。MMF（M2）が血漿抽出画分の放射能に占める割合は 0.16%（雄）及び 0.22%（雌）であった。MRM モードの LC/MS/MS で微量の代謝物 M6a、M6b 及び M6c が検出された。代謝プロファイルに明確な性差は認められなかった。

図 8 ラットにおける DMF の推定代謝経路

(*= ^{14}C 標識)



Data source：[M4.2.2.2-5] P00012-07-03-Appendix 7-Figure 33

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 単回投与における排泄（試験番号 P00012-07-03）

記載箇所：参考[M4.2.2.2-5] P00012-07-03

^{14}C-DMF の排泄はラットで検討された。Long-Evans ラット（雌雄各 n = 3）に ^{14}C-DMF を 10 mg/kg の用量で単回経口投与した。排泄物及び呼気収集用に設計されたガラス製代謝ケージに収容した動物から排泄物を回収した。^{14}C-DMF 由来放射能の主な排泄経路は、^{14}C-DMF が TCA 回路を経て最終代謝物 CO_2 として呼気に排泄される経路であった。投与量の平均 31.6%（雄）及び 34.1%（雌）が投与 0～2 時間後に収集された呼気中から回収され、^{14}C-DMF は速やかに代謝されることが示された。投与量の合計 60.9%（雄）及び 64.5%（雌）が投与 168 時間後までの呼気中から回収された。放射能は尿及び糞中にも排泄され、尿中への平均総排泄量は投与量の 21.7%（雌雄）であり、糞中への平均総排泄量は投与量の 4.39%（雄）及び 3.10%（雌）であった。投与 168 時間後までの放射能の平均総回収率は投与量の 97.5%（雄）及び 97.6%（雌）であった（表 12）。

表 12 ラットに ^{14}C-DMF を単回経口投与した後の呼気、尿及び糞中における放射能の総回収率

排泄経路（0～168 時間）	呼気（投与量に対する割合）（%）	尿（投与量に対する割合）（%）	糞（投与量に対する割合）（%）	総回収率[a]（投与量に対する割合）（%）
雄	60.9 ± 0.9	21.7 ± 3.2	4.39 ± 0.98	97.5 ± 0.5
雌	64.5 ± 1.0	21.7 ± 0.7	3.10 ± 0.37	97.6 ± 0.3

Data source：[M4.2.2.2-5] P00012-07-03-text-Table 12, text-Table 13
[a] ケージ洗浄液を含む。

2.6.4.6.2 反復投与における排泄

該当する試験は実施しなかった。

2.6.4.6.3 乳汁排泄

該当する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

2.6.4.7.1 In vitro 薬物相互作用

該当する試験は実施しなかった。

2.6.4.7.2 In vivo 薬物相互作用

ラット及びカニクイザルに 90 日間、DMF 単独を 1 日 1 回経口投与した場合及びメトトレキサート（MTX）を週 1 回経口投与で併用したとき、DMF 単独投与及び DMF（25 mg/kg）＋MTX 併用投与間で、3 回のサンプリング日のいずれの MMF の C_{max} 又は $AUC_{0\text{-}24h}$ にも大きな差は認められなかった。([M2.6.6.8]参照)。

多発性硬化症（MS）患者に BG00012 と Avonex®又は Copaxone®（glatiramer acetate）を併用投与したとき、MMF の PK パラメーターにこれらの併用投与の影響は認められなかった([M2.7.2]参照)。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

2.6.4.9 考察及び結論

以前の論文報告では、Caco-2 細胞単層膜を用いた in vitro 試験で DMF が細胞内に速やかに透過することが示唆されているが、摘出腸粘膜の ex vivo モデルでは検出可能量の DMF の膜透過性は認められなかった（Werdenberg et al., 2003）。薬物動態及び TK 試験では、経口投与後の DMF 濃度は全動物種の全測定時点で LLOQ 未満であったことから、DMF は全身循環前に MMF に速やかに加水分解されることが示唆された。以前の論文報告では、経口投与後の DMF は、小腸上部の塩基性 pH 環境、特にエステラーゼを含む体液中では、MMF に速やかに加水分解されることも示されている（Werdenberg et al., 2003、Litjens et al., 2004）。その後 MMF はフマル酸に更に代謝され、TCA 回路に入る（Werdenberg et al., 2003）。エステル結合の切断は、エステラーゼ、主にカルボキシルエステラーゼ及びコリンエステラーゼにより触媒される可能性が高いが、膵エステラーゼの関与は少ないと考えられる。In vivo 投与後に DMF は血漿中から検出されないため、入手可能な PK 情報はすべて MMF 及びその代謝物に関するもののみである。

DMF の薬物動態は、MMF を解析することにより、ラット及びイヌで評価された。TK 試験はマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルで実施した（[M2.6.6]）。MMF の曝露量は、血漿のほか、尿、糞中、皮膚、肝臓、腎臓、脳等の他の体液及び組織でも評価した。DMF の ADME プロファイリングはラットで行った。MMF に加えて代謝経路下流の代謝物（フマル酸、メタノール等）の濃度を複数の非臨床試験で測定した。

MMF として測定した DMF は急速に吸収され、消失も速やかであり、終末相半減期はラット及びイヌで 1 時間未満であった。全身曝露量（AUC 及び C_{max}）は全動物種で用量とともに増加し、増加は全般的に用量比例的であった。PK の性差はラットにのみ認められ、雌の曝露量は雄の最大 2 倍高かった。DMF を反復投与したときの薬物動態は、1 日 1 回及び 1 日 2 回（イヌのみ）投与の TK データから評価した。全動物種の全用量で蓄積はないか又は低かった（2 倍未満）。

ヒトでは、BG00012 の単回投与及び反復投与時の PK プロファイルは、いずれも大きな個体間変動及び不規則な形状を示した（[M2.7.2]）。小腸の in vitro 灌流液又はホモジネートのいずれでも、フマル酸への代謝を示すような MMF の有意な減少（検出範囲内）は認められなかった（Werdenberg D et al, 2003）。外科的に植え込んだポートを用いて、イヌの二指腸、空腸、回腸又は結腸の各部位に DMF を直接単回投与すると、MMF の曝露量は十二指腸及び空腸でわずかに高かった。腸の各部位は、イヌ及びヒトのいずれも pH 5～7 の範囲にあり（Kararli et al., 1995）、この pH 範囲では、モノカルボン酸エステル（pKa が約 3 の範囲）である MMF は主に負に荷電したイオン状態にあると推定され、MMF 曝露量に影響が生じるような変動はみられないと考えられる。以上より、MMF の薬物動態における高い変動性及び不規則性を決定する主な因子は、製剤の特性（多数の腸溶性コーティングマイクロ錠を充填したカプセル剤）と相まった、胃内容排出時間及び消化管通過時間の個体差及び周期的変動であると考えられる。

