TABLE OF CONTENTS

略語・略号一覧 4
1. まとめ 6
2. 分析法 11
3. 吸収 13
3.1. マウスでの吸収及び体内動態 13
3.2. ラットでの吸収及び体内動態 17
3.3. ウサギでの吸収及び体内動態 26
3.4. サルでの吸収及び体内動態 29
3.5. 動物での吸収及び体内動態の結論 32
4. 分布 33
4.1. マウスでの組織分布 33
4.2. In vitro 血漿タンパク結合 36
4.3. 胎盤移行 36
5. 代謝（動物種間比較） 38
5.1. 肝ミクロソームでの代謝 40
5.2. 肝細胞による代謝 41
5.3. 成熟及び若齢マウス並びに成人及び年少者での in vitro 代謝 43
5.4. In vivo 代謝 44
5.4.1. マウスでの in vivo 代謝 47
5.4.2. ラットでの in vivo 代謝 48
5.4.3. ウサギでの in vivo 代謝 49
5.4.4. サルでの in vivo 代謝 49
5.4.5. 代謝の動物種間比較のまとめ 50
6. 排泄 52
6.1. マウスでの排泄 52
6.2. ラットでの排泄 53
6.3. サルでの排泄 53
6.4. 乳汁排泄 54
6.5. 排泄試験の結論 54
7. 薬物動態学的薬物相互作用 55
7.1. CYP 分子種に対する基質性 55
7.2. CYP 阻害 55

7.3. CYP 誘導 56
7.4. P-gp との相互作用 57
7.5. その他の薬物トランスポーターとの相互作用 57
8. 考察及び結論 59
9. 参考文献 61

LIST OF TABLES

Table 1 アプレミラストの吸収、分布、代謝、排泄関連の試験一覧表 6
Table 2 [^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg をマウスに単回静脈内投与したときの未変化体及び総放射能の薬物動態パラメータ 17
Table 3 [^{14}C]-アプレミラスト 500 mg/kg をマウスに単回経口投与したときの未変化体及び総放射能の薬物動態パラメータ 17
Table 4 アプレミラストをラットに単回静脈内投与及び経口投与したときの薬物動態パラメータ 21
Table 5 アプレミラストを 6 日間 10 mg/kg 反復経口投与後、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を雌雄ラットに単回経口投与後の総放射能及び未変化体の薬物動態パラメータ 24
Table 6 微粉化又は粉砕化アプレミラスト懸濁液 25 mg/kg をラットに単回経口投与したときのアプレミラストの薬物動態パラメータ 25
Table 7 [^{14}C]-アプレミラストを雌ウサギに 1000 mg/kg 単回経口投与したときの薬物動態パラメータ 27
Table 8 妊娠ウサギにアプレミラスト 10 mg/kg を静脈内持続注入及び 250 mg/kg を経口投与したときのアプレミラスト及び CC-10007 の薬物動態パラメータ 28
Table 9 [^{14}C]-アプレミラストをサルに 1 mg/kg 単回静脈内投与したときの総放射能濃度の薬物動態パラメータ 30
Table 10 [^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 10 mg/kg 単回経口投与したときの未変化体の血漿薬物動態パラメータ 32
Table 11 [^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 10 mg/kg 単回経口投与したときの総放射能の薬物動態パラメータ 32
Table 12 [^{14}C]-アプレミラスト 500 mg/kg を雌雄アルビノマウスに単回経口投与したときの組織中放射能濃度 34
Table 13 アプレミラスト代謝物の命名 39
Table 14 肝ミクロソームによる[^{14}C]-アプレミラストの in vitro 代謝 41
Table 15 肝細胞による[^{14}C]-アプレミラストの代謝 42
Table 16 [^{14}C]-アプレミラストをヒト及びマウス肝ミクロソーム並びにヒト肝細胞とインキュベートすることにより生成した放射性代謝物の割合（%） 44

Table 17 [^{14}C]-アプレミラストを経口投与したときの in vivo 代謝の動物種間比較 –血漿中放射能組成 45
Table 18 [^{14}C]-アプレミラストを経口投与したときの in vivo 代謝の動物種間比較–排泄物中放射能組成 46
Table 19 アプレミラスト及び代謝物 M3、M7、M12、M17 のマウス及びサルの対ヒト推定曝露量比 51
Table 20 [^{14}C]-アプレミラストを動物及びヒトに単回投与したときの放射能排泄率 52

LIST OF FIGURES

Figure 1 アプレミラスト及び CC-10007 の化学構造式 6
Figure 2 [^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg をマウスに単回静脈内投与したときの（A）血漿中未変化体濃度及び（B）血漿中及び血液中放射能濃度推移 15
Figure 3 [^{14}C]-アプレミラスト 500 mg/kg をマウスに単回経口投与したときの（A）血漿中未変化体濃度及び（B）血漿中及び血液中放射能濃度推移 16
Figure 4 ラセミ体（CC-7085）、アプレミラスト又は CC-10007 を雄ラットに（A）5 mg/kg 単回静脈内投与及び（B）50 mg/kg 単回経口投与したときの血漿中 CC-7085 濃度推移 19
Figure 5 CC-7085、アプレミラスト又は CC-10007 を雌ラットに（A）5 mg/kg 単回静脈内投与及び（B）10 mg/kg 単回経口投与したときの血漿中 CC-7085 濃度推移 20
Figure 6 [^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を雌雄ラットに単回経口投与したときの（A）血漿中総放射能濃度及び（B）CC-7085 濃度推移 22
Figure 7 アプレミラストを 6 日間 10 mg/kg 反復経口投与後、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を雌雄ラットに単回経口投与後の（A）血漿中総放射能濃度及び（B）CC-7085 濃度推移 23
Figure 8 微粉化又は粉砕化アプレミラスト懸濁液 25 mg/kg をラットに単回経口投与したときの血漿中未変化体濃度推移 25
Figure 9 アプレミラスト 10 mg/kg を妊娠 8 日目の雌ウサギに 1 時間静脈内持続注入したとき及び 250 mg/kg 経口投与したときの平均血漿中アプレミラスト及び CC-10007 濃度推移 28
Figure 10 [^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 1 mg/kg 単回静脈内投与したときの（A）血漿及び血液中総放射能濃度及び（B）10 mg/kg 単回経口投与したときの血漿及び血液中総放射能濃度と血漿中未変化体濃度推移 31
Figure 11 アプレミラストの推定代謝経路 38

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ADME	Absorption distribution metabolism excretion	吸収、分布、代謝、排泄
API	Atmospheric pressure ionization	大気圧イオン化法
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度時間曲線下面積
AUC_t	Area under the concentration-time curve calculated to the last observable concentration at time t	時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積
AUC_∞	Area under the concentration-time curve from time zero to infinity	時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性タンパク質
BID	Twice daily	1 日 2 回
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid	相補的デオキシリボ核酸
CL/F	Apparent clearance of drug from plasma after extravascular administration	経口クリアランス
CL_{tot}	Total body clearance of drug from the plasma	全身クリアランス
C_{max}	Peak （maximum） plasma concentration of the drug	最高血漿中濃度
CMC	Carboxymethylcellulose	カルボキシメチルセルロース
cRNA	Complementary ribo nucleic acid	相補的リボ核酸
C_t	Concentration at the first sampling time point	初回採取時点での血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
ESI	Electrospray ionization	エレクトロスプレーイオン化
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
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	Concentration of drug producing 50% inhibition	50%阻害濃度
IS	Internal standard	内部標準物質
Km	Michaelis constant	ミカエリス定数
LC/MS	Liquid chromatography mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／質量分析
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
LLC-PK1	Porcine kidney epithelial cells	ブタ腎上皮細胞
MS/MS	Tandem mass spectrometry	タンデム質量分析
MRM	Multiple reaction monitoring	多重反応モニタリング
MRP	Multidrug resistance-related protein	多剤耐性関連タンパク質
MW	Molecular weight	分子量
NA	Not applicable	該当データなし
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NC	Not calculated	算出せず
nd	Not determined	定量限界未満
ND	Not detected	検出されず
NOAEL	No-observed-adverse-effect level	無毒性量
NS	Tissue not sectioned	組織摘出せず
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P_{app}	Apparent permeability coefficient	みかけの透過係数
PDE4	Phosphodiesterase type4	ホスホジエステラーゼタイプ 4
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
SRM	Selected reaction monitoring	選択反応モニタリング
$t_{½}$	Elimination half-life	消失半減期
t_{max}	Time to peak （maximum） plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha	腫瘍壊死因子-α
UV	Ultraviolet	紫外線
Vd	Apparent volume of distribution	みかけの分布容積
Vd_{SS}	Volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積
Vz	Apparent volume of distribution during the terminal（λz） phase	終末相のみかけの分布容積

1. まとめ

種々の in vitro 及び in vivo 試験を実施し、アプレミラスト（CC-10004、*S*-エナンチオマー）の吸収、分布、代謝、排泄（ADME）を評価した。また、薬物動態学的薬物相互作用の可能性を in vitro 試験で評価した。Figure 1 に、アプレミラスト及びその *R*-エナンチオマーである CC-10007 の化学構造式を示した。なお、これらエナンチオマーの混合物であるラセミ体は、CC-7085 と命名した。Table 1 に、現在までに行われたアプレミラストの ADME 非臨床試験の一覧を示した。

Figure 1　アプレミラスト及び CC-10007 の化学構造式

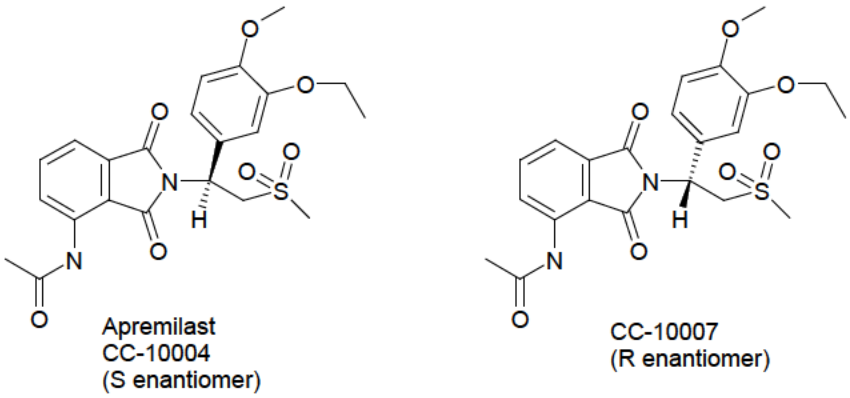


Table 1　アプレミラストの吸収、分布、代謝、排泄関連の試験一覧表

研究の種類	動物種、分析対象	添付資料番号 報告書番号	評価・参考の別
分析法			
マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	マウス血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.1 1398/251	参考資料
マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	マウス血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.2 CC-10004-DMPK-001	参考資料
マウス血漿中代謝物 M3（*O*-脱メチル体）及び M12（*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体）の LC/MS 分析法バリデーション[a]	マウス血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.3 CC-10004-DMPK-016	参考資料
マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	マウス血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.4 CC-10004-DMPK-041	参考資料
ラット血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	ラット血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.5 1398/136	参考資料
ラット血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	ラット血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.6 CC-10004-DMPK-002	参考資料
ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	ウサギ血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.7 1398/347	参考資料
ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	ウサギ血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.8 1398/362	参考資料
ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	ウサギ血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.9 CC-10004-DMPK-004	参考資料
サル血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション[a]	サル血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.10 CC-10004-DMPK-003	参考資料

Table 1　アプレミラストの吸収、分布、代謝、排泄関連の試験一覧表（つづき）

研究の種類	動物種、分析対象	添付資料番号 報告書番号	評価・参考の別
分析法			
サル血漿中代謝物 M3 及び M12 の LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	サル血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.11 CC-10004-DMPK-025	参考資料
サル血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	サル血漿（ヘパリン）	4.2.2.1.12 1398/135	参考資料
吸収			
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄 [a]	マウス	4.2.2.2.1 1398/376	評価資料
ラットでの静脈内及び経口投与後の吸収及び体内動態 [a]	ラット	4.2.2.2.2 1398/215	評価資料
ラットでの吸収、代謝、排泄 [a]	ラット	4.2.2.2.3 1398/259	参考資料
ラットでの吸収及び体内動態	ラット	4.2.2.2.4 CC-10004-DMPK-007	参考資料
ウサギでの吸収及び体内動態 [a]	ウサギ	4.2.2.2.5 1398/387	参考資料
妊娠ウサギでの吸収及び体内動態	ウサギ	4.2.2.2.6 CC-10004-DMPK-009	参考資料
ウサギでの媒体忍容性、吸収及び体内動態	ウサギ	4.2.2.2.7 CC-10004-DMPK-028	参考資料
サルでの吸収、代謝、排泄 [a]	サル	4.2.2.2.8 1398/399	参考資料
分布			
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄 [a]	マウス	4.2.2.2.1 1398/376	評価資料
In vitro 血漿タンパク結合	マウス、ラット、ウサギ、サル、ヒト血漿	4.2.2.3.1 CC-10004-DMPK-026	評価資料
マウスでの胎盤移行	妊娠 CD-1 マウス	4.2.3.5.1.3 CC-10004-TOX-012	評価資料
サルでの胎盤移行	妊娠サル	4.2.3.5.2.7 CC-10004-TOX-013	評価資料
代謝			
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄 [a]	マウス	4.2.2.2.1 1398/376	評価資料
マウスでの代謝物プロファイル及び同定	無処置及び胆管カニュレーションを施したマウス	4.2.2.4.1 CC-10004-DMPK-031	参考資料
ラットでの吸収、代謝、排泄 [a]	ラット	4.2.2.2.3 1398/259	参考資料
サルでの吸収、代謝、排泄 [a]	サル	4.2.2.2.8 1398/399	参考資料
肝細胞での in vitro 代謝	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒト肝細胞	4.2.2.4.2 CC-10004-DMPK-023	参考資料

Table 1　アプレミラストの吸収、分布、代謝、排泄関連の試験一覧表（つづき）

研究の種類	動物種、分析対象	添付資料番号 報告書番号	評価・参考の別
代謝			
肝ミクロソームでの in vitro 代謝	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒト肝ミクロソーム	4.2.2.4.3 1398/261	参考資料
成熟及び若齢マウス並びに成人及び年少者での in vitro 代謝	成人及び年少者ヒト肝細胞並びにヒト及び CD-1 マウス由来ミクロソーム	4.2.2.4.4 CC-10004-DMPK-038	参考資料
排泄			
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄 [a]	マウス	4.2.2.2.1 1398/376	評価資料
マウスでの放射能の排泄	無処置及び胆管カニュレーションを施したマウス	4.2.2.5.1 CC-10004-DMPK-030	参考資料
ラットでの吸収、代謝、排泄 [a]	ラット	4.2.2.2.3 1398/259	参考資料
サルでの吸収、代謝、排泄 [a]	サル	4.2.2.2.8 1398/399	参考資料
マウスでの乳汁排泄	CD-1 マウス	4.2.2.5.2 CC-10004-DMPK-034	参考資料
薬物動態学的薬物相互作用			
ヒト肝ミクロソームでの CYP の同定	ヒト肝ミクロソーム	4.2.2.6.1 1398/393	評価資料
ヒト培養肝細胞での CYP 誘導物質としての in vitro 評価	ヒト肝細胞	4.2.2.6.2 CC-10004-DMPK-012	評価資料
ヒト肝ミクロソーム中 CYP 活性に対する作用	ヒト肝ミクロソーム	4.2.2.6.3 1398/227	評価資料
ヒト肝ミクロソーム中 CYP2A6、2B6 及び 2C8 活性に対する作用	ヒト肝ミクロソーム	4.2.2.6.4 CC-10004-DMPK-039	評価資料
ヒト P-gp との相互作用	ヒト P-gp 発現 LLC-PK1 細胞	4.2.2.6.5 CC-10004-DMPK-017	評価資料
OAT1 及び OAT3 の阻害	OAT 発現 Xenopus laevis 卵母細胞	4.2.2.6.6 CC-10004-DMPK-027	評価資料
排出トランスポーターの阻害	BCRP、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4、MRP8 膜小胞	4.2.2.6.7 CC-10004-DMPK-036	評価資料
OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害	OCT2、OATP1B1、OATP1B3 発現 HEK293 細胞	4.2.2.6.8 CC-10004-DMPK-040	評価資料
BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する基質性	BCRP、OCT2、OATP1B1、OATP1B3 発現 HEK293 細胞、OAT1、OAT3 発現 S_2 細胞	4.2.2.6.9 CC-10004-DMPK-1347	評価資料

BCRP = 乳がん耐性タンパク質; CYP= チトクローム P450; HEK = ヒト胎児腎臓; IV = 静脈内投与; LC/MS = 液体クロマトグラフィー／質量分析; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLC-PK1 = ブタ腎上皮細胞; MRP = 多剤耐性関連タンパク質; OAT = 有機アニオントランスポーター; OCT = 有機カチオントランスポーター; P-gp = P 糖タンパク

[a] 実施国での医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）試験

毒性試験に用いた動物種での被験物質の血漿中濃度を測定する目的で、アキラル及びキラル分析法の開発及びバリデーションを実施した。アプレミラストの代謝物である *O*-脱メチル体及び *O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体のマウス及びサル血漿中濃度分析法のバリデーションも実施した。アプレミラストは、生理的 pH で血漿中で加水分解される。サンプルの採取、保管、処置の間のアプレミラスト分解を防ぐため、サンプル採取後、直ちに試料を酸性にする等の適切な前処置を行った。初期の生物学的分析法ではアキラルクロマトグラフィーを用いたため、アプレミラストと CC-10007 の分別評価はできていなかった。しかし、その後開発したキラルクロマトグラフィーを用いた定量法で、ヒト及び毒性試験に用いた動物種ではアプレミラストの光学異性体変換は起きないことが明らかとなった。したがって、アキラル生物学的分析法で得られた濃度データであっても、アプレミラスト濃度を正確に反映していると判断した。

実験動物でのアプレミラストの全身クリアランス（CL_{tot}）又は経口クリアランス（CL/F）の種差は大きく、マウス及び雌ラットの CL/F は肝血流量の 5 分の 1 未満と低く、雄ラット及び雌ウサギの CL/F は肝血流量の 50%を超える高い値を示した。サルでの CL/F は中程度であった。マウス、ラット、雌ウサギでの分布容積は、体内総水分量の約 2～3 倍であり、アプレミラストの血管外組織分布が大きいことが示唆された。実験動物でのアプレミラストの消失半減期（$t_{1/2}$）は短く 1～3 時間であった。アプレミラスト由来の放射能の経口吸収はマウス及びサルでは高く 70%を超えていた。アプレミラストの経口投与後のバイオアベイラビリティは種差が大きく、マウスでは 27%、雄ラットでは 12%、雌ラットでは 65%で、ウサギでは 1%未満と非常に低かった。この結果は、初回通過効果（CYP450）による代謝に種差があることを示唆している。ラットではアプレミラストの薬物動態に顕著な性差が認められたが、マウス及びサルでは認められなかった。高用量を経口投与した場合には、アプレミラストの曝露量は投与量とともに増加したが、用量に比した血漿中濃度の増加は認められなかった。これは、アプレミラストの溶解性が低いためと考えられた。マウス及びサルを用いた反復投与試験では、すべての試験及び投与量で血漿中濃度の蓄積傾向は認められなかった。毒性試験に用いた 4 種類の実験動物すべてで、アプレミラストの光学異性体変換は認められなかった。

アルビノマウスを用いた試験で、[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能は低濃度ではあるが速やかに組織に分布し、投与後 1 週間以内に検出限界未満にまで減少した。最高放射能濃度は、代謝又は排泄に関連する肝及び腎臓等の臓器並びに膵臓で認められた。アルビノマウスでの放射能の組織分布パターンに性差はほとんど認められなかった。ブドウ膜及び色素沈着皮膚等のメラニン含有皮膚組織への放射能の顕著な取込みは認められなかった。血液脳関門の通過は極めて低かった。マウス及びサルでの放射能の血液／血漿中濃度比は 0.60～0.77 であり、アプレミラスト及びその代謝物の血球への移行は中程度と推察された。アプレミラスト濃度が 0.25～2.5 µg/mL のときの平均血漿タンパク結合率は、マウスで 88.6%、ラットで 90.6%、ウサギで 80.9%、サルで 84.3%、ヒトで 68.3%であり、この濃度範囲では血漿タンパク結合は濃度非依存性であることが明らかとなった。アプレミラストの胎盤通過性をマウス及びサルで評価した結果、平均胎児／母動物血漿中濃度比は 0.3～1.07 であり、両動物種でアプレミラストが胎盤を通過することが示された。アプレミラストは in vitro 及び in vivo で複数の経路によって代謝されるが、すべての動物種で一部のイミド結合は非酵素的な加水分解も受けた。*N*-アセチルアミド結合もヒトを含む複数の動物種で加水分解を受けたが、割合は少なかった。アプレミラストは、主として *O*-脱アルキル化による酸化的代謝を受けるとともに、割合としては少ないが水酸化も受ける。イミド結合の加水分解及び脱アルキル化により生成するアプレミラストの代謝物のホスホジエステラーゼタイプ 4（PDE4）及び腫瘍壊死因子-α（TNF-α）産生に対する阻害活性は、アプレミラストに比較して顕著に低く、これら代謝物は、アプレミラストの薬理活性には寄与しないと考えられた。ヒトを含むすべての動物種で主要な酸化的代謝経路は、代謝物 M3 への *O*-脱メチル化であり、M3 は続いてグルクロン酸による抱合を受け、主代謝物である M12 に代

謝される。ヒトでは代謝物 M12 は主要な血漿中代謝物であり、血漿中総放射能の濃度時間曲線下面積（AUC）の 39%を占め、その排泄率は投与放射能の 34%であった。M12 は毒性試験に用いた動物でも主要な血漿中代謝物であった。ヒトで認められた代謝物はすべて、毒性試験に用いた 1 種ないし複数の動物種での生成が確認されており、ヒトにのみ特異的な代謝物は認められなかった。

動物では、[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能は主として胆汁を介して排泄され、静脈内投与では投与量の 56%～71%が糞中に認められた。尿への排泄は少なく、静脈内投与量の 8%～18%の放射能が尿へ排泄された。[^{14}C]-アプレミラストを経口投与後の動物でも、吸収された放射能の主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であった。[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能は主に代謝物として排泄され、未変化体の排泄は極めて少なかった。授乳中のマウスにアプレミラストを経口投与後の乳汁／血漿中濃度比は 1.46～1.62 で、マウスでアプレミラストの乳汁への排泄が認められた。

ヒト肝ミクロソームでのアプレミラストの酸化的代謝は主としてチトクローム P450（CYP）3A4 によるものであり、CYP1A2 及び CYP2A6 等の他の CYP 分子種の寄与はわずかであった。in vivo の結果と同様に、ヒト肝ミクロソームでの結果でも、生体でのアプレミラストのクリアランスには、非酵素的加水分解に加えて複数の酵素により触媒される多くの代謝経路 （CYP 非依存的 *N*-脱アセチル化、酸化的代謝とそれに続くグルクロン酸抱合）が介在し、未変化体としての排泄はわずかであった。したがって、アプレミラストを強い CYP 阻害薬と併用した場合でも、臨床上問題となる薬物相互作用は生じないと考えられた。

In vitro 試験では、アプレミラストの臨床血漿中濃度で CYP の誘導及び阻害は認められなかった。したがって、CYP の基質となる薬物とアプレミラストを併用しても、アプレミラストが CYP の阻害や誘導により CYP の基質薬物と臨床上問題となる薬物相互作用は生じないものと考えられた。アプレミラストは P 糖タンパク（P-gp）の基質であるが、消化管からの吸収は抑制されない。アプレミラストは、P-gp、乳がん耐性タンパク質（BCRP）、多剤耐性関連タンパク質（MRP）1、MRP2、MRP3、MRP4、有機アニオントランスポーターポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター（OCT）2 に対する阻害作用はほとんどなく、アプレミラストをこれらのトランスポーターの基質薬物と併用しても臨床用量で薬物相互作用が生じる可能性はないと考えられた。さらに、in vitro でアプレミラストは BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 に対する基質とはならず、アプレミラストをこれらトランスポーターの阻害薬と併用しても薬物相互作用は生じないと考えられた。

以上の結果より、ウサギ及び雌ラットで高いクリアランスが認められたことを除き、動物でアプレミラストは良好な経口吸収性及び体内動態を示した。ヒトに特異的な代謝物は存在せず、ヒトで認められた代謝物は、毒性試験に用いた 1 種ないし複数の動物種で生成することが確認された。In vitro のデータから、アプレミラストを CYP や薬物トランスポーターの基質薬物と併用しても、アプレミラストが薬物動態学的薬物相互作用を惹起することはないと推察される。さらに、アプレミラストを CYP 及び薬物トランスポーターの阻害薬と併用しても、アプレミラストの薬物動態に臨床上問題となる変化は起きないものと考えられた。

2. 分析法

［報告書番号 1398/251、添付資料 4.2.2.1.1、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-001、添付資料 4.2.2.1.2、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-016、添付資料 4.2.2.1.3、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-041、添付資料 4.2.2.1.4、参考資料］
［報告書番号 1398/136、添付資料 4.2.2.1.5、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-002、添付資料 4.2.2.1.6、参考資料］
［報告書番号 1398/347、添付資料 4.2.2.1.7、参考資料］
［報告書番号 1398/362、添付資料 4.2.2.1.8、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-004、添付資料 4.2.2.1.9、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-003、添付資料 4.2.2.1.10、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-025、添付資料 4.2.2.1.11、参考資料］
［報告書番号 1398/135、添付資料 4.2.2.1.12、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-007、添付資料 4.2.2.2.4、参考資料］
［報告書番号 CC-10004-DMPK-009、添付資料 4.2.2.2.6、参考資料］

液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC/MS/MS）法を、吸収及び体内動態試験及びトキシコキネティクス試験でのアプレミラスト、CC-10007 及びアプレミラストの代謝物測定のために開発し、バリデーションを実施した。開発の初期段階では、被験物質濃度の定量的分析にアキラル高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法（分析法 1）を用いた。この方法により、マウス、ラット、ウサギ及びサル血漿に対してバリデーションを実施した。キラル分析法（分析法 2）をエナンチオマーであるアプレミラストと CC-10007 の分離測定用に開発し、マウス、ラット、ウサギ及びサル血漿に対してバリデーションを実施した。代謝物 M3 及び M12（CC-16166）の測定を目的として、別のアキラル法（分析法 3）も開発し、マウス及びサル血漿中濃度測定法としてバリデーションを実施した。これらのバリデーション結果を 2.6.5.2 項に示した。

分析法 1 は、被験物質を分析するために開発し、バリデーションを行ったアキラル HPLC 法である。本分析法では、IST C18 抽出プレート又はカートリッジを用いて固相抽出によりヘパリン処理した血漿試料から分析対象を抽出する。抽出操作により得られた溶離液を蒸発乾固後、残留物を溶解し LC/MS/MS により分析する。標準品に対する分析対象物質／内部標準物質（IS）比を用い、1/x 又は $1/x^2$ 重み付けをして最小二乗回帰分析により検量線を作製した。マウス、ラット、ウサギ、サル血漿での本分析法のバリデーション結果は、2.6.5.2.1 項、2.6.5.2.3 項、2.6.5.2.5 項、2.6.5.2.7 項、2.6.5.2.8 項、2.6.5.2.11 項及び 2.6.5.2.12 項に示した。

分析法 1 ではアキラル HPLC 法を採用しているため、アプレミラストと CC-10007 の分別評価はできなかった。薬物動態及びトキシコキネティクス試験で、ヒト及び評価したいずれの動物種（マウス、ラット、ウサギ及びサル）でも、アプレミラストの光学異性体変換は起きないことが確認されており、分析法 1 で得られた濃度データも、アプレミラスト濃度を正確に反映していると判断された（5.3.3.4.4 項、2.6.7.7F 項、2.6.7.7J 項）。

分析法 2 は、アプレミラスト及び *R*-エナンチオマーを分別定量するために開発されたキラル HPLC 法である。アプレミラストの分解を防ぐため、ヘパリン処理した血漿試料にプロテアーゼ阻害薬で

あるアマスタチン（20 µµmol/L）含有ゼーレンセン緩衝液（25 mmol/L クエン酸、 pH 1.5）を等容量加えて酸性化処理後、メチル tert-ブチルエーテルによる液-液抽出を行った。溶離液を乾固後、残留物を水／メタノール／ギ酸（80:20:0.1）に溶解し、得られた試料を、Chrom Tech カラム（CHIRAL AGP 150 X 4.0 mm、5 µm）に供した。移動相 A（5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液／ギ酸［100:1］）及び移動相 B（5 mmol/L 酢酸アンモニウムのメタノール／水［90:10］溶液／ギ酸［100:1］）をグラジエント法により適宜混合して分析対象を溶出した。検出には、ポジティブモード／ターボイオンスプレータンデム質量分析（MS/MS）を用い、アプレミラスト及び CC-10007 に対するモニターイオンは親イオンを 461.16（± 0.5）Daltons（Da）、娘イオンを 257.05（±50.5）Da とした。分析対象物質のピーク面積／IS のピーク面積の比を用いて、$1/x^2$ で重み付けをして最小二乗回帰分析により検量線を作製した。マウス、ラット、ウサギ、サル血漿での本分析法のバリデーション結果をそれぞれ 2.6.5.2.2 項、2.6.5.2.6 項、2.6.5.2.9 項及び 2.6.5.2.10 項に示した。

分析法 3 は、代謝物 M3 及び M12 の定量用に開発及びバリデートした定量法である。試料調製中に M12 が脱抱合されてアグリコンである M3 に変換される可能性を極力抑制するために、調製はすべて氷冷下で実施した。CC-16166（M12）及び CC-16085（M3）の分解を防ぐために、ヘパリン処理した血漿試料にプロテアーゼ阻害薬であるアマスタチン（20 µmol/L）含有ゼーレンセン緩衝液（25 mmol/L クエン酸、pH 1.5）を等容量加えて酸性とした。冷却したアセトニトリルを試料に添加して除タンパク後、上清を乾固した。残留物を水／メタノール／ギ酸（80:20:0.1）に溶解し、得られた試料を、Jupiter C4 カラム（5 µm、50 x 2.0 mm、Phenomenex Inc.）に注入した。移動相 A（5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液／ギ酸［100:0.1］）及び移動相 B（メタノール／ギ酸［100:0.1］）をグラジエント法により適宜混合して分析対象を溶出した。検出には、ポジティブモード／ターボイオンスプレーMS/MS を用い、モニターイオンは M3（親イオン 463.7 Da、娘イオン 164.1 Da）、M12（親イオン 640.1 Da、娘イオン 164.2 Da）とした。分析対象物質のピーク面積／IS のピーク面積の比を用いて、$1/x^2$ で重み付けをして最小二乗回帰分析により検量線を作製した。マウス及びサル血漿での本分析法のバリデーション結果をそれぞれ、2.6.5.2.3 項及び 2.6.5.2.11 項に示した。

さらに、マウス血漿での低濃度のアプレミラストを分析するためのアキラル分析法を開発した。アプレミラストの分解を防ぐために、ヘパリン処理した血漿試料にプロテアーゼ阻害薬であるアマスタチン（20 µmol/L）含有ゼーレンセン緩衝液（25 mmol/L クエン酸、pH 1.5）を等容量加えて酸性とした。メチル tert-ブチルエーテルによる液-液抽出を行った。乾固後、残留物を水／メタノール／ギ酸（80:20:0.1）に溶解し、得られた試料を、Synergy Hydro-RP カラム（30 x 2 mm、4 µm、Phenomenex Inc.）に注入した。移動相 A（水／ギ酸［100:0.1］）及び移動相 B（メタノール／ギ酸［100:0.1］）をグラジエント法により適宜混合して分析対象を溶出した。検出には、ポジティブモード／ターボイオンスプレーMS/MS を用い、アプレミラストに対するモニターイオンは親イオンを 461.1 Da、娘イオンを 257.1 Da とした。分析対象物質のピーク面積／IS のピーク面積の比を用いて、$1/x^2$ で重み付けをして最小二乗回帰分析により検量線を作製した。マウス血漿での本分析法のバリデーション結果を 2.6.5.2.4 項に示した。

試験で個別に用いられた生物学的分析法については、各試験の項に示した。

3. 吸収

アプレミラスト又は[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能の吸収及び体内動態について、マウス、ラット、ウサギ、サルを用いて評価した。これらの結果詳細は、2.6.5.3 項及び 2.6.5.4 項に示した。アプレミラストの血漿中濃度の用量比例性及び蓄積性に関しては毒性試験（トキシコキネティクス）で評価されているが、本項でも試験結果の概要を記載し、詳細なデータを 2.6.7.3 項に示した。

3.1. マウスでの吸収及び体内動態

［報告書番号 1398/376、添付資料 4.2.2.2.1、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-030、添付資料 4.2.2.5.1、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストの吸収及び体内動態について CD-1 系アルビノマウスを用いて評価した。10 又は 500 mg/kg の名目投与量で、それぞれ単回静脈内投与（雌雄各 39 匹）又は強制経口投与（雌雄各 36 匹） した（4.2.2.2.1 項）。静脈内及び経口投与での吸収及び体内動態の評価で、投与後 48 時間までの所定の時点で、雌雄各 3 匹の動物を放血致死させた後、時点ごとに雌雄別に血液をプールして分析に供した。血漿中総放射能濃度の測定には、シンチレーションカウンターを用いた。血漿中の放射性物質のパターンを評価するために、血漿試料から放射性物質を抽出し、放射能検出器付き逆相 HPLC を用いて分析した。HPLC 分析には、Zorbax SB C8 カラム（4.6 x 250 mm、5 µm）を用い、2 種類の移動相（移動相 A: 0.1%トリフルオロ酢酸水溶液［HPLC 用］、移動相 B: 0.1%トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル［HPLC 用］）を用い、グラジエント法により分析対象を溶出した。血漿中未変化体濃度もアキラル LC/MS/MS 法（分析法 1）により測定した。

[^{14}C]-アプレミラスト（10 mg/kg）静脈内投与後のマウスでの血漿中未変化体濃度及び血漿中及び血液中放射能濃度推移をそれぞれ Figure 2（A）及び Figure 2（B）に示し、その際の薬物動態学的パラメータを Table 2 に示した。静脈内投与後、血漿中未変化体濃度は一定の速度で消失し、雄では投与後 12 時間までに雌では投与後 24 時間までに定量限界未満に減少した。一方、血漿中総放射能は長時間認められ、雌雄ともに最終試料採取時点（投与後 48 時間）でも検出可能であった。未変化体の AUC 及び $t_{1/2}$ はいずれも総放射能の場合よりも低値であることから（Table 2 ）、アプレミラストには代謝物が存在すると考えられた。マウスの薬物動態プロファイルでは顕著な性差は認められなかった。CL_{tot} 及び $t_{1/2}$ について比較すると、雌の総放射能の消失は、わずかに雄と比較して低い値を示した。

アプレミラスト 500 mg/kg を経口投与したときの、血漿中未変化体濃度推移及び総放射能の血液及び血漿中濃度推移をそれぞれ Figure 3（A）及び Figure 3（B）に示し、その際の薬物動態学的パラメータを Table 3 に示した。経口投与後、未変化体及び総放射能は投与後 8 時間までは類似した推移を示した。その後双方の濃度は徐々に減少し、最終試料採取時点である 48 時間でも、総放射能のみならず未変化体も定量可能な濃度であった。静脈内投与の場合と比較して経口投与では未変化体の $t_{1/2}$ が顕著に長かった（Table 3）。これは、経口投与では静脈内投与の場合と比べて高投与量であるため、代謝の飽和が起きたためと考えられた。各時点で放射能濃度は未変化体に比較して顕著に高く、代謝物の存在を示唆していた。薬物動態プロファイルに顕著な性差は認められなかった。平均血漿中濃度から求めた時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積（AUC_{∞}）より経口投与時の、未変化体としてのバイオアベイラビリティ及び放射能の吸収率は、それぞれおよそ 27%及び 20%～33%であった（Table 3、2.6.5.3.1 項）。

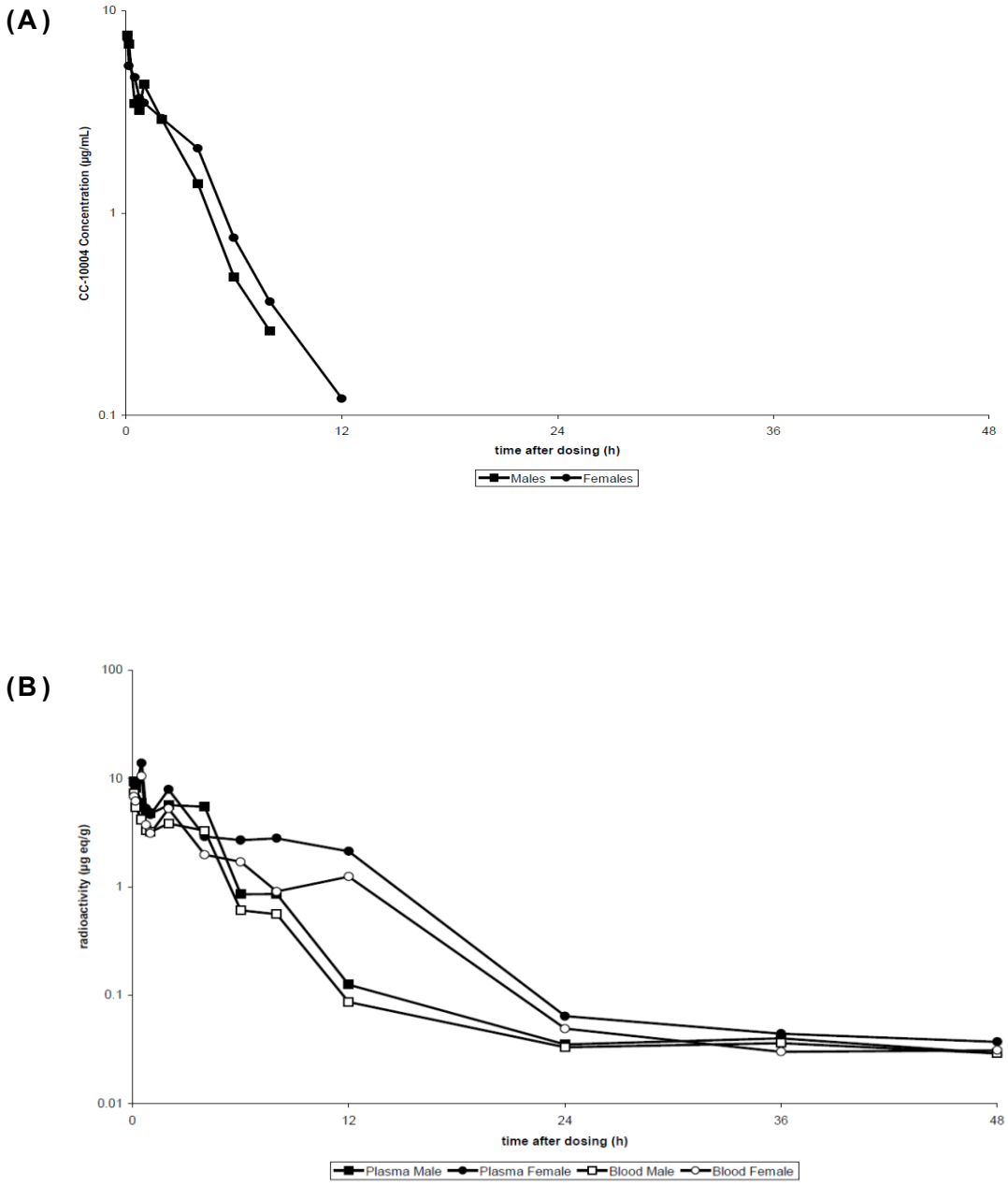
両投与経路で、血液中放射能濃度は同時点での血漿中放射能濃度よりも低く、アプレミラスト又はその代謝物は血球に対して特異的な結合をしないことが示された。

胆管カニュレーションを施した雄マウスを用いた試験で、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を単回経口投与したところ、投与放射能のそれぞれ 54%及び 15%が胆汁及び尿中に排泄された。この結果は投与された放射能の少なくとも 70%がマウスでは消化管から吸収されていることを示唆していた（2.6.5.14 項）。マウスではアプレミラストが初回通過効果を受けていることが明らかとなった。

アプレミラストの吸収及び体内動態（トキシコキネティクス）を、マウス反復投与毒性試験で評価した。投与量が 1～16 mg/kg/日と低用量の場合には、アプレミラストの曝露量はほぼ用量に比例して上昇した（2.6.7.7.C 項、2.6.7.7.D 項）。一方、100 mg/kg/日を超える高投与量では曝露量は投与量の上昇に伴って増加したものの用量比より低かった（2.6.7.7.B 項、2.6.7.7E 項、2.6.7.7F 項、2.6.7.10A 項）。各投与群及び各試験をとおして、反復投与による血漿中濃度の蓄積傾向は認められなかった。マウス毒性試験では、アプレミラストの吸収及び体内動態に性差は認められなかった。キラル HPLC 法（分析法 2）を用いた試験で、アプレミラストの *R*-エナンチオマーへの光学異性体変換はマウスで認められなかった（2.6.7.7F 項、2.6.7.10A 項）。

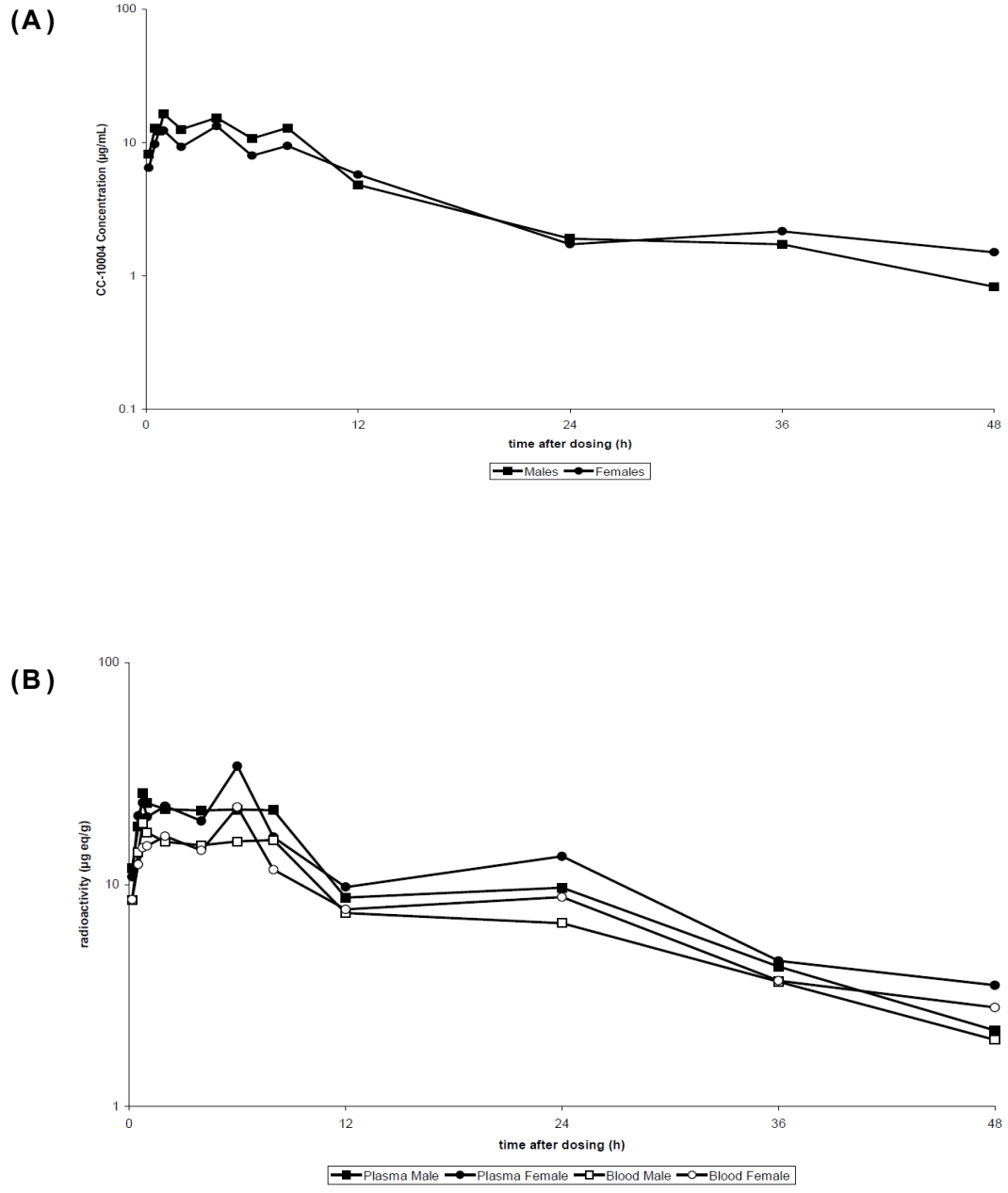
これらの試験結果をまとめると、マウスではアプレミラストは低い CL_{tot}（肝血流量の 1/5 未満）、中程度の分布容積（体液量の 2～3 倍）及び短い $t_{1/2}$（約 2 時間）を示すことが明らかとなった（Davies B, 1993）。マウスにアプレミラストを経口投与したとき、アプレミラストのバイオアベイラビリティは約 27%であり、顕著な性差は認められなかった。[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能の曝露量は、未変化体の曝露量のおよそ 2 倍以上であり、マウスでアプレミラストの代謝物の全身曝露量がアプレミラストと比較し、2 倍以上多いことを示唆している。低用量で、アプレミラストはほぼ用量に比例した曝露量を示したが、高用量では曝露量は用量比よりも低い値を示した。この結果は、高用量ではアプレミラストの吸収が溶解度律速であることを示唆している。反復投与では、アプレミラストの曝露量は一貫性のある増加又は減少を示さなかったことから、その血漿中濃度の蓄積性はないことが示唆された。マウスでは in vivo でアプレミラストの光学異性体変換は認められなかった。

Figure 2 [^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg をマウスに単回静脈内投与したときの（A）血漿中未変化体濃度及び（B）血漿中及び血液中放射能濃度推移



投与量: 名目投与量
平均値（n=3/時点）
Source: 4.2.2.2.1 項

Figure 3 [^{14}C]-アプレミラスト 500 mg/kg をマウスに単回経口投与したときの（A）血漿中未変化体濃度及び（B）血漿中及び血液中放射能濃度推移



投与量: 名目投与量
平均値（n=3/時点）
Source: 4.2.2.2.1 項

Table 2 [^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg をマウスに単回静脈内投与したときの未変化体及び総放射能の薬物動態パラメータ

パラメータ（単位）	静脈内投与					
	未変化体		総放射能 [a]			
	血漿		血漿		血液	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_t（μg/mL）	7.54	7.25	9.35	8.79	7.24	6.78
$t_{1/2}$（h）	1.7	2.3	19.6	30.4	26.2	36.3
AUC_t（μg•h/mL）	15.3	18.0	34.6	61.0	23.1	37.0
AUC_∞（μg•h/mL）	15.9	18.4	35.4	62.6	24.2	38.7
Vd（L/kg）	1.5	1.8	8.0	7.0	15.6	13.6
CL_{tot}（mL/min/kg）	10.5	9.1	4.7	2.7	6.9	4.3

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_t = 初回採取時点での血漿中濃度; $t_{1/2}$ = 消失半減期; Vd =みかけの分布容積;

[a] 総放射能のパラメータの単位は、C_t: μg eq./g、AUC_t及び AUC_∞: μg eq.•h/g、Vd: kg/kg、CL_{tot}: g/min/kg

Source: 4.2.2.2.1 項

Table 3 [^{14}C]-アプレミラスト 500 mg/kg をマウスに単回経口投与したときの未変化体及び総放射能の薬物動態パラメータ

パラメータ（単位）	経口投与								
	未変化体			総放射能 [a]					
	血漿			血漿			血液		
	雄	雌	平均	雄	雌	平均	雄	雌	平均
C_{max}（μg/mL）	16.3	13.3	14.8	25.7	34.1	29.9	18.9	22.3	20.6
t_{max}（h）	1	4	2.5	0.75	6	3.4	0.75	6	3.4
$t_{1/2}$（h）	15.5	21.9	18.7	16.8	20.1	18.4	18.3	21.2	19.8
AUC_t（μg•h/mL）	209	195	202	453	516	485	344	373	358
AUC_∞（μg•h/mL）	227	242	235	507	618	562	396	458	427
F[b]（%）	28.5	26.3	27.4	28.6	19.7	24.2	32.8	23.7	28.3

平均値

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; C_{max} = 最高血漿中濃度; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

[a] 総放射能のパラメータの単位は、C_{max}: μg eq./g、AUC_t及び AUC_∞: μg eq.•h/g

[b] AUC_∞値を用いて算出したバイオアベイラビリティ（未変化体）又は吸収率（総放射能）

Source: 4.2.2.2.1 項

3.2. ラットでの吸収及び体内動態

［報告書番号 1398/215、添付資料 4.2.2.2.2、評価資料］

［報告書番号 1398/259、添付資料 4.2.2.2.3、参考資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-007、添付資料 4.2.2.2.4、参考資料］

ラットでのアプレミラストの吸収及び体内動態については、以下の 3 種類の試験が実施した。4.2.2.2.2 項では、CC-7085（ラセミ体）、アプレミラスト及び CC-10007 の静脈内投与及び経口投与後の吸収及び体内動態について雌雄の SD ラットを用いて評価した。4.2.2.2.3 項では、[^{14}C]-アプレミラストの吸収、代謝及び排泄試験について雌雄 SD ラットを用いて評価した。4.2.2.2.4 項では、経口投与後の吸収に及ぼすアプレミラストの粒子サイズの影響について絶食ラットを用いて評価した。

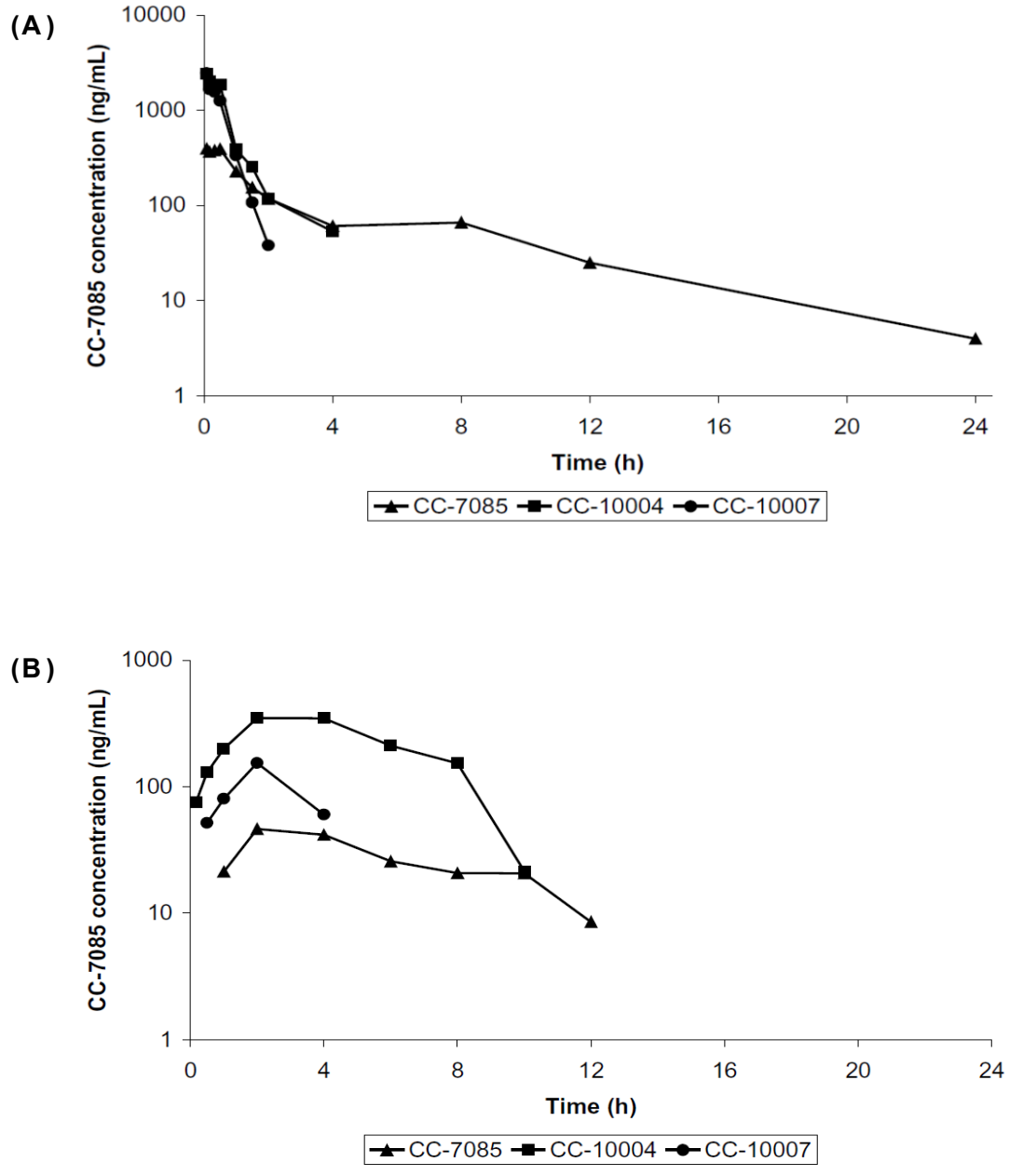
ラットでの静脈内投与及び経口投与後のアプレミラストの吸収及び体内動態を明らかにするために、アプレミラスト、CC-10007 又は CC-7085 を 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与及び経口投与

（雄:50 mg/kg、雌: 10 mg/kg）した。採血は投与後 24 時間まで所定の時点に尾側部静脈より行った。血漿試料に関しては固相抽出法により分析対象化合物を抽出し、CC-7085 濃度をアキラル LC/MS/MS 法で測定した（Figure 4）。Table 4 に静脈内投与及び経口投与後のアプレミラストの薬物動態パラメータを示した。

雌雄ともにアプレミラストを静脈内投与後の血漿中濃度は徐々に減少し、雄では投与後 8 時間までに定量限界（5 ng/mL）未満に達したが、雌では 24 時間でも検出された（Figure 4）。曝露量に関しては性差が認められ、雄ラットでの AUC 及び $t_{1/2}$ 雌ラットに比較して低い値であった（Table 4）。CL_{tot} は雌ラットに比較して雄ラットで高かったが、みかけの分布容積（Vd）は雌雄ともに中程度（体内総水分量の 2～3 倍） であった。

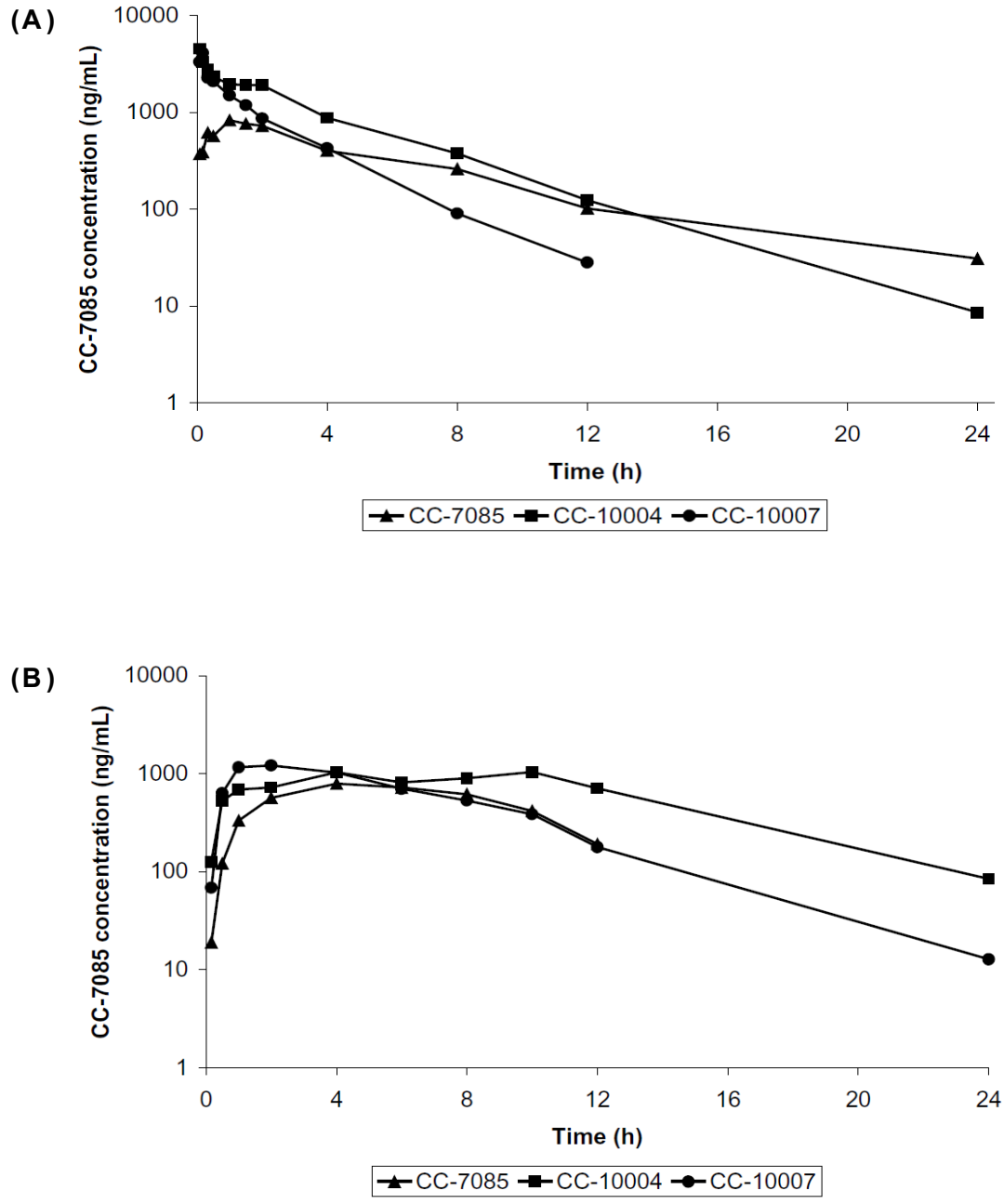
曝露量の性差に関してはアプレミラストを経口投与（雄:50 mg/kg、雌:10 mg/kg）した場合にも認められ、雌での投与量は雄ラットの 1/5 であったにもかかわらず、曝露量は雄の約 6 倍であった（Table 4）。平均血漿中濃度の AUC_{∞} に基づいて計算した経口投与後のバイオアベイラビリティは雄ラットで 11.5%、雌ラットで 64.8%であった。CC-7085 又は CC-10007 を静脈内投与及び経口投与した場合にも、曝露量に関してアプレミラスト投与後と同様の性差が認められた（2.6.5.3.2 項）。

Figure 4　ラセミ体（CC-7085）、アプレミラスト又は CC-10007 を雄ラットに（A）5 mg/kg 単回静脈内投与及び（B）50 mg/kg 単回経口投与したときの血漿中 CC-7085 濃度推移



投与量: 名目投与量
平均値（n=3/時点）
Source: 4.2.2.2.2 項

Figure 5　CC-7085、アプレミラスト又は CC-10007 を雌ラットに（A）5 mg/kg 単回静脈内投与及び（B）10 mg/kg 単回経口投与したときの血漿中 CC-7085 濃度推移



投与量:名目投与量
平均値（n=3/時点）
Source: 4.2.2.2.2 項

Table 4　アプレミラストをラットに単回静脈内投与及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

パラメータ（単位）	静脈内投与		経口投与	
	雄	雌	雄	雌
Dose（mg/kg）	5	5	50	10
C_{max}（ng/mL）	3170 ± 1210	6600 ± 1800	446 ± 139	1120 ± 228
t_{max}（h）	NA	NA	4.0 ± 2.0	6.0 ± 3.5
$t_{1/2}$（h）	0.6 ± 0.3	2.7 ± 0.4	1.6 ± 0.4	5.1 ± 2.3
AUC_t（ng•h/mL）	1980 ± 916	11500 ± 2200	2260 ± 460	13500 ± 1800
AUC_∞（ng•h/mL）	1920 ± 862	11400 ± 2340	2220 ± 498	14200 ± 1510
V_d（L/kg）	2.1 ± 0.3	1.8 ± 0.2	NA	NA
CL_{tot}（L/h/kg）	2.9 ± 1.0	0.5 ± 0.1	NA	NA
F（%）	NA	NA	11.5	64.8

平均値 ± 標準偏差（n=3）

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; F = 絶対的バイオアベイラビリティ; NA =該当データなし; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; $t_{1/2}$ = 消失半減期; Vd =みかけの分布容積

[a] 絶対的バイオアベイラビリティ

Source: 4.2.2.2.2 項

アプレミラスト 10 mg/kg を 6 日間にわたり 1 日 1 回反復経口投与し（Group B:Table 5 及び Figure 7）、続いて[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を単回経口投与し（Group A: Table 5 及び Figure 6）、血漿中放射能濃度及び CC-7085 濃度を測定して反復投与による薬物動態への影響を評価した。血漿中に存在する放射性代謝物プロファイルを明らかにするとともに、一部の血漿試料については放射能検出器付き液体クロマトグラフィー／質量分析（LC/MS）を用いて分析し、主要な放射性代謝物の同定を行った。

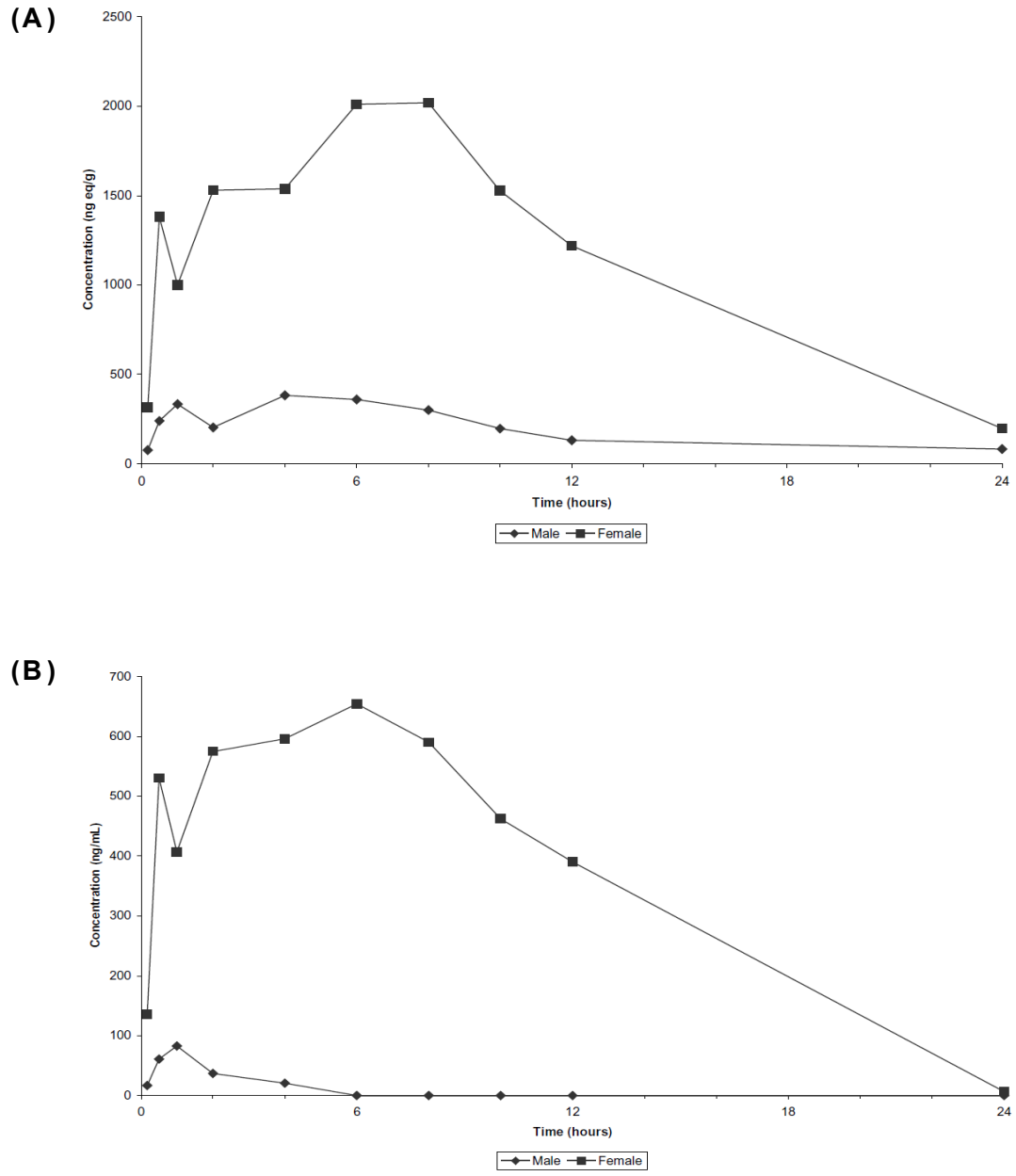
代謝物プロファイルを明らかにするために、抽出試料の一部を以下の HPLC システムを用い分析した。カラムには Zorbax SB C8（4.6 x 250 mm、5 µm）を、移動相には移動相 A（0.1%トリフルオロ酢酸水溶液 ［HPLC 用純水］）及び移動相 B（0.1%トリフルオロ酢酸アセトニトリル［HPLC 用］溶液）を用い、グラジエント法により、流速 1.0 mL/min で分析対象化合物の溶出を行った。

検出波長は紫外線（UV）254 nm で行い、^{14}C はインライン方式の放射能検出により測定した。さらに、血漿中アプレミラスト濃度をアキラル LC/MS/MS（分析法 1）を用いて測定した。

ラットでは未変化体及び総放射能の曝露量に顕著な性差が認められた（Figure 6 及び Figure 7）。すなわち、血漿中未変化体及び総放射能（未変化体+すべての代謝物）は、雄ラットに比較して雌ラットで高かった。雄ラットでは総放射能の時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積（AUC_t）の平均値は、未変化体のそれに比較して 25～63 倍高かったが、雌ラットでは 2.1～3.4 倍高い程度にすぎなかった。この結果は、アプレミラストは雌ラットよりも雄ラットで代謝されやすいことを示唆している。

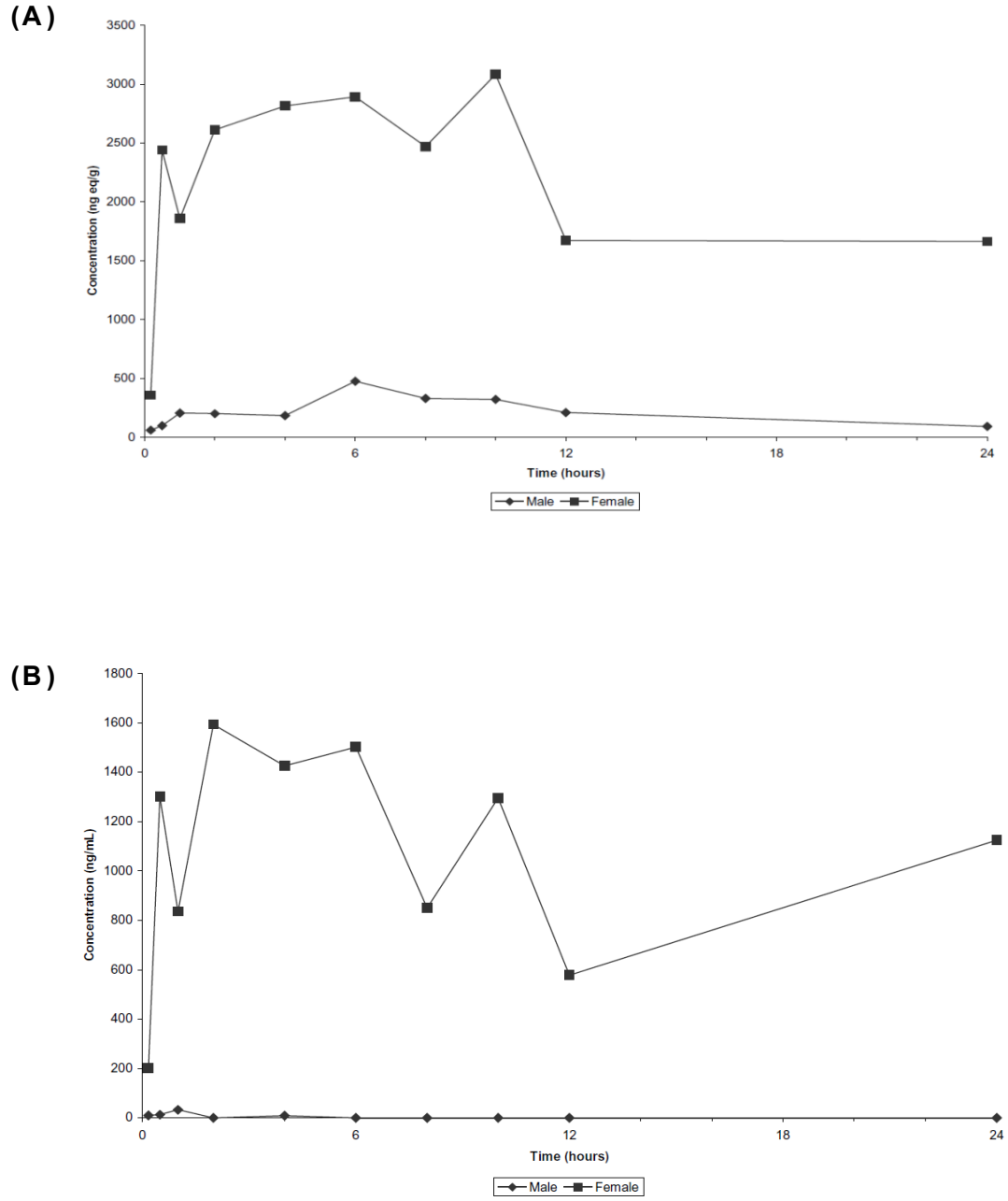
雄ラットでは、反復経口投与後の総放射能及び未変化体の最高血漿中濃度（C_{max}）及び AUC_t 値は、単回投与後の値と類似していた。しかしながら、雌ラットでは反復経口投与後の曝露量は単回投与後の最大 3 倍上昇し高く漿中濃度が蓄積する可能性が示唆された。この結果は雌ラットでのアプレミラストのクリアランスが雄ラットに比較して極めて低いことと関連していると考えられた（2.6.5.4 項、2.6.5.3.3 項）。

Figure 6 [^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を雌雄ラットに単回経口投与したときの（A）血漿中総放射能濃度及び（B）CC-7085 濃度推移



投与量: 名目投与量
平均値（n=3/時点）
Source: 4.2.2.2.3 項

Figure 7　アプレミラストを 6 日間 10 mg/kg 反復経口投与後、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を雌雄ラットに単回経口投与後の（A）血漿中総放射能濃度及び（B）CC-7085 濃度推移



投与量: 名目投与量
平均値（n=3/時点）
Source: 4.2.2.2.3 項

Table 5　アプレミラストを 6 日間 10 mg/kg 反復経口投与後、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を雌雄ラットに単回経口投与後の総放射能及び未変化体の薬物動態パラメータ

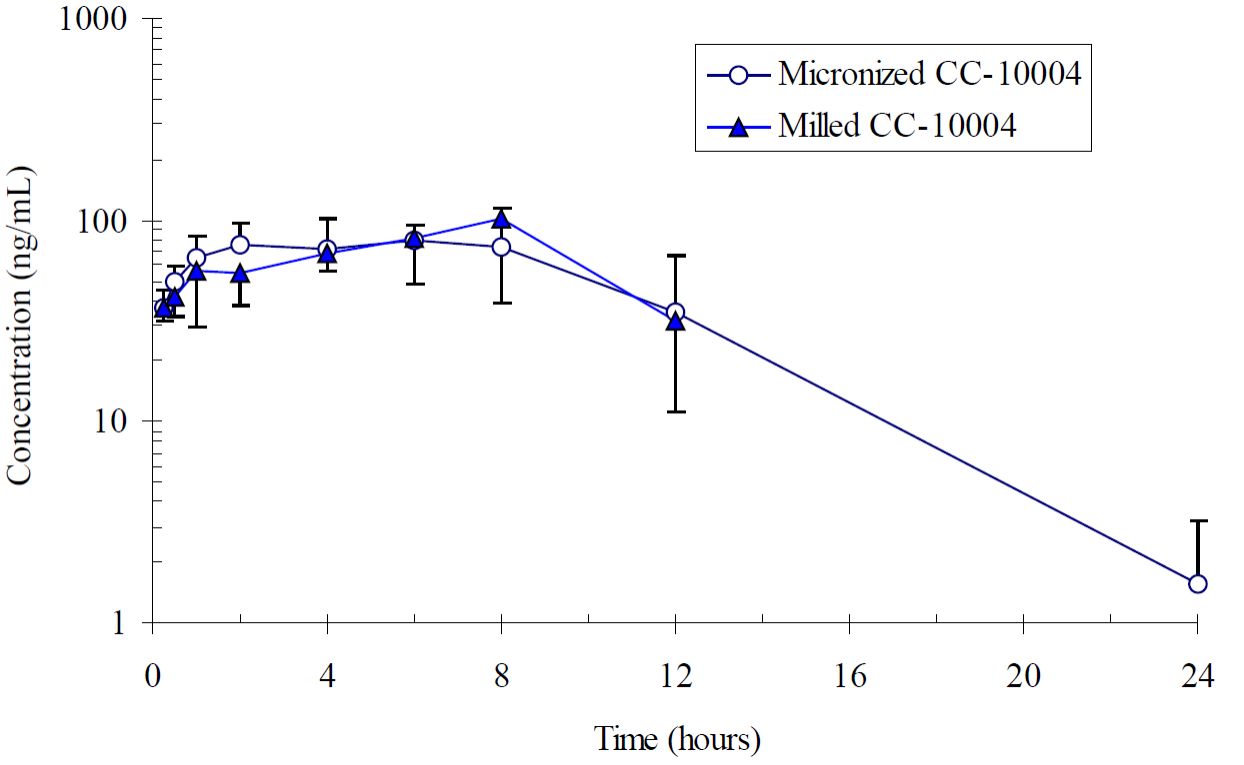
パラメータ（単位）	投与群			
	Group A（単回経口投与）		Group B（反復経口投与）	
	雄	雌	雄	雌
放射能				
C_{max}（ng eq./g）	383	2020	476	3080
t_{max}（h）	4	8	6	10
$t_{1/2}$（h）	17.8	4.7	10.1	NC
AUC_t（ng eq.•h/g）	4530	25800	5060	50500
AUC_∞（ng eq.•h/g）	6650	27200	6410	NC
未変化体				
C_{max}（ng/mL）	82.9	654	32.7	1590
t_{max}（h）	1	6	1	2
$t_{1/2}$（h）	2.4	2.0	1.6	NC
AUC_t（ng•h/mL）	184	7530	80.3	24000
AUC_∞（ng•h/mL）	235	7550	92.6	NC

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; C_{max} = 最高血漿中濃度; NC= 算出せず; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; $t_{1/2}$ = 消失半減期
Source: 4.2.2.2.3 項

アプレミラストの粒子径が、経口投与後のアプレミラストの曝露量に及ぼす影響を、絶食ラットを用いて評価した。当該試験では、キラル HPLC 法を用いて、アプレミラストが *R*-エナンチオマーである CC-10007 へ光学異性体変換する可能性についても評価した（Figure 8 及び Table 6）。微粉化アプレミラスト（Lot No. [redacted]、平均粒子径[redacted]μm）及び粉砕化アプレミラスト（Lot No. [redacted]、平均粒子径[redacted]μm）を用い、5 mg/mL のアプレミラスト濃度の 0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）懸濁液の製剤として投与した。絶食下の SD 雄ラットを 2 群（n = 5/群）に割り付け、微粉化又は粉砕化アプレミラスト（25 mg/kg）を単回経口投与した。投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に、頸静脈カニューレからリチウムヘパリン処理試験管に経時採血し、血液は遠心分離するまで氷冷下保存した（保存時間: 1 時間未満）。冷却遠心分離により血漿を分離し、アプレミラスト及び CC-10007 濃度をキラル LC/MS/MS 法により定量した。カラムは ULTRON ES-OVM（2.0 x 150、5 μm、信和化工株式会社）を、移動相は移動相 A（0.1%ギ酸含有 20 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液）及び移動相 B（メタノール）を用いた。流速は 0.3 mL/min、分析時間は 20.5 min とした。移動相 B の比率を 23%で定組成溶離を行い、各試料の分析終了後に 2 分間移動相 B の比率を 45%に上げて溶出洗浄した。保持時間はアプレミラストが約 10.4 分、CC-10007 が約 12.9 分、IS が約 14.7 分であった。0.1 mL の血漿を用いたときの定量範囲は 1.4～1400 ng/mL であった。

ラットでのアプレミラストの AUC、C_{max} 及び他の薬物動態学的パラメータは、微粉化及び粉砕化製剤間で類似しており（Table 6）、粒子径はアプレミラストのラットでの吸収及び体内動態に影響しないことが示された。この結果から、雄ラットで認められた未変化体の比率が低いという現象は、アプレミラストの物理化学的特性から吸収が制限されているためではなく、雄ラットではクリアランスが高いためであると考えられた。すべての試料で CC-10007 の血漿中濃度は定量限界（1.4 ng/mL）未満であり、ラットでは in vivo でアプレミラストの光学異性体変換は認められなかった。（2.6.5.3.4 項）。

Figure 8　微粉化又は粉砕化アプレミラスト懸濁液 25 mg/kg をラットに単回経口投与したときの血漿中未変化体濃度推移



平均値±標準偏差、n=5
Micronized: 微粉化アプレミラスト（Lot No.[redacted]、平均粒子径[redacted]um）
Milled: 粉砕化アプレミラスト（Lot No.[redacted]、平均粒子径[redacted]um）
Source: 4.2.2.2.4 項

Table 6　微粉化又は粉砕化アプレミラスト懸濁液 25 mg/kg をラットに単回経口投与したときのアプレミラストの薬物動態パラメータ

パラメータ （単位）	Group 1 微粉化アプレミラスト		Group 2 粉砕化アプレミラスト	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
C_{max} (ng/mL)	106	14.8	117	44.7
t_{max} （h） [a]	6	2-8	8	4-8
$t_{1/2}$ （h）	3.2	1.1	5.1	NA
AUC_t （ng•h/mL）	971	358	818	322
AUC_∞ （ng•h/mL）	871	334	895	NA
CL/F （mL/h/kg）	32700	15700	35300	NA

AUC_t =時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL/F = 経口みかけのクリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; NA =該当データなし （n = 2）; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; $t_{1/2}$ = 消失半減期
[a] t_{max} に関しては平均値±標準偏差ではなく中央値及び範囲が示されている。
Source: 4.2.2.2.4 項

ラットを用いた 104 週間がん原性試験で、反復投与後の曝露量は雌雄ラットいずれでも投与量の増加とともに上昇した。しかし、曝露量の上昇は雄ラットでは 3、10、20 mg/kg/day の投与量で用量比ほど増加はしなかったが、雌ラットでは 0.3、1、3 mg/kg/day の投与量でほぼ用量比例的に増加した。

投与量 3 mg/kg/day で性差が認められ、雌ラットの曝露量（AUC_t）は雄ラットの 27～52 倍で性差が認められた。当該試験でも、アプレミラストの *R*-エナンチオマーへの光学異性体変換は認められなかった（2.6.7.10B 項）。

以上の結果より、アプレミラストはラットでの吸収及び体内動態に性差が認められ、雄ラットでは、CL/F は非常に高く、高い初回通過効果が示唆された。一方、雌ラットでは経口投与後のアプレミラストの曝露量は雄ラットと比較して約 30 倍高い値を示した。総放射能と未変化体の曝露量を比較した場合、その比は雄ラットでは 20 倍を超え、雌ラットでは 2～3 倍であり、雄ラットではアプレミラストが代謝を受けやすいことが示された。ラットでは、アプレミラストの光学異性体変換は認められなかった。

3.3. ウサギでの吸収及び体内動態

［報告書番号 1398/387、添付資料 4.2.2.2.5、参考資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-009、添付資料 4.2.2.2.6、参考資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-028、添付資料 4.2.2.2.7、参考資料］

ウサギに関しては吸収及び体内動態試験を 3 試験実施した。4.2.2.2.5 項では[^{14}C]-アプレミラストを用いて雌ウサギでの吸収、代謝及び排泄試験を実施した。4.2.2.2.6 項では、妊娠ウサギを用いてアプレミラストの吸収及び体内動態を評価し、経口バイオアベイラビリティの算出を行った。4.2.2.2.7 項では、雌ウサギを用いて静脈内、経口及び皮下投与後のアプレミラストの吸収、体内動態及び媒体に対する耐性を評価した。

4.2.2.2.5 項では、雌の New Zealand 白色ウサギ（n = 4）に名目投与量 1000 mg/kg（100 µCi/kg）の[^{14}C]-アプレミラストを単回強制経口投与した。試験開始時は 2 匹の非絶食動物に投与したが、そのうち 1 匹は投与約 2 分後に死亡し、別の 1 匹は原因不明であるが投与約 8 時間後に死亡した。この結果、これらの動物の代わりに 2 匹の絶食動物に、投与量を変えずに投与容量を 10 mL/kg から 5 mL/kg に変えて新たにアプレミラストを投与した。投与後 8 時間まで所定の時点に周縁耳静脈より採血を行い、総放射能は液体シンチレーションカウンターを用いて測定し、未変化体濃度は固相抽出による前処理後に LC/MS/MS を用いて測定した。一部の試料については、アプレミラストの代謝物を評価するために、イオントラップ質量分析計を用いて定性的に LC/MS/MS による分析を行った。