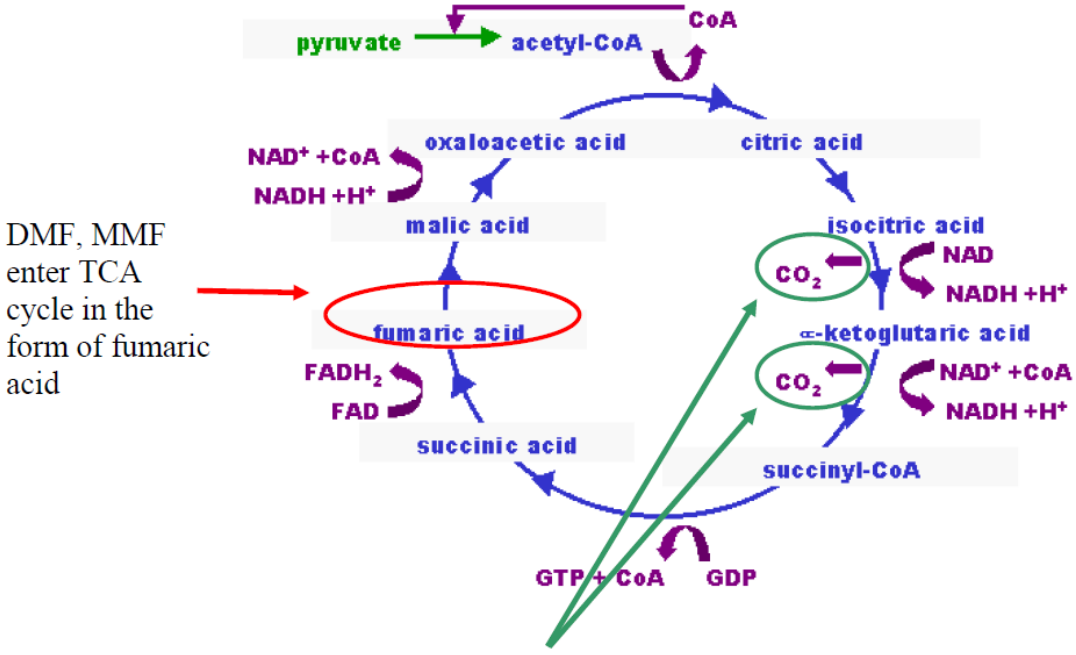
^{14}C-DMF はラットに経口投与すると速やかに吸収され、広範囲に分布した。放射能の最高濃度到達時間は、生殖器周囲脂肪を除く全組織で、初回サンプリング時点の投与 0.5 時間後であった。

消化管以外での最高濃度は、排泄器官、腺組織及び脳で観察された。最終サンプリング時点の投与 72 時間後において、全組織で放射能が検出された。明確な性差は認められず、またメラニン選択的結合性の徴候も認められなかった。

^{14}C-DMF の主な排泄経路は、CO_2 の呼気、次いで尿である。尿中に排泄された未変化体は投与量の 0.2%未満であったことから、^{14}C-DMF は吸収後高度に代謝されたことが示された。ラットの主な尿中放射能成分は、コハク酸モノ及びジメチルのシステイン又は N-アセチルシステイン抱合体であった。Fumaderm®（DMF 及び 3 種類のフマル酸モノエチル塩）投与乾癬患者からも同じ抱合体が検出されたことが最近報告されている（Rostami-Yazdi et al., 2009）。グルコースは雌雄ラットの主な血漿中放射能成分であり、雌雄のいずれでも血漿抽出画分の総放射能の約半数を占めた。その他の主な血漿中放射性代謝物は、フマル酸及びクエン酸であった。代謝プロファイルに明確な性差は認められなかった。ヒトで同定された代謝物はすべてラットでも検出された（[M2.7.2]）。

特に注目すべき点は、DMF は処理能力が高いエステラーゼによって代謝され、生体内に広く分布し、よく知られている TCA 回路に MMF 又は DMF ではなくフマル酸が入って内因性の代謝物を生成することである（図 9）。

図 9　DMF 及び MMF の TCA 回路への組込み並びに CO_2 産生



Production of CO_2 in the TCA cycle

GTP：グアノシン三リン酸、FAD：フラビンアデニンジヌクレオチド、NAD：ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
Data source：Krebs Cycle/TCA Cycle Public Domain

ラット及びイヌに DMF を投与したとき、総フマル酸濃度は、全測定時点で生理的濃度の範囲内のままであった。この結果から、フマル酸は比較的速やかに CO_2 に代謝され、呼気を介して排泄さ

れたことが示唆された。

2.6.4.10 図表

図表は本文中に示している。

2.6.4.11 参考文献

Litjens NH, van Strijen E, van Gulpen C, et al. In vitro pharmacokinetics of anti-psoriatic fumaric acid esters. BMC Pharmacol 2004; 4: 22. [M4.3-63]

Rostami-Yazdi M, Clement B, Schmidt TJ, et al. Detection of metabolites of fumaric acid esters in human urine: implications for their mode of action. J Invest Dermatol 2009; 129(1): 231-234. [M4.3-79]

Werdenberg D, Joshi R, Wolffram S, et al. Presystemic metabolism and intestinal absorption of antipsoriatic fumaric acid esters. Biopharm Drug Dispos 2003; 24(6): 259-273. [M4.3-103]

テクフィデラカプセル 120mg
テクフィデラカプセル 240mg

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

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧 3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 4
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 6
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 9
2.6.5.5 薬物動態試験：局所吸収 10
2.6.5.6 薬物動態試験：組織分布 11
2.6.5.7 薬物動態試験：蛋白結合 14
2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 15
8A 胎児移行性 15
8B 胎児移行性 16
8C 乳汁移行性 17
2.6.5.9 薬物動態試験：その他の分布試験 17
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝 In vitro 18
2.6.5.11 薬物動態試験：代謝 In vivo 19
2.6.5.12 薬物動態試験：推定代謝経路（ラット） 20
2.6.5.13 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害 21
2.6.5.14 薬物動態試験：累積排泄 22
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 23
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 23