血漿中代謝物プロファイルは、アキラル LC/MS 法により分析した。処理した試料の一部を用い、下記 HPLC システムによる分析を行った。カラムは Zorbax SB C8（4.6 x 250 mm、5 µm）、移動相として移動相 A（0.1% 酢酸水溶液［HPLC 用純水］）及び移動相 B（0.1%酢酸含有アセトニトリル［HPLC 用］溶液）を用い、移動相 A 及び B によるグラジエント法により、流速 1.0 mL/min で分析対象化合物を溶出させた。

検出波長は UV 230 nm で行い、^{14}C はインライン方式の放射能検出（500 µL 液体セル）により測定した。さらに、血漿中アプレミラスト濃度をアキラル LC/MS/MS（分析法 1）を用いても測定した。HPLC カラムからの溶離液は大気圧イオン化法（API）インターフェース経由で Finnigan LCQ Deca イオントラップ質量分析計に導入した（溶離液スプリット: 約 5:1、廃棄: MS）。投与後約 8 時間以上生存した 3 匹のウサギより得た血漿試料を分析し、その結果を Table 7 に示す（2.6.5.3.5 項）。

血漿の放射能分析の結果から、多くのアプレミラスト由来の放射能が経口投与後急速に吸収されることが明らかとなった（Table 7）。LC/MS 各試料とも未変化体濃度は定量限界（150 ng/mL）未満であった。LC/MS による定性分析から、血漿中には未変化体がほとんど含まれていないことが新たに明らかとなった。LC/MS 分析及び UV 検出器を用いた HPLC 分析の結果から、代謝物 M12 がウサギ血漿中の主たる構成成分であることが示唆された。

Table 7 [^{14}C]-アプレミラストを雌ウサギに 1000 mg/kg 単回経口投与したときの薬物動態パラメータ

パラメータ	総放射能				
	ウサギ 101F	ウサギ 111F[a]	ウサギ 222F[a]	平均値	標準偏差
C_{max}（ng eq./g）	13510	8026	12610	11380	2941
t_{max}（h）	0.5	2	1	1.2	0.8
$t_{1/2}$[b]（h）	4.8	NC	5.5	5.1	NA
AUC[c]（ng eq.•h/g）	41130	10980	39420	30510	16940
AUC_{∞}（ng eq.•h/g）	94980	NC	106800	100900	NA

平均値
AUC =濃度時間曲線下面積; AUC_{∞} =時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; C_{max} = 最高血漿中濃度; NA = 該当データなし（2 個の値のみ）; NC = 算出せず （濃度は時間とともに上昇）; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; $t_{1/2}$ =消失半減期
[a] 投与前一晩絶食
[b] 当該値の計算にはすべてのデータポイントは使用せず
[c] 101F 及び 222F では AUC_{4h}、111F では AUC_{2h}
Source: 4.2.2.2.5 項

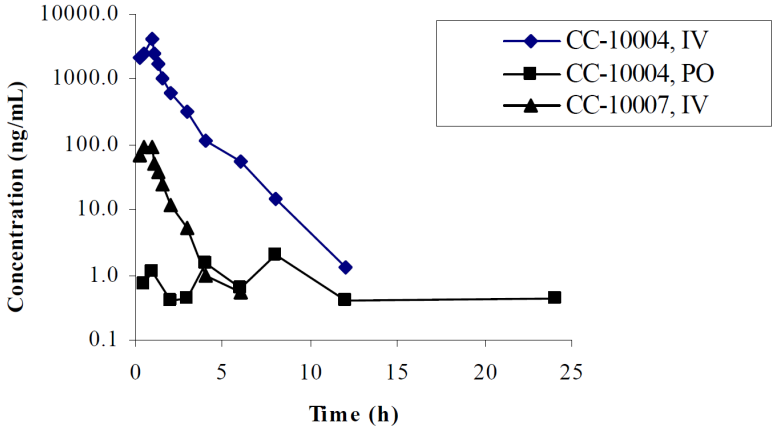
4.2.2.2.6 項では、6 回交尾後の New Zealand 白色（Hra:［NZW］SP）ウサギを 1 群 3 匹ずつ 2 群に無作為に割り付けた。5%ジメチルアセトアミド含有 20 w/v%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン水溶液に溶解したアプレミラスト溶液を、10 mg/kg の投与量で Group I のウサギの周縁耳静脈より 1 時間にわたり静脈内持続注入した。Group II のウサギには、1 w/v%CMC 水溶液に懸濁したアプレミラスト 250 mg/kg を経口投与した。6 回交尾後妊娠 8 日目と推定される自然繁殖雌ウサギに単回投与した。投与容量は両群ともに 5 mL/kg とした。Group I のウサギでは、投与前及び投与開始後 0.25、0.5、1（持続注入終了直前）、1.1、1.25、1.5、2、3、4、6、8、12 及び 24 時間に採血を行った。Group II のウサギでは、投与前及び投与開始後 0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、12 及び 24 時間に採血を行った。血液はリチウムヘパリン処理試験管に採取し、冷却パックの上に置き、採血後 1 時間以内に処理を行った。血漿試料は、20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液（25 mmol/L クエン酸、pH 1.5）を等容量加えて安定化させ、冷凍保存した。試料はキラル LC/MS/MS 法（分析法 2）により分析し、アプレミラスト及び CC-10007 を定量した。

Figure 9 に、アプレミラストを静脈内持続注入及び経口投与後の血漿中アプレミラスト及び CC-10007 濃度推移を示した。10 mg/kg を 1 時間静脈内持続注入終了直前のアプレミラストの平均血漿中濃度は 4163 ng/mL であり、平均 AUC_{∞}は 4871 ng•h/mL であった（Table 8）。持続注入終了と同時に血漿中アプレミラスト濃度は急速に減少し、平均 $t_{1/2}$ は 1.2 時間であった。平均血漿 CL_{tot} は 2039 mL/h/kg と高く、ウサギの肝血流量の 50%を超えていた。定常状態での分布容積（Vd_{SS}）は 1843 mL/kg と中程度であり、体内総水分量の約 2.5 倍であった（2.6.5.3.6 項、Davies B, 1993）。

アプレミラスト 250 mg/kg 経口投与後の曝露量は、平均 C_{max} は 2.62 ng/mL であった。経口投与後の絶対的バイオアベイラビリティは 0.02%未満であった。静脈内持続注入後でも CC-10007 の血漿中濃度は低く、CC-10007／アプレミラストの AUC 比は約 0.02 であり、この値は投与されたアプレミラスト中に含まれる CC-10007 と同程度であった。

妊娠ウサギでは、アプレミラストは中程度の Vd_{SS} を有し、高い CL_{tot} を示した。静脈内投与後の $t_{1/2}$ は平均で 1.2 時間であった。アプレミラストの光学異性体変換は認められなかった。CMC 製剤として経口投与したとき、アプレミラストの経口バイオアベイラビリティは非常に低かった。この低いバイオアベイラビリティは、少なくとも一部は肝での高い初回通過代謝によるものと思われる。ウサギでの経口投与時の胚・胎児発生に関する試験では、すべての血漿試料でアプレミラスト濃度は定量限界（150 ng/mL）未満であり、当該試験データと一致する結果であった（2.6.7.13B 項）。

Figure 9　アプレミラスト 10 mg/kg を妊娠 8 日目の雌ウサギに 1 時間静脈内持続注入したとき及び 250 mg/kg 経口投与したときの平均血漿中アプレミラスト及び CC-10007 濃度推移



Source: 4.2.2.2.6 項

Table 8　妊娠ウサギにアプレミラスト 10 mg/kg を静脈内持続注入及び 250 mg/kg を経口投与したときのアプレミラスト及び CC-10007 の薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	アプレミラスト (*S*-エナンチオマー)		CC-10007 (*R*-エナンチオマー)	
	Group I	Group II	Group I	Group II
	10 mg/kg	250 mg/kg	10 mg/kg	250 mg/kg
	静脈内投与	経口投与	静脈内投与	経口投与
$C_{60\ min}$ 又は C_{max}（ng/mL）	4163 ± 799	2.62 ± 1.48	94.3 ± 30.9	nd ± 0.0
t_{max}（h）	NA	5.0 ± 3.6	NA	NC
$t_{1/2}$（h）	1.2 ± 0.2	NC	1.1 ± NC	NC
AUC_t（ng•h/mL）	4860 ± 679	14.0 ± 12.5	115 ± 17	0.0 ± 0.0
AUC_∞（ng•h/mL）	4871 ± 678	NC	110 ± NC	NC
CL_{tot}（mL/h/kg）	2039 ± 273	NA	NA	NA
Vd_{SS}（mL/kg）	1843 ± 255	NA	NA	NA
F（%）	NA	0.012 ± 0.012	NA	NC

平均値± 標準偏差 （n = 3）
AUC_t =時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; nd = 定量限界（1 ng/mL）未満; $C_{60\ min}$ = 1 時間静脈内持続注入終了直前の血漿中濃度実測値（みかけの C_{max}）; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; F = 絶対的バイオアベイラビリティ; NA =該当データなし; NC =算出せず; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; $t_{1/2}$ = 消失半減期; Vd_{SS} = 定常状態での分布容積
Source: 4.2.2.2.6 項

第 3 の試験では、12 匹（n = 3/群）の非交尾雌 New Zealand 白色ウサギを用い、3 日間アプレミラストを経口投与（実投与量 250 mg/kg/day）、2 時間にわたって静脈内持続注入（実投与量 25 mg/kg/day）又は皮下投与（実投与量 25 mg/kg/day）し、対照群には媒体を 2 時間静脈内持続注入した（4.2.2.2.7 項）。当該試験の目的は、これらの経路で投与されたアプレミラストの吸収及び体内動態を評価すること、使用する媒体に対する忍容性を評価すること及び胚・胎児発生毒性試験に用いることのできる製剤を確定することである。静脈内持続注入及び皮下投与用媒体としてポリエチレングリコール（PEG）300／Cremophor ELP／生理食塩水（12.5/12.5/75）を、経口投与用媒体として Imwitor 742/ポリソルベート 80（50/50、w/w）を用いた。採血は、Day 1 の投与後 0.25、0.5、1（経口投与及び皮下投与のみ）、2、2.1（静脈内持続注入のみ）、2.25（静脈内持続注入のみ）、2.5（静脈内持続注入のみ）、3、4、6、8（静脈内持続注入のみ）、10、及び 24 時間に行った。血

液はリチウムヘパリン処理試験管に採取後直ちに氷冷し、採血後 1 時間以内に処理を行った。血漿試料は、アマスタチン（20 µmol/L）含有ゼーレンセン緩衝液（25 mmol/L クエン酸、pH 1.5）を等容量加えて安定化させ、冷凍保存した。血漿中アプレミラスト濃度をキラル LC/MS/MS 法により定量した。

動物はすべて投与開始 4 日目に予定どおり安楽死させたが、アプレミラスト又は媒体に関連した所見は認められなかった。静脈内投与媒体対照群のウサギ（3/3）で、投与開始日に褐色の尿が認められた。この変色は、ウサギの場合には正常範囲内と考えられたが、溶血の可能性も排除できなかった。剖検時に皮下投与群のウサギ 1 例で肝臓の淡褐色部分及び胃基底部粘膜表面に多数の赤色領域が観察されたことを除き、その他のウサギはすべて正常であった。

ウサギを用いたこれまでの試験と同様に、経口投与後のアプレミラスト曝露量は極めて低く、絶対的バイオアベイラビリティは 0.1%未満であった。さらに、ウサギに静脈内投与されたアプレミラストの CL_{tot} は 3000 mL/h/kg 以上で、Vd_{SS} は 3 L/kg を超える大きな値を示した。皮下投与後のアプレミラストのバイオアベイラビリティは 95%を超えた。一方、静脈内投与及び皮下投与後の AUC_t は 17000 ng•h/mL を超えたが、これらの投与群で使用した媒体中 Cremophor ELP の濃度及び総量（12.5%、約 1500 mg/日/匹）は、ウサギ毒性試験で製剤に対して推奨されている許容限度を超えていた（Neervannan, 2006、Strickley, 2004、2.6.5.3.6 項）。このことは、当該媒体が長期毒性試験では許容できないことを示唆した。さらに、Cremophor ELP の胚・胎児発生に対する影響については不明であることから（Tendron, 2003、Klimtová, 2003）、Cremophor ELP が発生毒性試験で適切な媒体ではないと考えられた。

3.4. サルでの吸収及び体内動態

［報告書番号 1398/399、添付資料 4.2.2.2.8、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに静脈内及び経口投与し、アプレミラストの吸収及び体内動態を評価した。静脈内及び経口投与試験では、6 匹ずつの動物（雌雄各 3 匹）を少なくとも 28 日間のウォッシュ・アウト期間を設けて使用した。各動物には、用量 1 mg/kg を単回急速静脈内投与又は用量 10 mg/kg を単回経口投与した。各投与後、採血及び排泄物の分別採取ができるように設計されているケージに動物を個別に収容した。血液は投与後 48 時間まで所定の時点に採取し、排泄物は投与後 168 時間まで採取した。

血漿、尿及び糞中の総放射能はシンチレーションカウンターを用いて測定した。一部の血漿、尿、糞試料に関しては必要に応じて抽出操作を行い、放射能検出器付き逆相 HPLC を用いて各マトリクス中の放射性物質のプロファイルを評価した。

カラムは Zorbax SB C8（4.6 x 250 mm、5 µm）、移動相として移動相 A（0.1%トリフルオロ酢酸水溶液 ［HPLC 用純水］）及び移動相 B（0.1%トリフルオロ酢酸アセトニトリル［HPLC 用］溶液）を用い、移動相 A 及び B によるグラジエント法により、流速 1.0 mL/min、UV 240 nm で、^{14}C はインライン方式の放射能検出により測定した。また、血漿中アプレミラスト濃度を定量限界 75.0 ng/mL のアキラル LC/MS/MS（分析法 1）を用いて測定した。一部の試料については、主要な放射性化合物を同定するために LC/MS/MS による分析を実施した。静脈内投与後の総放射能濃度の薬物動態学的パラメータを Table 9 に、血漿中及び血液中総放射能濃度推移を Figure 10 に示す。

[^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 1 mg/kg 単回静脈内投与後 5 及び 10 分での血漿中未変化体濃度は、総放射能濃度に比較して著しく低く、投与後 30 分以内に定量限界（75.0 ng/mL）未満に低下したため、アプレミラストの吸収及び体内動態を十分に解析できなかった。アプレミラスト濃度に比較して高い総放射能濃度及び未変化体の極めて短い $t_{1/2}$ は、アプレミラストが代謝されやすいことを示している。総放射能の血液/血漿中濃度比は 0.6～1 の範囲にあり、経時的な変動は認められな

かった。この結果は、アプレミラスト又はその代謝物がわずかに血球に移行することを示している（2.6.5.3.7 項）。

[^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 10 mg/kg 単回経口投与したときの血漿中及び血液中総放射能濃度及び血漿中未変化体濃度を Figure 10 に示した。そのときの総放射能及び未変化体の薬物動態学的パラメータを Table 10 及び Table 11 に示す。

[^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 10 mg/kg 単回経口投与したとき、アプレミラストは急速に吸収されて高い C_{max} を示し、CL/F は約 1.2 L/h/kg であった。総放射能に関する結果から、アプレミラスト由来の放射能の経口吸収率はおよそ 80%であることが明らかとなった。サルでは、アプレミラストの吸収及び体内動態に明らかな性差は認められなかった。アプレミラスト由来の放射能の血球移行はわずかであった。

サルを用いた反復経口投与毒性試験で、アプレミラストを経口投与後の曝露量は用量の増加に伴い増加したが、用量比ほどの増加を示さなかった。高投与量で反復投与によるアプレミラストの蓄積がわずかに認められたが、この傾向は試験全体に共通するものではなかった。全投与群及び試験をとおして、吸収及び体内動態について性差は認められなかった（2.6.7.3 項、2.6.7.7H 項、2.6.7.7I 項、2.6.7.7J 項）。アプレミラストの CC-10007 への光学異性体変換はサルでも認められなかった（2.6.7.3 項、2.6.7.7J 項）。

Table 9 [^{14}C]-アプレミラストをサルに 1 mg/kg 単回静脈内投与したときの総放射能濃度の薬物動態パラメータ

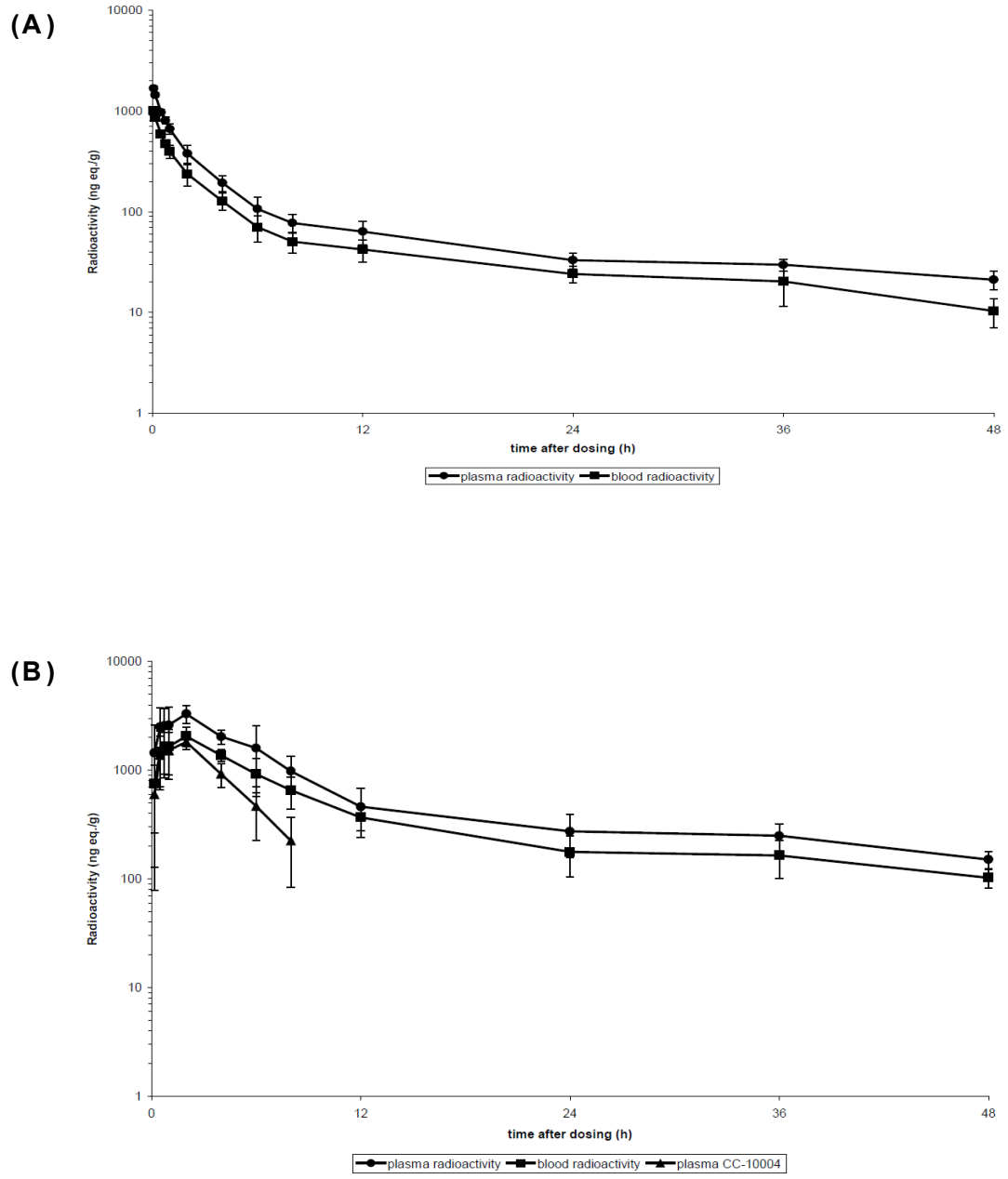
パラメータ	総放射能 [a]			
	血漿		血液	
	雄	雌	雄	雌
C_t （ng eq./g）	1670 ± 86.6	1690 ± 90.3	987 ± 22.8	1030 ± 76.2
$t_{1/2}$ （h）	19.2 ± 3.5	29.2 ± 1.6	24.2 ± 14.0	17.2 ± 1.6
AUC_t （ng eq.•h/g）	4200 ± 385	4070± 415	2740 ± 329	2530 ± 341
AUC_∞ （ng eq.•h/g）	4720 ± 378	5060 ± 371	3220 ± 587	2740 ±320
CL_{tot} （kg/h/kg）	0.23 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.34 ± 0.05	0.40 ± 0.05
Vz （kg/kg）	6.4 ± 1.4	9.0 ± 1.2	11.5 ± 5.1	9.9 ± 2.0

AUC_t =時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} =全身クリアランス; C_t = 初回採取時点での血漿中濃度; $t_{1/2}$ =消失半減期; Vz =終末相のみかけの分布容積

[a] 平均値± 標準偏差（n = 3）

Source: 4.2.2.2.8 項

Figure 10 [^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 1 mg/kg 単回静脈内投与したときの（A）血漿及び血液中総放射能濃度及び（B）10 mg/kg 単回経口投与したときの血漿及び血液中総放射能濃度と血漿中未変化体濃度推移



平均±SD（n= 3 ）
Source: 4.2.2.2.8 項

Table 10 [^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 10 mg/kg 単回経口投与したときの未変化体の血漿薬物動態パラメータ

パラメータ	雄 [a]	雌 [a]
C_{max}（ng/mL）	2000 ± 505	2290 ± 164
t_{max}（h）	1.2 ± 0.07	1.2 ± 0.8
$t_{1/2}$（h）	2.0 ± 0.05	1.7 ± 0.6
AUC_t（ng•h/mL）	7510 ± 1120	8060 ± 1650
AUC_∞（ng•h/mL）	7810 ± 1190	8320 ± 1800
F（%）	NC	NC

AUC_t =時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; C_{max} = 最高血漿中濃度; F =バイオアベイラビリティ; NC = 算出せず （静脈内投与後のアプレミラストの AUC_∞ は算出不可）; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; $t_{1/2}$ =消失半減期

[a] 平均値± 標準偏差（n = 3）

Source: 4.2.2.2.8 項

Table 11 [^{14}C]-アプレミラストをカニクイザルに 10 mg/kg 単回経口投与したときの総放射能の薬物動態パラメータ

パラメータ	総放射能 [a]			
	血漿		血液	
	雄	雌	雄	雌
C_{max}（ng eq./g）	3060 ± 440	3860 ± 433	1790 ± 168	2380 ± 397
t_{max}（h）	4.0 ± 2.0	1.2 ± 0.8	1.7 ± 0.6	1.6 ± 0.7
$t_{1/2}$（h）	20.9 ± 1.2	21.7 ± 2.4	19.5 ± 2.6	23.4 ± 2.4
AUC_t（ng eq.•h/g）	27500 ± 6480	29500 ± 1410	19100 ± 5780	18800 ± 172
AUC_∞（ng eq.•h/g）	32000 ± 7060	34400 ± 1050	22100 ± 6570	22200 ± 571
F（%）	78.7 ± 15.6	77.7 ± 6.5	81.0 ± 25.7	93.2 ± 11.9

AUC_t = 時間 0 から血漿又は血液中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; C_{max} = 最高血漿中濃度; F = 吸収率（総放射能の AUC 比）; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; $t_{1/2}$ = 消失半減期

[a] 平均値± 標準偏差（n = 3）

Source: 4.2.2.2.8 項

3.5. 動物での吸収及び体内動態の結論

動物でのアプレミラストの CL_{tot} 又は CL/F の種差は大きく、マウス及び雌ラットの CL_{tot} は肝血流量の 1/5 未満と低かったが、雄ラット及び雌ウサギでは肝血流量の 50%を超える高い CL_{tot} を示した。サルでは、CL/F は中程度であった。マウス、ラット、ウサギでの Vd は中程度であり、体内総水分量のおよそ 2～3 倍であった（Davies B, 1993）。この結果はアプレミラストの血管外組織分布が高いことを示唆している。アプレミラストの動物での $t_{1/2}$ は短く 1～3 時間の範囲であった。アプレミラスト由来の放射能の経口吸収率はマウス及びサルで 70%を超える高い値であった。経口投与後のアプレミラストの絶対的バイオアベイラビリティに種差があり、マウスで 27%、雄ラットで 12%、雌ラットで 65%であったが、ウサギでは 1%未満と非常に低い値であった。このことは、初回通過効果に大きな種差及びラットでは性差があることを示唆している。アプレミラストの吸収及び体内動態での性差はラットでは顕著であったが、マウス及びサルでは認められなかった。アプレミラストを広い用量範囲で経口投与したとき、曝露量は投与量の増加とともに増加したが、用量比ほどの増加を示さず、アプレミラストの吸収が溶解度律速であることが示唆された。実施された全試験及びすべての投与群をとおして、マウス及びサルにアプレミラストを反復経口投与したとき、血漿中濃度の顕著な蓄積は認められなかった。毒性評価に用いた 4 種類の動物すべてで、アプレミラストの光学異性体変換は認められなかった。

4. 分布

[^{14}C]-アプレミラストをマウスに経口投与及び静脈内投与し、放射能の組織分布を評価するとともに（4.2.2.2.1 項）、アプレミラストの in vitro タンパク結合についても評価した（4.2.2.3.1 項）。アプレミラストのマウス及びサルでの胎盤通過試験（2.6.7.12C 項、2.6.7.13C 項）も実施した。

4.1. マウスでの組織分布

［報告書番号 1398/376、添付資料 4.2.2.2.1、評価資料］

雌雄 CD-1 アルビノマウスを用いて[^{14}C]-アプレミラスト由来放射能の組織分布を評価した。雄有色 B6C3F1 マウスでの組織分布についても評価した。投与量 500 mg/kg でアプレミラストを単回強制経口投与し、組織分布の評価を行った。さらに、アプレミラスト由来の放射能の組織分布について定量的全身オートラジオグラフィーを用いて評価した。

Table 12 に、投与後 168 時間までのアルビノマウスの組織中放射能濃度（n = 3）の平均値を示す。投与後 2 時間の分布で、最も高い放射能を示した組織は、肝、腎及び膵臓であり、雌雄マウスともに分泌腺及び生殖器での放射能は低かった。アルビノマウスでは投与後 72 時間までに、肝臓及び雄マウスの腎臓（皮質及び髄質）、皮膚、ブドウ膜、鼻粘膜及び消化管粘膜を除いた組織中放射能濃度は定量限界（0.71 µg eq./g）未満に低下していた。完全な定量分析ができない組織の放射能レベルに関しては定性的評価を行った。投与後 24 時間までは腎錐体に放射能が検出された。また、投与後 72 時間では膀胱内容物、胆嚢、食道及び消化管内容物に放射能が検出された。投与後 168 時間以降にはいずれの組織でも放射能は検出されなかった。血液脳関門の通過は極めて低かった。アルビノマウスでの放射能の組織分布パターンは雌雄とも類似していた（2.6.5.5 項）。

有色マウスでは投与後 3 日でも低濃度の放射能濃度がほとんどの組織で検出されたが、投与後 7 日までには定量限界（0.81 µg eq./g）未満に低下していた。ブドウ膜及び色素沈着皮膚等メラニン含有組織への放射能の顕著な取込みはなかった。（2.6.5.5 項）。

Table 12 [^{14}C]-アプレミラスト 500 mg/kg を雌雄アルビノマウスに単回経口投与したときの組織中放射能濃度

組織タイプ	組織	組織中放射能濃度（μg eq./g）									
		2 h		6 h		24 h		72 h		168 h	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
血管/リンパ系	血液	18.78	12.44	8.03	10.43	4.40	3.51	nd	nd	nd	nd
	動脈	30.02	17.54	13.20	10.56	nd	3.58	nd	nd	nd	nd
	下顎リンパ節	20.64	17.81	14.86	11.15	4.26	5.44	nd	NS	nd	nd
代謝/排泄	腎皮質	61.32	26.38	20.55	21.26	11.24	7.64	5.02	nd	nd	nd
	腎髄質	52.68	20.82	17.90	17.29	21.35	6.11	2.89	nd	nd	nd
	肝臓	76.41	39.28	40.19	38.42	18.93	15.50	8.77	3.18	nd	nd
中枢神経系	脳	2.12	1.04	0.90	0.90	0.61	nd	nd	nd	nd	nd
	脈絡叢	6.41	4.33	2.19	4.32	nd	2.11	nd	nd	nd	nd
	髄膜	10.96	7.62	2.75	5.58	0.67	2.15	nd	nd	nd	nd
	松果体	NA	11.56	NA	NS	3.37	2.92	nd	NS	nd	NS
	脊髄	2.23	1.15	0.98	0.67	0.69	nd	nd	nd	nd	nd
内分泌	副腎	31.03	21.13	14.53	19.54	nd	5.92	nd	nd	nd	nd
	下垂体	34.82	9.79	9.87	14.33	2.66	2.72	nd	nd	nd	nd
	胸腺	22.65	13.98	9.38	10.38	0.95	3.16	nd	nd	nd	nd
	甲状腺	31.67	16.28	14.42	12.86	4.04	4.61	nd	nd	nd	nd
分泌腺	眼窩外涙腺	37.47	21.35	14.57	22.28	6.91	NS	nd	nd	nd	nd
	ハーダー腺	51.44	26.67	16.51	23.02	7.12	4.59	nd	nd	nd	nd
	眼窩内涙腺	35.04	19.74	10.14	11.89	NA	9.08	nd	nd	nd	nd
	唾液腺	35.41	22.11	13.77	15.06	5.28	4.79	nd	nd	nd	nd
脂肪	褐色脂肪	36.13	20.28	15.28	15.82	6.07	5.93	nd	nd	nd	nd
	白色脂肪	28.29	15.16	12.00	15.30	5.03	4.18	nd	nd	nd	nd
生殖腺	尿道球腺	41.46	NA	20.13	NA	4.59	NA	nd	NA	nd	NA
	包皮腺	30.52	NA	12.39	NA	3.58	NA	nd	NA	nd	NA
	前立腺	24.79	NA	8.40	NA	4.87	NA	nd	NA	nd	NA
	精嚢	27.45	NA	12.61	NA	4.33	NA	nd	NA	nd	NA
	睾丸	5.68	NA	2.25	NA	2.11	NA	nd	NA	nd	NA
	陰核	NA	26.64	NA	12.71	NA	3.01	NA	nd	NA	nd
	卵巣	NA	19.17	NA	17.02	NA	5.52	NA	nd	NA	nd
	子宮	NA	34.68[a]	NA	13.27	NA	6.00	NA	nd	NA	nd
筋肉系	筋肉	24.98	12.56	11.98	11.81	4.39	4.07	nd	nd	nd	nd
	心筋	39.68	23.05	15.55	16.43	2.33	4.40	nd	nd	nd	nd
	舌	33.23	17.82	12.62	14.55	4.81	4.54	nd	nd	nd	nd

Table 12 [^{14}C]-アプレミラスト 500 mg/kg を雌雄アルビノマウスに単回経口投与したときの組織中放射能濃度（つづき）

組織タイプ	組織	組織中放射能濃度 （µg eq./g）									
		2 h		6 h		24 h		72 h		168 h	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
未分類	骨髄	16.12	10.04	6.83	9.21	3.18	2.59	nd	nd	nd	nd
	肺	23.70	15.14	12.68	12.41	5.82	3.82	nd	nd	nd	nd
	鼻粘膜	22.43	5.06	9.30	6.58	5.13	2.64	0.68	nd	nd	nd
	膵臓	58.14	97.69[a]	31.37	32.33	25.86	8.49	nd	nd	nd	nd
	皮膚	24.56	11.44	10.33	10.26	4.05	2.61	1.30	nd	nd	nd
	脾臓	37.22	29.98	48.27	17.48	4.63	4.75	nd	nd	nd	nd
	歯髄	10.65	10.33	4.73	8.78	1.11	2.10	nd	nd	nd	nd
	ブドウ膜	7.40	6.57	4.85	8.16	2.54	2.43	1.08	nd	nd	nd
消化器系	胃粘膜 （胃底部）	89.63	220.8[a]	63.65	256.2[a]	110.6	135.3	23.09	nd	nd	nd
	胃粘膜 （非胃底部）	396.4[a]	421.1[a]	666.6[a]	269.4[a]	297.0	111.7	87.01	nd	nd	nd
	小腸粘膜	49.81	56.87[a]	20.99	19.49	5.12	5.15	nd	nd	nd	nd
	盲腸粘膜	135.0	143.5	121.6	276.6	127.5	119.9	24.02	nd	nd	nd
	大腸粘膜	46.80	44.58	234.3[a]	147.1	57.50	nd	7.77	nd	nd	nd
	直腸粘膜	29.54	14.75	65.02[a]	8.44	6.22	16.93	nd	nd	nd	nd
定量下限値		0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
定量上限値		5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457

NA = 該当データなし;nd = 定量限界（0.71 µg eq./g）未満; NS = 組織摘出せず
[a] 測定が消化管内容物による汚染の影響を受けた組織
Source: 4.2.2.2.1 項

4.2. In vitro 血漿タンパク結合

［報告書番号 CC-10004-DMPK-026、添付資料 4.2.2.3.1、評価資料］

ヒト及び動物でのアプレミラストの in vitro タンパク結合を限外ろ過法により測定した。試験には、CD-1 マウス、SD ラット、New Zealand 白色ウサギ、カニクイザル及び健康なヒト血漿及びヒト血漿の限外濾過液を用いた（抗凝固剤としてリチウムヘパリンを使用）。

血漿タンパク結合の測定を開始する前に、ヒト血漿限外濾液中アプレミラストのろ過器具への非特異的吸着及びマウス、ラット、ウサギ、サル、ヒト血漿並びにヒト血漿限外濾液中のアプレミラストの室温での安定性を評価した。アプレミラストの in vitro タンパク結合測定は、マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿を用い、0.25、0.75、2.5 µg/mL（n=3）の濃度で室温で実施した。アプレミラストを加えた血漿試料（1 mL）を Centrifree®限外ろ過装置（30000 分子量［MW］カットオフ）に添加した後、室温にて 15 分、3000 rpm で遠心分離した。分取した限外濾液 200 µL を、アプレミラストの安定化のために等量のブランクヒト血漿と 0.12 mol/L クエン酸の混合溶液を入れたポリプロピレン試験管に移した。

血漿及び限外濾液中アプレミラスト濃度を LC/MS/MS 法により定量した。15 分の遠心分離中室温で 10 ng/mL の濃度では、ヒト血漿限外濾液中のアプレミラストがろ過装置に非特異的に結合することはなかった。マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿、ヒト血漿限外濾液及びリン酸緩衝液中で、アプレミラストは室温で 1 時間は安定であった（1 時間後の減少率は 6%以内）。室温で 2 時間インキュベートした場合には、アプレミラスト濃度はヒト血漿で 14%、ヒト血漿限外濾液で 12%減少した。したがって、当該実験条件でアプレミラストの安定性を確保するために限外ろ過実験は 1 時間以内に行った。

室温でのマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿中アプレミラストのタンパク結合率を 2.6.5.6 項に示す。アプレミラストが 0.25～2.5 µg/mL の濃度範囲で、血漿タンパク結合率（平均値 ± 標準偏差）は、マウスで 88.6% ± 2.3%、ラットで 90.6% ± 0.9%、ウサギで 80.9% ± 1.2%、サルで 84.3% ± 1.5%、ヒトで 68.3% ± 0.9%であった。

以上の結果より、アプレミラストの動物及びヒトでの in vitro タンパク結合率は約 70%～90%であり、0.25～2.5 µg/mL の濃度範囲ではタンパク結合は濃度非依存的であった。動物に比較してヒトでのタンパク結合率は低かった。

4.3. 胎盤移行

［報告書番号 CC-10004-TOX-012、添付資料 4.2.3.5.1. 3、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-TOX-013、添付資料 4.2.3.5.2.7、評価資料］

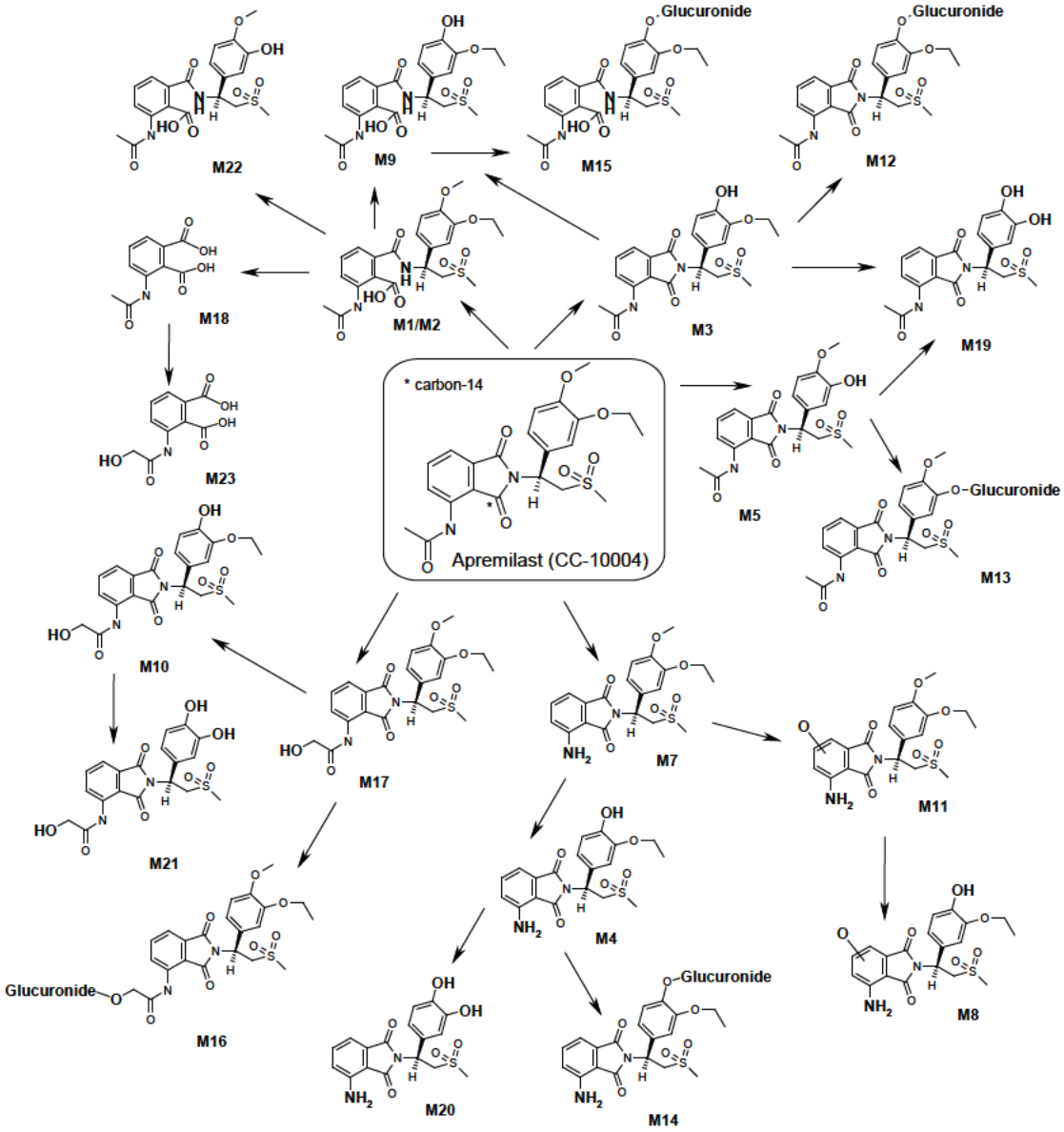
雌 CD-1 マウスでの生殖及び発生毒性試験及びカニクイザルでの胚・胎児発生毒性試験の一環として、アプレミラストの胎盤移行性を評価した。試験デザイン及び投与情報の詳細に関しては、2.6.6.6 項に示した。雌マウスを雄マウスと同居させる 15 日前から推定妊娠 15 日まで、アプレミラストを 10、20、40、80 mg/kg/day の用量で雌マウスに反復経口投与し、妊娠 15 日の投与後 0.5、2、4、8、24 時間後に妊娠マウス（1 時点当たり n=3）から血液を採取した。最終投与 24 時間後に、マウスを安楽死させた時点の胎児から血液を採取した（同腹の胎児ごとにプール）。母動物血漿中アプレミラスト濃度は用量比よりは低い上昇を示した。投与後 24 時間での胎児血漿中濃度のばらつきは大きく、同腹の胎児 10 匹中 6 匹が定量限界（1 ng/mL）未満の濃度を示した。同腹の胎児 10 匹中 4 匹でアプレミラストの定量を行ったところ、14.5～2813 ng/mL の濃度範囲であった。そのときの平均胎児／母動物血漿中濃度比は 0.81～1.07 であり、マウスではアプレミラストが胎盤を通過することが示された（2.6.5.7.1 項）。

妊娠したサルに、妊娠 20 日から 50 日までアプレミラストを 20、50、200、1000 mg/kg/day の用量で反復経口投与し、その後妊娠 100 日目に単回経口投与した（試験開始時 n = 16/群）。妊娠 100 日目の投与後 5 時間に母動物及び胎児の血液を採取した。胎児／母動物血漿中濃度比は、すべての投与群で 0.3～0.4 であった（2.6.5.7.4 項）。

5. 代謝（動物種間比較）

アプレミラストの in vitro 及び in vivo 代謝をマウス、ラット、雌ウサギ、サル及びヒトで評価した。これらの動物種及びヒトでのアプレミラストの推定代謝経路を Figure 11 に示した（2.6.5.11.1 項）。動物試験での詳細な代謝物データを 2.6.5.9 項に、さらに、ヒト代謝物に関する詳細な説明を 2.7.2.2.1 項に示した。本資料で使用した代謝物の命名は、5.3.3.1.2 項でヒト代謝物に採用した命名法に基づいており、動物試験で対応する代謝物の割当てを Table 13 に示す（2.6.5.11.2 項）。

Figure 11 アプレミラストの推定代謝経路



Ring-hydrolyzed metabolites M1 and M2 are represented as one structure.