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧

一覧表

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
吸収 /薬物動態							
単回投与	MMF/MMF-Ca塩	ラット	強制経口	非適用	[redacted]	9217/95	参考 [M4.2.2.2-1]
単回投与	MEF/DMF/Fumaderm-Forte	ラット	強制経口	非適用	[redacted]	6072a/90	参考 [M4.2.2.2-2]
単回投与	[^{14}C]DMF	ラット	強制経口 静脈内	非適用	[redacted]	5615-554/5	参考 [M4.2.2.2-3]
単回投与	DMF	イヌ	経口カプセル	非適用	[redacted]	P00012-05-06	参考 [M4.2.2.7-3]
単回投与	DMF	イヌ	経口カプセル	非適用	[redacted]	P00012-04-15	参考 [M4.2.2.7-2]
単回投与	MEF/DMF/Fumaderm-Forte	イヌ	経口カプセル	非適用	[redacted]	6072b/90	参考 [M4.2.2.2-4]
局所吸収	DMF	イヌ	腸ポート	非適用	[redacted]	P00012-04-09	参考 [M4.2.2.7-1]
分布、代謝及び排泄							
吸収、分布、代謝、排泄	[^{14}C]DMF	ラット	強制経口	非適用	[redacted]	P00012-07-03	参考 [M4.2.2.2-5]
血漿蛋白結合	MMF	ラット、イヌ、サル、ヒト	In vitro	非適用	Biogen Inc	P00012-10-05	参考 [M5.3.2.1-2]
代謝	[^{14}C]DMF	ラット、サル及びヒト肝細胞 マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム	In vitro	非適用	Biogen Inc	P00012-12-04	参考 [M4.2.2.4-1]
代謝	[^{14}C]DMF/[^{14}C]MMF /[^{14}C]Fumaric acid	ニワトリフマル酸ヒドラターゼ（フマラーゼ）	In vitro	非適用	Biogen Inc	P00012-12-07	参考 [M4.2.2.4-2]

DMF：BG00012、フマル酸ジメチル、MMF：フマル酸モノメチル、MEF：フマル酸モノエチル、[redacted]：[redacted]
PK パラメーターは、BG00012 の一次代謝物の MMF の結果を示し、それ以外の場合は測定対象を明記した。

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

動物種/生体試料（抗凝固剤）	測定対象	測定範囲	測定系	使用分析法、試験番号	分析法の精度、真度	GLP 適用	バリデーション試験番号	CTD における記載箇所
マウス/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有、P00012-04-02	15%以内	適	EBA00007LO	参考 [M4.2.2.1-1]
マウス/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有、P00012-05-03	15%以内	適	EBA00035LX	参考 [M4.2.2.1-2]
ラット/血漿	MMF	0.05~400 μg/mL, LOD = 0.010 μg/mL	PPE-LLE, HPLC-UV	有、9217/95	5%以内	非適用	9217/95	参考 [M4.2.2.2-1]
ラット/尿	MMF	10~500 μg/mL, LOD = 2.94 μg/mL	LLE, HPLC-UV	有、9217/95	5~10%以内	非適用	9217/95	参考 [M4.2.2.2-1]
ラット/糞	MMF	5.0~250 μg/g, LOD = 1.48 μg/g	PPE-LLE, HPLC-UV	有、9217/95	10%以内	非適用	9217/95	参考 [M4.2.2.2-1]
ラット/組織：肝、腎、皮膚	MMF	1.0~50 μg/g, LOD = 0.32（肝）, 0.78（腎）, 0.16（皮膚） μg/g	PPE-LLE, HPLC-UV	有、9217/95	5%以内	非適用	9217/95	参考 [M4.2.2.2-1]
ラット/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有、P00012-04-01	15%以内	適	EBAL-AD03	参考 [M4.2.2.1-3]
ラット/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有、P00012-04-06、P00012-04-11	15%以内	適	EBA00030LX	参考 [M4.2.2.1-4]
ラット/血漿（K_2EDTA）	methotrexate	0.001~1 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有	15%以内	適	07588VSMB	参考 [M4.2.2.1-5]
イヌ/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有、P00012-05-02	15%以内	適	EBA00070LX	参考 [M4.2.2.1-6]
イヌ/血漿（ヘパリンナトリウム）	MMF	0.05~5 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有、P00012-04-05	15%以内	適	EBA00013LA	参考 [M4.2.2.1-7]
カニクイザル/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 μg/mL	PPE, LC-MS/MS	有、P00012-05-08	15%以内	適	EBA00203LX	参考 [M4.2.2.1-8]

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

動物種/生体試料（抗凝固剤）	測定対象	測定範囲	測定系	使用分析法、試験番号	分析法の精度、真度	GLP 適用	バリデーション試験番号	CTD における記載箇所
カニクイザル/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.0500~5 µg/mL	PPE, LC-MS/MS	無	15%以内	適	6343-032210	参考 [M4.2.2.1-9]
カニクイザル/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 µg/mL	PPE, LC-MS/MS	無	15%以内	適	6441-070710	参考 [M4.2.2.1-10]
カニクイザル/血漿（K_2EDTA）	methotrexate	0.0005~1 µg/mL	SPE, LC-MS/MS	有	15%以内	適	07464VSMB	参考 [M4.2.2.1-11]
カニクイザル/全血（オキザロ酢酸カリウム、フッ化ナトリウム）	メタノール	5.0~200 µg/mL	GC-FID	有 、P00012-05-08		非適用	NMS#2836/EN-ALC04	参考 [M4.2.2.1-12]
カニクイザル/血清	ギ酸	1.0~100 µg/mL	イオン交換クロマトグラフィー	有 、P00012-05-08		非適用	NMS#2134/HP-IFA02	参考 [M4.2.2.1-13]
ウサギ/血漿（ヘパリンリチウム）	MMF	0.05~5 µg/mL	PPE, LC-MS/MS	有 、P00012-06-01	15%以内	適	EBA00204LX	参考 [M4.2.2.1-14]

MMF：フマル酸モノメチル、LOD：検出限界、PPE：タンパク質沈殿抽出、LLE：液-液抽出、SPE：固相抽出、GC-FID：水素炎イオン化検出式ガスクロマトグラフィー、LC-MS/MS：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析、HPLC-UV：紫外検出式高速液体クロマトグラフィー、K_2EDTA：エチレンジアミン四酢酸二カリウム