Source: 4.2.2.2.1 項、4.2.2.2.3 項、4.2.2.2.8 項、4.2.2.4.1 項、5.3.3.1.2 項

Table 13 アプレミラスト代謝物の命名

代謝物 （Celgene 社化合物番号）	MW dalton	ヒト 5.3.3.1.2 項	マウス 4.2.2.4.1 項	マウス 4.2.2.2.1 項	ラット 4.2.2.2.3 項	サル 4.2.2.2.8 項
アプレミラスト （CC-10004、未変化体）	460	Parent	Parent	MuU22、 MuF22、 MuP22	RP20、RU20、 RF20	MkP24、 MkF24
開環加水分解体 （CC-15091）	478	M1/M2		MuP10/P11、 MuU11[a]、 MuF10/F11	RP10/P11、 RU10/U11、 RF10/F11	MkP13、 MkP14、 MkU11
O-脱メチル体（CC-16085）	446	M3	M3	MuF20	RP18、RU18、 RF18	MkU22、 MkF22
N-脱アセチル、*O*-脱メチル体	404	M4				MkF21
O-脱エチル体（CC-10047）	432	M5[b]		MuF17	RP16、RU16、 RF16	
N-脱アセチル体 （CC-10055）	418	M7	M7		RP14、RF14	
N-脱アセチル、水酸化体の*O*-脱メチル体	420	M8			RP15/F15、 RU17/F17	
開環加水分解、*O*-脱メチル体	464	M9		MuF8、MuF9	RP7/P8、 RU7/U8、 RF7/F8	MkU9/U10 、 MkF9/F10
水酸化アセトアミドの *O*-脱メチル体	462	M10				MkF20
N-脱アセチル、水酸化体	434	M11	M11			
O-脱メチル体のグルクロン酸抱合体 （CC-16166）	622	M12	M12	MuU12	RP12、RU12、 RF12	MkP15、 MkU14
O-脱エチル体のグルクロン酸抱合体	608	M13	M13	MuU11[a]		MkU13[a]
N-脱アセチル、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	580	M14	M14			
開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	640	M15	M15	MuP3、MuU2		MkP6、 MkP7、 MkU4、 MkU5
水酸化アセトアミドのグルクロン酸抱合体 （CC-16557）	652	M16	M16			
水酸化アセトアミド （CC-16401）	476	M17	M17			
3-アセトアミドフタル酸	223	M18	M18			
O-脱メチル、*O*-脱エチル体	418	M19		MuF14		MkF16
N-脱アセチル、*O*-脱メチル、*O*-脱エチル体	376	M20				
O-脱メチル、*O*-脱エチル、水酸化アセトアミド	434	M21	M21			
開環加水分解、*O*-脱エチル体	450	M22		MuF6、MuF7		
水酸化 3-アセトアミドフタル酸	239	M23	M23			

MW = 分子量

[a] MuU11 及び MkU13 ピークにはアプレミラスト加水分解物及び *O*-脱エチル体のグルクロン酸抱合体が含まれている。
[b] M5 はヒトでは検出されなかった。
Source: 4.2.2.2.1 項、4.2.2.2.3 項、4.2.2.2.8 項、4.2.2.4.1 項、5.3.3.1.2 項

[^{14}C]-アプレミラストを用いて in vitro 及び in vivo 代謝試験を実施した。動物の吸収及び体内動態並びに組織分布については 2.6.4.3 項及び 2.6.4.3 項でも考察を加えた。インライン放射化学検出器付き逆相 HPLC 又は分画後液体シンチレーション計測法により、定量的代謝物プロファイリングを行った。代謝物の同定には、質量分析計を用いた。一部の代謝物は、HPLC 上の保持時間及び質量分析法でのフラグメンテーションパターンをそれぞれの純正標準品のそれらと比較することにより、化学構造を同定した。代謝物の純正標準品に関しては、Table 13 に Celgene 社の化合物番号（CC 番号）を示した。

5.1. 肝ミクロソームでの代謝

［報告書番号 1398/261、添付資料 4.2.2.4.3、参考資料］

雌雄マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒトの肝ミクロソームでの[^{14}C]-アプレミラストの in vitro での代謝経路の評価を行った。

初期の試験では、Tris 緩衝液（50 mmol/L、pH 7.4）にラット肝ミクロソーム（1 mg ミクロソームタンパク/mL）及び 1、10、50 µmol/L の濃度の[^{14}C]-アプレミラストを添加し 120 分までインキュベートした。次にすべての動物種について、Tris 緩衝液（50 mmol/L、pH 7.4）に各肝ミクロソーム（1 mg ミクロソームタンパク/mL）及び 10 µmol/L の濃度の[^{14}C]-アプレミラストを添加しインキュベートした。代謝反応では、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）を添加することにより反応を開始し、60 又は 120 分後にアセトニトリルを添加して反応を停止した。NADPH 非添加の状態でインキュベートした反応液を対照とし、遠心分離により得られた上清を用いて代謝物の分析を行った。HPLC による分析では、Zorbax SB-C8（250 × 4.6 mm）カラムを使用し、移動相 A（0.1%トリフルオロ酢酸水溶液）及び移動相 B（0.1%トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液）によるグラジエント法により、流速 1.0 mL/min で分析対象化合物の溶出を行った（2.6.5.10.2 項）。

放射化学的検出器及び質量分析計による検出を行った。一部の代謝物については、純正標準品との比較により化学構造を同定した。

当該試験に用いたアプレミラストの濃度では、アプレミラストのみかけの代謝速度は、ウサギ >> サル > マウス=雄ラット > ヒト > イヌ > 雌ラットの順であった。アプレミラストを in vitro でインキュベートしたところ複数の代謝物が認められた（Table 14、2.6.5.10 項）。Figure 11 に代謝物の構造を示す。NADPH が存在しない状態で、アプレミラストはフタルイミドのアミド結合が加水分解を受けて M1 及び M2 を生成した。当該試験で、[^{14}C]-アプレミラストをリン酸緩衝液（pH 7.4）とともにインキュベートしても、これら 2 つの加水分解物が同程度生成した。したがって、フタルイミドのアミド結合の加水分解は、非酵素的に起きていると考えられた。

NADPH 非存在下では、マウス、イヌ、ヒト肝ミクロソームでの M7 の生成はわずかであったが、ウサギ肝ミクロソームではその生成量は多かった。すなわち、アミド結合の CYP に依存しない加水分解反応は、その他の動物種に比較してウサギで触媒作用を受けやすいと考えられた。

主代謝物である M3 は雌ラットを除くいずれの動物種でも認められ、M3 は *O*-脱メチル体であることが確認されている。したがって、ラットでは代謝に性差があることが示唆された。M3 は、イヌ、ヒト、雄ラットで唯一の CYP が関与している代謝物である。別の代謝物である M5 はマウス及びサルで生成が認められ、*O*-脱エチル体の標準品である CC-10047 とクロマトグラム上で一致した挙動を示した。ウサギでは M7 以外に M4、M8、M9、M10 と命名された複数の微量代謝物が認められた。

これらの in vitro データから、アプレミラストは、複数の代謝経路、すなわち非酵素的反応（M1 及び M2 を生成するフタルイミド環の開環加水分解）、非 CYP 依存性加水分解（M7 を生成する *N*-脱アセチル反応）及び CYP-依存性酸化反応（M3 及びその他の微量代謝物を生成する *O*-脱アルキル化反応）を経由して代謝されることが明らかとなった。ヒト肝ミクロソームにより生成した代謝物はすべて、1 種以上の動物種のミクロソームでも生成した。ラットを除き、いずれの動物種でも性差は認められなかった。

Table 14 肝ミクロソームによる[^{14}C]-アプレミラストの in vitro 代謝

[^{14}C]アプレミラスト（10 µmol/L）を肝ミクロソームと 120 分インキュベートした際の試料中放射能に占める割合（%）													
		マウス		ラット		ウサギ		イヌ		サル		ヒト	
代謝物	性	with	w/o	with	w/o	with	w/o	with	w/o	with	w/o	with	w/o
M1	M	10.3	8.2	7.4	8.2	4.8	5.8	4.1	3.9	7.0	7.4	8.7	12.1
	F	6.9	7.0	6.4	7.5	4.0	4.8	3.1	4.2	7.0	7.3	9.4	9.4
M2	M	9.2	7.9	5.6	6.5	2.1	4.2	3.0	2.9	5.4	6.2	6.6	11.3
	F	5.4	5.3	5.0	5.9	3.1	4.3	2.6	3.5	5.9	5.8	7.1	8.1
M3	M	4.9	ND	9.4	ND	36.2	ND	2.8	ND	11.2	ND	3.5	ND
	F	1.5	ND	ND	ND	28.5	ND	4.0	ND	12.8	ND	8.4	ND
M4	M	ND	ND	ND	ND	21.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	F	ND	ND	ND	ND	12.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M5	M	4.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.9	ND	ND	ND
	F	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.7	ND	ND	ND
M7	M	0.8	2.1	ND	ND	4.8	51.4	3.0	3.0	ND	ND	1.0	1.1
	F	2.5	3.1	ND	ND	13.4	32.6	2.8	3.9	ND	ND	1.0	1.1
M8	M	ND	ND	ND	ND	4.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	F	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M9	M	ND	ND	ND	ND	4.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	F	ND	ND	ND	ND	2.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M10	M	ND	ND	ND	ND	4.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	F	ND	ND	ND	ND	1.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

F = 雌; M = 雄; ND = 検出されず; with = NADPH 存在; w/o = NADPH 存在せず
Source: 4.2.2.4.3 項

5.2. 肝細胞による代謝

［報告書番号 CC-10004-DMPK-023、添付資料 4.2.2.4.2、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストの動物及びヒトの肝細胞を用いて in vitro 代謝を評価した（Table 15）。マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト（プールした男女）の凍結肝細胞を融解後、単離した細胞を適切な容量のインキュベーション培地に再懸濁した。各細胞懸濁液の一部を 1 回採取し、トリパンブルー色素排除試験法により細胞生存率を確認した。インキュベーション培地中の最終生存細胞数は 1 x 10^6 個/mL であった。

[^{14}C]-アプレミラストはジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解し、インキュベーション媒体で希釈し、アプレミラストの終濃度を 5 及び 25 µmol/L でインキュベーションを行った。インキュベーター（5% CO_2／95%空気、湿度約 95%）中で、Costar 24-well 細胞培養プレートを用い、37°C で 4 時間を限度としてインキュベートした。細胞生存率は、インキュベーション開始後 0、2、4 時間に、トリパンブルー色素排除試験法により確認した。陽性対照として、7-エトキシクマリン及び 7-ヒドロキシクマリン溶液を終濃度が 100 µmol/L となるように、それぞれインキュベーション培地に添加した。4 時間インキュベートした後、それぞれの well から反応液を採取し、3 倍量（体積比）の氷冷したアセトニトリルを添加して抽出し、遠心分離を行った。各遠心分離管中の沈殿物を 0.5 mL のアセトニトリル／緩衝液（2:1）で洗浄し、更に遠心分離を行った。洗浄液はそれぞれの上清と混ぜ

た後、アセトニトリル抽出物を液体シンチレーション計測法により放射能を n=2 で測定した。[^{14}C]-アプレミラスト含有インキュベーション溶液中の ^{14}C プロファイルは、下記 HPLC 法を用いた放射能検出 HPLC により測定した。溶離液のフラクションは、一定の時間（15 秒／フラクション）ごとに Deepwell LumaPlate™-96 プレートに分画した。続いてプレートを SpeedVac®濃縮器を用いて 8 時間を限度に乾固し、フラクションごとの放射能を測定した。

HPLC 法では、カラムは Phenomenex Luna C18（2）（4.6 x 150 mm、3.0 µm）及びガードカラムは Brownlee C18（3.2 x 15 mm、7.0 µm）を用い、アンモニア水により pH 3.2 に調節した 0.4%ギ酸水溶液及びアセトニトリルからなる移動相を用いてグラジエント法により分析対象を溶出させ、放射化学的検出により定量を行った。

Table 15 肝細胞による[^{14}C]-アプレミラストの代謝

[^{14}C]-アプレミラスト（25 µmol/L）と肝細胞を 4 時間インキュベートした際の試料中放射能に占める割合（%）							
代謝物	**培地**	**マウス**	**ラット**	**ウサギ**	**イヌ**	**サル**	**ヒト**
未変化体	69.03	65.20	45.93	1.41	64.20	53.86	69.45
M1/M2	13.86	9.85	9.82	5.03	10.15	10.77	10.32
M3	ND	0.95	1.69	1.00	0.37	1.21	1.37
M4 & M11	ND	0.56	0.56	0.90	ND	ND	ND
M7	ND	4.27	0.80	0.94	5.62	0.70	0.52
M12	ND	1.45	18.10	41.27	1.77	11.43	4.13
M14	ND	2.57	1.71	29.74	0.70	0.81	0.90
M15	ND	ND	1.21	3.17	ND	0.76	ND
M16	ND	0.31	1.05	ND	ND	ND	0.22
M17	ND	0.31	0.14	ND	ND	ND	0.27
M18	12.97	5.38	10.67	9.89	11.96	14.33	3.81
M23	ND	4.62	0.16	0.24	0.19	0.08	5.16
その他 [a]	4.14	4.53	8.16	6.41	5.04	6.05	3.85

ND = 検出されず
[a] 複数の微量放射性代謝物ピークを含む
Source: 4.2.2.4.2 項

[^{14}C]-アプレミラストはインキュベーション培地中で不安定であった。肝細胞が存在しない状態でも、培地と 4 時間インキュベートした場合、[^{14}C]-アプレミラストのわずか 69%しか未変化体として培地中に残存しておらず（Table 15）、顕著な量の M1/M2 及び M18 が認められた。さらに、複数の微量放射性ピークが陰性対照試料中に 1.9%～4.1%存在していた。代謝物の構造は、Figure 11 に示した。

[^{14}C]-アプレミラストの代謝は、ウサギ肝細胞で顕著で、ラット肝細胞では中程度であり、マウス、イヌ、サル及びヒトの肝細胞ではわずかであった。LC/MS/MS、プロダクト・イオン・スキャン又は多重反応モニタリング（MRM）モードでの MS/MS により、[^{14}C]-アプレミラストの未変化体及び 12 個の代謝物ピーク（M1/M2、M3、M4、M7、M11、M12、M14、M15、M16、M17、M18、M23）が認められ、一部は同定されている。M1/M2 及び M18 の生成量は、いずれの肝細胞とインキュベートしても、陰性対照試料と比較して同程度か、より低いことが示されている。ウサギ肝細胞とインキュベートした場合、総放射能の 25.4%～29.7%の M14 が生成した。その他の 5 種類の動物種では、M14 の生成量は総放射能の 0.8%～2.6%であった。M3、M7、M12 はすべての動物種の肝細胞インキュベーション培地中に存在していた。その他の微量代謝物のうち検出可能な放射能を有していたのは、M4（マウス、ラット、ウサギ肝細胞）、M15（ラット、ウサギ、サルの肝細胞）、M16（マウス、ラット、ヒト肝細胞）及び M17（マウス、ラット、ヒト肝細胞）であった。一部の代謝物は極めて低い放射能で、LC/MS によってのみ検出可能であった。全体として、ヒト肝細胞により in vitro で生成した代謝物はすべていずれか 1 種以上の動物種の肝細胞で生成した（2.6.5.10.1 項）。

5.3. 成熟及び若齢マウス並びに成人及び年少者での in vitro 代謝

［報告書番号 CC-10004-DMPK-038、添付資料 4.2.2.4.4、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストの in vitro 代謝を、成熟及び若齢 CD-1 マウス肝ミクロソーム並びに成人及び年少者男女の凍結肝細胞及び肝ミクロソームを用いて比較評価し、成熟（成人）及び若齢（年少者）間で代謝の差を評価した（4.2.2.4.4 項）。

[^{14}C]-アプレミラスト（1 及び 10 µmol/L）を、プールした成人男女、年少者男性（6 及び 10 歳）、年少者女性（7 及び 11 歳）、成熟 CD-1 マウス及び若齢雄 CD-1 マウス（14 日齢）の肝ミクロソーム並びにプールした成人男女、年少者男性（14 歳）、年少者女性（6 歳）の凍結肝細胞とインキュベートした。当該試験で用いたミクロソーム及び凍結肝細胞の代謝能を確認するために、陽性対照として[^{14}C]-7-エトキシクマリン（10 µmol/L）を用い、本試験と並行して 30 分間インキュベートした。放射能検出器付き HPLC による代謝物のプロファイリング及び MRM 又は選択反応モニタリング（SRM）モードで LC/MS/MS プロダクト・イオン・スキャンにより代謝物を同定した。

[^{14}C]-アプレミラストは、ミクロソームや肝細胞が存在しない状態でもインキュベートにより加水分解を受けて、M1 及び M2（開環加水分解体）及び M18（3-アセトアミドフタル酸）を生成した。ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞により生成し、同定された代謝物は、M3、M7（ミクロソームのみ）、M11、M12、M13、M14、M15 及び M17 であった（Table 16）。成人男女と年少者男女の肝ミクロソームによる代謝プロファイルには、明らかな差は認められなかった。同様に、成人男女と年少者男女の凍結肝細胞でも明らかな差は認められなかった。成熟マウス及び若齢マウス肝ミクロソームに関しては、M7 が極めてわずかではあるが成熟マウスでのみ生成していた以外、顕著な差は認められなかった（2.6.5.10.3 項）。

以上の結果より、マウス及びヒトで、成熟（又は成人）及び若齢（又は年少者）間で in vitro 代謝プロファイルにほとんど差はないと考えられた。

Table 16 [^{14}C]-アプレミラストをヒト及びマウス肝ミクロソーム並びにヒト肝細胞とインキュベートすることにより生成した放射性代謝物の割合（%）

代謝物	[^{14}C]-アプレミラスト（10 µmol/L）とインキュベートしたマトリクス:生成代謝物%							
	ヒト肝細胞			ヒト肝ミクロソーム			マウス肝ミクロソーム	
	成人男女	年少者男性	年少者女性	成人男女	年少者男性 (平均6/10 歳)	年少者女性 (平均7/10 歳)	成熟	若齢雄
未変化体	34	66	45	83	86	75	88	87
M1/M2	8.7	12	12	3.5	2.8	4.2	5.5	4.0
M1/M2	6.1	7.4	7.5	2.6	1.8	2.6	3.6	2.6
M3	3.7	1.9	8.0	2.5	3.9	3.1	ND	ND
M7	ND	ND	ND	0.3	ND	0.20	0.8	ND
M11	1.1	ND	1.1	0.4	0.3	0.70	0.2	0.80
M12	31	6.9	19	5.7	3.7	11	1.8	4.6
M13[a] M14[a]	3.7	1.2	1.4	0.50	0.20	0.80	ND	0.70
M15	4.4	1.4	2.1	0.30	0.10	0.90	ND	ND
M17	2.7	1.1	2.2	0.80	0.70	1.3	ND	ND
M18	4.8	2.3	2.8	0.50	0.40	2.0	0.60	0.80

ND = 検出されず
[a] 同時溶出代謝物
Source: 4.2.2.4.4 項

5.4. In vivo 代謝

アプレミラストの in vivo 代謝をマウス、ラット及びサルを用いて評価した。一部ではあるが、ウサギについても評価した。本項では、これら動物でのアプレミラストの代謝について詳細に述べるとともに、ヒトで推定されている代謝経路との比較を行った。ヒトでの代謝、吸収及び体内動態についての詳細なデータは 2.7.2.2.1 項及び 5.3.3.1.2 項に示した。[^{14}C]-アプレミラストを動物及びヒトに経口投与したときの血漿中及び排泄物中の放射性代謝物プロファイルを Table 17 及び Table 18 にそれぞれ示す。アプレミラストの動物及びヒトでの代謝物の命名法は、5.3.3.1.2 項でヒト代謝物に用いた命名法に基づいている。動物での代謝物は Table 13 に示す。

Table 17 [^{14}C]-アプレミラストを経口投与したときの in vivo 代謝の動物種間比較 -血漿中放射能組成

血漿中放射能の組成: 血漿試料中放射能又は総放射能 AUC に対する割合（%）として表示									
代謝物		ヒト[a]	マウス[b]		マウス[c]	ラット[d]		サル[e]	
		血漿総放射能 AUC に対する割合 (%)	投与後 45 分の血漿中放射能に対する割合 (%)		投与後 2 時間の血漿中の放射能に対する割合 (%)	投与後 12 時間の血漿中の放射能に対する割合 (%)		投与後 2 時間の血漿中の放射能に対する割合 (%)	
		M	M	F	M	M	F	M	F
未変化体		44.8	48.9	13.3	75	ND[f]	51	79.9	77.6
M1/M2	開環加水分解体	D	32.9	66.4	ND	5.1	32	2.7	2.6
M3	*O*-脱メチル体	D	ND	ND	ND	0.2	ND	ND	ND
M7	*N*-脱アセチル体	D	ND	ND	0.8	ND	ND	ND	ND
M11	*N*-脱アセチル、水酸化体	2.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M12	*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	38.7	ND	ND	9.7	43	6.4	15.2	16.3
M13	*O*-脱エチル体のグルクロン酸抱合体	2.4	ND	ND	6.2	ND	ND	ND	ND
M14	*N*-脱アセチル、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	4.9	ND	ND	2.1	ND	ND	ND	ND
M15	開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	ND	8.5	9.8	ND	ND	ND	0.9	2.0
M16	水酸化アセトアミドのグルクロン酸抱合体	6.6[g]	ND	ND	0.1	ND	ND	ND	ND
M17	水酸化アセトアミド	D	ND	ND	0.9	ND	ND	ND	ND

AUC =濃度時間曲線下面積; BID = 1 日 2 回; D = 検出; ND = 検出されず

[a] 5.3.3.1.2 項

[b] 4.2.2.2.1 項

[c] 4.2.2.4.1 項

[d] 4.2.2.2.3 項

[e] 4.2.2.2.8 項

[f] 当該時点では検出されなかったが、総放射能 AUC の 4%を占めていた。

[g] バリデートされた分析法によるその後のデータでは、アプレミラスト 30 又は 50 mg を BID にて 5 日間投与したとき、代謝物 M16 の血漿中濃度はアプレミラストの 1 ng/mL 未満であった（5.3.3.1.4 項）。

Table 18 [^{14}C]-アプレミラストを経口投与したときの in vivo 代謝の動物種間比較-排泄物中放射能組成

排泄物中放射能の組成: 投与放射能に対する割合（%）として表示									
代謝物		ヒト [a]	マウス [b]		マウス [c]	ラット [d]		サル [e]	
		M	M	F	M	M	F	M	F
未変化体		6.88	22.8	15.6	3.99	0.13	1.37	ND	0.05
M1/M2	開環加水分解体	1.45	5.56	7.15	ND	0.35	2.66	0.36	0.28
M3	*O*-脱メチル体	4.55	8.41	6.16	5.49	25.1	24.7	16.7	8.92
M4	*N*-脱アセチル、*O*-脱メチル体	2.36	ND	ND	ND	ND	ND	3.65	4.26
M5	*O*-脱エチル体	ND	1.33	1.4	ND	0.8	0.36	ND	ND
M7	*N*-脱アセチル体	0.11	ND	ND	0.13	1.33	4.29	ND	ND
M8	*N*-脱アセチル、水酸化体の *O*-脱メチル体	0.97	ND	ND	ND	0.22	4.13	ND	ND
M9	開環加水分解、*O*-脱メチル体	7.67	14.4	12.6	ND	4.89	7.2	27.5	40.09
M10	水酸化アセトアミドの *O*-脱メチル体	1.34	ND	ND	ND	ND	ND	1.09	0.47
M11	*N*-脱アセチル、水酸化体	1.41	ND	ND	0.76	ND	ND	ND	ND
M12	*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	33.67	0.93	0.52	37.3	3.89	7.07	7.33	9.43
M13	*O*-脱エチル体のグルクロン酸抱合体	2.04	ND	ND	13.1	ND	ND	1.33	1.71
M14	*N*-脱アセチル、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	4.04	ND	ND	2.08	ND	ND	ND	ND
M15	開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	3.32	0.06	0.33	4.61	ND	ND	2.2	1.9
M16	水酸化アセトアミドのグルクロン酸抱合体	0.64	ND	ND	0.16	ND	ND	ND	ND
M17	水酸化アセトアミド	2.02	ND	ND	0.13	ND	ND	ND	ND
M18	3-アセトアミドフタル酸	1.38	ND	ND	3.67	ND	ND	ND	ND
M19	*O*-脱メチル、*O*-脱エチル体	0.78	5.3	5.18	ND	ND	ND	5.69	2.42
M20 及び M21[f]	*N*-脱アセチル、*O*-脱メチル、*O*-脱エチル体及び *O*-脱メチル *O*-脱エチル、水酸化アセトアミド	0.48	ND	ND	0.89	ND	ND	ND	ND
M22	開環加水分解、*O*-脱エチル体	0.59	2.22	6.95	ND	ND	ND	ND	ND
M23	水酸化 3-アセトアミドフタル酸	2.98	ND	ND	0.06	ND	ND	ND	ND

F = 雌; M = 雄; ND =検出されず
[a] 5.3.3.1.2 項
[b] 4.2.2.2.1 項
[c] 4.2.2.4.1 項
[d] 4.2.2.2.3 項
[e] 4.2.2.2.8 項
[f] 共溶出ピーク

5.4.1. マウスでの in vivo 代謝

［報告書番号 1398/376、添付資料 4.2.2.2.1、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-031、添付資料 4.2.2.4.1、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストのマウスでの in vivo 代謝について、2 試験実施した。4.2.2.2.1 項では、外科的処置を施していないマウスにアプレミラストを高用量（500 mg/kg）、4.2.2.4.1 項では胆管カニュレーションを施したマウスにアプレミラストを低用量（10 mg/kg）単回経口投与し、代謝について評価した。

4.2.2.2.1 項では、各動物にアプレミラストを 10 mg/kg で単回急速静脈内投与又は 500 mg/kg で単回経口投与した。HPLC 分析では、カラムに Zorbax SB C8（4.6 x 250 mm、5 µm）を用い、移動相 A（0.1%トリフルオロ酢酸水溶液［HPLC 用純水］）及び移動相 B（0.1%トリフルオロ酢酸アセトニトリル［HPLC 用］溶液）を用いてグラジエント法により分析対象を溶出させた。

当該分析システムは、インライン放射能検出器と API インターフェースを介した Finnigan LCQ Deca Ion Trap 質量分析計を並列的に接続した構造である。カラム溶離液は放射能検出器と質量分析計におよそ 8:1 の割合で分離注入した。質量分析計はエレクトロスプレーイオン化（ESI） モードを用いた（陽イオン、スキャン範囲 m/z 100～800）。構造に関する情報をさらに得るために、必要に応じてフラグメンテーションデータを MS^n 実験から取得した。

両投与経路及び雌雄ともに、血漿、尿、糞等から得られた代謝物プロファイルは質的に類似していた。初期の時点での血漿では、経口投与後の雌を除いて未変化体が最も強いピークを示したが、その後は未変化体の放射能の比率は時間とともに減少し、それに代わって代謝物由来の放射能が増加した。血漿中放射能の主成分は開環加水分解体である M1 及び M2 であった。開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体である代謝物 M15 も相当量認められた。

未変化体として糞中に排泄された放射能の割合は、静脈内投与に比較して経口投与で顕著に高かった。これは経口投与では吸収されなかった未変化体が糞中に排泄されたためと考えられた。尿中では、未変化体は微量であり、尿中残存放射能は複数の代謝物によるものであった。

経口投与したとき、雄及び雌マウスの総放射能排泄量に対する各代謝物の排泄率はそれぞれ M1/M2: 5.6%/7.2%、M3: 8.4%/6.2%、M9: 14.4%/12.6%、M12: 0.9%/0.5%、M19: 5.3%/5.2%、M22: 2.2%/7.0%であった（Table 18、2.6.5.9.1 項）。以上の結果より、アプレミラストはマウスで極めて代謝されやすく、加水分解及び酸化による代謝、更にグルクロン酸抱合体へと代謝されることが示された。

4.2.2.4.1 項の目的は、[^{14}C]-アプレミラストを 10 mg/kg 経口投与又は 5 若しくは 10 mg/kg 静脈内投与した外科的処置を施していない雄マウスの血漿及び胆管カニュレーションを施した雄マウスから採取した胆汁、尿、糞を用いて代謝物プロファイルを分析し、主代謝物の特性を明らかにするとともに同定することであった。

血漿及び糞をアセトニトリルで抽出後、放射性物質について分析した。胆汁及び尿は遠心分離後、上清を分析に供した。代謝物由来の放射能プロファイルは放射能検出 HPLC で分析した。HPLC による分析では、Phenomenex Luna（2）C18 カラム（4.6 x 150 mm、3.0 µm）及び Brownlee RP 18 ガードカラム（3.2 x 15 mm、7.0 µm）を用い、アンモニア水により約 pH 3.2 に調節した 0.4%ギ酸水溶液（移動相 A）及びアセトニトリル（移動相 B）からなる移動相を用いてグランジエント法により分析対象を溶出させた。各分画を採取後 Packard TopCount® NXT™ Microplate Counter を用いて固体シンチレーション計測法により分析を行った。代謝物の特性分析及び同定は、適切な放射能モニターとともに LC/MS を用いて実施した。

外科的処置を施していない雄マウスに経口投与後 2 及び 8 時間並びに静脈内投与後 1 及び 4 時間に採取した血漿での代謝プロファイルを実施した。未変化体及び M12（*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体）は、マウス血漿での主要な血漿中放射性構成成分であった。マウス血漿では、2 種類の微量代謝物 M13 及び M14 並びに 4 種類の極めて微量な代謝物（M7、M16、M17、M18）が認められた。代謝物 M7 及び M17 は、薬理学的作用を有しており、マウス及びヒトで認められたが、いずれの種でも量的には少なかった。

胆管カニュレーションを施した雄マウスでは、胆汁を介した排泄が[^{14}C]-アプレミラスト由来放射能の主排泄経路であった。経口及び静脈内投与後 0～48 時間に胆汁中から、平均で投与量の約 53.9%及び 59.1%の放射能がそれぞれ回収された。未変化体は胆汁中では投与量の 1%未満であった。胆汁中主代謝物は M12 及び M13 であり、経口投与群及び静脈内投与群の 0～48 時間の胆汁中からそれぞれ投与量のおよそ 30%及び 10%が回収された。4 種類の代謝物 M14、M15、M18、M21 も検出されたが、その量は投与量の 0.5%～3.9%であった。6 種類の代謝物 M3、M7、M11、M16、M17 及び M23 が検出されたが、それぞれ投与量の 0.37%未満であった。

胆管カニュレーションを施した雄マウスに経口及び静脈内投与後の 0～48 時間に尿から、平均で投与量の 15.1%及び 17.8%の放射能が回収された。未変化体は、投与量の 1.74%未満であった。量的に最も多い尿中代謝物は M12 及び M13 であり、それぞれ投与量の 4.01%～7.14%であった。9 種類の代謝物 M3、M11、M14、M15、M16、M17、M18、M21 及び M23 が検出されたが、それぞれ投与量の 1%未満であった。

胆管カニュレーションを施した雄マウスに経口及び静脈内投与後の 0～48 時間に糞から、平均で投与量の 15.6%及び 10.5%の放射能が回収された。未変化体は、経口投与群及び静脈内投与群の糞中にそれぞれ投与量の 2.56%及び 4.48%が存在していた。最も多い糞中代謝物 M3 は、経口及び静脈内投与後 0～48 時間に糞中にそれぞれ投与量の 4.60%及び 2.95%が存在していた。6 種類の極めて微量な代謝物 M7、M11、M17、M18、M21 及び M23 も検出されたが、それらの量は投与量の 0.38%未満であった（2.6.5.9.2 項）。

5.4.2. ラットでの in vivo 代謝

［報告書番号 1398/259、添付資料 4.2.2.2.3、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストの雌雄ラットでの代謝を評価した（4.2.2.2.3 項）。反復投与による影響を評価するために、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を単回経口投与、又は非標識アプレミラスト 10mg/kg を 6 日間反復投与後、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を単回経口投与した。尿及び糞は投与後 24 時間まで採取した。

HPLC 分析では、カラムに Zorbax SB C8（4.6 x 250 mm）を用い、移動相 A（0.1%トリフルオロ酢酸水溶液［HPLC 用純水］）及び移動相 B（0.1%トリフルオロ酢酸アセトニトリル［HPLC 用］溶液）を用いてグラジエント法により分析対象を溶出させた。

当該分析システムでは、インライン放射能検出器及び質量分析計を並列的に接続した。同様の HPLC 条件下、ESI モード（陽イオン:スキャン範囲 m/z 100～700 又は陰イオン:スキャン範囲 120～700）により操作した 質量分析計を用いて代謝物の同定を行った。構造に関する情報をさらに得るために、必要に応じてフラグメンテーションデータを MS^n 実験から取得した。

雄ラット血漿中では、未変化体はほとんど認められなかった。雄ラットでの血漿中主代謝物は、未同定の初期に溶出される（すなわち、極性の高い） 物質（RP1）であり、同定されている代謝物の中では、M12 が、単回投与後の主放射性構成成分として認められた。雌ラット血漿中では、M1/M2 が主放射性構成成分であったが、未変化体、RP1 及び M12 も大きな放射性ピークとして認められた。

雌雄ラット及びすべての投与群で、尿中主代謝物は M12 であり、一部の試料では RU1 が認められた。M1/M2 及び未変化体の比率が雄ラットに比較して雌ラットで全体的に高かった点を除き、雌雄ラットでの尿中代謝物プロファイルはほぼ類似していた。

糞中の主代謝物は、雌雄ラットとともに M3 であったが、雄ラットでの M3 濃度は雌ラットに比較して高かった。M1/M2 及び未変化体の比率は雄ラットに比べ雌ラットで全体的に高かった。ラットで、*O*-脱メチル化とそれに続くグルクロン酸抱合が主代謝経路であるという結果は、マウスの結果と一致していた。

ラットの排泄物中で注目すべきその他の代謝物は、M5、M7、M8 及び M9 であり、投与放射能の 0.22%～7.20%であった（2.6.5.9.3 項）。

以上の結果より、ラットではアプレミラストは、加水分解、脱アセチル化、酸化とそれに続くグルクロン酸抱合を含む複数の代謝経路により著しく代謝を受けることが明らかとなった。ラットでのアプレミラストの主な消失経路は代謝物の糞中への排泄であった。

5.4.3. ウサギでの in vivo 代謝

［報告書番号 1398/387、添付資料 4.2.2.2.5、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストの雌ウサギでの吸収、代謝、排泄について評価するために予備試験を実施した。4 匹の雌 New Zealand 白色ウサギに、[^{14}C]-アプレミラスト 1000 mg/kg（100 µCi/kg）を単回強制経口投与した。投与後 8 時間までの血液を周辺耳静脈より経時的に採取した。遠心分離により血液から血漿を分離し、血漿中総放射能濃度を液体シンチレーション計測法で測定するとともに、固相抽出後 LC/MS/MS により未変化体濃度を測定した。一部の試料については、アプレミラストの代謝を評価するために、イオントラップ質量分析計を用い定性的 LC/MS による分析を行った。

血漿については、未変化体及び代謝物を定量するために UV 230 nm で検出し、^{14}C はインライン放射能検出により検出した。HPLC カラム溶離液は、API インターフェースを介して Finnigan LCQ Deca イオントラップ質量分析計に導入した（溶離液のスプリット: 廃棄対 MS 約 5:1）。質量分析計の操作は、陽イオン（スキャンレンジ: m/z 100～700）又は陰イオン（m/z 120～700）のいずれかでフルスキャンの ESI モードで行った。血漿の放射能分析の結果、経口投与後相当量のアプレミラスト由来の放射能が吸収されていることが示された。しかしながら、各試料での未変化体濃度は、用いた定量的 LC/MS/MS 法の定量限界（150 ng/mL）未満であった。定量的 LC/MS 分析の結果、血漿に未変化体はほとんど認められなかった。

ウサギ 1 例（101F）から採取した投与後 30 分及び 4 時間の血漿に、対照ウサギ血漿には存在しない成分が認められ、質量分析スペクトルの結果は M12 と一致した。当該試験では投与した[^{14}C]-アプレミラストの放射化学的純度が低かったため、HPLC による代謝物プロファイルの同定は実施しなかった。したがって、その他の代謝物が血漿中に存在するのかは明確ではなく、相対存在量も不明であった。しかし、M12 に相当する UV ピークの大きさから、M12 が主代謝物であることが示唆された。また、これらのデータは、アプレミラストをヒトに投与したときの血漿中の主代謝物が、雌ウサギでも同様であることを示唆した（2.6.4.3.3 項、4.2.2.2.5 項）。

5.4.4. サルでの in vivo 代謝

［報告書番号 1398/399、添付資料 4.2.2.2.8、参考資料］

カニクイザルに[^{14}C]-アプレミラストを経口投与及び静脈内投与し、代謝について評価した。1 群雌雄各 3 匹のサルに、[^{14}C]-アプレミラスト 1 mg/kg を静脈内急速投与又は 10 mg/kg で強制経口投与し、28 日以上の休薬期間経過後、投与方法を逆にして同じカニクイザルに[^{14}C]-アプレミラスト 1 mg/kg を投与した。採取した血漿、尿、糞試料の一部から放射性物質を抽出し、必要に応じて各マトリク

ス中に存在する放射性構成成分を明らかにするために放射化学検出器付き逆相 HPLC による分析を行った。また、主要な放射性物質を同定するために、一部の試料については LC/MS による分析も実施した。

HPLC 分析では、カラムに Zorbax SB C8（4.6 x 250 mm、5 µm）を用い、移動相 A（0.1%トリフルオロ酢酸水溶液［HPLC 用純水］）及び移動相 B（0.1%トリフルオロ酢酸アセトニトリル［HPLC 用］溶液）を用いてグラジエント法 により分析対象を溶出させた。

当該分析システムは、インライン放射能検出器と API インターフェースを介した Finnigan LCQ Deca Ion Trap 質量分析計を並列的に接続した。カラム溶離液は放射能検出器と質量分析計におよそ 8: 1 の割合で分離注入した。質量分析計は ESI モード（陽イオン、スキャン範囲 m/z 100～800）を用いて操作した。構造に関する情報をさらに得るために、必要に応じてフラグメンテーションデータを MS^n 分析により取得した。

未変化体は、投与後初期の時点では血漿中放射性成分のうち量的に最も多い化合物であったが、時間とともに減少した。一方、投与後 24 時間での主放射性物質は代謝物であり、血漿中には M1、M2、M12 が代謝物として認められたが、加えて 2 種類の極性代謝物（MkP2 及び MkP3）も認められた。しかし、その同定に関しては高濃度の内因性物質の妨害により不可能であった。その他に M15 の 2 種類のエナンチオマーが微量代謝物として同定された。

尿中には、未変化体はほとんど認められなかった。主尿中代謝物は M12 であった。尿中で同定された他の微量代謝物は、開環加水分解、M15、M9、M1/M2、M13 及び M3 であった。

経口投与の場合であっても、糞中未変化体濃度は低かった。経口投与及び静脈内投与後の尿中排泄率が類似しており、経口投与後のアプレミラストはほぼ完全に吸収されるが、その大部分は初回通過代謝を受けて胆汁中に排泄されている可能性が示唆された。