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

試験番号	9217/95[a]				6072a/90[b]				5615-554/5			
CTD における記載箇所	参考[M4.2.2.2-1]				参考[M4.2.2.2-2]				参考[M4.2.2.2-3]			
動物種、系統	ラット、Sprague-Dawley (SD)				ラット、Sprague-Dawley (SD)				ラット、Long-Evans			
性別 (雄：雌)/動物数：	雄/30		雌/30		雄/2、雌/2				雄/12	雄/12	雌/12	雌/12
給餌：	絶食		絶食		絶食				自由摂取			
被験物質：	MMF	MMF-Ca塩	MMF	MMF-Ca 塩	Fumaderm	DMF	Fumaderm	MEF	^{14}C-DMF	^{14}C-DMF	^{14}C-DMF	^{14}C-DMF
溶媒/投与形態：	懸濁液		懸濁液		懸濁液		懸濁液		懸濁液	溶液	懸濁液	溶液
投与方法：	強制経口		強制経口		強制経口		強制経口		強制経口	静脈内	強制経口	静脈内
投与量	100 mg/kg		100 mg/kg		16.7 mg/kg		16.7 mg/kg		11.50 mg/kg	10.66 mg/kg	10.42 mg/kg	11.04 mg/kg
試料（全血、血漿、血清その他）	血漿		血漿		血漿		血漿		血漿	血漿	血漿	血漿
測定対象	MMF		MMF		MMF		MEF		総放射能 (^{14}C)	総放射能 (^{14}C)	総放射能 (^{14}C)	総放射能 (^{14}C)
測定法	HPLC/UV		HPLC/UV		HPLC/UV		HPLC/UV		LSC	LSC	LSC	LSC
PK パラメーター:												
t_{max} [h] [c]	0.25	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.25	0.56	0.07	0.62	0.05
C_{max} [µg/mL] [c]	69.9	51.3	84.4	107.0	8.99	7.24	13.20	10.88	12.86	23.42	10.43	36.39
$AUC_{0\text{-}inf}$ [µg·h/mL] [c]	25.5	31.3	42.6	37.3	2.4 [e]	2.4 [e]	4.6 [e]	3.3 [e]	144.0	109.1	165.5	143.45
終末相 $t_{1/2}$ [h] [c]	1.34 [d]	1.34 [d]	1.34 [d]	1.34 [d]	0.148	0.168	0.178	0.150	41.7	55.7	38.7	44.5

Data source：M4.2.2.2-1 9217/95-Table 1、M4.2.2.2-2 6072a/90-RESULTS, Table 2, Table 4, Table 7, Table 9

[a] 各 PK パラメーターの算出及びデータ解析に 2-コンパートメント法を用いた。

[b] 雌雄別には分析されなかった。[c] 平均値、[d] $t_{1/2}$ β、[e] 報告値は AUC_{last}、

MMF：フマル酸モノメチル、DMF：フマル酸ジメチル、MEF：フマル酸モノエチル、HPLC/UV：紫外検出式高速液体クロマトグラフィー、LC/MS/MS：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析、LSC：液体シンチレーション計数

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

試験番号	P00012-05-06					
CTD における記載箇所	参考[M4.2.2.7-3]					
動物種、系統	イヌ、ビーグル					
性別 (雄：雌)/動物数：	雄/4					
給餌：	絶食					
被験物質：	DMF（市販製剤）	DMF（DMF1）	DMF（DMF2）	DMF（DMF3	DMF（DMF5）	DMF（DMF6）
溶媒/投与形態：	カプセル	カプセル ERCL15%、ECL10%	カプセル ERCL20%、ECL10%	カプセル） ERCL25%、ECL10%	カプセル ERCL15%、ECL5%	カプセル ERCL15%、ECL0%
投与方法：	経口	経口	経口	経口	経口	経口
投与量	75 mg	75 mg	75 mg	75 mg	75 mg	75 mg
試料（全血、血漿、血清 その他）	血漿	血漿	血漿	血漿	血漿	血漿
測定対象	MMF	MMF	MMF	MMF	MMF	MMF
測定法	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK パラメーター:						
t_{max} [hr] [a]	1.00	4.00	4.75	4.50	4.25	3.25
C_{max} [µg/mL] [b]	6.16	0.701	0.478	0.631	1.01	0.607
$AUC_{0\text{-}inf}$ [µg·h/mL] [b]	7.91	4.20	3.42	5.05	4.31	4.68
終末相 $t_{1/2}$ [h] [b]	0.517	2.20	2.53	3.93	0.823	2.65

Data source：M4.2.2.7-3 P00012-05-06-Table 1
[a] 中央値
[b] 平均値
ERCL：徐放性コーティングレベル、ECL：腸溶性コーティングレベル、MMF：フマル酸モノメチル、DMF：フマル酸ジメチル、LC/MS/MS：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

試験番号	P00012-04-15				6072b/90[a]			
CTD における記載箇所	参考[M4.2.2.7-2]				参考[M4.2.2.2-4]			
動物種、系統	イヌ、ビーグル				イヌ、ビーグル			
性別 (雄：雌)/動物数：	雄/4	雄/4	雄/2	雄/2	雄/2、雌/2			
給餌：	絶食	絶食	絶食	絶食	絶食			
被験物質：	DMF	DMF	DMF	DMF	Fumaderm	DMF	Fumaderm	MEF
溶媒/投与形態：	カプセル	カプセル	カプセル	カプセル	カプセル		カプセル	
投与方法：	経口	経口	経口	経口	経口		経口	
投与量	5 mg/kg	50 mg/kg	75 mg/kg	100 mg/kg	16.7 mg/kg		16.7 mg/kg	
試料（全血、血漿、血清 その他）	血漿	血漿	血漿	血漿	血漿		血漿	
測定対象	MMF	MMF	MMF	MMF	MMF		MEF	
測定法	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	HPLC/UV		HPLC/UV	
PK パラメーター:								
t_{max} [hr] [b]	1.75	1.25	1.00	2.25	2.00	2.00	1.00	0.75
C_{max} [µg/mL] [c]	3.47	19.6	34.4	38.8	10.5	5.8	11.8	10.2
$AUC_{0\text{-}last}$ [µg·h/mL] [b]	5.92	46.5	50.5	95.7	17.3	11.6	14.9	9.3
終末相 $t_{1/2}$ [h] [b]	0.676	1.20	0.962	0.834	0.670	1.42	0.598	0.598