糞中の主代謝物は M3 及び 2 種類のエナンチオマーの可能性がある M9 である。その他に、微量代謝物として、M19 及び M10 が同定された。

サルの場合、アプレミラストに対する代謝活性は高く、未変化体として尿中及び糞中に認められた放射能は投与量の 1%未満であった。主代謝経路は、加水分解、*O*-脱メチル化及びグルクロン酸抱合であった（2.6.5.9.4 項）。

5.4.5. 代謝の動物種間比較のまとめ

動物及びヒトでのアプレミラストの代謝の比較を Table 17 及び Table 18 に、Figure 11 にアプレミラストの推定代謝経路を示した。ヒトの主代謝経路を経由して生成する代謝物に対するヒト、マウス、サルの曝露についてより定量的な比較を行い、薬理活性を有する代謝物については 2.6.2.2.1.4 項に示した。これらの試験で得られた情報から、毒性試験に用いた動物ではヒトと同様にアプレミラストは活発な代謝を受けていることが明らかとなった。アプレミラストは、すべての動物種で、少なくとも一部は非酵素的と考えられるイミド結合の開環加水分解を受ける。*N*-アセトアミド結合の加水分解も量的には少ないが、ヒトを含めた複数の動物種で認められる反応である。アプレミラストは広範囲にわたる酸化反応を受けるが、*O*-脱アルキル化が主であり、水酸化反応は限られている。アプレミラストのイミド結合加水分解体及び *O*-脱アルキル化代謝物の PDE4 酵素及び TNF-α 産生に対する阻害活性は著しく低下しており、これらがアプレミラストの薬理活性全体に寄与している可能性は低いと考えられた（2.6.2.2.1.4 項）。ヒトを含めたすべての動物種で主要な酸化経路は *O*-脱メチル化であり、代謝物 M3 が生成する。代謝物 M3 は続いてグルクロン酸による抱合を受けてグルクロン酸抱合体 M12 となる。代謝物 M12 は、ヒトでの主要な血漿中代謝物（血漿総放射能 AUC の 39%）であり、かつ排泄成分の 1 つ（投与放射能の 34%）である。マウス毒性試験及びサル毒性試験でも、血漿中に代謝物 M12 が認められた（2.6.7.7F 項、2.6.7.7J 項）。これらの結果から、ヒト

で生成した代謝物はすべて、毒性試験に用いられた 1 種類以上の動物種で生成していることが明らかとなった。

Table 19 アプレミラスト及び代謝物 M3、M7、M12、M17 のマウス及びサルの対ヒト推定曝露量比

分析対象	ヒト 30 mg BID 投与後の AUC_{24h} (ng•h/mL)	6 ヵ月マウス毒性試験（10 mg/kg/day）[a]		マウスがん原性試験（1000 mg/kg/day）[b]		12 ヵ月サル毒性試験（600 mg/kg/day）[c]	
		AUC (ng•h/mL)	対ヒト比	AUC (ng•h/mL)	対ヒト比	AUC (ng•h/mL)	対ヒト比
アプレミラスト	7308[d]	5614/5842[e]	0.77/0.80	52856/75049	7.2/10	42608/26936	5.8/3.7
M3	Trace[f]	5.29/15.2	NC	NA	NC	2768/1065	NC
M12	12700[g]	1459/1856	0.11/0.15	Not assayed	NC	90035/63662	7.1/5.0
M7	260[h]	56/58	0.22/0.22	530/750	2.0/2.9	ND	NA
M17	Trace[f]	67/70	NC	630/900	NC	ND	NA

AUC =血漿中濃度時間曲線下面積; BID = 1 日 2 回; NA = 該当データなし; NC = 算出せず。ただし入手されたデータより 1 より大きいと推定される; ND = 検出されず

[a] 6 ヵ月マウス毒性試験（2.6.7.7F 項）での M3 及び M12 の AUC 値はバリデートされた生物学的分析法で得られた値であり、10 mg/kg/day の無毒性量（NOAEL）からの値である。6 ヵ月マウス毒性試験での M7 及び M17 の AUC 値は、当該試験でのアプレミラスト AUC にマウス代謝試験（4.2.2.4.1 項）で観察された代謝物対アプレミラストの比 （M7 に関しては 0.01、M17 に関しては 0.012）を乗じて算出。

[b] マウスがん原性試験（2.6.7.10A 項）での最大投与量での M7 及び M17 の AUC 値は、当該試験でのアプレミラスト AUC にマウス代謝試験 （4.2.2.4.1 項）で観察された代謝物対アプレミラストの比（M7 に関しては 0.01、M17 に関しては 0.012）を乗じて算出。

[c] 12 ヵ月サル毒性試験（2.6.7.7J 項）での M3 及び M12 の AUC 値はバリデートされた生物学的分析法で得られた値であり、600 mg/kg/day の NOAEL からの値である。M7 及び M17 はサル血漿中では検出されなかった。

[d] 臨床第 2 相試験（5.3.3.5.3 項）で得られた最高臨床用量である 30 mg BID でのアプレミラストの総薬物曝露量算術平均 （定常状態 AUC_{24h}; 母集団薬物動態解析から算出）（5.3.3.5.3 項）

[e] 動物データはすべて雄/雌で表示

[f] M3 及び M17 に対するヒトの曝露量データは、ヒトマスバランス試験での単回 20 mg 投与量で得られたものであり、ヒト血漿ではこれらの代謝物の存在は痕跡程度である（5.3.3.1.2 項）。

[g] ヒト血漿中の M12 に対する曝露量は、ヒト臨床試験の Day 5 での 30 mg BID 投与後のバリデートされた生物学的分析結果に基づいた値である。本表での AUC 値は、臨床試験で得られた M12 対アプレミラストの AUC 比に、アプレミラスト 30 mg BID（7308 ng•h/mL）を投与された乾癬症患者での定常状態のアプレミラスト曝露量を乗じて算出した（5.3.3.1.4 項）。

[h] ヒト血漿中の M7 に対する曝露量は、臨床試験でアプレミラスト 20 mg 単回投与で得られたものである。本表での AUC 値は、臨床試験で得られた M7 対アプレミラストの AUC 比に、アプレミラスト 30 mg BID（7308 ng•h/mL）を投与された乾癬症患者での定常状態のアプレミラスト曝露量を乗じて算出した（5.3.3.4.4 項）。

6. 排泄

[^{14}C]-アプレミラストを動物に静脈内投与及び経口投与し、放射能の排泄率及び排泄経路を評価した。排泄率については Table 20 に示す。本項では、動物での放射能の排泄について比較評価し、ヒトで観察されたパターン（2.7.2.2.2.3 項、5.3.3.1.2 項）と比較した。詳細なデータは 2.6.5.13 項及び 2.6.5.14 項に示した。マウスでの乳汁排泄試験も実施した（2.6.5.7.2 項、4.2.2.5.2 項）。

Table 20 [^{14}C]-アプレミラストを動物及びヒトに単回投与したときの放射能排泄率

動物種（添付資料番号）	投与経路、投与量（mg/kg）	性	投与放射能に対する割合（平均%）			
			尿	胆汁	糞	合計 [a]
マウス（4.2.2.2.1）	IV、10	M	7.8	NC	66.2	90.6
	IV、10	F	8.7	NC	71.3	91.1
	PO、500	M	4.1	NC	71.5	97.7
	PO、500	F	3.0	NC	73.1	92.8
マウス（BDC）（4.2.2.5.1）	IV、5	M	17.8	59.1	10.5	90.2
	PO、10	M	15.1	53.9	15.6	91.0
ラット（4.2.2.2.3） [b]	PO、10[c]	M	8.5	NC	33.4	45.4
	PO、10[c]	F	12.1	NC	44.5	60.8
	PO、10[d]	M	15.7	NC	57.9	74.5
	PO、10[d]	F	29.6	NC	28.2	52.6
サル（4.2.2.2.8）	IV、1	M	15.7	NC	56.6	79.6
	IV、1	F	16.2	NC	56.0	81.1
	PO、10	M	17.2	NC	69.3	93.5
	PO、10	F	20.3	NC	68.2	95.8
ヒト（5.3.3.1.2）	PO、20 mg	M	57.7	NC	38.9	96.6

BDC = 胆管カニュレーションを施した;IV = 静脈内; PO = 経口; NC = 算出せず; M = 雄、F = 雌
[a] ケージ洗浄液、ケージふき取り用具、動物の剥落物を含む
[b] 採取は 24 時間のみ
[c] [^{14}C]-アプレミラストを単回投与
[d] 非標識アプレミラストを 6 日間反復投与後 [^{14}C]-アプレミラストを単回投与
Source: 4.2.2.2.1 項、4.2.2.2.3 項、4.2.2.2.8 項、4.2.2.5.1 項、5.3.3.1.2 項

6.1. マウスでの排泄

［報告書番号 1398/376、添付資料 4.2.2.2.1、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-030、添付資料 4.2.2.5.1、参考資料］

[^{14}C]-アプレミラストのマウスでの in vivo での排泄試験を 2 試験実施した。4.2.2.2.1 項では、外科的処置を施していないマウスでの排泄を、4.2.2.5.1 項では胆管カニュレーションを施したマウスでの排泄を評価した。

4.2.2.2.1 項で、CD-1 アルビノ雌雄マウスに[^{14}C]-アプレミラストを単回静脈内急速投与及び単回経口投与した。投与量をそれぞれ 10 mg/kg 及び 500 mg/kg に設定した。1 群当たり雌雄各 15 匹の動物を設定したが、経口投与したマウスでは雄 1 匹に投与時にシリンジが動かなくなるトラブルがあったため除外し、実験には雄 14 匹、雌 15 匹を供した。

排泄試験結果を Table 20 に示す。静脈内及び経口投与ともに、糞中排泄が主であった。静脈内投与後のマウスで、胆汁中排泄を介した糞中排泄が顕著であった。排泄された放射能の約 70%が、静脈

内投与では投与後 24 時間以内に、経口投与では投与後 48 時間以内に回収された。全体的に極めて微量の放射能が屍体に残存していたが、総回収率は 90%を超えていた（2.6.5.13.1 項）。

4.2.2.5.1 項では、胆管カニュレーションを施した雄マウスに[^{14}C]-アプレミラストを単回経口投与（10 mg/kg）又は単回静脈内投与（5 mg/kg）し、放射能の排泄率を測定した。経口投与では媒体として 1% CMC を、静脈内投与では媒体として 5%ジメチルアセトアミド、35%PEG400 及び 60%リン酸緩衝化生理食塩水混合溶液を用いた。経口投与及び静脈内投与後の放射能の胆汁、尿、糞への排泄は投与後 48 時間まで評価した。その結果を Table 20 に示した。

胆管カニュレーションを施したマウスに経口投与又は静脈内投与された[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能は速やかに排泄され、その排泄率は投与後 24 時間以内におよそ 75～87%に達した。経口投与後 48 時間までに排泄された平均放射能排泄率は、胆汁で 53.9%、尿で 15.1%、糞で 15.6%であった。胆汁中及び尿中に排泄された放射能量から、経口投与後少なくとも投与放射能の 69%が吸収されていることが明らかとなった。静脈内投与後 48 時間までの胆汁、尿、糞への平均放射能排泄率はそれぞれ 59.1%、17.8%、10.5%であった。胆管カニュレーションを施したマウスでは、経口投与及び静脈内投与後、投与された放射能の大部分が胆汁中に排泄されており、マウスでは[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能の主排泄経路が胆汁であることが明らかとなった。経口投与及び静脈内投与後の放射能の胆管カニュレーションを施したマウスでの総放射能回収率は、それぞれ 91.0%及び 90.2%であった（2.6.5.14 項）。

6.2. ラットでの排泄

［報告書番号 1398/259、添付資料 4.2.2.2.3、参考資料］

雌雄ラットでの[^{14}C]-アプレミラスト由来放射能の排泄について評価した。反復投与による影響を評価するために、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を単回経口投与、又は非標識アプレミラスト 10 mg/kg を 6 日間反復投与後、[^{14}C]-アプレミラスト 10 mg/kg を単回経口投与した。[^{14}C]-アプレミラスト投与後のラットをガラス製代謝ケージで飼育し、投与後 24 時間まで尿及び糞を採取した。燃焼処理後の排泄物中放射能の測定は、液体シンチレーション計測法で行った。

投与後 0～24 時間の総放射能の平均回収率は投与量の 45%～75%であった（Table 20）。このように低い回収率及び個体間のばらつきがみられた原因としては、試料採取時間が短かったこと及び採血時にラットをケージから出したことが考えられた。屍体中の残存放射能については測定を行わなかった。

雌雄ラットで、単回投与群及び反復投与群のいずれの群でも、主排泄経路は糞中排泄であった。投与後 0～12 時間に回収された放射能は雄に比較して雌で低かった。しかし、0～24 時間での回収率は雌雄とも同程度であった。この結果は、ラットでは雌での排泄速度が雄よりも遅いことを示している。雌ラットで、反復投与後の尿中排泄は、単回投与後のそれよりも多かったが、全体として、ラットの排泄経路に関しては雌雄間で明確な差及び反復投与による影響は認められなかった（2.6.5.13.2 項）。

6.3. サルでの排泄

［報告書番号 1398/399、添付資料 4.2.2.2.8、参考資料］

カニクイザルに、[^{14}C]-アプレミラストを投与量として 1 mg/kg 単回静脈内急速投与又は 10 mg/kg 単回強制経口投与して排泄を評価した。尿及び燃焼処理後の糞中放射能の測定は液体シンチレーション計測法で行った。マスバランス分析の結果、サルでは、投与放射能のほとんどが糞中に排泄されていることが確認された。

静脈内投与後の放射能の排泄は遅く、最終採取時間帯である投与後 144～168 時間にも放射能が排泄物中に回収された。屍体残存放射能の測定は行わなかったが、低い総放射能回収率からも組織に放射能が滞留していると考えられた。静脈内投与後の高い糞中排泄率から、アプレミラスト由来の放射能が胆汁を介して糞中に排泄されていることが示唆された。

静脈内投与と同様に、経口投与の場合にも最終採取時間帯である投与後 144～168 時間に放射能が尿及び糞中に排泄されていた。経口投与群での総放射能回収率は投与量の 93%以上であり、静脈内投与群に比較して高かったが、これは吸収された放射性物質の胆汁中排泄に加えて、未吸収の放射性物質の糞中排泄を反映した結果であると考えられた。

以上の結果より、アプレミラスト由来放射能のサルでの主排泄経路は、胆汁を介した糞中排泄であり、尿中排泄はマイナーな経路であることが示唆された。サルの排泄経路について、顕著な性差は認められなかった（2.6.5.13.3 項）。

6.4. 乳汁排泄

［報告書番号 CC-10004-DMPK-034、添付資料 4.2.2.5.2、参考資料］

アプレミラストを授乳中の CD-1 マウスに経口投与し、アプレミラストの乳汁排泄を評価した（4.2.2.5.2 項）。当該試験では、分娩後約 13 日目の雌マウスに 1% CMC に懸濁したアプレミラスト（1 mg/mL）を 10 mg/kg の用量で強制経口投与した。1 時点 5 匹の母動物から乳汁及び血液を投与後 1、6、24 時間に採取し、乳汁及び血漿中アプレミラスト濃度を LC/MS/MS 法により定量した。

投与後 1 及び 6 時間での平均血漿中アプレミラスト濃度はそれぞれ 984 及び 138 ng/mL であったが、乳汁中濃度はそれぞれ 1441 及び 186 ng/mL であった。平均乳汁／血漿中濃度比は 1.46～1.62 であり、マウスでアプレミラストが乳汁中に排泄されることが明らかとなった。投与後 24 時間の血漿中及び乳汁中濃度は定量限界（3 ng/mL）未満であった（2.6.5.7.2 項）。

6.5. 排泄試験の結論

動物では、[^{14}C]-アプレミラスト由来放射能の主排泄経路は、胆汁を介した糞中排泄であり、静脈内投与放射能の 56%～71%が糞中へ排泄された。尿中排泄はマイナーな経路であり、静脈内投与放射能の 8%～18%が尿中に認められた。胆汁を介した糞中排泄は、動物で[^{14}C]-アプレミラストを経口投与後に吸収された放射能の主排泄経路であった。

アプレミラスト由来放射能の尿中排泄は、動物では 3%～30%であったのに対し、ヒトでは約 58%と高かった（5.3.3.1.2 項）。ヒトと実験動物との間で、排泄経路に違いがみられた理由は不明であるが、投与量が動物では 1～500 mg/kg であるのに対してヒトでは 20 mg（0.33 mg/kg に相当）と低いためである可能性及び動物と比較してヒトでは極性の高いグルクロン酸抱合体（M12、M14、M16）の血漿中濃度が高く尿中排泄が高くなった可能性が考えられた。Table 18 に示すように、ヒト及び動物でアプレミラスト由来放射能は主に代謝物として排泄され、未変化体の排泄は極めて少なかった。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

アプレミラストの酸化的代謝での CYP の役割を評価するために、in vitro 試験を行った。また、in vitro での CYP 活性に対するアプレミラストの誘導能及び阻害作用の有無についても評価した。P-gp、BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1、OATP1B3 に対して、アプレミラストが in vitro で基質又は阻害薬として作用する可能性について評価した。さらに、アプレミラストが in vitro で MRP1、MRP2、MRP3、MRP4、MRP8 の阻害薬として作用する可能性についても評価した。

7.1. CYP 分子種に対する基質性

［報告書番号 1398/393、添付資料 4.2.2.6.1、評価資料］

[^{14}C]-アプレミラスト代謝に関与する CYP 分子種について、ヒト肝ミクロソーム、相補的デオキシリボ核酸（cDNA）発現ヒト CYP 分子種（Supersomes^{TM}）及び CYP 分子種の選択的阻害薬を用いて評価した（4.2.2.6.1 項）。

ヒト肝ミクロソーム中で、[^{14}C]-アプレミラストは、M1、M2、M3、M5 と命名した 4 種類の代謝物に代謝される。開環加水分解体である M1 及び M2 は、NADPH 非存在下でも生成し、CYP により生成する代謝物とは考えられていない。代謝物 M3 及び M5 は、NADPH 非存在下ではほとんど生成しないため、CYP が関与していると考えられた。M3 及び M5 に対するみかけのミカエリス定数（K_m）はそれぞれ 199 及び 194 µmol/L と高く、CYP に対するアプレミラストの親和性が比較的低いことが示唆されている。

cDNA 発現ヒト CYP 分子種とインキュベートした結果、アプレミラストが CYP3A4 により M3 に代謝されることは明らかとなったが、CYP3A4 及び CYP2A6 等の他の CYP 分子種により M5 に代謝される割合は低かった。

CYP3A4 の選択的阻害薬であるケトコナゾールの存在下、M3 及び M5 の生成は著しく阻害された。これらの結果は、cDNA 発現 CYP3A4 で得られたデータを支持するものであり、アプレミラストの代謝の大部分が CYP3A4 を介していることが示唆された。フラフィリン（CYP1A2）、8-メトキシプソラレン（CYP2A6）、モノクロナール抗 CYP2E1、スルファフェナゾール（CYP2C9）及びトラニルシプロミン（CYP2C19）といった代表的な CYP 阻害薬の存在下でも、アプレミラストの代謝が阻害された（2.6.5.10.3 項）。

以上の結果より、[^{14}C]-アプレミラストの代謝の大部分は CYP3A4 により代謝されるが、CYP1A2 及び CYP2A6 等の他のアイソザイムも関与していることが示唆された。

7.2. CYP 阻害

［報告書番号 1398/227、添付資料 4.2.2.6.3、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-039、添付資料 4.2.2.6.4、評価資料］

ヒト肝ミクロソームでの CYP 活性に対するアプレミラストの阻害作用及び時間依存的阻害作用を評価した（4.2.2.6.3 項、4.2.2.6.4 項）。

CYP1A2 に対してはフェナセチン *O*-デエチラーゼ、CYP2A6 に対してはクマリン 7-ヒドロキシラーゼ、CYP2B6 に対してはブプロピオンヒドロキシラーゼ、CYP2C8 に対してはパクリタキセル 6α-ヒドロキシラーゼ、CYP2C9 に対してはトルブタマイドメチル-ヒドロキシラーゼ、CYP2C19 に対しては *S*-メフェニトイン 4-ヒドロキシラーゼ、CYP2D6 に対してはブフラロール 1-ヒドロキシラーゼ、CYP2E1 に対してはラウリン酸 11-ヒドロキシラーゼ、CYP3A4 に対してはテストステロン 6β-ヒド

ロキシラーゼ、ミダゾラム 1-ヒドロキシラーゼ及びニフェジピンオキシダーゼをマーカー酵素として用いた。

直接的な阻害を評価するために、既知の阻害薬又はアプレミラスト（100 µmol/L まで）存在下で試験を行った。時間依存的阻害を評価する際には、阻害薬を添加しないで 15 分間インキュベートした後、阻害薬を添加して反応を開始した。各濃度での阻害の程度は、それぞれの溶媒を対照としてインキュベートした結果と比較して評価した。

アプレミラストは、評価したいずれの濃度でも、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4 のマーカー酵素活性を顕著に阻害することはなかった。アプレミラストは、CYP2C8 に対して弱い直接阻害作用を示し、50%阻害濃度（IC_{50}）は 56.1 µmol/L であった（2.6.5.12.2 項）。以上の in vitro の結果及び臨床用量で認められるアプレミラストの血漿中濃度から、これらの CYP の基質と併用した場合でも、アプレミラストは CYP 阻害による薬物相互作用を惹起しないと示唆された。

7.3. CYP 誘導

［報告書番号 CC-10004-DMPK-012、添付資料 4.2.2.6.2、評価資料］

アプレミラストが CYP の誘導薬として作用する可能性について、ヒト初代培養肝細胞を用いて、ミクロソームの CYP 活性を測定することにより評価した。

3 名の異なるドナーから得たヒト肝細胞試料を 3 日間連続して 1 日 1 回、DMSO（媒体、0.1 vol%）、アプレミラスト（1、10、100 µmol/L）又は既知のヒト CYP 誘導薬であるオメプラゾール（100 µmol/L）、フェノバルビタール（750 µmol/L）、リファンピシン（10 µmol/L）で処理した。最終処理後、細胞を採取し、7-エトキシレゾルフィン *O*-脱アルキル化（CYP1A2 マーカー）、ブプロピオン水酸化（CYP2B6 マーカー）、ジクロフェナク 4′-水酸化（CYP2C9 マーカー）、*S*-メフェニトイン 4′-水酸化（CYP2C19 マーカー）、テストステロン 6β-水酸化（CYP3A4/5 マーカー）活性を測定するためにミクロソームを調製した。

当該試験の条件下では、典型的 CYP 誘導薬をヒト肝細胞に添加した場合、CYP 活性は予測した通りの上昇を示した。10 及び 100 µmol/L のアプレミラストをヒト肝細胞に添加したところ、ミクロソーム中 7-エトキシレゾルフィン *O*-デアルキラーゼ（CYP1A2）及びジクロフェナク 4′-ヒドロキシラーゼ（CYP2C9）活性が濃度依存的減少した。CYP1A2 及び CYP2C9 の活性減少は、10 µmol/L アプレミラストで約 35%、100 µmol/L アプレミラストで約 45%～73%であった。ヒト肝細胞にアプレミラストを添加しても、CYP2B6 及び CYP2C19 活性にほとんど影響はなかった。一方、CYP2B6 に関しては活性の上昇傾向が認められ、CYP2C19 の場合には 2 例の培養液では濃度依存的減少が、1 例の培養液では濃度依存的上昇が認められた。アプレミラストを添加したヒト肝細胞では、テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ（CYP3A4）活性が約 3.7 倍に増加し、その上昇はアプレミラストの最高濃度（100 µmol/L）で統計学的に有意であった。100 µmol/L では、アプレミラストの CYP3A4 誘導活性はリファンピシンの約半分であった（2.6.5.12.1 項）。

以上の結果より、ヒト初代培養肝細胞にアプレミラストを添加したとしても、CYP2B6 及び CYP2C19 活性にほとんど影響は認められなかった。アプレミラストは 1 µmol/L の濃度で CYP1A2 及び CYP2C9 に作用することはないが、更に高濃度では CYP1A2 及び CYP2C9 活性に対して約 35%（10 µmol/L）、最大 70%（100 µmol/L）の誘導作用を示した。1 及び 10 µmol/L のアプレミラストは、CYP3A4 活性に影響を及ぼすことはなかった。100 µmol/L のアプレミラストは、CYP3A4 を 3.7 倍（リファンピシンのおよそ 1/2）誘導したが、100 µmol/L という濃度はアプレミラスト 30 mg 1 日 2 回（BID）を投与された局面型乾癬患者での実測 C_{max} 値（約 1.5 µmol/L）のおよそ 70 倍であることから（5.3.3.5.3 項）、アプレミラストの CYP 誘導作用は臨床的に問題がないと考えられた。

7.4. P-gp との相互作用

［報告書番号 CC-10004-DMPK-017、添付資料 4.2.2.6.5、評価資料］

アプレミラストのヒト P-gp の基質又は阻害薬としての可能性について評価した。

アプレミラストの固有透過率及び P-gp との基質及び阻害薬としての相互作用について、ヒト P-gp 発現ブタ腎上皮細胞（LLC-PK1）及びコントロール細胞を用いて評価した。試料中のアプレミラストの分析には LC/MS/MS 法を用いた。

アプレミラストのみかけの透過係数（P_{app}）は 120 分間インキュベート後のコントロール細胞で 21 x 10^{-6} cm/sec であった。当該試験での陽性対照の膜透過性と比較すると、アプレミラストの固有透過率は中程度であった。120 分間インキュベートしたときのコントロール細胞及び P-gp 発現細胞での双方向性透過性測定値である net efflux ratio が 27 であることから、アプレミラストは P gp により輸送されることが明らかとなった。アプレミラスト 10 µmol/L での輸送活性を、既知の P-gp 阻害薬であるケトコナゾールの存在下及び非存在下で測定した。その結果、ケトコナゾールはアプレミラストの輸送を 92%阻害した（2.6.5.15.1 項）。これらの結果は、アプレミラストが P-gp により能動的に輸送されていることを裏付けるものであった。

P-gp 阻害薬としての可能性についても評価した。その結果 20 µmol/L 以下の濃度のアプレミラストでは、P-gp の基質であるジゴキシンの輸送に対し顕著な阻害作用は認められず、50 µmol/L 以上で弱い阻害作用の可能性が示唆された（50 µmol/L でも 50%阻害未満）。予定されている最高臨床用量 30 mg でのアプレミラストの消化管内濃度は 260 µmol/L（30 mg/250 mL）と予測されるため、このアプレミラスト濃度（260 µmol/L）と P-gp の IC_{50}（50 µmol/L 以上）の比はおよそ 5 倍未満であり、アプレミラストは消化管で著しく P-gp を阻害することはないと考えられた。

7.5. その他の薬物トランスポーターとの相互作用

［報告書番号 CC-10004-DMPK-027、添付資料 4.2.2.6.6、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-036、添付資料 4.2.2.6.7、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-040、添付資料 4.2.2.6.8、評価資料］

［報告書番号 CC-10004-DMPK-1347、添付資料 4.2.2.6.9、評価資料］

OAT1、OAT3、OCT2、BCRP、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4、MRP8、OATP1B1 又は OATP1B3 介在薬物輸送をアプレミラストが阻害する可能性を評価した。

OAT1 介在による[^{3}H]-*p*-アミノ馬尿酸の取込み及び OAT3 介在による[^{3}H]-エストロン硫酸の取込みに対して、アプレミラストが阻害作用を有するか否か相補的リボ核酸（cRNA）注入 *Xenopus laevis* 卵母細胞を用いて評価した（4.2.2.6.6 項）。BCRP 介在による[3H]-メトトレキサートの efflux 及び MRP1、MRP2、MRP3、MRP4 及び MRP8 介在による[^{3}H]-エストラジオール 17β-D-グルクロン酸抱合体の efflux に対する阻害を、膜小胞を用いて評価した（4.2.2.6.7 項）。OCT2 介在[^{14}C]-臭化テトラエチルアンモニウムの取込み、及び OATP1B1 及び OATP1B3 介在[^{3}H]-エストラジオールグルクロン酸抱合体の取込みに対する阻害作用を、トランスポーター発現ヒト胎児腎臓（HEK）293 細胞を用いて評価した（4.2.2.6.8 項）。試料の分析にはすべて液体シンチレーション計測法を用いた。

これらのトランスポーターの阻害は、2 及び 10 µmol/L のアプレミラストを用いて評価した（4.2.2.6.6 項）。なお、これらの濃度は、アプレミラスト 30 mg BID を局面型乾癬患者に投与したときのアプレミラストの C_{max} がおよそ 1.5 µmol/L であること（5.3.3.5.3 項）に基づいて設定した。評価した濃度（2 及び 10 µmol/L）で、アプレミラストは、OAT1 及び OAT3 介在による取込みに対してほとんど阻害を示さなかった（2.6.5.15.2 項）。20 µmol/L までの濃度では、アプレミラストに

よる BCRP、MRP1、MRP2、MRP4、OCT2、OATP1B3 介在輸送阻害は認められなかった（2.6.5.15.3 項）。MRP3（アプレミラスト濃度: 2 及び 20 µmol/L）及び OATP1B1（アプレミラスト濃度: 20 µmol/L）に関しては弱い阻害（30%未満）が認められたが、これらのトランスポーターに対する阻害は、臨床的に意味はないものと考えられた。アプレミラストは、MRP8 介在輸送を 2 及び 20 µmol/L の濃度でそれぞれ 42.7%及び 59.8%阻害したが、MRP8 の薬物動態での役割は明らかではないため、この阻害の臨床との関連は不明である（2.6.5.15.3 項）。これらの結果から、BCRP、MRP1、MRP2、MRP4、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1、OATP1B3 の基質と臨床用量のアプレミラストを併用投与したとき、アプレミラストが薬物動態学的薬物相互作用を起こすことはないと考えられた。

アプレミラスト（1 及び 10 µmol/L）が BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 又は OATP1B3 の基質として作用するか否か確認するために in vitro 試験を行った（4.2.2.6.9 項）。確認には、BCRP 発現 LLC-PK1 細胞、OAT1 及び OAT3 発現 S_2 細胞、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 発現 HEK293 細胞及び適切なコントロール細胞を用いた。当該試験システムが適切に機能していることを保証するために、これらトランスポーターのプローブ基質及び既知阻害薬を用いたインキュベーションも行った。アプレミラストの定量には LC/MS/MS を、プローブ基質の定量には液体シンチレーション計測法を用いた。

BCRP 発現 LLC-PK1 及びコントロール細胞での双方向透過性の評価では、アプレミラストの net efflux ratio が 1.1～1.2 であり、BCRP 発現細胞とコントロール細胞の透過性は同程度であった。アプレミラストの輸送活性は、BCRP の既知阻害薬である Ko143 による影響を受けなかった（2.6.5.15.5 項）。これらの結果から、アプレミラストは BCRP により能動輸送を受けないことが示唆された。

OAT1 及び OAT3 発現 S_2 細胞及び OCT2、OATP1B1、OATP1B3 発現 HEK293 細胞でのアプレミラストの cleared volume は、それぞれコントロール S_2 細胞及びコントロール HEK293 細胞でのアプレミラストの cleared volume と類似していた。さらに、既知阻害薬であるプロベネシド（OAT1 及び OAT3）、リファンピシン（OATP1B1 及び OATP1B3）、キニジン（OCT2）は、アプレミラストの cleared volume に影響を与えなかった（2.6.5.15.6 項、2.6.5.15.7 項）。これらの結果から、アプレミラストは OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT2 により能動輸送を受けないことが示唆された。

8. 考察及び結論

アプレミラストのイミド結合は血漿中での生理的 pH で加水分解される。しかしながら、血漿を酸性化することにより、アプレミラストは試料調製中及び長期間の冷凍保存中でも安定である。これらの結果に基づき、薬物動態及びトキシコキネティクス試験では、試料採取後直ちに酸性化の処理を行った。この前処理により、試料採取、処理、保存期間中でのアプレミラストの安定性が保証された。

初期の生物学的分析法ではアキラル HPLC 法を用いたため、アプレミラストと CC-10007 の分離及び識別は不可能であった。しかし、定量にキラル HPLC 法を用いたその後の試験で、ヒト及び毒性試験に用いた動物種ではアプレミラストが in vivo で光学異性体変換することがないことが明らかとなった。したがって、アキラル生物学的分析法で得られた濃度データは、アプレミラスト濃度を正確に反映していると判断した。

動物でのアプレミラストの CL_{tot} 又は CL/F の種差は大きく、マウス及び雌ラットでは低く、雄ラット及び雌ウサギでは高い値を示した。サルでの CL/F は中程度であった。マウス、ラット、雌ウサギでの分布容積は、体内総水分量の約 2 倍から 3 倍であり、アプレミラストの組織分布が大きいことが示唆された。動物でのアプレミラストの $t_{1/2}$ は短く 1～3 時間であった。

アプレミラスト由来の放射能の経口吸収は、マウス及びサルでは 70%以上と高かった。経口投与時のアプレミラストの絶対的バイオアベイラビリティは、動物種により大きく異なり、マウスでは中程度、雄ラットでは低く、雌ラットでは高かったが、ウサギでは非常に低かった。このことは、初回通過効果に大きな種差があることを示唆している。アプレミラストを広い用量範囲で経口投与したところ、その曝露量は用量の増加とともに上昇したが用量比を下回っており、アプレミラストの吸収が溶解度律速であることが示唆された。マウス及びサルにアプレミラストを反復経口投与した場合、全試験及びすべての投与群で、血漿中濃度に顕著な蓄積は認められなかった。毒性評価に用いた 4 種類の動物すべてで、アプレミラストの光学異性体変換は認められなかった。アプレミラストの薬物動態での性差は CYP450 の発現レベルに性差があるラットで顕著であったが、マウス及びサルでは認められなかった。

アルビノマウスを用いた試験で、[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能は低濃度であるが速やかに組織に分布し、投与後 1 週間以内に検出限界未満に減少した。最高放射能濃度は、肝及び腎臓等の代謝又は排泄に関連した主要な臓器及び膵臓に認められた。血液脳関門の通過は極めて低かった。アルビノマウスでの放射能の組織分布パターンは、雌雄とも類似していた。ブドウ膜及び色素沈着皮膚等メラニン含有組織への放射能の顕著な取込みはなかった。アプレミラストの血漿タンパク結合率（平均値±標準偏差）は、マウスで 88.6% ± 2.3%、ラットで 90.6% ± 0.9%、ウサギで 80.9% ± 1.2%、サルで 84.3% ± 1.5%、ヒトで 68.3% ± 0.9%であり、0.25 から 2.5 µg/mL のアプレミラスト濃度範囲ではタンパク結合は濃度非依存的であることが明らかとなった。アプレミラストの胎盤移行をマウス及びサルで評価した結果、胎児／母動物の平均血漿中濃度比はマウスで 0.81～1.07、サルで 0.3～0.4 であり、マウスでは個体間差が大きかったが、アプレミラストが胎盤を通過する傾向があることが示された。

アプレミラストは in vitro 及び in vivo で種々の経路で広く代謝された。すべての動物種で少なくとも一部のアプレミラストのイミド結合は非酵素的な加水分解を受ける。*N*-アセチルアミド結合もヒトを含む複数の動物種で加水分解を受けるが、量的には少ない。アプレミラストは、主として *O*-脱アルキル化による酸化的代謝を広く受けるとともに、量としては少ないが水酸化反応も受ける。イミド結合の加水分解及び脱アルキル化により生成するアプレミラストの代謝物の PDE4 酵素に対する阻害活性は、アプレミラストに比較して著しく低下していた。ヒトを含むすべての動物種で主要な酸化代謝経路は、代謝物 M3 への *O*-脱メチル化反応であり、M3 はさらにグルクロン酸抱合を受

け主代謝物である M12 に代謝される。ヒトでは代謝物 M12 は主要な血漿中代謝物であり、血漿中放射能 AUC の 39%を占め、その排泄率は投与放射能の 34%であった。M12 は毒性試験に用いた動物種でも主要な血漿中代謝物であった。代謝物 M7 及び M17 は、薬理学的作用を有しており、マウス及びヒトで認められたが、いずれの種でも量的には少なかった。ヒトで認められた代謝物はすべて、毒性試験に用いた 1 種ないし複数の動物種で生成が確認された。

動物では、[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能は主として胆汁を介して糞中排泄され、静脈内投与時では投与放射能量の 56%～71%が糞中に認められた。尿への排泄は、静脈内投与放射能量の 8%～18%と少なかった。[^{14}C]-アプレミラストを経口投与したときも、吸収された放射能の主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であった。[^{14}C]-アプレミラスト由来の放射能は、主に代謝物として排泄され、未変化体の排泄は極めて少なかった。

授乳中のマウスにアプレミラストを経口投与したところ、平均乳汁／血漿中濃度比は 1.46～1.62 であり、マウスでアプレミラストの母乳への移行が確認された。なお、臨床では乳汁排泄は評価されていない。

アプレミラストの酸化的代謝は主として CYP3A4 によるものであり、CYP1A2 及び CYP2A6 等の他の CYP 分子種の寄与はわずかであった。In vivo での結果とともに、これらのデータは、生体でのアプレミラストのクリアランスには、複数の酵素による多くの代謝経路（非酵素的加水分解、CYP 非依存性 *N*-脱アセチル化、酸化的代謝とそれに続くグルクロン酸抱合）が介在し、未変化体としての排泄はわずかであった。In vivo 及び in vitro の結果より、アプレミラストを強い CYP 阻害薬と併用した場合でも、臨床上問題となる薬物相互作用は生じないと考えられた。

In vitro 試験では、アプレミラストの臨床血漿中濃度で CYP の誘導及び阻害は認められなかった。したがって、CYP の基質薬物を併用しても、CYP の阻害又は誘導によって臨床上問題となる薬物相互作用は起きないと考えられた。

In vitro で、アプレミラストは P-gp の基質である。しかしながら、動物及びヒトでの in vivo の結果から、P-gp はアプレミラスト由来代謝物の経口吸収性に影響を与えないと考えられた。したがって、P-gp 阻害作用を有する医薬品とアプレミラストを併用した場合でも臨床上問題となる薬物相互作用が生じることはないと考えられた。組織分布試験で、アプレミラスト由来放射能が中枢神経系へほとんど移行しなかったことからも、アプレミラストが P-gp の基質であることを示唆している。

アプレミラスト 30 mg BID を反復投与された乾癬症患者での血漿中濃度と同程度のアプレミラスト濃度で、P-gp、BCRP、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対して、アプレミラストはほとんど阻害作用を示さなかった。したがって、これらのトランスポーターの基質とアプレミラストを併用投与しても臨床用量で薬物相互作用が起きる可能性はほとんどないと考えられた。さらに、アプレミラストは BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質ではなく、これらのトランスポーターの阻害薬とアプレミラストを併用投与しても薬物相互作用は起きないと示唆される。

以上の結果より、ウサギ及び雄ラットで認められた高いクリアランスを除き、動物ではアプレミラストは良好な経口吸収性及び体内動態を示した。ヒト特異的な代謝物は存在せず、ヒトで認められた代謝物は、毒性試験に用いた 1 種ないし複数の動物種での生成が確認された。In vitro のデータから、アプレミラストを CYP 又は薬物トランスポーターの基質と併用しても、薬物動態学的薬物相互作用が生じる可能性はほとんどないと考えられた。さらに、アプレミラストを CYP 又は薬物トランスポーターの阻害薬と併用した場合でも、アプレミラストの吸収及び体内動態に臨床上問題となる変化は起きないものと考えられた。

9. 参考文献

Davies B, Morris T. Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. Pharm Res 1993 Jul;10(7):1093-5.

Klimtová I, Simunek T, Mazurová Y, Kaplanová J, Sterba M, Hrdina R, et al. A study of potential toxic effects after repeated 10-week administration of a new iron chelator--salicylaldehyde isonicotinoyl hydrazone (SIH) to rabbits. Acta Medica (Hradec Kralove) 2003;46(4):163-70.

Neervannan S. Preclinical formulations for discovery and toxicology: physicochemical challenges. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2006 Oct;2(5):715-31.

Strickley RG. Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. Pharm Res 2004 Feb;21(2):201-30.

Tendron A, Decramer S, Justrabo E, Gouyon JB, Semama DS, Gilbert T. Cyclosporin A administration during pregnancy induces a permanent nephron deficit in young rabbits. J Am Soc Nephrol 2003 Dec;14(12):3188-96.