Data source：M4.2.2.7-2 P00012-04-15-Table 1、M4.2.2.2-4 6072b/90-RESULTS, Table 3, Table 5, Table 8, Table 10

[a] 雌雄別には分析されなかった。

[b] 中央値

[c] 平均値

MMF：フマル酸モノメチル、DMF：フマル酸ジメチル、MEF：フマル酸モノエチル、HPLC/UV：紫外検出式高速液体クロマトグラフィー、LC/MS/MS：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析、NR：データの報告なし

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

被験物質：フマル酸ジメチル

DMF 及び MMF を反復投与したときの薬物動態試験は実施していないが、マウス、ラット及びサルの反復投与毒性試験で MMF の TK データ（AUC 及び C_{max}）が得られている（2.6.6 参照）。その結果、全動物種で用量とともに増加し、増加は全般的には用量比例的であった。全動物種の全用量で累積はないか又は低かった（2 倍未満）。

2.6.5.5 薬物動態試験：局所吸収

被験物質：フマル酸ジメチル

試験番号	P00012-04-09
CTD における記載箇所：	参考[M4.2.2.7-1]
試験の種類：	本試験の目的は、雄ビーグル犬に埋め込んだ腸ポートより十二指腸、空腸、回腸及び結腸に直接 DMF 5 mg/kg を単回投与したときの DMF とその代謝物である MMF の曝露量を比較検討することであった。
方法：	ビーグル犬 8 例にそれぞれ十二指腸、空腸、回腸及び結腸のうち 2 部位に下表に示したようにカテーテルを埋め込み、5 mg/kg の DMF を腸ポート 1 から投与後 48～72 時間後、ポート 2 から同用量を投与した。

投与	動物数（n）	被験物質	投与部位	投与量（mg/kg）
1	8	DMF	腸ポート 1	5.0
2	8		腸ポート 2	5.0

群番号	腸ポート 1	腸ポート 2
1	十二指腸	回腸
2	十二指腸	空腸
3	十二指腸	結腸
4	回腸	空腸
5	回腸	結腸
6	空腸	結腸
7	十二指腸	回腸
8	空腸	結腸

結果一覧：

DMF 濃度はすべて LLOQ 未満であったため、薬物動態解析は MMF でのみ行った。

5 mg/kg の用量でフマル酸ジメチルをビーグル犬に投与した後の各腸管部位の薬物動態パラメーターの平均値（±標準偏差）

	$AUC_{0\text{-}inf}$ (μg·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	C_{max} (μg/mL)
十二指腸	4.44 ± 0.681	0.653 ± 0.115	5.43 ± 0.810
空腸	4.13 ± 0.485	0.720 ± 0.128	5.10 ± 1.14
回腸	4.13 ± 1.61	0.664 ± 0.121	3.33 ± 0.898
結腸	3.32 ± 0.447	0.679 ± 0.112	3.490 ± 0.695

Data source：M4.2.2.7-1 P00012-04-09-Table 1
DMF：フマル酸ジメチル、LLOQ：定量下限、MMF：フマル酸モノメチル

追記：DMF を経口投与すると、MMF への変換及び循環血中への吸収の大部分は十二指腸及び空腸で起こり、残りの吸収は回腸又は結腸で起こる。

2.6.5.6 薬物動態試験：組織分布

被験物質：フマル酸ジメチル
CTD における記載箇所：参考[M4.2.2.2-5]
試験番号：P00012-07-03

動物種	ラット/Long Evans										
性別（雄/雌）/動物数	血液及び組織：15/15、尿、糞、呼気及び死体：3/3										
給餌	絶食										
溶媒/投与形態	経口液剤/0.5% カルボキシメチルセルロース										
投与方法	強制経口										
投与量（mg/kg）	10										
放射性核種	^{14}C-DMF										
比放射能	約 100 μCi/kg , 3700000 Bq/kg=3700 Bq/mg										
計測時間	0.5, 4, 8, 24 及び 72 時間										
	臓器及び組織中放射能濃度（ng ^{14}C-DMF eq/g）、組織/血漿濃度比										
組織/器官	0.5 h		4 h		8 h		24 h		72 h		$t_{1/2}$ (h)
	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	
雌ラット											
副腎	5130	0.634	4580	2.24	4150	3.23	2900	3.97	2360	5.19	161
膀胱	7500	0.928	1810	0.888	1030	0.806	894	1.23	1190	2.61	NC
大腿骨（両方）	3630	0.450	2170	1.05	1780	1.39	1280	1.76	585	1.29	40.4
骨髄（両方）	6280	0.774	4760	2.37	5580	4.37	3650	5.03	1150	2.55	28.3
脳	16800	2.09	5200	2.53	3630	2.84	2720	3.74	1850	4.08	69.6
眼（両方）	6870	0.851	2060	0.990	965	0.753	812	1.12	468	1.03	61.1
生殖器周囲脂肪	691	0.0869	675	0.325	960	0.762	1010	1.40	616	1.37	67.3
心臓	8480	1.06	4640	2.21	5710	4.49	3680	5.07	2160	4.79	48.7
腎臓	46300	5.76	11300	5.48	7720	6.05	5340	7.36	2730	6.04	44.1
大腸（盲腸を含む）	7400	0.925	7710	0.411	3630	2.85	1870	2.57	739	1.63	20.0
大腸内容物/洗浄液	275		892		569		51.0		9.63		29.4
肝臓	20400	2.52	7780	3.78	6800	5.33	4750	6.55	2720	6.06	50.6
肺	6740	0.835	2980	1.45	2360	1.85	1680	2.31	1100	2.45	61.8
リンパ節（腸間膜）	8620	1.08	3310	1.64	3210	2.49	2170	2.99	1160	2.58	45.5
筋肉（大腿部）	3070	0.383	1170	0.564	825	0.646	554	0.761	459	1.01	87.2
卵巣	8110	1.00	3350	1.64	3830	2.99	2860	3.92	861	1.89	29.2

2.6.5.6 薬物動態試験：組織分布（続き）

被験物質：フマル酸ジメチル
CTD における記載箇所：M4.2.2.2-5
試験番号：P00012-07-03

組織/器官	0.5 h		4 h		8 h		24 h		72 h		$t_{1/2}$ (h)
	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	
膵臓	19500	2.44	7470	3.70	3330	2.61	1840	2.53	1270	2.82	89.7
血漿	8130	1.00	2090	1.00	1280	1.00	728	1.00	454	1.00	47.1
唾液腺	12300	1.53	9710	4.72	4760	3.70	1810	2.49	1060	2.35	62.2
皮膚（非色素上皮）	6240	0.774	2350	1.13	1310	1.04	1520	2.10	726	1.59	45.0
皮膚（色素上皮）	6580	0.811	3470	1.67	2140	1.68	2290	3.19	832	1.81	32.9
小腸	15300	1.90	7860	3.81	5380	4.21	2880	3.96	670	1.48	21.6
小腸内容物/洗浄液	5350		1590		194		192		23.8		19.7
脾臓	8240	1.03	4300	2.07	3410	2.66	2570	3.52	1580	3.50	59.8
胃	28700	3.54	11300	5.59	10400	8.12	7040	9.78	1990	4.40	26.7
胃内容物/洗浄液	381		66.7		36.1		10.1		0.00		7.69
胸腺	9640	1.20	7840	3.77	7450	5.83	4900	6.77	2320	5.13	39.3
甲状腺	4650	0.578	2990	1.47	2470	1.94	2010	2.77	1320	2.91	72.6
子宮	9980	1.23	4130	1.99	3090	2.41	2040	2.82	1100	2.49	45.1
雄ラット	0.5 hr		4 hr		8 hr		24 hr		72 hr		$t_{1/2}$ (hr)
副腎	5020	0.659	4970	2.33	4790	3.51	3980	6.32	2160	6.08	55.4
膀胱	7510	0.978	1730	0.810	1720	1.24	1170	1.87	895	2.54	75.8
大腿骨（両方）	4470	0.585	2570	1.20	2420	1.76	1670	2.66	872	2.42	45.0
骨髄（両方）	6130	0.803	5340	2.50	5340	3.90	3580	5.70	1090	3.10	27.9
脳	16600	2.17	5560	2.62	3450	2.52	2510	3.99	1780	5.00	72.2
眼（両方）	6560	0.858	1720	0.808	974	0.710	752	1.19	464	1.30	61.7
生殖器周囲脂肪	660	0.0859	600	0.280	704	0.515	1010	1.61	773	2.16	124
心臓	7470	0.976	3020	1.42	2940	2.18	2110	3.35	1390	4.04	63.0
腎臓	33200	4.33	10600	4.98	7030	5.14	4720	7.51	2690	7.61	48.6
大腸（盲腸を含む）	6730	0.880	6400	0.516	3870	2.82	1550	2.45	711	2.00	29.1
大腸内容物/洗浄液	207		1120		580		59.3		18.9		28.7
肝臓	21200	2.77	8770	4.11	8170	5.98	5660	8.99	2750	7.76	41.9

2.6.5.6 薬物動態試験：組織分布（続き）

被験物質：フマル酸ジメチル
CTD における記載箇所：M4.2.2.2-5
試験番号：P00012-07-03

組織/器官	0.5 h		4 h		8 h		24 h		72 h		$t_{1/2}$ (h)
	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	放射能濃度	血漿濃度比	
肺	5780	0.758	3030	1.42	2230	1.63	1540	2.45	1020	2.86	60.9
リンパ節（腸間膜）	7280	0.955	3680	1.73	2910	2.13	1910	3.04	1120	3.16	49.4
筋肉（大腿部）	3090	0.405	1280	0.595	998	0.731	855	1.36	566	1.56	78.8
膵臓	18200	2.37	9380	4.41	2880	2.09	2070	3.29	1070	3.00	46.0
血漿	7660	1.00	2140	1.00	1370	1.00	629	1.00	363	1.00	37.3
唾液腺	13300	1.75	7950	3.71	4600	3.37	1790	2.84	1020	2.84	33.3
皮膚（非色素上皮）	6780	0.885	3150	1.47	2900	2.14	2460	3.91	1560	4.34	71.9
皮膚（色素上皮）	7320	0.954	3630	1.70	2620	1.91	2820	4.48	1930	5.39	87.7
小腸	15900	2.08	7460	3.50	4810	3.52	2730	4.34	639	1.79	22.2
小腸内容物/洗浄液	5120		1120		199		156		23.4		19.9
脾臓	8340	1.09	4200	1.97	3460	2.52	2630	4.18	1470	4.17	53.0
胃	29400	3.83	11600	5.46	11600	8.51	7500	11.9	1850	5.20	24.1
胃内容物/洗浄液	364		70.2		33.8		21.7		3.56		19.4
精巣	4100	0.535	2710	1.27	2110	1.54	1540	2.45	1100	3.09	73.4
胸腺	8310	1.09	6070	2.84	5430	3.97	3840	6.10	2320	6.56	54.8
甲状腺	5240	0.688	3060	1.44	2650	1.94	1840	2.94	1100	3.02	53.2

Data source：M4.2.2.2-5 P00012-07-03- text-Table 3、text-Table 4、text-Table 8、text-Table 9、text-Table 10、text-Table 11、Appendix 5-Table 5-1、Appendix 5-Table 5-4
BQ：ベクレル、eq：当量、NC：計算していない

追記：^{14}C-DMF は経口投与後急速に吸収されて広範囲に分布し、生殖器周囲脂肪を除く全組織で初回サンプリング時点の投与 0.5 時間後に最高値に達した。最終サンプリング時点の 72 時間後の最終採取時でも全組織に放射能が検出された。性差は認められず、またメラニンとの結合性も認められなかった。

2.6.5.7 薬物動態試験：蛋白結合

被験物質：MMF

試験番号	P00012-10-05			
CTD 中の記載箇所	参考[M5.3.2.1-2]			
試験系	In vitro			
対象物、試験方法	血漿、平衡透析			
	非結合型（%）			
試験濃度（nM）	ラット	イヌ	サル	ヒト
50	112.8	78.7	98.1	66.1
500	101.6	76.0	90	55.1
5000	104.6	77.2	103.5	58.9