TABLE OF CONTENTS

略語・略号一覧 2
2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表 4
2.6.5.2. 薬物動態試験：分析方法及びバリデーション試験 9
2.6.5.3. 薬物動態試験：吸収：単回投与 23
2.6.5.4. 薬物動態試験：吸収：反復投与 30
2.6.5.5. 薬物動態試験：分布 31
2.6.5.6. 薬物動態試験：タンパク結合 36
2.6.5.7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物での試験 37
2.6.5.8. 薬物動態試験：その他の分布試験 41
2.6.5.9. 薬物動態試験：代謝：In Vivo 42
2.6.5.10. 薬物動態試験：代謝：In Vitro 50
2.6.5.11. 薬物動態試験：推定代謝経路 57
2.6.5.12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 59
2.6.5.13. 薬物動態試験：排泄 66
2.6.5.14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中 69
2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物相互作用 70
2.6.5.16. 薬物動態試験：その他 77

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度時間曲線下面積
AUC_t	Area under the concentration-time curve calculated to the last observable concentration at time t	時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積
AUC_∞	Area under the concentration-time curve from time zero to infinity	時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性タンパク質
BDC	Bile duct cannulated	胆管カニュレーションを施した
nd	Below quantitation limit	定量限界未満
cDNA	Complementary deoxyribo nucleic acid	相補的デオキシリボ核酸
CL/F	Apparent clearance of drug from plasma after extravascular administration	経口クリアランス
CL_{tot}	Total body clearance of drug from the plasma	全身クリアランス
C_{max}	Peak （maximum） plasma concentration of the drug	最高血漿中濃度
CMC	Carboxymethylcellulose	カルボキシメチルセルロース
cRNA	Complementary ribo nucleic acid	相補的リボ核酸
CV	Coefficient of variation	変動係数
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
Diff	Difference	差
DMA	Dimethylacetamide	ジメチルアセトアミド
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
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
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
HPβCD	Hydroxypropyl-β-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
IC_{50}	Concentration of drug producing 50% inhibition	50%阻害濃度
IV	Intravenously	静脈内投与
Km	Michaelis constant	ミカエリス定数
KTZ	Ketoconazole	ケトコナゾール
LC/MS	Liquid chromatography mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／質量分析
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
LLC-PK1	Porcine kidney epithelial cells	ブタ腎上皮細胞
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限値
LSC	Liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MRP	Multidrug resistance-related protein	多剤耐性関連タンパク質
NA	Not applicable	該当データなし
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NC	Not calculated	算出せず
nd	Not determined	定量限界未満
ND	Not detected	検出されず
NS	Tissue not sectioned	組織摘出せず
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P_{app}	Apparent permeability	みかけの透過係数
PBS	Phosphate buffered saline	リン酸緩衝化生理食塩水
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
r^2	Coefficient of determination	決定係数
Radio-HPLC	Radioditective high performance liquid chromatography	放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー
PO	Orally	経口投与
SC	Subcutaneously	皮下投与
$t_{½}$	Elimination half-life	消失半減期
t_{max}	Time to peak （maximum） plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
Vd	Apparent volume of distribution	みかけの分布容積
Vd_{SS}	Volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積
Vz	Apparent volume of distribution during the terminal（λz） phase	終末相のみかけの分布容積

2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号（報告書番号）	区分
吸収					
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄	マウス	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.1（1398/376）	評価資料
ラットでの吸収及び体内動態 [a]	ラット	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.2（1398/215）	評価資料
ラットでの吸収、代謝、排泄 [a]	ラット	PO	[redacted] UK	4.2.2.2.3（1398/259）	参考資料
ラットでの吸収及び体内動態	ラット	PO	[redacted] UK	4.2.2.2.4（CC-10004-DMPK-007）	参考資料
ウサギでの吸収及び体内動態 [a]	ウサギ	PO	[redacted] UK	4.2.2.2.5（1398/387）	参考資料
妊娠ウサギでの吸収及び体内動態	ウサギ	PO、IV	[redacted]	4.2.2.2.6（CC-10004-DMPK-009）	参考資料
ウサギでの吸収、体内動態及び媒体忍容性	ウサギ	PO、IV、SC	[redacted]	4.2.2.2.7（CC-10004-DMPK-028）	参考資料
サルでの吸収、代謝、排泄 [a]	サル	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.8（1398/399）	参考資料
分布					
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄 [a]	マウス	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.1（1398/376）	評価資料
In vitro 血漿タンパク結合	マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿	NA	[redacted]	4.2.2.3.1（CC-10004-DMPK-026）	評価資料

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号（報告書番号）	区分
マウスでの胎盤移行	妊娠 CD-1 マウス	PO	[redacted]	4.2.3.5.1.3（CC-10004-TOX-012）	評価資料
サルでの胎盤移行	妊娠サル	PO	[redacted] Germany	4.2.3.5.2.7（CC-10004-TOX-013）	評価資料
代謝					
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄 [a]	マウス	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.1（1398/376）	評価資料
マウスでの代謝物プロファイル及び同定	無処置及び BDC マウス	PO、IV	[redacted]	4.2.2.4.1（CC-10004-DMPK-031）	参考資料
ラットでの吸収、代謝、排泄 [a]	ラット	PO	[redacted] UK	4.2.2.2.3（1398/259）	参考資料
サルでの吸収、代謝、排泄 [a]	サル	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.8（1398/399）	参考資料
肝細胞での in vitro 代謝	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト肝細胞	NA	[redacted]	4.2.2.4.2（CC-10004-DMPK-023）	参考資料
肝ミクロソームでの in vitro 代謝	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム	NA	[redacted] UK	4.2.2.4.3（1398/261）	参考資料
成人及び年少者ヒト肝細胞並びにヒト及び CD-1 マウス肝ミクロソームでの in vitro 代謝	成人及び年少者ヒト肝細胞並びにヒト及び CD-1 マウス肝ミクロソーム	NA	[redacted]	4.2.2.4.4（CC-10004-DMPK-038）	参考資料
排泄					
マウスでの吸収、分布、代謝、排泄 [a]	マウス	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.1（1398/376）	評価資料

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号（報告書番号）	区分
マウスでの尿、胆汁及び糞中排泄	無処置及び BDC マウス	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.5.1 （CC-10004-DMPK-030）	参考資料
ラットでの吸収、代謝、排泄 [a]	ラット	PO	[redacted] UK	4.2.2.2.3 （1398/259）	参考資料
サルでの吸収、代謝、排泄 [a]	サル	PO、IV	[redacted] UK	4.2.2.2.8 （1398/399）	参考資料
マウスでの乳汁排泄	CD-1 マウス	PO	[redacted]	4.2.2.5.2 （CC-10004-DMPK-034）	参考資料
薬物動態学的薬物相互作用					
ヒト肝ミクロソーム中チトクローム P450（CYP）の同定	ヒト肝ミクロソーム	NA	[redacted] UK	4.2.2.6.1 （1398/393）	評価資料
ヒト培養肝細胞中 CYP 誘導薬としての in vitro 評価	ヒト肝細胞	NA	[redacted]	4.2.2.6.2 （CC-10004-DMPK-012）	評価資料
ヒト肝ミクロソーム中 CYP 活性に対する作用	ヒト肝ミクロソーム	NA	[redacted] UK	4.2.2.6.3 （1398/227）	評価資料
ヒト肝ミクロソーム中 CYP2A6、2B6 及び 2C8 活性に対する作用	ヒト肝ミクロソーム	NA	Celgene Corporation, Summit, NJ	4.2.2.6.4 （CC-10004-DMPK-039）	評価資料
ヒト P 糖タンパク（P-gp）との相互作用	P-gp 発現 LLC-PK1	NA	[redacted]	4.2.2.6.5 （CC-10004-DMPK-017）	評価資料
OAT1 及び OAT3 の阻害	OAT 発現 Xenopus laevis 卵母細胞	NA	[redacted]	4.2.2.6.6 （CC-10004-DMPK-027）	評価資料

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号（報告書番号）	区分
排出トランスポーターの阻害	BCRP、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4、MRP8 膜小胞	NA	[redacted]	4.2.2.6.7（CC-10004-DMPK-036）	評価資料
OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害	トランスポーター発現 HEK293 細胞	NA	[redacted] 日本	4.2.2.6.8（CC-10004-DMPK-040）	評価資料
BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する基質性	トランスポーター発現 S_2 細胞又は HEK293 細胞	NA	[redacted] 日本	4.2.2.6.9（CC-10004-DMPK-1347）	評価資料
その他					
マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	マウス血漿（ヘパリン）	NA	[redacted] UK	4.2.2.1.1（1398/251）	参考資料
マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	マウス血漿（ヘパリン）	NA	[redacted]	4.2.2.1.2（CC-10004-DMPK-001）	参考資料
マウス血漿中代謝物 M3 及び M12 の LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	マウス血漿（ヘパリン）	NA	[redacted]	4.2.2.1.3（CC-10004-DMPK-016）	参考資料
マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	マウス血漿（ヘパリン）	NA	[redacted]	4.2.2.1.4（CC-10004-DMPK-041）	参考資料
ラット血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	ラット血漿（ヘパリン）	NA	[redacted] UK	4.2.2.1.5（1398/136）	参考資料
ラット血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	ラット血漿（ヘパリン）	NA	[redacted]	4.2.2.1.6（CC-10004-DMPK-002）	参考資料
ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	ウサギ血漿（ヘパリン）	NA	[redacted] UK	4.2.2.1.7（1398/347）	参考資料
ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	ウサギ血漿（ヘパリン）	NA	[redacted] UK	4.2.2.1.8（1398/362）	参考資料

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号（報告書番号）	区分
ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	ウサギ血漿（ヘパリン）	NA	[redacted]	4.2.2.1.9（CC-10004-DMPK-004）	参考資料
サル血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	サル血漿（ヘパリン）	NA	[redacted]	4.2.2.1.10（CC-10004-DMPK-003）	参考資料
サル血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	サル血漿（ヘパリン）	NA	[redacted]	4.2.2.1.11（CC-10004-DMPK-025）	参考資料
サル血漿中代謝物 M3 及び M12 の LC/MS/MS 分析法バリデーション [a]	サル血漿（ヘパリン）	NA	[redacted] UK	4.2.2.1.12（1398/135）	参考資料

BCRP = 乳がん耐性タンパク質; BDC = 胆管カニュレーションを施した; CYP = チトクローム P450; HEK = ヒト胎児腎臓; IV = 静脈内投与; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法; LLC-PK1 = ブタ腎上皮細胞; MRP = 多剤耐性関連タンパク質; NA = 該当データなし; OAT =有機アニオントランスポーター; OATP =有機アニオントランスポーターポリペプチド; OCT = 有機カチオントランスポーター; P-gp = P 糖タンパク; PO = 経口投与; SC = 皮下投与

[a] 実施国での医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）試験

2.6.5.2. 薬物動態試験：分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1. マウス分析法（1）：マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：CC-7085（ラセミ体）

添付資料番号：4.2.2.1.1

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理マウス血漿	アキラル LC/MS/MS	CC-7085 (ラセミ体)	検量線	50～5000	≥0.9918	≤10.5	-7.0～5.8	適用
			日内変動	50（LLOQ）	NA	7.3	-6.6	
				150、2000、4000		≤8.2	-6.7～1.8	
				16000（5 倍、10 倍希釈）		≤9.9	-3.0～-2.5	
			日間変動	150、2000、4000	NA	≤9.6	0.6～3.0	
			室温安定性（6 時間）	150、4000	NA	≤8.6	-7.3、-13.1	
			凍結融解安定性（3 回）	150、4000	NA	≤13.8	9.1、-3.6	
			-70°C 安定性（55 日間）	150、2000、4000	NA	≤11.6	5.2～16.1	
			日内変動	50（LLOQ）	NA	8.1	-15.8	
				150、2000、4000		≤7.0	0.7～12.3	
				16000（5 倍、10 倍希釈）		≤11.2	-6.7～2.7	

LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; CV =変動係数; Diff = 差, GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.2. マウス分析法（2）：マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）及び CC-10007（*R*-エナンチオマー）

添付資料番号：4.2.2.1.2

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理マウス血漿（20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1:1 希釈）	キラル LC/MS/MS	CC-10004	検量線	1～1000	0.9914	NA	-6.2～3.3	適用
		CC-10007	検量線	1～1000	0.9925	NA	-8.1～4.5	
		CC-10004	日内変動	1（LLOQ）	NA	12.8	-11.6	
				3、50、750		≤11.9	3.7～10.0	
		CC-10007	日内変動	1（LLOQ）	NA	13.3	-10.4	
				3、50、750		≤13.2	3.6～9.8	
		CC-10004	凍結融解安定性（-70°C、3 回）	3、750	NA	≤7.7	2.3、-0.1	
		CC-10007	凍結融解安定性（-70°C、3 回）	3、750	NA	≤6.8	4.3、2.6	
		CC-10004	長期保存安定性（-70°C、202 日間）	3、750	NA	≤12.3	1.1、1.0	
		CC-10007	長期保存安定性（-70°C、202 日間）	3、750	NA	≤9.6	-2.4、-7.8	
		CC-10004	室温安定性（9 時間）	3、750	NA	≤7.7	-3.0、-3.0	
		CC-10007	室温安定性（9 時間）	3、750	NA	≤5.9	1.7、1.1	
		CC-10004	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	3.7	-11.4	
		CC-10007	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	4.1	-8.1	
		CC-10004	希釈の影響	5000 (100 倍希釈)	NA	7.3	2.4	
		CC-10007	希釈の影響	5000 (100 倍希釈)	NA	5.4	1.0	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.3. マウス分析法（3）：マウス血漿中代謝物 M3 及び M12 の LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：CC-16085（*O*-脱メチル体、M3）及び CC-16166（*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体、M12）

添付資料番号：4.2.2.1.3

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理 CD-1 マウス血漿（20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1 : 1 希釈）	アキラル LC/MS/MS	CC-16085	検量線	2～400	≥0.9926	≤6.9	-2.0～2.1	適用
		CC-16166	検量線	20～4000	≥0.9922	≤6.8	-2.3～3.3	
		CC-16085	日内変動	2（LLOQ）	NA	12.1	3.4～12.2	
				6、120、320		≤5.8	3.5～15.0	
		CC-16085	日間 変動	2（LLOQ）	NA	9.0	7.0	
				6、120、320		≤4.1	5.1～14.7	
		CC-16166	日内変動	20（LLOQ）	NA	13.0	-1.5～11.8	
				60、1200、3200		≤12.7	-0.1～13.6	
		CC-16166	日間変動	20（LLOQ）	NA	11.2	3.2	
				60、1200、3200		≤9.6	3.8～8.2	
		CC-16085	氷冷下安定性（8 時間）	6、320	NA	≤2.0	9.7、9.4	
		CC-16166	氷冷下安定性（8 時間）	60、3200	NA	≤4.8	7.3、8.9	
		CC-16085	凍結融解安定性（4 回、-70°C）	6、320	NA	≤2.7	6.9、5.4	
		CC-16166	凍結融解安定性（4 回、-70°C）	60、3200	NA	≤4.8	3.7、0.7	
		CC-16085	希釈の影響	1000（10 倍希釈）	NA	2.6	-0.5	
		CC-16166	希釈の影響	10000（10 倍希釈）	NA	1.1	-1.8	
		CC-16085	メタノール溶液中安定性（7 時間、室温）	400	NA	1.8	2.9	
		CC-16166	メタノール溶液中安定性（7 時間、室温）	4000	NA	4.0	-4.3	
		CC-16085	メタノール/水（50:50）中安定性（7 時間、室温）	400	NA	3.2	2.2	
		CC-16166	メタノール/水（50:50）中安定性（7 時間、室温）	4000	NA	1.0	-1.4	

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理 CD-1 マウス血漿（20 μmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1 : 1 希釈）	アキラル LC/MS/MS	CC-16085	長期保存安定性（-70°C、246 日間）	6、320	NA	≤6.1	-13.1、-8.0	適用
		CC-16166	長期保存安定性（-70°C、247 日間）	60、3200	NA	≤ 4.9	-2.7、15.0	

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; CV =変動係数; Diff = 差; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.4. マウス分析法（4）：マウス血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）

添付資料番号：4.2.2.1.4

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理 CD-1 マウス血漿（20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1 : 1 希釈）	液-液抽出、LC/MS/MS 線形、$1/x^2$	CC-10004（*S*-エナンチオマー）	検量線	1～300	≥0.9951	≤7.1	-4.6～3.2	適用
			日内変動	1（LLOQ）	NA	≤7.6	NA	
				3、50、240		≤3.7	NA	
				10000（希釈の影響）		≤2.8	8.4～9.9	
			日間変動	1（LLOQ）	NA	≤2.1	0.0	
				3、50、240		≤2.5	-5.7～3.7	
				10000（希釈の影響）		1.9	9.1	
			室温安定性（19 時間）	3、240、10000	NA	（1.5	-8.1～6.6	
			凍結融解安定性（5 回）	3、240、10000	NA	≤2.2	-9.3～6.2	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS ＝液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.5. ラット分析法（1）：ラット血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：CC-7085（ラセミ体）

添付資料番号：4.2.2.1.5

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理ラット血漿	アキラル LC/MS/MS	CC-7085（ラセミ体）	検量線	50～5000	≥ 0.9914	≤19.1	-8.5～10.6	適用
			日内変動	50（LLOQ）	NA	18.5	5.0	
				125、2000、3500、5000		≤13.9	-7.1～14.0	
				12500（5 倍希釈）		6.7	14.0	
			日間変動	125、2000、3500	NA	≤16.8	-8.3～19.8	
				12500（5 倍希釈）		13.3	9.4	
			室温安定性（2 時間）	125、3500	NA	≤12.4	-7.3、-4.7	
			凍結融解安定性（3 回）	125、3500	NA	≤7.2	-2.6、1.0	
			15 日間安定性（-70℃）	125、2000、3500	NA	≤3.5	-3.5～15.0	
			検量線	5～500	≥ 0.9923	≤18.0	-5.6～5.0	
			日内変動	5（LLOQ）	NA	10.5	16.0	
				15、200、400、500		≤14.9	3.2～11.3	
				800（5 倍希釈）		10.9	0.9	
			日間変動	15、200、400	NA	≤14.6	6.8～12.3	
				800（5 倍希釈）		14.4	17.7	
			室温安定性（3 時間）	15	NA	19.9	-4.2	
			凍結融解安定性（3 回）	15	NA	10.1	1.4	
			-70℃ 安定性（15 日間）	15、200、400	NA	≤34.9	3.4～12.3	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.6. ラット分析法（2）：ラット血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）及び CC-10007（*R*-エナンチオマー）

添付資料番号：4.2.2.1.6

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理ラット血漿（20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1:1 希釈）	キラル LC/MS/MS	CC-10004	検量線	1～1000	≥0.9918	≤8.5	-5.1～2.7	適用
		CC-10007	検量線	1～1000	≥0.9924	≤8.6	-4.7～4.0	
		CC-10004	日内変動	1（LLOQ）	NA	≤18.1	-3.4～17.9	
				3、50、750		≤14.0	-5.9～10.8	
		CC-10004	日間変動	1（LLOQ）	NA	16.0	9.1	
				3、50、750		≤12.1	0.7～4.2	
		CC-10007	日内変動	1（LLOQ）	NA	≤19.6	4.5～19.2	
				3、50、750		≤13.7	-4.5～12.8	
		CC-10007	日間変動	1（LLOQ）	NA	14.8	11.3	
				3、50、750		≤12.0	2.4～6.5	
		CC-10004	室温安定性（6 時間）	3、750	NA	≤8.9	-4.6、-0.8	
		CC-10007	室温安定性（6 時間）	3、750	NA	≤8.9	-8.1、0.8	
		CC-10004	凍結融解安定性（-70°C、3 回）	3、750	NA	≤5.1	-10.9、-3.4	
		CC-10007	凍結融解安定性（-70°C、3 回）	3、750	NA	≤2.6	-12.9、-3.2	
		CC-10004	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	8.3	1.1	
		CC-10007	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	9.3	1.5	
		CC-10004	希釈の影響	5000（100 倍希釈）	NA	2.4	2.7	
		CC-10007	希釈の影響	5000（100 倍希釈）	NA	2.6	2.7	
		CC-10004	長期保存安定性（-70°C、161 日間）	3、750	NA	≤4.4	5.2、9.1	
		CC-10007	長期保存安定性（-70°C、161 日間）	3、750	NA	≤7.2	-7.1、3.2	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.7. ウサギ分析法（1）：ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）

添付資料番号：4.2.2.1.7

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理ウサギ血漿	アキラル LC/MS/MS	CC-10004（*S*-エナンチオマー）	検量線	50～5000	≥0.9904	≤8.8	-4.9～7.8	適用
			日内変動	150、2000、4000	NA	≤9.0	-1.8～6.5	
				16000 (5 倍、10 倍希釈)		≤7.6	3.2、9.7	
			日間変動	150、2000、4000	NA	≤7.2	-0.5～7.5	
			室温安定性（1 時間）	150、4000	NA	≤8.6	-3.1、-0.1	
			凍結融解 (2 回、冷蔵温度)	150、4000	NA	≤7.7	-4.7、5.7	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.8. ウサギ分析法（2）：ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）

添付資料番号：4.2.2.1.8

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理ウサギ血漿	アキラル LC/MS/MS	CC-10004（*S*-エナンチオマー）	検量線	150～5000	≥0.9940	≤6.2	-2.8～1.8	適用
			日間変動	400、2000、4000	NA	≤10.3	0.7～2.5	
			長期保存安定性（-70°C、257 日間）	400、2000、4000	NA	≤6.1	-8.2～-7.7	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.9. ウサギ分析法（3）：ウサギ血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）及び CC-10007（*R*-エナンチオマー）

添付資料番号：4.2.2.1.9

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理ウサギ血漿（20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1: 1 希釈）	キラル LC/MS/MS	CC-10004	検量線	1～1000	0.987	NA	-13.0～7.2	適用
		CC-10007	検量線	1～1000	0.9943	NA	-9.2～6.2	
		CC-10004	日内変動	1（LLOQ）	NA	17.9	4.6	
				3、50、750		≤7.8	-3.7～0.8	
		CC-10007	日内変動	1（LLOQ）	NA	9.5	13.6	
				3、50、750		≤8.4	-7.5～0.4	
		CC-10004	室温安定性（6 時間）	3、750	NA	≤9.1	1.9、5.7	
		CC-10007	室温安定性（6 時間）	3、750	NA	≤13.1	-2.0、0.4	
		CC-10004	凍結融解安定性（3 回、-20°C）	3、750	NA	≤5.2	-5.8、2.7	
		CC-10007	凍結融解安定性（3 回、-20°C）	3、750	NA	≤5.9	-5.3、-6.5	
		CC-10004	長期保存安定性（-70°C、119 日間）	3、750	NA	≤7.2	2.2、-4.6	
		CC-10007	長期保存安定性（-70°C、119 日間）	3、750	NA	≤8.7	6.8、2.1	
		CC-10004	長期保存安定性（-20°C、170 日間）	3、750	NA	≤13.8	5.2、4.4	
		CC-10007	長期保存安定性（-20°C、170 日間）	3、750	NA	≤10.7	16.9、-1.4	
		CC-10004	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	6.5	1.8	
		CC-10007	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	4.5	1.5	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.10. サル分析法（1）：サル血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）及び CC-10007（*R*-エナンチオマー）

添付資料番号：4.2.2.1.10

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理サル血漿（20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1: 1 希釈）	キラル LC/MS/MS	CC-10004	検量線	1～1000	0.9941	NA	-6.2～8.1	適用
		CC-10007	検量線	1～1000	0.994	NA	-9.1～7.4	
		CC-10004	日内変動	1（LLOQ）	NA	11.3	4.1	
				3、50、750		≤13.4	-0.8～13.6	
		CC-10007	日内変動	1（LLOQ）	NA	11.6	7.2	
				3、50、750		≤12.8	-1.3～12.6	
		CC-10004	室温安定性（9 時間）	3、750	NA	≤9.5	5.8、12.3	
		CC-10007	室温安定性（9 時間）	3、750	NA	≤12.6	8.0、11.4	
		CC-10004	凍結融解安定性（-70°C、3 回）	3、750	NA	≤8.5	-1.1、-0.1	
		CC-10007	凍結融解安定性（-70°C、3 回）	3、750	NA	≤6.5	-1.5、2.7	
		CC-10004	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	0.8	2.5	
		CC-10007	希釈の影響	5000（10 倍希釈）	NA	1.3	7.5	
		CC-10004	長期保存安定性（-70°C、188 日間）	3、750	NA	≤5.5	10.3、11.7	
		CC-10007	長期保存安定性（-70° C、188 日間）	3、750	NA	≤6.9	-0.4、1.7	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.11. サル分析法（2）：サル血漿 LC/MS/MS 分析法バリデーション（参考資料）

被験物質：CC-16085（*O*-脱メチル体、M3）及び CC-16166（*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体、M12）

添付資料番号：4.2.2.1.11

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理サル血漿（20 µmol/L アマスタチン含有ゼーレンセン緩衝液による 1:1 希釈）	アキラル LC/MS/MS	CC-16085	検量線	2～400	0.9981	NA	-2.3～2.8	適用
		CC-16166	検量線	20～4000	0.997	NA	-5.0～6.7	
		CC-16085	日内変動	2（LLOQ）	NA	7.0	14.6	
				6、120、320		≤5.2	3.0～5.0	
		CC-16166	日内変動	20（LLOQ）	NA	4.0	13.6	
				60、1200、3200		≤3.4	-0.3～5.8	
		CC-16085	氷冷下安定性（8 時間）	6、320	NA	≤2.4	6.1、6.0	
		CC-16166	氷冷下安定性（8 時間）	60、3200	NA	≤4.7	1.1、2.1	
		CC-16085	凍結融解安定性（4 回、-70°C）	6、320	NA	≤4.5	10.4、7.1	
		CC-16166	凍結融解安定性（4 回、-70°C）	60、3200	NA	≤3.1	-0.4、0.9	
		CC-16085	長期保存安定性（-70°C、155 日間）	6、320	NA	≤3.1	0.1、3.3	
		CC-16166	長期保存安定性（70°C、147 日間）	60、3200	NA	≤3.0	-6.9、5.0	
		CC-16085	希釈の影響	1000（10 倍希釈）	NA	2.8	1.0	
		CC-16166	希釈の影響	10000（10 倍希釈）	NA	6.0	-6.1	

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.2.12. サル分析法（3）：サル血漿中代謝物 M3 及び M12 の LC/MS/MS 分析法バリデーション

被験物質：CC-7085（ラセミ体）

添付資料番号：4.2.2.1.12

試料マトリクス	使用分析法	分析対象	試料帰属	濃度（ng/mL）	重要指標			GLP 適用状況
					r^2	精度（CV%）	真度（Diff%）	
ヘパリン処理サル血漿	アキラル LC/MS/MS	CC-7085	検量線	75～5000	≥0.9883	≤9.0	-5.6～10.5	適用
			日内変動	75（LLOQ）	NA	8.3	10.5	
				125、2000、3500、5000		≤9.0	-5.6～5.9	
				12500（5 倍希釈）		7.8	-1.0	
			日間変動	125、2000、3500	NA	≤15.4	-7.4～2.4	
				12500（5 倍希釈）		9.5	3.0	
			室温安定性（2 時間）	125、3500	NA	≤13.3	-5.4、6.2	
			凍結融解安定性（2 回）	125、3500	NA	≤10.1	-5.7、-7.7	

> 15.0%は 3500 ng/mL のみ

CV =変動係数; Diff = 差; GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLOQ =定量下限値; NA = 該当データなし; r^2 = 決定係数

2.6.5.3. 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.1. マウスでの吸収及び体内動態：マウスでの吸収、分布、代謝、排泄（評価資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.1

動物種: CD-1 マウス 動物数: IV: 39 雄/39 雌 PO: 36 雄/36 雌 食餌状況: 非絶食 媒体 – IV: Intralipid 20 中 8 vol% DMSO 媒体 – PO: 1 w/v% CMC 水溶液 投与法: IV/PO 投与量 （mg/kg）: IV 10; PO 500 採取試料: 血漿、血液 分析対象: CC-10004、放射能 アッセイ法: LSC、Radio-HPLC、LC/MS/MS	**性別：分析対象**	**投与量 (mg/kg)**	**投与経路**	**C_{max}[a] (µg/mL)**	**t_{max} (h)**	**AUC_t[a] (µg•h/mL)**	**AUC_∞[a] (µg•h/mL)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**CL_{tot}[a] (mL/min/kg)**	**Vd[a] (L/kg)**	**F[b] (%)[e]**
	雄：血漿中 CC-10004	10	IV	7.542	NA	15.3	15.9	1.7	10.5	1.5	NA
	雌：血漿中 CC-10004	10	IV	7.248	NA	18.0	18.4	2.3	9.1	1.8	NA
	雄：血漿中総放射能	10	IV	9.353	NA	34.6	35.4	19.6	4.7	8.0	NA
	雌：血漿中総放射能	10	IV	8.793	NA	61.0	62.6	30.4	2.7	7.0	NA
	雄：血液中総放射能	10	IV	7.238	NA	23.1	24.2	26.2	6.9	15.6	NA
	雌：血液中総放射能	10	IV	6.779	NA	37.0	38.7	36.3	4.3	13.6	NA
	雄：血漿中 CC-10004	500	PO	16.33	1	208.5	226.9	15.5	NA	NA	28.5
	雌：血漿中 CC-10004	500	PO	13.25	4	194.8	242.2	21.9	NA	NA	26.3
	雄：血漿中総放射能	500	PO	25.65	0.75	453.3	506.6	16.8	NA	NA	28.6
	雌：血漿中総放射能	500	PO	34.11	6	516.0	617.6	20.1	NA	NA	19.7
	雄：血液中総放射能	500	PO	18.85	0.75	343.8	396.4	18.3	NA	NA	32.8
	雌：血液中総放射能	500	PO	22.29	6	372.6	458.1	21.2	NA	NA	23.7

平均値

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; CL_{tot} = 全身クリアランス; CMC = カルボキシメチルセルロース; DMSO = ジメチルスルホキシド IV = 静脈内投与; 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カウンター; NA= 該当データなし; PO = 経口投与; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; Vd =みかけの分布容積

[a] 放射能の単位は C_{max} = （µg eq./g）、AUC_t 及び AUC_∞ =（µg eq.•h/mL）、CL_{tot} = （g/min/kg）、Vd = kg/kg

[b] AUC_∞値を用いて算出したバイオアベイラビリティ（CC-10004）又は吸収率（総放射能）

2.6.5.3.2. ラットでの吸収及び体内動態（1）：ラットでの吸収及び体内動態（評価資料）

被験物質： アプレミラスト（CC-10004［*S*-エナンチオマー］）、CC-10007（*R*-エナンチオマー）及び CC-7085（ラセミ体）

添付資料番号：4.2.2.2.2

動物種: SD ラット 動物数: IV: 9 雄/9 雌 PO: 9 雄/9 雌 食餌状況: 非絶食 媒体: IV: PEG400:Intralipid 20（1:4 v/v） PO: 1 w/v% CMC 水溶液 投与法: IV/PO 投与量 （mg/kg）: IV: 5 PO: 10/50 採取試料: 血漿 分析対象: CC-7085（ラセミ体） アッセイ法: LC/MS/MS	**投与化合物**	**性/投与経路**	**投与量 (mg/kg)**	**C_{max} (ng/mL)**	**t_{max} (h)**	**AUC_t (ng•h/mL)**	**AUC_∞ (ng•h/mL)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**CL_{tot} (L/h/kg)**	**Vd (L/kg)**	**F[a] (%)**
	CC-7085（ラセミ体）	雄/IV	5	500 ± 371	NA	1260 ± 799	1270 ± 748	4.0 ± 0.6	4.7 ± 2.0	27.9 ± 14.3	NA
		雄/PO	50	46.5 ± 28.9	2.0 ± 0.0	344 ± 272	420 ± 205	6.2 ± 2.0	NA	NA	3.4
		雌/IV	5	891 ± 131	NA	5240 ± 383	5490 ± 450	5.5 ± 0.5	0.9 ± 0.1	6.9 ± 1.1	NA
		雌/PO	10	810 ± 132	4.7 ± 1.2	7360 ± 1100	7210 ± 1280	2.9 ± 0.5	NA	NA	63.1
	CC-10004（アプレミラスト）	雄/IV	5	3170 ± 1210	NA	1980 ± 916	1920 ± 862	0.6 ± 0.3	2.9 ± 1.0	2.1 ± 0.3	NA
		雄/PO	50	446 ± 139	4.0 ± 2.0	2260 ± 460	2220 ± 498	1.6 ± 0.4	NA	NA	11.5
		雌/IV	5	6600 ± 1800	NA	11500 ± 2200	11400 ± 2340	2.7 ± 0.4	0.5 ± 0.1	1.8 ± 0.2	NA
		雌/PO	10	1120 ± 228	6.0 ± 3.5	13500 ± 1800	14200 ± 1510	5.1 ± 2.3	NA	NA	64.8
	CC-10007（*R*-エナンチオマー）	雄/IV	5	3930 ± 4430	NA	1480 ± 1460	1420 ± 1370	0.4 ± 0.2	6.3 ± 4.2	3.1 ± 1.5	NA
		雄/PO	50	155 ± 116	2.0 ± 0.0	442 ± 312	567 ± 233	3.0 ± 1.5	NA	NA	4.3
		雌/IV	5	5320 ± 2910	NA	5870 ± 1760	5820 ± 1760	1.5 ± 0.1	0.9 ± 0.3	2.1 ± 0.8	NA
		雌/PO	10	1260 ± 438	1.7 ± 0.6	9100 ± 6010	9160 ± 6040	3.1 ± 0.4	NA	NA	80.3

平均値 ± 標準偏差

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; IV = 静脈内投与; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA= 該当データなし; PEG = ポリエチレングリコール; PO = 経口投与; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; Vd =みかけの分布容積

[a] AUC 比より算出した絶対的バイオアベイラビリティ

2.6.5.3.3. ラットでの吸収及び体内動態（2）：ラットでの吸収、代謝、排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.3

動物種: SD ラット 動物数: 32 雄/32 雌 食餌状況: 非絶食 媒体: 1 w/v% CMC 水溶液 投与法: PO 投与量（mg/kg）: PO 10(CC-10004) 採取試料: 血漿 分析対象: CC-7085（ラセミ体）、放射能 アッセイ法: Radio-HPLC、LC/MS/MS	**性 分析対象**	**投与量 (mg/kg)**	**投与経路**	**C_{max} (ng/mL)[a]**	**t_{max} (h)**	**AUC_t (ng•h/mL) [a]**	**AUC_∞ (ng•h/mL) [a]**	**$t_{1/2}$ (h)**
	雄 総放射能	10	PO	383.3	4	4534.1	6649.5	17.8
	雌 総放射能	10	PO	2018.8	8	25812.4	27166.7	4.7
	雄 CC-10004	10	PO	82.9	1	183.5	235.1	2.4
	雌 CC-10004	10	PO	654.4	6	7531.8	7550.5	2.0

平均値

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; PO = 経口投与; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

[a] 総放射能の単位は C_{max} =（ng eq./g）、AUC_t 及び AUC_∞ =（ng eq.•h/g）

2.6.5.3.4. ラットでの吸収及び体内動態（3）：ラットでの吸収及び体内動態（参考資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.4

動物種: SD ラット 動物数: 2 群、n=5/群 食餌状況: 絶食 媒体: 0.5 w/v% CMC 水溶液 投与法: PO 投与量（mg/kg）: 25 採取試料: 血漿 分析対象: CC-10004、CC-10007 アッセイ法: キラル LC/MS/MS	**性 (剤型)**	**投与量 (mg/kg)**	**投与 経路**	**C_{max} (ng/mL)**	**t_{max}[a] (h)**	**AUC_t (ng•h/mL)**	**AUC_∞ (ng•h/mL)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**CL/F (mL/h/kg)**
	雄 (微粉化)	25	PO	106.0 ± 14.8	6(2-8)	970.85 ± 358.08	870.78 ± 334.1	3.2 ± 1.1	32696 ± 15674
	雄 (粉砕化)	25	PO	116.7 ± 44.7	8(4-8)	818.02 ± 322.44	894.85 ± NC	5.1 ± NC	35320 ± NC

平均値 ± 標準偏差

CC-10004 の値を示す。CC-10007 濃度は、全例定量限界（1.4 ng/mL）未満であった。

t_{max} に関しては、平均値 ± 標準偏差ではなく中央値及び範囲を示した。

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積;CL/F =経口クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NC = 算出せず; PO = 経口投与; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

2.6.5.3.5. ウサギでの吸収及び体内動態（1）：ウサギでの吸収及び体内動態（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.5

動物種: New Zealand 白色ウサギ 動物数: n=3 食餌状況及び投与容量: 非絶食 （n = 1、10 ml/kg）及び絶食 （n = 2、5 ml/kg） 投与法: PO; 1 w/v% CMC 水溶液 投与量 （mg/kg）: 1000（100 µCi/kg） 採取試料: 血漿 分析対象: 放射能、CC-10004 アッセイ法: LSC、LC/MS/MS	**性 分析対象**	**投与量 (mg/kg)**	**投与経路**	**C_{max} (ng eq./g)**	**t_{max} (h)**	**AUC_t (ng eq.•h/g)**	**AUC_∞ (ng eq.•h/g)**	**$t_{1/2}$ (h)**
	雌 総放射能	1000	PO	11380 ± 2941	1.2 ± 0.8	30510 ± 16940	100900 ± NC	5.1 ± NC
追加情報:血漿中 CC-10004 は全例定量下限値（150 ng/mL）未満であった。								

平均値 ± 標準偏差

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; 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カウンター; NC = 算出せず; PO = 経口投与; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

2.6.5.3.6. ウサギでの吸収及び体内動態（2）：ウサギでの吸収、体内動態及び媒体忍容性（参考資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.7

動物種: New Zealand 白色雌ウサギ 動物数: n=3 /群 投与法: PO、IV （2 時間持続注入）、SC 投与量（mg/kg）: PO では 250 mg/kg、IV 及び SC では 25 mg/kg 媒体: PO; 1 w/v% CMC 水溶液 IV 及び SC: PEG 300: Cremophor ELP:生理食塩液（12.5:12.5:75、v/v/v） 採取試料: 血漿 分析対象: CC-10004 アッセイ法: LC/MS/MS	**投与量 (mg/kg)**	**投与経路**	**C_{max}[a] (ng/mL)**	**t_{max} (h)**	**AUC_t (ng•h/mL)**	**AUC_∞ (ng•h/mL)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**CL_{tot} (mL/h/kg)**	**Vd_{SS} (mL/kg)**	**F[b] (%)**
	250	PO	15.0 ± 10.0	0.58 ± 0.38	74.7 ± 23.9	115 ± NC	10 ± NC	NA	NA	0.084 ± NC
	25	IV	8180 ± 6830	NA	17800 ± 11700	17800 ± 11700	2.4 ± 1.5	3750 ± 2320	3260 ± 1870	NA
	25	SC	2160 ± 312	2.67 ± 0.58	17000 ± 4370	17100 ± 4460	2.9 ± 0.5	NA	NA	95.7 ± NC

平均値 ± 標準偏差

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; IV = 静脈内投与; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA = 該当データなし; NC = 算出せず; PEG = ポリエチレングリコール; PO = 経口投与; SC = 皮下投与; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; Vd_{SS} =定常状態での分布容積;

[a] 静脈内投与群に関しては 2 時間持続注入後の濃度

[b] AUC 比より算出した絶対的バイオアベイラビリティ

2.6.5.3.7. サルでの吸収及び体内動態：サルでの吸収、代謝、排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号： 4.2.2.2.8

動物種: カニクイザル 動物数: 3 雄/3 雌 食餌状況: 非絶食 媒体 – IV: 8 vol% DMSO 含有 Intralipid 20 媒体 – PO: 1 w/v% CMC 水溶液 投与法: IV、PO 投与量 （mg/kg）: IV 1（125 µCi/kg） 投与量 （mg/kg）: PO 10（125 µCi/kg） 採取試料: 血漿、血液 分析対象: CC-10004、放射能 アッセイ法: LSC、Radio-HPLC、LC/MS/MS	**性別:分析対象**	**投与量 (mg/kg)**	**投与経路**	**C_{max}[a] (ng/mL)[b]**	**t_{max} (h)**	**AUC_t (ng•h/mL)[b]**	**AUC_∞ (ng•h/mL)[b]**	**$t_{1/2}$ (h)**	**CL_{tot} (kg/h/kg)[c]**	**Vz (kg/kg)[c]**	**F[d] (%)**
	雄：血漿中総放射能	1	IV	1671 ± 86.57	NA	4195.8 ±3 84.7	4716.7 ± 378.1	19.2 ± 3.5	0.23 ± 0.02	6.4 ± 1.4	NA
	雌：血漿中総放射能	1	IV	1689 ± 90.32	NA	4068.1 ± 415.0	5063.1 ± 370.9	29.2 ± 1.6	0.21 ± 0.02	9.0 ± 1.2	NA
	雄：血液中総放射能	1	IV	987.1 ± 22.83	NA	2737.7 ± 329.2	3218.2 ± 587.2	24.2 ± 14.0	0.34 ± 0.05	11.5 ± 5.1	NA
	雌：血液中総放射能	1	IV	1026 ± 76.19	NA	2530.6 ± 340.8	2741.1 ± 319.8	17.2 ± 1.6	0.40 ± 0.05	9.9 ± 2.0	NA
	雄：血漿中 CC-10004	10	PO	2003.0 ± 505.1	1.2 ± 0.07	7508.7 ± 1119.6	7812.2 ± 1185.8	2.0 ± 0.05	NA	NA	NC
	雌：血漿中 CC-10004	10	PO	2291.5 ± 163.5	1.2 ± 0.8	8059.6 ± 1650.9	8322.2 ± 1795.7	1.7 ± 0.6	NA	NA	NC
	雄：血漿中総放射能	10	PO	3061 ± 439.8	4.0 ± 2.0	27541.1 ± 6477.9	31951.6 ± 7062.3	20.9 ± 1.2	NA	NA	78.7 ± 15.6
	雌：血漿中総放射能	10	PO	3862 ± 433.2	1.2 ± 0.8	29538.9 ± 1405.6	34445.6 ± 1048.4	21.7 ± 2.4	NA	NA	77.7 ± 6.5
	雄：血液中総放射能	10	PO	1792 ± 168.0	1.7 ± 0.6	19146.2 ± 5775.9	22088.9 ± 6569.3	19.5 ± 2.6	NA	NA	81.0 ± 25.7
	雌：血液中総放射能	10	PO	2376 ± 397.0	1.6 ± 0.7	18838.4 ± 172.1	22237.5 ± 571.4	23.4 ± 2.4	NA	NA	93.2 ± 11.9
追加情報：静脈内投与後、投与後 5 分の試料以外はすべて、血漿中 CC-10004 濃度は定量下限値（75 ng/mL） 未満であった。したがって、CC-10004 については静脈内投与後の薬物動態パラメータは得られなかった。											