Data Source：M5.3.2.1-2 P00012-10-05-Table 4
MMF：フマル酸モノメチル

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

8A 胎児移行性

被験物質：MMF

試験番号: P00012-06-02	CTD における記載箇所: [M4.2.3.5.2-1]、M2.6.6.6.3		
動物種	ラット/Crl:CD (SD)		
溶媒/投与形態	経口液剤		
投与方法	強制経口		
定量（対象）物質	MMF		
定量法	LC-MS/MS		
試料採取日	DG18 投与終了後 30 分		
分析動物数	3	3	3
投与期間	DG 7~DG 18		
投与量 (mg/kg)	25	100	250
平均濃度/用量:			
母体血漿 (μg/mL)	4.380 ± 1.696	21.067 ± 3.436	63.100 ± 17.952
胎児血漿 (μg/mL)	2.438 ± 0.373	13.408 ± 8.750	30.150 ± 11.174
胎児/母体比	0.56	0.64	0.48
Data source：M4.2.3.5.2-1 P00012-06-02-APPENDIX G-Table 4 MMF：フマル酸モノメチル、LC-MS/MS：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析、DG：妊娠日齢			

8B 胎児移行性

被験物質：MMF

試験番号: P00012-06-01	CTD における記載箇所: [M4.2.3.5.2-2]、M2.6.6.6.4、		
動物種	ウサギ/New Zealand White [Hra:(NZW)SPF]		
溶媒/投与形態	経口液剤		
投与方法	胃管		
定量（対象）物質	MMF		
定量法	PPE, LC-MS/MS		
試料採取日	DG19 投与終了後 30 分		
分析動物数	3	3	3
投与期間	DG 7~DG 19		
投与量 (mg/kg)	25	75	150
平均濃度/用量:			
母体血漿 (μg/mL)	10.460 ± 1.615	44.133 ± 7.654	86.767 ± 13.190
胎児血漿 (μg/mL)	1.417 ± 0.267	4.360 ± 1.270	11.575[a]
胎児/母体比	0.14	0.10	0.14

Data source：M4.2.3.5.2-2 P00012-06-01-APPENDIX G-Table 3
[a] 母動物 1 例は妊娠しておらず、胎児 2 例の血漿濃度より平均値を求めた。
MMF：フマル酸モノメチル、PPE：タンパク質沈殿抽出、LC-MS/MS：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析、DG：妊娠日齢

8C　乳汁移行性

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.9 薬物動態試験：その他の分布試験

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.10　　薬物動態試験：代謝　In vitro

被験物質：^{14}C-DMF

前臨床試験動物種及びヒト肝ミクロソーム及び肝細胞を用いて in vitro 代謝試験を実施した。フマラーゼを用いて DMF、MMF 及びフマル酸の in vitro 代謝試験を実施した。

試験番号	P00012-12-04		
CTD における記載箇所	参考[M4.2.2.4-1]、M2.6.4.5.1.1		
	DMF と肝細胞を 60 分間インキュベートしたときの比放射能（%）		
動物種	ラット	サル	ヒト
化合物			
未変化体（DMF）	ND	ND	ND
未知 1	4.4	ND	ND
グルコース	15.3	5.32	1.74
フマル酸	1.82	1.46	3.16
未知 2	13.4	7.97	9.33
MMF-GSH	1.79	2.18	2.32
MMF	50.8	83.1	82.4
DMF-GSH	12.4	ND	ND

Data source：M4.2.2.4-1 P00012-12-04-Table 3
DMF は非臨床動物種及びヒト肝ミクロソームで 10 分以内に速やかに代謝変換された。肝細胞浮遊培養系では、^{14}C-DMF は複数の経路を経て代謝された。ミクロソーム反応液では主として ^{14}C-MMF が速やかに生成されたが、^{14}C-DMF 及び ^{14}C-MMF のグルタチオン抱合体並びにその他の微量代謝物にも変換された。フマラーゼを用いた DMF、MMF 及びフマル酸の in vitro 試験では、非臨床動物種及びヒトで、MMF でも DMF ではなくフマル酸のみが TCA 回路に入り、CO_2 及び水に代謝されることが示された。

2.6.5.11 薬物動態試験：代謝 In vivo

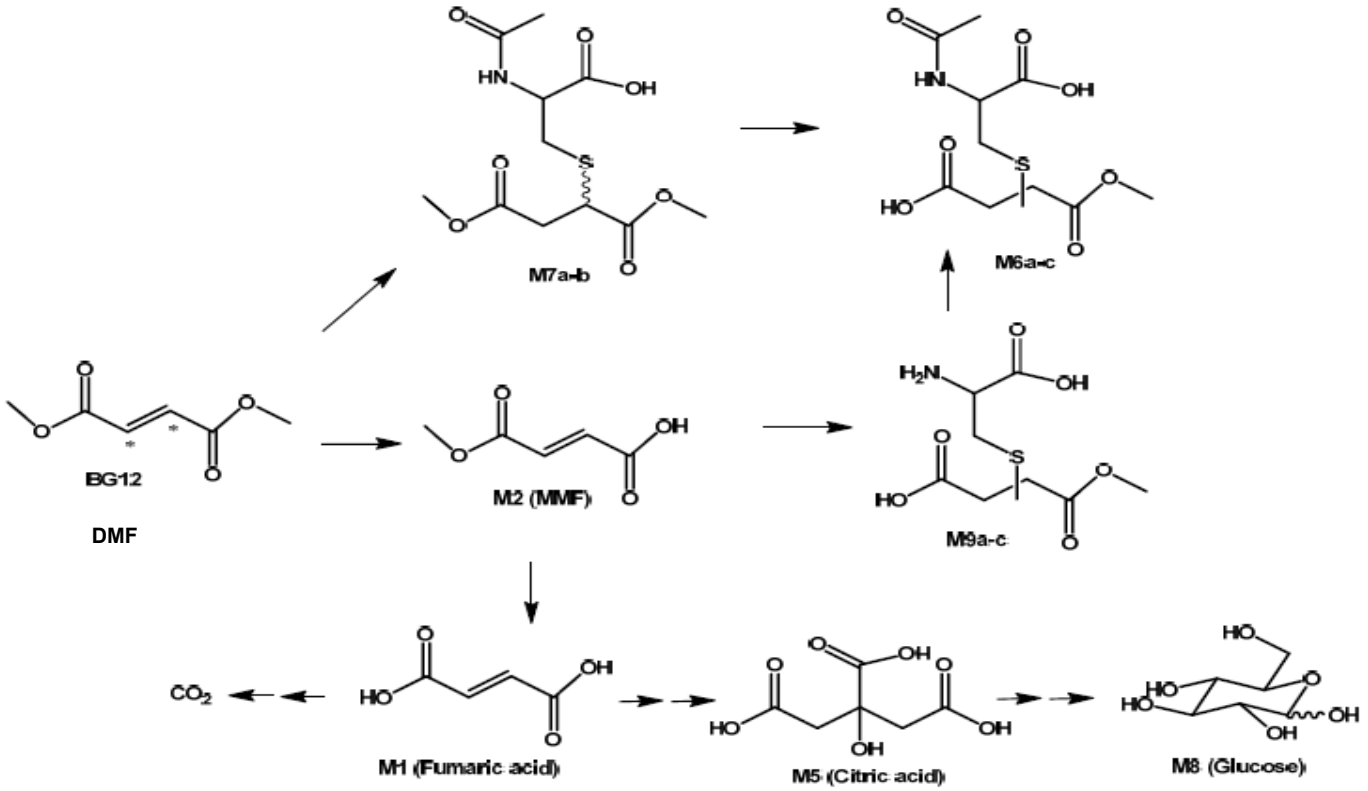
被験物質：フマル酸ジメチル
CTD における記載箇所：参考[M4.2.2.2-5]
試験番号：P00012-07-03

動物種		ラット/Long Evans									
性別（雄/雌）/動物数		血液及び血漿：15/15、尿及び呼気：3/3									
給餌		絶食									
溶媒/投与形態		経口液剤/0.5% カルボキシメチルセルロース									
投与方法		強制経口									
投与量（mg/kg）		10									
放射性核種		^{14}C-DMF									
比放射能		約 100 µCi/kg , 3700000 Bq/kg									
				試料中濃度（%）							
動物種/性別	試料	サンプリング時点又は期間	試料中放射能の投与量比	DMF	M1+M5	M2 (MMF)	M6 (a-c)	M7 (a-b)	M8	M9 (a-c)	CO_2
ラット/雄	血漿	0~72 時間	NA		30.1	0.16	NA	-	48.8	-	-
	尿	0~48 時間	20.8	0.15	-	1.69	6.20	3.06	-	1.21	-
	呼気	0~168 時間	60.9		-	-	-	-		-	60.9
ラット/雌	血漿	0~72 時間	NA		34.7	0.22	NA	-	47.6	-	-
	尿	0~48 時間	20.8	0.15	-	0.56	6.38	3.45	-	1.05	-
	呼気	0~168 時間	64.5		-	-	-	-		-	64.5
Data source：M4.2.2.2-5 P00012-07-03-text-Table 14, text-Table 15, Appendix 7-Table 12 Bq：ベクレル、DMF：フマル酸ジメチル、NA：該当せず、TCA：トリカルボン酸、MMF：フマル酸モノメチル											
追記：DMF の代謝は TCA 回路による。グルコース（M8）は雌雄ラットの主な血漿中放射能成分であった。その他の血漿中放射性標識代謝物はフマル酸（M1）、MMF（M2）及びクエン酸（M5）であった。コハク酸モノメチル及びジメチルの N-アセチルシステイン抱合体（M6a-c、M 7 a-b 及び M9a-c）はラットの主な尿中放射能成分であった。同様の代謝物がヒトでも観察された。											

2.6.5.12　　薬物動態試験：推定代謝経路（ラット）

被験物質：DMF

(*= ^{14}C 標識)



Data source：[M4.2.2.2-5] P00012-07-03-Appendix 7-Figure 33、[M5.3.3.1-5] 109HV102 Appendix 16.1.10.1-Figure 35

2.6.5.13　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害

ヒト肝細胞、肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒト CYP 酵素を用いて MMF の CYP 誘導及び阻害試験を実施した（詳細は M2.7.2 項参照）。

2.6.5.14　　薬物動態試験：累積排泄

被験物質：フマル酸ジメチル

被験物質	DMF						DMF					
動物種	ラット/ Long Evans						ラット/ Long Evans					
性別（雄/雌）/動物数	雌/3						雄/3					
給餌	絶食						絶食					
溶媒/投与形態	経口液剤						経口液剤					
投与方法	強制経口						強制経口					
投与量（mg/kg）	10						10					
定量（対象）物質	^{14}C-DMF						^{14}C-DMF					
定量法	^{14}C 放射能測定						^{14}C 放射能測定					
排泄経路	尿	糞	ケージ洗浄液	呼気	揮発性物質	総回収率	尿	糞	ケージ洗浄液	呼気	揮発性物質	総回収率
時間（0~T h）	総投与放射能に対する累積放射能排泄%						総投与放射能に対する累積放射能排泄%					
0~8	17.0			52.0	0.23	69.2	17.4			47.1	0.19	64.7
0~24	20.1	2.04	0.66	56.9	0.23	79.9	20.0	2.93	0.93	52.1	0.19	76.2
0~48	20.8	2.54	0.84	59.9	0.23	84.3	20.8	3.68	1.17	55.3	0.19	81.1
0~72	21.2	2.77	0.89	61.6	0.23	86.7	21.2	4.20	1.25	57.5	0.19	84.3
0~96	21.4	2.86	0.92	62.7	0.23	88.1	21.4	4.35	1.28	58.8	0.19	86.0
0~120	21.5	3.08	0.94	63.5	0.23	89.3	21.5	4.36	1.29	59.6	0.19	86.9
0~144	21.7	3.10	0.94	64.0	0.23	90.0	21.6	4.38	1.30	60.3	0.19	87.8
0~168	21.7	3.10	0.94	64.5	0.23	90.5	21.7	4.39	1.30	60.9	0.19	88.5
試験番号	P00012-07-03						P00012-07-03					
CTD 中の記載箇所	参考 M4.2.2.2-5						参考 M4.2.2.2-5					
Data source：[M4.2.2.2-5] P00012-07-03-text-Table 15, text- Table 14												
^{14}C-DMF 由来放射能の主な排出経路は呼気であり、^{14}C-DMF が $^{14}CO_2$ に完全に変換されたことが示された。投与量の 60.9%（雄）及び 64.5%（雌）が投与後 168 時間までの呼気中から回収された。放射能は尿及び糞中にも排出され、尿中への平均総排泄量は投与量の 21.7%（雌雄）であり、糞中への平均総排泄量の 4.39%（雄）及び 3.10%（雌）であった。投与後 168 時間で、と体中の放射能は投与量の 8.96%（雄）及び 6.92%（雌）であった。												

2.6.5.15　　薬物動態試験：薬物相互作用

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.16　　薬物動態試験：その他

該当する試験は実施しなかった。