平均値 ± 標準偏差

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; DMSO = ジメチルスルホキシド; IV = 静脈内投与; 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カウンター; NA= 該当データなし; NC= 算出せず; PO = 経口投与; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; Vz =終末相のみかけの分布容積

[a] 静脈内投与に関しては 5 分の濃度

[b] 総放射能の単位は C_{max} = (ng eq./g)、AUCt 及び AUC_∞ = (ng eq.•h/g)

[c] 総放射能のみの単位

[d] AUC_∞値を用いて算出した吸収率

2.6.5.4. 薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.1. ラットでの吸収及び体内動態：ラットでの吸収、代謝、排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.3

動物種: SD ラット 動物数: 32 雄/32 雌 食餌状況: 非絶食 媒体: 1 w/v% CMC 投与法: PO 投与量（mg/kg/day）:10（CC-10004）、5 又は 6 日間 試料: 血漿 分析対象:CC-10004 （アキラルアッセイ）、放射能 アッセイ法:LSC、Radio-HPLC、LC/MS/MS	**性別：分析対象**	**投与量 (mg/kg/day)**	**投与経路**	**C_{max} (ng/mL)[a]**	**t_{max} (h)**	**AUC_{all} (ng•h/mL)[a]**	**AUC_{∞} (ng•h/mL)[a]**	**$t_{1/2}$ (h)**
	雄：総放射能	10	PO	476.0	6	5055.4	6407.3	10.1
	雌：総放射能	10	PO	3084.1	10	50524.9	NC	NC
	雄：CC-10004	10	PO	32.7	1	80.3	92.6	1.6
	雌：CC-10004	10	PO	1594.2	2	24023.6	NC	NC

平均値

AUC_{all} = 時間 0 から血漿中濃度測定最終時点までの濃度時間曲線下面積; AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_{∞} = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; 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カウンター; NC = 算出せず; PO = 経口投与; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

[a] 総放射能の単位は C_{max} = (ng eq./g)、AUCt 及び AUC_{∞} = (ng eq.•h/g)

2.6.5.5. 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1. マウスでの組織分布：マウスでの吸収、分布、代謝、排泄（評価資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.1

動物種: アルビノ: CD-1 マウス、有色: B6C3F1 マウス											
性 （雄/雌）/動物数: アルビノ: 雌雄各 15 匹（1 時点雌雄各 3）、有色: 雄 5 匹（各時点 1 匹）											
食餌条件: 非絶食											
媒体/剤型: 1 w/v% CMC 水溶液											
投与経路: PO											
投与量 （mg/kg）: 500 mg/kg （非標識体）、250 mCi/kg （標識体）											
放射性核、比活性: ^{14}C、2.18 GBq/mmol （4.677 MBq/mg）											
アッセイ: 全身オートラジオグラフィによる放射活性											
試料採取時点: アルビノ: 2、6、24、72、168 h、有色: 1、3、7、21、35 days											
組織タイプ	**組織**	**アルビノマウス組織（µg eq./g）**									
		2 h		**6 h**		**24 h**		**72 h**		**168 h**	
		雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
血管/リンパ系	血液	18.78	12.44	8.03	10.43	4.4	3.51	nd	nd	nd	nd
	動脈	30.02	17.54	13.20	10.56	nd	3.58	nd	nd	nd	nd
	下顎リンパ節	20.64	17.81	14.86	11.15	4.26	5.44	nd	NS	nd	nd
代謝/排泄	腎皮質	61.32	26.38	20.55	21.26	11.24	7.64	5.02	nd	nd	nd
	腎髄質	52.68	20.82	17.90	17.29	21.35	6.11	2.89	nd	nd	nd
	肝臓	76.41	39.28	40.19	38.42	18.93	15.5	8.77	3.18	nd	nd
中枢神経系	脳	2.12	1.04	0.90	0.90	0.61	nd	nd	nd	nd	nd
	脈絡叢	6.41	4.33	2.19	4.32	nd	2.11	nd	nd	nd	nd
	髄膜	10.96	7.62	2.75	5.58	0.67	2.15	nd	nd	nd	nd
	松果体	NA	11.56	NA	NS	3.37	2.92	nd	NS	nd	NS
	脊髄	2.23	1.15	0.98	0.67	0.69	nd	nd	nd	nd	nd

CMC = カルボキシメチルセルロース; NA=該当データなし; nd = 定量限界（0.71 µg eq./g）未満;NS=組織摘出せず; PO = 経口投与

組織タイプ	組織	アルビノマウス組織（µg eq./g）									
		2 h		6 h		24 h		72 h		168 h	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
内分泌	副腎	31.03	21.13	14.53	19.54	nd	5.92	nd	nd	nd	nd
	下垂体	34.82	9.79	9.87	14.33	2.66	2.72	nd	nd	nd	nd
	胸腺	22.65	13.98	9.38	10.38	0.95	3.16	nd	nd	nd	nd
	甲状腺	31.67	16.28	14.42	12.86	4.04	4.61	nd	nd	nd	nd
分泌腺	眼窩外涙腺	37.47	21.35	14.57	22.28	6.91	NS	nd	nd	nd	nd
	ハーダー腺	51.44	26.67	16.51	23.02	7.12	4.59	nd	nd	nd	nd
	眼窩内涙腺	35.04	19.74	10.14	11.89	NA	9.08	nd	nd	nd	nd
	唾液腺	35.41	22.11	13.77	15.06	5.28	4.79	nd	nd	nd	nd
脂肪	褐色脂肪	36.13	20.28	15.28	15.82	6.07	5.93	nd	nd	nd	nd
	白色脂肪	28.29	15.16	12.00	15.30	5.03	4.18	nd	nd	nd	nd
生殖腺	尿道球腺	41.46	NA	20.13	NA	4.59	NA	nd	NA	nd	NA
	包皮腺	30.52	NA	12.39	NA	3.58	NA	nd	NA	nd	NA
	前立腺	24.79	NA	8.4	NA	4.87	NA	nd	NA	nd	NA
	精嚢	27.45	NA	12.61	NA	4.33	NA	nd	NA	nd	NA
	睾丸	5.68	NA	2.25	NA	2.11	NA	nd	NA	nd	NA
	陰核	NA	26.64	NA	12.71	NA	3.01	NA	nd	NA	nd
	卵巣	NA	19.17	NA	17.02	NA	5.52	NA	nd	NA	nd
	子宮	NA	34.68[a]	NA	13.27	NA	6.00	NA	nd	NA	nd
筋肉系	筋肉	24.98	12.56	11.98	11.81	4.39	4.07	nd	nd	nd	nd
	心筋	39.68	23.05	15.55	16.43	2.33	4.40	nd	nd	nd	nd
	舌	33.23	17.82	12.62	14.55	4.81	4.54	nd	nd	nd	nd

NA=該当データなし; nd = 定量限界（0.71 µg eq./g）未満;NS=組織摘出せず
[a] 測定が消化管内容物による汚染の影響を受けた組織濃度

組織タイプ	組織	アルビノマウス組織（μg eq./g）									
		2 h		6 h		24 h		72 h		168 h	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
未分類	骨髄	16.12	10.04	6.83	9.21	3.18	2.59	nd	nd	nd	nd
	肺	23.70	15.14	12.68	12.41	5.82	3.82	nd	nd	nd	nd
	鼻粘膜	22.43	5.06	9.30	6.58	5.13	2.64	0.68	nd	nd	nd
	膵臓	58.14	97.69[a]	31.37	32.33	25.86	8.49	nd	nd	nd	nd
	皮膚	24.56	11.44	10.33	10.26	4.05	2.61	1.30	nd	nd	nd
	脾臓	37.22	29.98	48.27	17.48	4.63	4.75	nd	nd	nd	nd
	歯髄	10.65	10.33	4.73	8.78	1.11	2.1	nd	nd	nd	nd
	ブドウ膜	7.40	6.57	4.85	8.16	2.54	2.43	1.08	nd	nd	nd
消化器系	胃粘膜 （胃底部）	89.63	220.8[a]	63.65	256.2[a]	110.6	135.3	23.09	nd	nd	nd
	胃粘膜 （非胃底部）	396.4[a]	421.1[a]	666.6[a]	269.4[a]	297.0	111.7	87.01	nd	nd	nd
	小腸粘膜	49.81	56.87[a]	20.99	19.49	5.12	5.15	nd	nd	nd	nd
	盲腸粘膜	135.0	143.5	121.6	276.6	127.5	119.9	24.02	nd	nd	nd
	大腸粘膜	46.80	44.58	234.3[a]	147.1	57.50	nd	7.77	nd	nd	nd
	直腸粘膜	29.54	14.75	65.02[a]	8.44	6.22	16.93	nd	nd	nd	nd
定量下限値		0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
定量上限値		5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457	5457

nd = 定量（0.71 μg eq./g）限界未満
[a] 測定が消化管内容物による汚染の影響を受けた組織濃度

組織タイプ	組織	有色マウス組織（μg eq./g）				
		1 day	3 days	7 days	21 days	35 days
		雄	雄	雄	雄	雄
血管/リンパ系	血液	3.87	2.69	nd	nd	nd
	動脈	nd	nd	nd	nd	nd
	下顎リンパ節	NS	NS	NS	NS	NS
代謝/排泄	腎皮質	10.00	7.72	nd	nd	nd
	腎髄質	17.46	7.56	nd	nd	nd
	肝臓	21.68	15.23	nd	nd	nd
中枢神経系	脳	nd	nd	nd	nd	nd
	脈絡叢	1.79	nd	nd	nd	nd
	髄膜	2.68	nd	nd	nd	nd
	松果体	NS	NS	NS	NS	NS
	脊髄	nd	nd	nd	nd	nd
内分泌	副腎	nd	nd	nd	nd	nd
	下垂体	5.18	3.92	NS	nd	nd
	胸腺	3.79	nd	nd	nd	nd
	甲状腺	3.34	NS	nd	nd	nd
分泌腺	眼窩外涙腺	7.87	5.94	nd	nd	NS
	ハーダー腺	8.88	5.38	nd	nd	NS
	眼窩内涙腺	6.24	4.30	nd	nd	nd
	唾液腺	6.90	4.70	nd	nd	nd
脂肪	褐色脂肪	7.61	5.63	nd	nd	nd
	白色脂肪	4.91	4.38	nd	nd	nd
生殖腺	尿道球腺	8.38	NS	nd	nd	NS
	包皮腺	5.74	4.66	nd	nd	nd
	前立腺	4.60	2.88	nd	nd	nd
	精嚢	4.17	2.69	nd	nd	nd
	睾丸	1.55	0.99	nd	nd	nd
筋肉系	筋肉	4.39	3.07	nd	nd	nd
	心筋	6.90	nd	nd	nd	nd
	舌	6.24	3.67	nd	nd	NS

nd = 定量限界（0.81 μg eq./g）未満； NS=組織摘出せず

組織タイプ	組織	有色マウス組織（μg eq./g）				
		1 day	3 days	7 days	21 days	35 days
		雄	雄	雄	雄	雄
未分類	骨髄	4.16	3.03	nd	nd	nd
	肺	5.53	3.4	nd	nd	nd
	鼻粘膜	4.03	1.87	NS	nd	NS
	膵臓	15.69	7.46	nd	nd	nd
	有色皮膚	4.68	2.88	nd	nd	nd
	脾臓	5.43	3.98	nd	nd	nd
	歯髄	NS	2.92	nd	nd	nd
	ブドウ膜	8.32	5.58	nd	nd	nd
消化器系	胃粘膜 （胃底部）	87.31	21.07	nd	nd	nd
	胃粘膜 （非胃底部）	93.15	174.7	nd	nd	nd
	小腸粘膜	5.99	12.89	nd	nd	nd
	盲腸粘膜	390.2	69.49	nd	nd	nd
	大腸粘膜	157.5	43.81	nd	nd	nd
	直腸粘膜	9.29	89.59	nd	nd	nd
定量下限値		0.81	0.81	0.81	0.81	0.81
定量上限値		5457	5457	5457	5457	5457

nd = 定量限界（0.81 μg eq./g）未満; NS=組織摘出せず

2.6.5.6. 薬物動態試験：タンパク結合

2.6.5.6.1. In vitro 血漿タンパク結合：in vitro 血漿タンパク結合（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.3.1

方法:限外ろ過及び LC/MS/MS アッセイ					
In vitro タンパク結合率（平均値、n= 3）					
名目上の濃度（µg/mL）	**マウス**	**ラット**	**ウサギ**	**サル**	**ヒト**
0.25	91.2	91.6	82.0	85.2	69.4
0.75	87.5	90.5	79.6	82.6	67.7
2.5	87.0	89.8	80.9	85.1	67.9
すべての濃度での平均値 ± 標準偏差	88.6 ± 2.3	90.6 ± 0.9	80.9 ± 1.2	84.3 ± 1.5	68.3 ± 0.9
追加情報:アプレミラストは、室温で 1 時間では血漿中及び限外濾液中で安定であり、ろ過装置に非特異的に吸着することはなかった。					

LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析

2.6.5.7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物での試験

2.6.5.7.1. 胎盤移行：マウスでの胎盤移行（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.3.5.1.3

動物種: CD-1 マウス 性: 妊娠雌 動物数: 3/群 食餌状況: 非絶食 分析対象: CC-10004 投与量: 10～80 mg/kg/day アッセイ法: LC/MS/MS 採取試料: 血液 （母動物及び胎児） マトリクス: 血漿 投与経路: PO 媒体: 1 w/v% CMC 水溶液	**妊娠 16 日（投与後 24 h）での血漿中 CC-10004 濃度（平均値 ± 標準偏差）**			
	投与量 （mg/kg/day）	**胎児血漿中濃度 （ng/mL）**	**母動物血漿中濃度 （ng/mL）**	**胎児／母動物比**
	10	7.19 ± 12.5	nd	NC
	20	108 ± 186	133 ± 231	0.81[a]
	40	nd	37.6 ± 19.0	NC
	80	943 ± 1620	348 ± 553	1.07 ± 1.56
追加情報:雄マウスとの同居 15 日前から妊娠 15 日まで、CC-10004 をマウスに連日経口投与し、妊娠 15 日の最終投与後 24 時間（妊娠 16 日）に母動物及び胎児から血液を採取した。血漿中濃度のばらつきは大きく、多くの試料が定量下限未満の濃度を示した。平均胎児／母動物血漿中濃度比は最大 1.07 であり、マウスでは CC-10004 が胎盤を通過することが明らかとなった。				

CMC = カルボキシメチルセルロース; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NC = 算出せず; nd = 定量限界（2 ng/mL 及び 50 ng/mL、希釈倍率により変動）未満; PO = 経口投与

[a] n=1

2.6.5.7.2. 乳汁排泄：マウスでの乳汁排泄（参考資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.5.2

動物種: CD-1 マウス 性: 授乳雌（分娩後約 13 日） 動物数: 5 匹/1 時点 食餌状況: 非絶食 分析対象: CC-10004 投与量: 10 mg/kg アッセイ法: LC/MS/MS 採取試料: 血液 （母動物） 及び乳汁 投与経路: PO 媒体: 1 w/v% CMC 水溶液	**時点** **(h)**	**CC-10004 濃度** **（平均値 ± 標準偏差）**		**乳汁／血漿** **濃度比** **（平均値 ± 標準偏差）**
		血漿 **(ng/mL)**	**乳汁** **(ng/mL)**	
	1	984 ± 190	1441 ± 322	1.46 ± 0.17
	6	138 ± 81	186 ± 128	1.62 ± 0.21
	24	nd	nd	NC
追加情報:CC-10004 がマウスの乳汁中に排泄されることを示している。				

LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NC = 算出せず; nd = 定量限界（3 ng/mL）未満; PO = 経口投与

2.6.5.7.3. ウサギでの吸収及び体内動態：妊娠ウサギでの吸収及び体内動態（参考資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.6

動物種: New Zealand 白色妊娠ウサギ（妊娠推定日 Day 8） 動物数: 3 匹/群 食餌状況: 非絶食 投与法: IV 1 時間持続注入、 PO 投与量 （mg/kg）: IV 10; 20 w/v% HPβCD に溶解した 5%DMA 溶液 投与量 （mg/kg）: PO 250; 1 w/v% CMC 水溶液 アッセイ法: LC/MS/MS 採取試料: 血漿 分析対象: CC-10004、CC-10007	**性別 分析対象**	**投与量 (mg/kg)**	**投与経路**	**平均値 ± 標準偏差**							
				C_{max}[a] (ng/mL)	**t_{max} (h)**	**AUC_t (ng•h/mL)**	**AUC_∞ (ng•h/mL)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**CL_{tot} (mL/h/kg)**	**Vd_{SS} (mL/kg)**	**F[b] (%)**
	雌 CC-10004	10	IV	4163 ± 799	NA	4860 ± 679	4871 ± 678	1.2 ± 0.2	2039 ± 273	1843 ± 255	NA
	雌 CC-10004	250	PO	2.62 ± 1.48	5.0 ± 3.6	14.0 ± 12.5	NC	NC	NA	NA	0.012 ± 0.012
	雌 CC-10007	10	IV	94.3 ± 30.9	NA	115 ± 17.0	110 ± NC	1.1 ± NC	NA	NA	NA
	雌 CC-10007	250	PO	nd ± 0.00	NC	0.00 ± 0.00	NC	NC	NA	NA	NC

AUC_t = 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積; AUC_∞ = 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積; nd = 定量限界（1 ng/mL）未満; CL_{tot} = 全身クリアランス; C_{max} = 最高血漿中濃度; CMC = カルボキシメチルセルロース; DMA = ジメチルアセトアミド; HPβCD = ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン; IV = 静脈内投与; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA =該当データなし; NC= 算出せず; PO = 経口投与; $t_{1/2}$ = 消失半減期; t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間; Vd_{SS} =定常状態での分布容積

[a] IV 投与に関しては、1 時間持続注入後の濃度

[b] AUC_t 値を用いて算出したバイオアベイラビリティ

2.6.5.7.4. 胎盤移行：サルでの胎盤移行（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.3.5.2.7

動物種: カニクイザル 性: 妊娠雌 動物数: 16 匹/群 食餌状況: 非絶食 分析対象: CC-10004 投与量: 20～1000 mg/kg/day アッセイ法: LC/MS/MS 採取試料:血液 （母動物及び胎児） マトリクス:血漿 投与経路: PO、1 w/v% CMC 水溶液	**妊娠 100 日（最終投与後 5 時間）での血漿中 CC-10004 濃度（平均値 ± 標準偏差）**			
	投与量 （mg/kg/day）	**胎児血漿中濃度 （ng/mL）**	**母動物血漿中濃度 （ng/mL）**	**胎児/母動物比**
	20	176 ± 161 （n=14）	650 ± 823 （n=14）	0.3 ± 0.1 （n=14）
	50	253 ± 113 （n=10）	748 ± 307 （n=9）	0.4 ± 0.1 （n=9）
	200	165 ± 83 （n=8）	421 ± 139 （n=8）	0.4 ± 0.1 （n=8）
	1000	130 ± NC （n=2）	429 ± 185 （n=3）	0.4 ± NC （n=2）
追加情報: CC-10004 の反復投与は、妊娠 20 日に開始し、妊娠 50 日まで継続した。さらに、妊娠 100 日安楽死 5 時間前に投与した。母動物及び胎児血液は、妊娠 100 日 CC-10004 投与後 5 時間に採取した。濃度のばらつきは大きく、多くの試料が定量下限値未満であった。				

LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NC= 算出せず; PO = 経口投与

2.6.5.8. 薬物動態試験：その他の分布試験

その他の分布試験は実施されていない。

2.6.5.9. 薬物動態試験：代謝：In Vivo

2.6.5.9.1. マウスでの in vivo 代謝（1）：マウスでの吸収、分布、代謝、排泄（評価資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.1

動物種/系: CD-1 マウス				**放射性核種:** ^{14}C					
性: 雄及び雌				**比活性:** 2.18 GBq/mmol（4.677 MBq/mg）					
動物数: IV: 15 雄 / 15 雌; PO: 15 雄 / 15 雌				**放射能 （μCi/kg）:** 250					
摂餌条件:非絶食				**試験期間:** 168 h					
投与法/媒体: IV: 8 vol% DMSO/intralipid 20; PO: 1 w/v% CMC 水溶液				**採取試料:**血漿、尿、糞					
				測定対象:代謝物					
投与量 （mg/kg）: IV: 10; PO: 500				**アッセイ法:** Radio-HPLC、LC/MS					
試料	**血漿**			**尿**			**糞**		
群		**雄/雌 IV**	**雄/雌 PO**		**雄/雌 IV**	**雄/雌 PO**		**雄/雌 IV**	**雄/雌 PO**
試料採取期間		**45 min**	**45 min**		**0-24 h**	**0-48 h**		**0-24 h**	**0-48 h**
放射能単位		**μg·eq/g**	**μg·eq/g**		**投与量に対する%**	**投与量に対する%**		**投与量に対する%**	**投与量に対する%**
代謝物	コード			コード			コード		
CC-10004（未変化体）	MuP22	3.83/3.62	12.53/3.09	MuU22	1.23/1.09	0.46/0.20	MuF22	3.48/2.27	22.31/15.36
開環加水分解体（M1/M2）	MuP10	0.39/0.47	2.78/9.03	NA	NA	NA	MuF10	2.62/4.36	2.75/3.57
	MuP11	0.48/0.59	5.65/6.46	MuU11[a]	1.29/2.10	0.93/0.52	MuF11	1.93/3.15	1.88/3.06
O-脱エチル体（M5）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MuF17	2.01/3.50	1.33/1.40
O-脱メチル体（M3）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MuF20	15.66/20.39	8.41/6.16
開環加水分解、*O*-脱メチル体（M9）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MuF8	5.22/8.98	7.89/4.35
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MuF9	4.95/7.50	6.48/8.24
O-脱メチル体のグルクロン酸抱合体（M12）	NA	NA	NA	MuU12	0.67/2.08	0.93/0.52	NA	NA	NA
開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体（M15）	MuP3	0.02/0.12	2.19/2.28	MuU2	0.03/0.04	0.06/0.33	NA	NA	NA
O-脱メチル、*O*-脱エチル体（M19）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MuF14	3.67/6.69	5.30/5.18
開環加水分解、*O*-脱エチル体（M22）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MuF6	0.78/1.24	1.26/1.46
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MuF7	0.59/1.19	0.96/5.49

平均値、CMC = カルボキシメチルセルロース; DMSO = ジメチルスルホキシド; IV = 静脈内投与; LC/MS = 液体クロマトグラフィー／質量分析; NA =該当データなし; PO = 経口投与; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー

[a] 当該ピークには脱エチル体のグルクロン酸抱合体を含む。

2.6.5.9.2. マウスでの in vivo 代謝（2）：マウスでの吸収、分布、代謝、排泄（評価資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.1

実験の詳細: [^{14}C]-アプレミラストを未処置及び胆管カニュレーション（BDC）を施した雄マウスに単回経口投与又は単回静脈内投与したときの放射性代謝物のプロファイル及び同定													
動物種/系: マウス						**放射性核種:** ^{14}C							
性: 雄						**比活性:** 115.88 µCi/mg							
動物数: 未処置雄マウス 16 匹、BDC マウス 8 匹 （生体試験及びマスバランスは 4.2.2.5.1 に報告）						**放射能:** 名目上 250 µCi/kg							
摂餌条件: 非絶食						**試験期間:** 48 h							
投与法/媒体: PO: 1%CMC、IV: 5%DMA、35% PEG400、60% PBS						**採取試料:** 血漿、胆汁、尿、糞							
						測定対象: 代謝物							
投与量（mg/kg）:PO: 10、IV: 5 （BDC 動物） 又は 10 （未処置動物）						**アッセイ法:** LC/MS							
		血漿（ng eq/g）				**投与放射能に対する割合**				**投与放射能に対する割合**			
		PO		**IV**		**PO（0-48 h）**				**IV（0-48 h）**			
代謝物	**コード**	**2 h**	**8 h**	**1 h**	**4 h**	**胆汁**	**尿**	**糞**	**合計**	**胆汁**	**尿**	**糞**	**合計**
CC-10004(未変化体)		270	75.5	1124	157	0.66	0.77	2.56	3.99	0.93	1.74	4.48	7.15
O-脱メチル体(M3)	M3	ND	ND	ND	ND	0.16	0.73	4.60	5.49	0.06	0.33	2.95	3.34
N-脱アセチル体(M7)	M7	2.81	0.66	6.21	1.21	0.08	ND	0.05	0.13	0.05	ND	0.09	0.14
N-脱アセチル、水酸化体(M11)	M11	ND	ND	ND	ND	0.37	0.14	0.25	0.76	0.18	0.12	0.15	0.45
O-脱メチル体のグルクロン酸抱合体(M12)	M12	34.9	81.9	117	31.2	31.3	6.03	ND	37.3	33.0	7.14	ND	40.1
O-脱エチル体のグルクロン酸抱合体(M13)	M13	22.4	12.8	78.0	12.0	9.12	4.01	ND	13.1	11.8	4.88	ND	16.7
N-脱アセチル、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体(M14)	M14	7.70	11.2	24.3	8.85	1.39	0.69	ND	2.08	1.82	0.97	ND	2.79
開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体(M15)	M15	ND	ND	ND	ND	3.90	0.71	ND	4.61	3.42	0.43	ND	3.85
水酸化アセトアミドのグルクロン酸抱合体(M16)	M16	0.36	ND	3.47	ND	0.13	0.03	ND	0.16	0.12	0.03	ND	0.15
水酸化アセトアミド(M17)	M17	3.20	0.94	10.5	1.21	0.04	0.03	0.06	0.13	0.02	0.14	0.12	0.28
3-アセトアミドフタル酸(M18)	M18	ND	0.38	2.60	ND	2.81	0.48	0.38	3.67	3.09	0.45	0.03	3.57
O-脱メチル、*O*-脱エチル、水酸化アセトアミド(M21)	M21	ND	ND	ND	ND	0.54	0.11	0.24	0.89	1.03	0.19	0.05	1.27
水酸化 3-アセトアミドフタル酸(M23)	M23	ND	ND	ND	ND	0.01	0.02	0.03	0.06	0.02	0.01	0.01	0.04

平均値

BDC = 胆管カニュレーションを施した; CMC = カルボキシメチルセルロース; IV = 静脈内投与; LC/MS = 液体クロマトグラフィー／質量分析; ND = 検出されず; PBS = リン酸緩衝化生理食塩水; PEG = ポリエチレングリコール; PO = 経口投与

2.6.5.9.3. ラットでの in vivo 代謝：ラットでの吸収、代謝、排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号： 4.2.2.2.3

実験の詳細: ラットでの吸収、代謝、排泄	
動物種/系: SD ラット	**放射性核種:** ^{14}C
性別: 雄及び雌	**比活性:** 58 mCi/mmol
動物数: 64 （雄 32 匹及び雌 32 匹）	**放射能 （mCi/kg）**: 0.68 mCi/kg
摂餌条件: 非絶食	**試験期間:** 24 h
投与法/媒体: 1w/v%、CMC 水溶液	**採取試料:** 血漿、尿、糞
投与量 （mg/kg/day）: Group A: 単回 ^{14}C 標識体投与; Group B: 5 日間非標識体を反復投与後 ^{14}C 標識体を単回投与	**測定対象:** 代謝物
	アッセイ法: Radio-HPLC、LC/MS/MS

	血漿					
群	コード	**Group A 雄/雌**	**Group A 雄/雌**	コード	**Group B 雄/雌**	**Group B 雄/雌**
試料採取期間		**12 h**	**24 h**		**12 h**	**24 h**
放射能単位		**ng eq/g**	**ng eq/g**		**ng eq/g**	**ng eq/g**
CC-7085 （未変化体）	RP20	ND/618.0	ND/18.92	RP20	ND/78.44	ND/51.58
開環加水分解、*O*-脱メチル体(M9)	RP7	ND/ND	ND/4.413	RP7	ND/ND	ND/ND
開環加水分解、*O*-脱メチル体(M9)	RP8	0.118/ND	ND/0.653	RP8	ND/ND	ND/ND
開環加水分解体(M1)	RP10	ND/230.3	0.107/4.492	RP10	0.672/725.0	1.608/670.3
開環加水分解体(M2)	RP11	6.749/164.6	7.786/20.15	RP11	ND/411.9	ND/373.2
O-脱メチル体のグルクロン酸抱合体(M12)	RP12	56.30/77.41	15.99/25.94	RP12	ND/ND	ND/ND
N-脱アセチル体又は *O*-脱メチル *O*-脱エチル体(M7)	RP14	ND/ND	ND/ND	RP14	ND/ND	ND/ND
N-脱アセチル、水酸化体の *O*-脱メチル体(M8)	RP15	ND/ND	ND/ND	RP15	ND/ND	ND/ND
O-脱エチル体(M5)	RP16	ND/ND	ND/ND	RP16	ND/149.0	ND/220.0
O-脱メチル体(M3)	RP18	0.236/ND	ND/ND	RP18	ND/ND	ND/ND

平均値、CMC = カルボキシメチルセルロース; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; ND = 検出されず; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー

試料	尿						糞					
群		Group A 雄/雌	Group A 雄/雌		Group B 雄/雌	Group B 雄/雌		Group A M/105F/106F	Group A 雄/雌		Group B 雄/雌	Group B 雄/雌
試料採取期間		0-12 h	0-24 h		0-12 h	0-24 h		0-12 h	0-24 h		0-12 h	0-24 h
放射能単位	コード	投与量に対する%	投与量に対する%	コード	投与量に対する%	投与量に対する%	コード	投与量に対する%	投与量に対する%	コード	投与量に対する%	投与量に対する%
CC-7085 （未変化体）	RU20	ND/0.31	ND/0.58	RU20	ND/0.88	ND/0.76	RF20	0.45/0.01/<0.01	0.13/0.79	RF20	0.71/1.17	0.87/1.12
開環加水分解、*O*-脱メチル体（M9）	RU7	ND/ND	0.02/ND	RU7	0.01/ND	ND/ND	RF7	2.05/ND/ND	2.98/4.37	RF7	1.63/0.44	3.24/3.06
開環加水分解、*O*-脱メチル体（M9）	RU8	0.01/ND	0.02/0.06	RU8	0.01/ND	ND/0.04	RF8	1.69/<0.01/ND	1.87/2.77	RF8	ND/0.01	ND/2.11
開環加水分解体（M1）	RU10	0.01/0.19	ND/0.51	RU10	ND/0.64	ND/1.18	RF10	ND/0.02/<0.01	0.05/1.08	RF10	ND/0.33	ND/2.08
開環加水分解体（M2）	RU11	0.10/0.25	0.26/0.99	RU11	0.23/1.22	0.75/3.07	RF11	ND/0.01/<0.01	0.04/0.08	RF11	ND/ND	ND/0.48
O-脱メチル体のグルクロン酸抱合体（M12）	RU12	1.00/1.97	3.89/7.07	RU12	5.24/6.66	12.8/19.5	RF12	ND/ND/ND	ND/ND	RF12	ND/ND	ND/0.22
N-脱アセチル体（M7）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	RF14	1.67/ND/ND	1.33/4.29	RF14	3.56/1.02	4.78/1.47
N-脱アセチル、水酸化体の*O*-脱メチル体（M8）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	RF15	0.12/ND/ND	0.22/4.13	RF15	0.49/1.72	0.71/4.99
O-脱エチル体（M5）	RU16	ND/ND	ND/ND	RU16	ND/ND	ND/ND	RF16	0.88/<0.01/ND	0.80/0.36	RF16	1.03/0.10	0.89/0.38
水酸化 *N*-脱アセチル、*O*-脱エチル体	RU17	ND/ND	ND/ND	RU17	ND/0.15	ND/0.46	RF17	0.73/<0.01/<0.01	0.79/1.72	RF17	0.74/0.50	1.17/0.87
O-脱メチル体 （M3）	RU18	0.02/ND	0.07/ND	RU18	0.51/0.84	0.32/2.94	RF18	26.4/0.06/0.02	25.0/24.7	RF18	37.8/7.27	44.3/8.82

平均値、NA =該当データなし; ND =検出されず

2.6.5.9.4. サルでの in vivo 代謝：サルでの吸収、代謝、排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.8

動物種/系: カニクイザル	**放射性核種:** ^{14}C
性別: 雄及び雌	**比活性:** 4.677 MBq/mg
動物数: 雄 3 匹及び雌 3 匹	**放射能:** 125 µCi/kg
摂餌条件: 非絶食	**試験期間:** 168 h
投与法/媒体: IV: 8 vol% DMSO Intralipid 20 溶液、PO: 1% CMC	**採取試料:** 血漿、尿、糞
	測定対象: 代謝物（代謝物のアサインメントはヒト代謝物のアサインメントに合わせた）
投与量 （mg/kg）: IV: 1、PO: 10	**アッセイ法:** Radio-HPLC、LC/MS/MS

CMC = カルボキシメチルセルロース; DMSO = ジメチルスルホキシド; IV = 静脈内投与; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; ; Radio-HPLC = 放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー; PO = 経口投与

試料	血漿					尿			糞		
群	コード	雄/雌 IV		雄/雌 PO		コード	雄/雌 IV	雄/雌 PO	コード	雄/雌 IV	雄/雌 PO
試料採取期間		2 h/24 h		2 h/24 h			0-72 h	0-48 h		0-96 h	0-96 h
放射能単位		ng eq/g		ng eq/g			投与量に対する%	投与量に対する%		投与量に対する%	投与量に対する%
代謝物		2 h	24 h	2 h	24 h						
CC-10004（未変化体）	MkP24	27.74/ 1.52	ND	2232/ 2951	ND	NA	NA	NA	MkF24	0.02/0.02	ND/0.05
開環加水分解体（M1/M2）	MkP13	171.9/147.6	1.15/1.78	19.58/41.10	30.92/10.49	MkU11	0.58/0.57	0.36/0.28	NA	NA	NA
	MkP14	131.3/103.4	0.11/1.23	55.66/57.09	26.07/17.29						
O-脱メチル体（M3）	NA	NA	NA	NA	NA	MkU22	0.59/0.20	0.37/0.56	MkF22	11.74/8.60	16.31/8.36
N-脱アセチル、*O*-脱メチル体（M4）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MkF21	4.88/3.36	3.65/4.26
開環加水分解、*O*-脱メチル体（M9）	NA	NA	NA	NA	NA	MkU9	0.09/0.51	0.01/0.04	MkF9	14.92/17.36	14.40/23.13
						MkU10	0.31/0.21	0.14/0.11	MkF10	11.28/12.63	12.94/16.81
水酸化アセトアミドの *O*-脱メチル体（M10）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MkF20	0.62/0.73	1.09/0.47
O-脱メチル体のグルクロン酸抱合体（M12）	MkP15	3.82/ 2.09	ND	424.9/620.8	ND	MkU14	6.68/8.13	7.33/9.43	NA	NA	NA
O-脱エチル体のグルクロン酸抱合体（M13）	NA	NA	NA	NA	NA	MkU13	1.24/1.55	1.33/1.71	NA	NA	NA
開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体（M15）	MkP6	7.97/ ND	ND	26.01/76.12	91.45/ND	MkU4	0.72/0.92	1.17/1.05	NA	NA	NA
	MkP7	2.98/ 0.88	ND	ND	10.17/ND	MkU5	0.33/0.65	1.03/0.85	NA	NA	NA
O-脱メチル、*O*-脱エチル体（M19）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MkF16	2.07/1.93	5.69/2.42

IV = 静脈内投与; NA =該当データなし; ND =検出されず; PO = 経口投与

2.6.5.10. 薬物動態試験：代謝：In Vitro

2.6.5.10.1. 肝細胞での代謝：肝細胞による in vitro 代謝（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.4.2

動物種/系: マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト（男女の肝細胞をプール）													**マトリクス:** 肝細胞
Parent 濃度: 5 及び 25 µmol/L													**放射性核種:** ^{14}C
比活性: 53.1 mCi/mmol（114.8 µCi/mg）													**アッセイ法:** Radio-HPLC、LC/MS/MS
総放射能に対する割合（%）（4 時間インキュベーション）													
代謝物	**NC**[a] 5 µmol/L	**マウス** 5 µmol/L	**マウス** 25 µmol/L	**ラット** 5 µmol/L	**ラット** 25 µmol/L	**ウサギ** 5 µmol/L	**ウサギ** 25 µmol/L	**イヌ** 5 µmol/L	**イヌ** 25 µmol/L	**サル** 5 µmol/L	**サル** 25 µmol/L	**ヒト** 5 µmol/L	**ヒト** 5 µmol/L
未変化体	73.15	68.03	65.20	38.01	45.93	0.91	1.41	65.19	64.20	52.53	53.86	65.38	69.45
M1/M2	13.32	10.03	9.85	8.36	9.82	4.53	5.03	10.99	10.15	10.44	10.77	9.92	10.32
M3	ND	0.20	0.95	1.11	1.69	0.88	1.00	0.29	0.37	1.30	1.21	2.12	1.37
M4 & M11	ND	0.76	0.56	0.38	0.56	0.47	0.90	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M7	ND	4.05	4.27	0.41	0.80	0.51	0.94	5.27	5.62	0.48	0.70	0.39	0.52
M12	ND	1.77	1.45	29.77	18.10	49.76	41.27	2.81	1.77	14.70	11.43	8.69	4.13
M14	ND	2.08	2.57	1.60	1.71	25.40	29.74	0.79	0.70	0.76	0.81	1.11	0.90
M15	ND	ND	ND	2.10	1.21	3.65	3.17	ND	ND	0.88	0.76	ND	ND
M16	ND	0.22	0.31	0.61	1.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.53	0.22
M17	ND	0.15	0.31	ND	0.14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.39	0.27
M18	11.64	10.59	5.38	10.11	10.67	10.00	9.89	7.72	11.96	13.21	14.33	3.31	3.81
M23	ND	ND	4.62	ND	0.16	0.20	0.24	4.81	0.19	ND	0.08	4.85	5.16

平均値、LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NC = 算出せず; ND =検出されず; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー

[a] 陰性対照（Negative control）: 肝細胞を含まない反応液

2.6.5.10.2. 肝ミクロソームでの代謝

2.6.5.10.2.1.肝ミクロソームでの in vitro 代謝（1）：マウス肝ミクロソームでの CC-10004 及び CC-10007 の代謝（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.4.3

動物種/系: マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト								
マトリクス: 肝ミクロソーム								
Parent 濃度: 1、10、50 µmol/L								
インキュベーション時間: 120 min まで								
放射性核種: ^{14}C								
比活性: CC-10004: 2.15 GBq/mmol（58 mCi/mmol）、CC-10007: 2.18 GBq/mmol（59 mCi/mmol）								
マウス肝ミクロソームによる CC-10004 及び CC-10007（10 µmol/L）の代謝								
	雌/雄マウス、CC-10004		**雄/雌マウス、CC-10004（NADPH 無添加）**		**雄/雌マウス、CC-10007**		**雄/雌マウス、CC-10007（NADPH 無添加）**	
単位	**総放射能に対する%**		**総放射能に対する%**		**総放射能に対する%**		**総放射能に対する%**	
代謝物	**60 min**	**120 min**	**60 min**	**120 min**	**60 min**	**120 min**	**60 min**	**120 min**
M1	6.1/5.4	10.3/6.9	8.1/4.8	8.2/7.0	7.3/3.5	8.7/6.6	6.9/4.8	7.9/7.0
M2	5.1/3.6	9.2/5.4	7.1/3.7	7.9/5.3	5.7/3.0	7.8/5.4	5.5/3.3	7.3/5.8
M3	5.4/3.6	4.9/1.5	ND/ND	ND/ND	6.9/4.1	7.8/4.2	ND/ND	ND/ND
M5	4.6/3.4	4.6/0.7	ND/ND	ND/ND	3.6/3.1	4.2/2.8	ND/ND	ND/ND
M7	0.2/1.1	0.8/2.5	1.9/2.4	2.1/3.1	ND/1.1	0.9/1.4	1.5/1.8	1.9/2.4

NADPH =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸; ND =検出されず

2.6.5.10.2.2.肝ミクロソームでの in vitro 代謝（2）：ラット肝ミクロソームでの CC-10004 の代謝（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.4.3

ラット肝ミクロソームでの CC-10004 の代謝															
時間															
	0 min			10 min			30 min			60 min			120 min		
単位	総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%		
代謝物	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
濃度 (µmol/L)	1	10	50	1	10	50	1	10	50	1	10	50	1	10	50
M1	ND/ND	ND/ND	2.8/1.1	ND/ND	1.6/2.4	2.8/3.5	ND/ND	3.3/3.5	3.0/3.5	1.1/1.8	4.7/4.8	4.5/4.6	4.2/5.0	7.4/6.4	7.4/9.1
M2	ND/ND	ND/ND	2.3/0.8	ND/ND	1.2/1.8	2.0/2.5	ND/ND	2.8/2.4	2.7/2.3	0.9/ND	3.9/4.0	3.8/4.0	6.5/7.0	5.6/5.0	5.5/6.9
M3	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	0.8/ND	1.1/ND	4.7/ND	5.8/ND	2.2/ND	10.3/ND	9.9/ND	7.2/ND	8.9/ND	9.4/ND	7.8/ND

ラット肝ミクロソームでの CC-10004 の代謝（NADPH 無添加）									
時間									
	0 min			60 min			120 min		
単位	総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%		
代謝物	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
濃度 (µmol/L)	1	10	50	1	10	50	1	10	50
M1	ND/ND	1.2/0.4	1.4/1.3	3.0/3.7	2.4/4.4	4.4/3.8	6.6/5.8	8.2/7.5	7.9/7.8
M2	ND/ND	1.2/0.3	1.0/1.1	3.3/0.8	1.8/3.8	3.4/3.4	6.2/5.9	6.5/5.9	6.2/6.6
M3	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND

NADPH =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸; ND =検出されず

2.6.5.10.2.3.肝ミクロソームでの in vitro 代謝（3）：ラット肝ミクロソームでの CC-10007 の代謝（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-CC-10007

添付資料番号：4.2.2.4.3

ラット肝ミクロソームでの CC-10007 の代謝															
時間															
	0 min			10 min			30 min			60 min			120 min		
単位	総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%		
代謝物	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
濃度 (µmol/L)	1	10	50	1	10	50	1	10	50	1	10	50	1	10	50
M1	ND/ND	1.8/1.7	1.1/2.1	0.7/2.3	3.4/1.7	3.9/4.1	2.0/2.4	3.1/3.6	2.8/2.8	2.3/5.1	5.1/5.7	4.0/4.8	7.0/7.9	7.2/9.1	7.3/7.9
M2	ND/ND	0.7/1.2	0.9/2.1	0.9/1.9	2.3/1.9	2.6/2.8	ND/2.3	2.5/2.4	2.0/2.2	3.1/3.7	3.8/4.6	3.2/3.7	5.6/7.2	5.2/6.7	5.6/6.5
M3	ND/ND	ND/ND	ND/ND	6.1/ND	6.2/ND	3.7/ND	14.8/ND	13.5/ND	8.6/ND	25.7/ND	18.8/ND	12.2/ND	23.6/ND	19.5/ND	10.7/ND

ラット肝ミクロソームでの CC-10007 の代謝（NADPH 無添加）									
時間									
	0 min			60 min			120 min		
単位	総放射能に対する%			総放射能に対する%			総放射能に対する%		
代謝物	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
濃度 (µmol/L)	1	10	50	1	10	50	1	10	50
M1	ND/ND	1.7/1.2	1.0/1.5	5.3/5.9	5.9/6.1	5.4/6.6	9.5/9.8	9.3/9.3	7.7/8.1
M2	ND/ND	0.6/0.5	0.8/1.5	4.4/3.6	4.8/5.0	4.1/5.0	8.0/8.0	7.6/7.1	6.5/6.6
M3	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND

NADPH =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸; ND =検出されず

2.6.5.10.2.4.肝ミクロソームでの in vitro 代謝（4）：ウサギ及びイヌ肝ミクロソームでの CC-10004 及び CC-10007 の代謝（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト及び[^{14}C]-CC-10007

添付資料番号：4.2.2.4.3

ウサギ肝ミクロソームでの CC-10004 及び CC-10007（10 µmol/L）の代謝								
	雄/雌ウサギ、CC-10004		雄/雌ウサギ、CC-10004（NADPH 無添加）		雄/雌ウサギ、CC-10007		雄/雌ウサギ、CC-10007（NADPH 無添加）	
単位	総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%	
代謝物	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min
M1	3.9/2.7	4.8/4.0	4.3/4.7	5.8/4.8	3.3/1.8	3.9/2.6	2.6/3.7	4.6/5.1
M2	1.9/2.2	2.1/3.1	2.7/3.4	4.2/4.3	1.6/1.5	1.6/2.2	2.7/3.1	4.2/4.3
M3	45.8/31.9	36.2/28.5	ND/ND	ND/ND	50.0/45.8	38.3/36.1	ND/ND	ND/ND
M4	15.6/9.9	21.2/12.0	ND/ND	ND/ND	13.8/13.9	18.2/15.9	ND/ND	ND/ND
M7	5.0/8.4	4.8/13.4	36.0/25.5	51.4/32.6	0.7/4.0	3.1/8.5	40.8/33.7	52.8/50.7
M8	2.3/ND	4.1/ND	ND/ND	ND/ND	11.1/6.5	13.1/7.8	ND/ND	ND/ND
M9	1.8/1.5	4.1/2.1	ND/ND	ND/ND	2.6/1.5	4.1/2.4	ND/ND	ND/ND
M10	1.9/1.2	4.2/1.9	ND/ND	ND/ND	2.0/1.4	3.1/2.5	ND/ND	ND/ND
イヌ肝ミクロソームでの CC-10004 及び CC-10007（10 µmol/L）の代謝								
	雄/雌イヌ CC-10004		雄/雌イヌ CC-10004（NADPH 無添加）		雄/雌イヌ CC-10007		雄/雌イヌ CC-10007（NADPH 無添加）	
単位	総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%	
代謝物	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min
M1	2.6/2.4	4.1/3.1	1.9/2.2	3.9/4.2	2.3/2.2	3.6/4.0	2.6/1.9	3.9/3.4
M2	1.6/2.0	3.0/2.6	2.0/1.5	2.9/3.5	1.6/1.5	2.9/3.1	2.0/1.7	3.3/2.7
M3	1.3/4.4	2.8/4.0	ND/ND	ND/ND	3.1/5.4	3.5/5.5	ND/ND	ND/ND
M7	1.2/2.2	3.0/2.8	2.2/2.8	3.0/3.9	2.3/2.6	2.4/3.4	2.4/3.1	3.0/3.1

NADPH =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸; ND =検出されず

2.6.5.10.2.5.肝ミクロソームでの in vitro 代謝（5）：サル及びヒト肝ミクロソームでの CC-10004 及び CC-10007 の代謝（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト及び[^{14}C]-CC-10007

添付資料番号：4.2.2.4.3

サル肝ミクロソームでの CC-10004 及び CC-10007（10 µmol/L）の代謝								
	雄/雌 サル CC-10004		雄/雌 サル CC-10004（NADPH 無添加）		雄/雌 サル CC-10007		雄/雌 サル CC-10007（NADPH 無添加）	
単位	総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%	
代謝物	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min
M1	4.0/4.7	7.0/7.0	5.1/4.1	7.4/7.3	3.1/2.9	6.3/5.9	4.2/3.8	7.1/7.6
M2	3.2/3.1	5.4/5.9	3.8/4.1	6.2/5.8	2.4/2.3	4.5/4.7	2.7/2.8	5.7/5.2
M3	11.3/14.2	11.2/12.8	ND/ND	ND/ND	19.6/18.9	17.1/18.3	ND/ND	ND/ND
M4	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	1.2/1.7	2.3/4.1	ND/ND	ND/ND
M5	2.7/2.9	1.9/2.7	ND/ND	ND/ND	1.8/1.3	1.1/1.6	ND/ND	ND/ND
M6	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	0.8/0.7	ND/ND	ND/ND	ND/ND
ヒト肝ミクロソームでの CC-10004 及び CC-10007（10 µmol/L）の代謝								
	男女ヒト、 CC-10004		男女ヒト、CC-10004（NADPH 無添加）		男女ヒト、CC-10007		男女ヒト、CC-10007（NADPH 無添加）	
単位	総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%		総放射能に対する%	
代謝物	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min
M1	4.9/5.0	8.7/9.4	3.2/5.4	12.1/9.4	4.2/3.9	7.1/9.6	4.4/3.9	6.9/8.3
M2	3.5/3.9	6.6/7.1	4.6/4.9	11.3/8.1	3.2/2.7	5.3/8.2	3.4/3.0	4.9/5.9
M3	3.1/7.9	3.5/8.4	ND/ND	ND/ND	3.9/8.9	3.7/10.0	ND/ND	ND/ND
M7	1.0/1.1	1.0/1.0	0.7/1.2	1.1/1.1	1.3/1.3	1.3/1.6	1.4/1.5	1.8/1.4

NADPH =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸; ND =検出されず

2.6.5.10.3. 成熟及び若齢マウス並びに成人及び年少者での in vitro 代謝：成人及び年少者ヒト肝細胞並びにヒト及び CD-1 マウス肝ミクロソームでの in vitro 代謝（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.4.4

試験系又は動物種/系統:ヒト肝細胞（成人男女プール、年少者 14 歳男子、年少者 6 歳女子）; ヒト肝ミクロソーム （成人男女プール、年少者 6 歳及び 10 歳男子、年少者 7 歳及び 11 歳女子）; CD-1 マウス肝ミクロソーム（成熟雌雄プール、若齢 14 日齢雄）								
処理: [^{14}C]-CC-10004（10 µmol/L）								
生成代謝物の割合（%）[a]								
代謝物	**ヒト肝細胞**			**ヒト肝ミクロソーム**			**マウス肝ミクロソーム**	
	成人	**年少者男子**	**年少者女子**	**成人**	**年少者男子**	**年少者女子**	**成熟**	**若齢雄**
未変化体	34	66	45	83	86	75	88	87
M1/M2	8.7	12	12	3.5	2.8	4.2	5.5	4.0
M1/M2	6.1	7.4	7.5	2.6	1.8	2.6	3.6	2.6
M3	3.7	1.9	8.0	2.5	3.9	3.1	ND	ND
M7	ND	ND	ND	0.3	ND	0.20	0.8	ND
M11	1.1	ND	1.1	0.4	0.3	0.70	0.2	0.80
M12	31	6.9	19	5.7	3.7	11	1.8	4.6
M13/M14	3.7	1.2	1.4	0.50	0.20	0.80	ND	0.70
M15	4.4	1.4	2.1	0.30	0.10	0.90	ND	ND
M17	2.7	1.1	2.2	0.80	0.70	1.3	ND	ND
M18	4.8	2.3	2.8	0.50	0.40	2.0	0.60	0.80

ND =検出されず

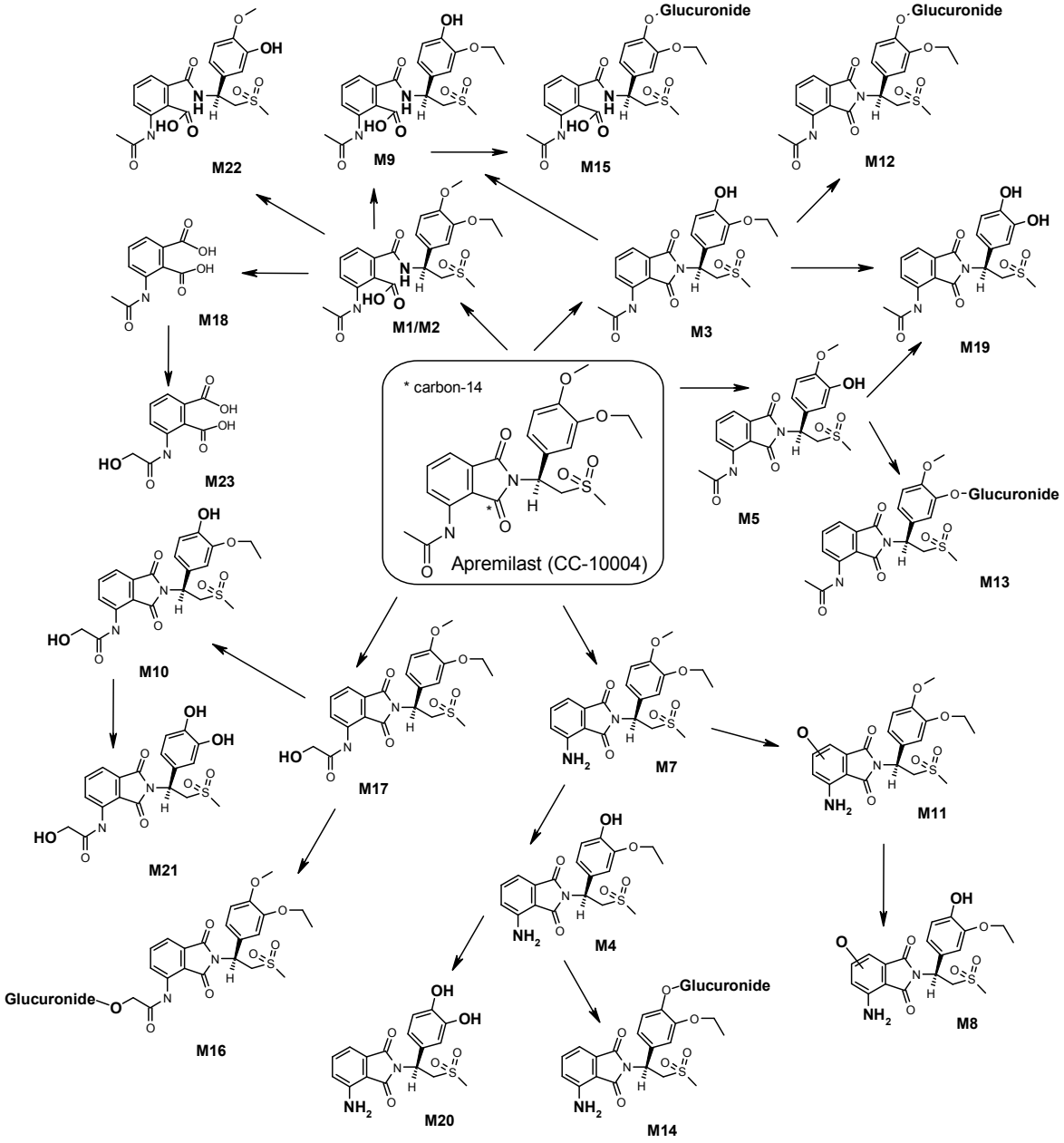
[a]10 µmol/L アプレミラストとミクロソームを 90 分間インキュベートした際の生成率は、1 µmol/L アプレミラストと肝細胞を 3 時間インキュベートした際の生成率と同程度であった。必要に応じて、データは複数回のインキュベーション結果から算出した。

2.6.5.11. 薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.5.11.1. アプレミラストの推定代謝経路

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：5.3.3.1.2、4.2.2.4.1、4.2.2.2.1、4.2.2.2.3、4.2.2.2.8



Ring-hydrolyzed metabolites M1 and M2 are represented as one structure.

代謝物の命名は臨床試験で用いられた命名法に準拠した（2.6.5.11.2 項）。

2.6.5.11.2. アプレミラストの代謝物の命名

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：5.3.3.1.2、4.2.2.4.1、4.2.2.2.1、4.2.2.2.3、4.2.2.2.8

代謝物	ヒト 5.3.3.1.2	マウス 4.2.2.4.1	マウス 4.2.2.2.1	ラット 4.2.2.2.3	サル 4.2.2.2.8
アプレミラスト（CC-10004、未変化体）	--	--	MuP22、MuU22、MuF22	RP20、RU20、RF20	MkP24、MkF24
開環加水分解体（CC-15091）	M1/M2	ND	MuP10、MuP11、MuU11[a]、MuF10、MuF11	RP10、RP11、RU10、RU11、RF10、RF11	MkP13、MkP14、MkU11
O-脱メチル体（CC-15604）	M3	M3	MuF20	RP18、RU18、RF18	MkU13、MkU22、MkF22
N-脱アセチル、*O*-脱メチル体	M4	ND	ND	ND	MkF21
O-脱エチル体（CC-10047）	M5 [b]	M5[b]	MuF17	RP16、RU16、RF16	ND
N-脱アセチル体（CC-10055）	M7	M7	ND	RP14、RF14	ND
N-脱アセチル、水酸化体の *O*-脱メチル体	M8	ND	ND	RP15	ND
開環加水分解、*O*-脱メチル体	M9	ND	MuF8、MuF9	RP7、RP8、RU7、RU8、RF7、RF8	MkU9、MkU10、MkF9、MkF10
水酸化アセトアミドの *O*-脱メチル体	M10	ND	ND	ND	MkF20
N-脱アセチル、水酸化体	M11	M11	ND	ND	ND
O-脱メチル体のグルクロン酸抱合体（CC-16166）	M12	M12	MuU12	RP12、RU12、RF12	MkP15、MkU14
O-脱エチル体のグルクロン酸抱合体	M13	M13	MuU11[a]	ND	MkU13 [a]
N-脱アセチル、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体（CC-16793）	M14	M14	ND	ND	ND
開環加水分解、*O*-脱メチル体のグルクロン酸抱合体	M15	M15	MuP3、MuU2	ND	MkP6、MkP7、MkU4、MkU5
水酸化アセトアミドのグルクロン酸抱合体（CC-16557）	M16	M16	ND	ND	ND
水酸化アセトアミド（CC-16401）	M17	M17	ND	ND	ND
3-アセトアミドフタル酸	M18	M18	ND	ND	ND
O-脱メチル、*O*-脱エチル体	M19	ND	MuF14	ND	MkF16
N-脱アセチル、*O*−脱メチル、*O*-脱エチル体及び *O*-脱メチル、*O*-脱エチル、水酸化アセトアミド [c]	M20 M21	M21	ND	ND	ND
開環加水分解、*O*-脱エチル体	M22	ND	MuF6、MuF7	ND	ND
水酸化 3-アセトアミドフタル酸	M23	M23	ND	ND	ND

ND =検出されず

[a] MuU11 及び MkU13 ピークにはアプレミラストの加水分解体及び *O*-脱エチル体のグルクロン酸抱合体が含まれる。

[b] 当該試験では M5 は認められず

[c] 共溶出代謝物

2.6.5.12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1. CYP 誘導：ヒト培養肝細胞での CYP 誘導薬としての in vitro 評価（評価資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.2

試験系又は動物種/系統: CC-10004 及び代表的 CYP 誘導薬で 3 日間処理したヒト初代培養肝細胞						
処理:アプレミラスト及び代表的誘導薬で 3 日間処理						
分析法: HPLC		**酵素活性又は誘導倍率**				
処理	**濃度**	**CYP1A2（7-エトキシレゾルフィン O-脱アルキル化）**	**CYP2B6（ブプロピオン水酸化）**	**CYP2C9（ジクロフェナック 4′-水酸化）**	**CYP2C19（S-メフェニトイン 4′-水酸化）**	**CYP3A4/5（テストステロン 6ß-水酸化）**
		酵素活性 （pmol/mg タンパク/min）				
DMSO	0.1 vol%	1.37 ± 1.05	9.58 ± 8.86	1000 ± 510	3.78 ± 1.31	2370 ± 840
CC-10004	1 µmol/L	1.48 ± 1.07	6.87 ± 1.56	1040 ± 480	5.07 ± 2.65	2870 ± 1120
CC-10004	10 µmol/L	0.946 ± 0.716	8.87 ± 7.21	660 ± 342	2.72 ± 0.23	3450 ± 1550
CC-10004	100 µmol/L	0.724 ± 0.436	13.7 ± 10.0	267 ± 129	3.29 ± 2.05	8050 ± 1550
オメプラゾール	100 µmol/L	25.5 ± 10.3	57.0 ± 30.5	1630 ± 640	7.09 ± 2.73	5440 ± 1310
フェノバルビタール	750 µmol/L	3.42 ± 1.96	55.1 ± 27.0	1660 ± 790	13.7 ± 4.6	13100 ± 4300
リファンピシン	10 µmol/L	2.88 ± 1.20	41.3 ± 26.8	2390 ± 1130	34.2 ± 26.8	13900 ± 2700
		誘導倍率				
DMSO	0.1 vol%	1.00 ± 0.77	1.00 ± 0.92	1.00 ± 0.51	1.00 ± 0.35	1.00 ± 0.36
CC-10004	1 µmol/L	1.10 ± 0.05	1.07 ± 0.65	1.06 ± 0.07	1.30 ± 0.28	1.20 ± 0.10
CC-10004	10 µmol/L	0.669 ± 0.185 [a]	1.00 ± 0.25	0.652 ± 0.064 [a]	0.788 ± 0.299	1.44 ± 0.30
CC-10004	100 µmol/L	0.567 ± 0.125 [a]	1.71 ± 1.08	0.270 ± 0.009 [a]	1.12 ± 1.11	3.72 ± 1.41 [a]
オメプラゾール	100 µmol/L	32.8 ± 35.1	8.70 ± 7.81	1.74 ± 0.35	2.14 ± 1.23	2.56 ± 1.15
フェノバルビタール	750 µmol/L	2.75 ± 0.54	9.04 ± 8.50	1.72 ± 0.48	4.29 ± 2.91	6.49 ± 4.15 [b]
リファンピシン	10 µmol/L	2.63 ± 1.22	5.41 ± 3.51	2.43 ± 0.12	8.83 ± 4.75	6.90 ± 4.43 [b]
追加情報: CC-10004（≤100 µmol/L）による CYP1A2、2B6、2C9、2C19 の誘導は認められなかった。CC-10004（≤10 µmol/L）による CYP3A4 の誘導は認められなかったが、わずかではあるが 100 µmol/L で CYP3A4 の誘導が認められた。						

平均値 ± 標準偏差 （n=3 ロット肝細胞）、CYP = チトクローム P450; DMSO = ジメチルスルホキシド;

[a] 陽性対照なし、Dunnett の検定で統計学的に有意な差あり（$p<0.05$）

[b] 陽性対照あり、Dunnett の検定で統計学的に有意な差あり（$p <0.05$）

2.6.5.12.2. CYP 阻害

2.6.5.12.2.1. ヒト肝ミクロソーム CYP 活性に対する作用（1）：CYP1A2、CYP2C9 及び CYP2C19 に対する阻害（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.3

試験系又は動物種/系統: ヒト肝ミクロソーム									
処理: CC-10004 又は CYP 阻害薬									
方法: LC/MS; Radio-HPLC	**酵素活性（pmol/mg タンパク/min）又はコントロール活性に対する%**								
処理:	**CYP1A2（フェナセチン O-デエチラーゼ）**			**CYP2C9（トルブタミドメチルヒドロキシラーゼ）**			**CYP2C19（S-メフェニトインヒドロキシラーゼ）**		
	濃度（µmol/L）	**酵素活性 [a]（pmol/mg/min）**	**阻害 %**	**濃度（µmol/L）**	**酵素活性 [b]（pmol/mg/min）**	**阻害 %**	**濃度（µmol/L）**	**酵素活性 [b]（pmol/mg/min）**	**阻害 %**
コントロール	NA	71.5	NA	NA	62.3 ± 3.7	NA	NA	25.1 ± 2.1	NA
CC-10004[c]	1	45.0	14.5	1	86.9 ± 8.1	0	1	29.6 ± 3.0	5.3
	10	41.0	22.1	10	82.4 ± 6.7	0	10	23.6 ± 1.2	24.5
	100	51.6	1.9	100	57.1 ± 6.7	30.6	100	24.5 ± 1.3	21.6
時間依存的 CYP 阻害薬[d]	Fura[e]: 10	18.5	73.4	Sulfa 20	10.7 ± 2.8	87.0	Tranyl: 100	4.1 ± 0.5	87.0
アセトニトリル 1 vol%	NA	52.6	26.4	NA	82.2 ± 3.9	0	NA	31.2 ± 1.6	0
時間依存的コントロール	NA	60.0	NA	NA	51.2 ± 2.0	NA	NA	22.8 ± 2.4	NA
時間依存的アセトニトリル 1 vol%	NA	56.6	5.7	NA	69.6 ± 6.7	0	NA	26.9 ± 2.0	0
時間依存的 CC-10004	10	47.1	16.8	10	65.2 ± 3.3	6.3	10	22.5 ± 1.3	16.3

CYP = チトクローム P450; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA =該当データなし; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー; Fura =フラフィリン; Sulfa = スルファフェナゾール; Tranyl = トラニルシプロミン

[a] 平均値（n=2）

[b] 平均値 ± 標準偏差 （n=3）

[c] CC-10004 及び CYP 阻害薬はアセトニトリルに溶解した。

[d] 時間依存的 CYP 阻害薬は、基質添加前に 15 分間 37°C であらかじめインキュベートした。

[e] フラフィリン及びアセトニトリルは、フェナセチン添加前 10 分間緩衝液及びヒト肝ミクロソームとあらかじめインキュベートした。

2.6.5.12.2.2. ヒト肝ミクロソーム CYP 活性に対する作用（2）：CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4（テストステロン 6 ß-ヒドロキシラーゼ）に対する阻害（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.3

試験系又は動物種/系統: ヒト肝ミクロソーム									
処理: CC-10004 又は CYP 阻害薬									
方法: LC/MS	**酵素活性（pmol/mg タンパク/min）又はコントロール活性に対する%**								
処理	**CYP2D6（ブフラロール 1-ヒドロキシラーゼ）**			**CYP2E1（ラウリン酸 11-ヒドロキシラーゼ）**			**CYP3A4（テストステロン 6 ß-ヒドロキシラーゼ）**		
	濃度（µmol/L）	**酵素活性[b]（pmol/mg/min）**	**阻害 %**	**濃度（µmol/L）**	**酵素活性[b]（pmol/mg/min）**	**阻害 %**	**濃度（µmol/L）**	**酵素活性[b]（pmol/mg/min）**	**阻害 %**
コントロール	NA	33.1 ± 2.1	NA	NA	371 ± 26.3	NA	NA	1261 ± 64.1	NA
CC-10004[c]	1	22.3 ± 3.2	24.4	1	404 ± 16.9	4.8	1	912 ± 30.8	0.0
	10	25.3[a]	14.5	10	402 ± 24.7	5.3	10	815 ± 60.2	8.3
	100	21.3 ± 3.9	28.0	100	388 ± 9.6	8.4	100	853 ± 12.9	4.0
CYP 阻害薬[c]	キニジン: 3	4.9 ±0.4	85.2	ジスルフィラム: 100	71.9 ± 46.6	83.0	ケトコナゾール: 1	74.3 ± 5.9	91.6
アセトニトリル 1 vol%	NA	NA	NA	NA	424 ± 19.1	0.0	NA	889 ± 44.9	29.6
時間依存的コントロール	NA	16.6 ± 1.5	NA	NA	299 ± 24.3	NA	NA	1063 ± 42.4	NA
時間依存的アセトニトリル 1 vol%	NA	11.7 ±1.2	29.6	NA	362 ± 38.7	0.0	NA	851 ± 39.8	20.0
時間依存的 CC-10004	10	18.2 ± 1.4	0	10	330 ±32.4	9.0	10	691[a]	18.7

CYP = チトクローム P450; LC/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA =該当データなし;

[a] 平均値（n=2）

[b] 平均値 ± 標準偏差 （n=3）

[c] CC-10004 及び CYP 阻害薬はアセトニトリルに溶解。ただし、キニジンは Tris 緩衝液に溶解。

2.6.5.12.2.3. ヒト肝ミクロソーム CYP 活性に対する作用（3）：CYP3A4（ミダゾラム 1-ヒドロキシラーゼ、ニフェジピンオキシダーゼ）に対する阻害（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.3

試験系又は動物種/系統: ヒト肝ミクロソーム						
処理: CC-10004 又は CYP 阻害薬						
分析法: LC/MS/MS	**酵素活性（pmol/mg タンパク/min）又はコントロール活性に対する%**					
処理	**CYP3A4（ミダゾラム 1-ヒドロキシラーゼ）**			**CYP3A4（ニフェジピンオキシダーゼ）**		
	濃度（µmol/L）	**酵素活性（pmol/mg/min）[a]**	**阻害%**	**濃度（µmol/L）**	**酵素活性（pmol/mg/min）[a]**	**阻害%**
コントロール	NA	278 ± 9.9	NA	NA	728 ± 17	NA
CC-10004[b]	1	230 ± 10.4	30.2	1	769 ± 41	0.0
	10	254 ± 13.3	22.9	10	738 ± 66	0.0
	100	249 ±25.2	24.4	100	659 ± 67	10.4
CYP 阻害薬	ケトコナゾール: 1	44.9 ± 5.6	86.4	ケトコナゾール: 2	109 ± 6.1	85.2
アセトニトリル 1 vol%	NA	330 ± 8.2	0.0	NA	735 ± 25	0.0
時間依存的コントロール	NA	712 ± 29.9	NA	NA	613 ± 8.8	NA
時間依存的アセトニトリル	NA	640 ± 21.4	10.1	NA	622 ± 12	0.0
時間依存的 CC-10004	10	606 ± 30.2	5.4	10	493 ± 70	20.8
追加情報: CC-10004 は、CYP1A2、2C9、2C19、2D6、2E1、3A4 に対する阻害薬ではないことが明らかとなった。						

CYP = チトクローム P450; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; NA =該当データなし;

[a] 平均値 ± 標準偏差 （n=3）

[b] CC-10004 及び CYP 阻害薬はアセトニトリルに溶解した。

2.6.5.12.2.4. ヒト肝ミクロソーム CYP 活性に対する作用（4）：CYP2A6、CYP2B6 及び CYP2C8 に対する阻害（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.4

試験系又は動物種/系統: ヒト肝ミクロソーム							
処理: CC-10004 又は CYP 阻害薬							
分析法: LC/MS/MS		**酵素活性（pmol/mg タンパク/min）**					
		CYP2A6（クマリン 7-水酸化）		**CYP2B6（ブプロピオン水酸化）**		**CYP2C8（パクリタキセル 6a-水酸化）**	
処理	**濃度（μmol/L）**	**直接阻害**	**時間依存的阻害 [a]**	**直接阻害**	**時間依存的阻害 [a]**	**直接阻害**	**時間依存的阻害 [a]**
アプレミラスト	0	216（100）	292（100）	125（100）	123（100）	59.4（100）	43.5（100）
アプレミラスト	0.1	211（97.5）	301（103）	124（98.8）	122（99.1）	53.3（89.8）	40.8（93.7）
アプレミラスト	0.3	201（93.0）	279（95.7）	127（101）	123（100）	64.8（109）	45.1（104）
アプレミラスト	1	205（94.8）	277（95.0）	121（96.3）	108（87.5）	73.0（123）	43.2（99.3）
アプレミラスト	3	201（93.0）	289（99.0）	122（96.9）	125（101）	55.6（93.5）	40.5（93.1）
アプレミラスト	10	197（91.1）	291（99.8）	121（96.5）	118（96.1）	46.2（77.8）	40.2（92.3）
アプレミラスト	30	194（89.8）	289（99.1）	118（94.4）	105（85.2）	40.9（68.9）	44.5（102）
アプレミラスト	100	177（81.9）	263（90.0）	102（81.3）	86.1（70.0）	24.0（40.5）	38.5（88.4）
アプレミラスト	IC_{50}（μmol/L）	>100	> 100	>100	>100	56.1	>100
陽性対照 [b]	各種	31.1（13.2）	73.4（21.6）	30.9（19.6）	14.3（13.2）	17.2（28.7）	13.1（29.9）
追加情報: CC-10004 は CYP2A6 及び 2B6 に対して直接的又は時間依存的阻害薬ではないことが示されている。CC-10004 は、作用は弱いが CYP2C8 （IC_{50} = 56.1 μmol/L）に対する直接的阻害薬であるが、時間依存的阻害薬ではない。							

平均値（コントロール活性に対する%）、n=3

CYP = チトクローム P450; IC_{50} = 50%阻害濃度; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析;

[a] 時間依存的阻害では、各被験物質とインキュベートする前に、30 分間 37ºC であらかじめインキュベートした。

[b] 陽性対照として、CYP2A6 直接阻害に対しては 0.556 μmol/L トラニルシプロミン、CYP2A6 時間依存的阻害に対しては 0.15 μmol/L メトキサレン、CYP2B6 直接阻害に対しては 500 μmol/L オルフェナドリン、CYP2B の時間依存的阻害に対しては 650 μmol/L フェンシクリジン、CYP2C8 の直接阻害に対しては 1 μmol/L モンテルカスト及び CYP2C8 の時間依存的阻害に対しては 30 μmol/L ゲムフィブロジルグルクロン酸抱合体を使用した。

2.6.5.12.3. CYP 分子種に対する基質性：ヒト肝ミクロソームでの CYP の同定（評価資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.1

試験系又は動物種/系統: ヒト肝ミクロソーム、cDNA 発現ヒト CYP						
処置: [^{14}C]-CC-10004（200 µmol/L、ヒト肝ミクロソームでの M3 及び M5 生成に対するおよその K_m 値）及び代表的 CYP 阻害薬						
分析法: Radio-HPLC	**CYP 阻害薬の[^{14}C]-CC-10004 代謝に対する影響**					
阻害薬:	**M3**			**M5**		
	濃度（µmol/L）	**試料中総放射能に対する割合 [a]（%）**	**コントロールと比較した平均阻害率（%）**	**濃度（µmol/L）**	**試料中総放射能に対する割合 [a]（%）**	**コントロールと比較した平均阻害率（%）**
コントロール	NA	3.00 ± 0.36	NA	NA	1.39 ± 0.30	NA
1 vol%アセトニトリル（媒体対照）	NA	2.83 ± 0.12	NA	NA	1.35 ± 0.22	NA
CYP1A2（フラフィリン）	50	1.50[b]	56.2	50	1.03 ± 0.17	55.8
CYP2A6（8-メトキシソラレン）	10	1.44[b]	58.7	10	0.94 ± 0.12	71.5
CYP2C8/9（スルファフェナゾール）	20	2.10 ± 0.30	30.6	20	1.35 ± 0.19	0.0
CYP2C19（トラニルシプロミン）	20	2.38[b]	19.2	20	1.31[b]	7.3
CYP2D6（キニジン）	3	3.23 ± 0.21	0.0	3	1.51 ± 0.15	0.0
CYP2E1（モノクロナル抗-CYP2E1）	NA	3.45[b]	0.0	NA	1.27 ± 0.35	18.5
CYP3A4（ケトコナゾール）	2	1.46 ± 0.15	57.8	2	0.75 ± 0.05	104.1
NADPH 無添加	NA	0.45 ± 0.22	NA	NA	0.77 ± 0.16	NA

CYP = チトクローム P450; Km = ミカエリス定数; NA =該当データなし; cDNA =相補的デオキシリボ核酸; NADPH =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸; Radio-HPLC =放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー

[a] 平均値 ± 標準偏差 （n=3）

[b] 平均値（n=2）

生成率（pmol/min/nmol P450）				
	cDNA 発現 CYP のみ		cDNA 発現 CYP + CC-10004 の溶解度促進のための熱処理不活化ラットミクロソームタンパク	
CYP 分子種 （50 pmol/mL）	**M3**	**M5**	**M3**	**M5**
CYP1A2	ND	ND	ND	80.0
CYP2A6	ND	ND	ND	200.0
CYP2C8	30.0	ND	ND	46.7
CYP2C9	ND	ND	ND	ND
CYP2C19	ND	ND	ND	6.7
CYP2D6	93.3	3.3	ND	ND
CYP2E1	26.7	ND	ND	6.7
CYP3A4	ND	ND	613.3	396.7
追加情報: CC-10004 代謝には、主に CYP3A4 が関与している。				

平均値（n=2）
cDNA = 相補的デオキシリボ核酸; CYP = チトクローム P450; ND = 検出されず

2.6.5.13. 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1. マウスでの排泄：マウスでの吸収、分布、代謝、排泄（評価資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.1

動物種:	マウス			マウス			マウス			マウス		
性（雄/雌）/動物数:	雄/15			雌/15			雄/15			雌/15		
摂餌条件:	非絶食			非絶食			非絶食			非絶食		
投与経路:	IV			IV			PO			PO		
投与量（mg/kg）:	10			10			500			500		
分析対象:	放射能			放射能			放射能			放射能		
アッセイ: LSC	**投与量に対する割合（%）**											
排泄経路	**0-24 h**	**24-48 h**	**0-168 h**	**0-24 h**	**24-48 h**	**0-168 h**	**0-24 h**	**24-48 h**	**0-168 h**	**0-24 h**	**24-48 h**	**0-168 h**
尿	5.496	1.620	7.829	8.001	0.634	8.709	2.570	0.959	4.097	1.806	0.718	3.014
糞	48.03	14.56	66.18	67.89	2.621	71.27	37.95	25.87	71.47	33.75	26.29	73.05
屍体	NA	NA	1.832	NA	NA	0.129	NA	NA	4.575	NA	NA	0.00
蓄積合計 （ケージ洗浄液／剥落物を含む）	58.17	76.38	90.60	80.97	84.96	91.07	42.56	71.18	97.73	38.09	68.11	92.81

平均値

IV = 静脈内投与; LSC = 液体シンチレーションカウンター; NA =該当データなし; PO = 経口投与

2.6.5.13.2. ラットでの排泄：ラットでの吸収、代謝、排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.3

動物種:	ラット			ラット		
性 （雄/雌）/動物数:	6 雄/6 雌			6 雄/6 雌		
摂餌条件:	非絶食			非絶食		
媒体/剤型:	1 w/v% CMC 水溶液			1 w/v% CMC 水溶液		
投与経路:	PO			PO		
投与量（mg/kg）:	10（単回投与）			10（反復投与）		
分析対象:	放射能			放射能		
アッセイ: LSC	**雄/雌の投与量に対する割合（%）**					
排泄経路:	**尿**	**糞**	**合計**	**尿**	**糞**	**合計**
0-12 h	3.73/ 3.33	23.0/ 0.05	31.8/ 4.98	7.23/ 11.3	46.8/ 8.47	39.4/ 21.0
0-24 h	8.51/ 12.1	33.4/ 44.5	45.4/ 60.8	15.7/ 29.6	57.9/ 28.2	74.5/ 52.6

平均値

CMC = カルボキシメチルセルロース; LSC = 液体シンチレーションカウンター; PO = 経口投与

2.6.5.13.3. サルでの排泄：サルでの吸収、代謝、排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.2.8

動物種: カニクイザル	サル			サル			サル			サル		
性 （雄/雌）/動物数:	3 雄			3 雌			3 雄			3 雌		
摂餌条件:	非絶食			非絶食			非絶食			非絶食		
媒体/剤型:	8 vol% DMSO Intralipid 20 溶液			8 vol% DMSO Intralipid 20 溶液			1% CMC			1% CMC		
投与経路:	IV			IV			PO			PO		
投与量 （mg/kg）:	1			1			10			10		
分析対象:	放射能			放射能			放射能			放射能		
アッセイ: LSC	**投与量に対する割合（%）**											
排泄経路:	**尿**	**糞**	**合計**	**尿**	**糞**	**合計**	**尿**	**糞**	**合計**	**尿**	**糞**	**合計**
0-12 h	5.037	0.097	NA	5.295	0.075	NA	5.763	1.303	NA	8.274	0.246	NA
12-24 h	3.544	10.64	NA	2.631	2.669	NA	3.656	14.41	NA	3.457	17.21	NA
24-48 h	2.959	15.24	NA	3.473	17.01	NA	3.711	21.64	NA	3.750	26.24	NA
48-72 h	1.851	13.85	NA	2.796	20.84	NA	1.720	18.28	NA	2.207	13.65	NA
0-168 h （ケージ洗浄液／剥落物を含む）	15.71	56.55	79.57	16.19	55.98	81.13	17.18	69.33	93.53	20.25	68.18	95.76

平均値

CMC = カルボキシメチルセルロース; DMSO = ジメチルスルホキシド; IV = 静脈内投与; LSC = 液体シンチレーションカウンター; NA = 該当データなし; PO = 経口投与

2.6.5.14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中

2.6.5.14.1. マウスでの排泄：マウスでの尿、胆汁及び糞中排泄（参考資料）

被験物質：[^{14}C]-アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.5.1

動物種:	マウス			マウス		
性 （雄/雌）/動物数:	4 雄			4 雄		
摂餌条件:	非絶食			非絶食		
媒体/剤型:	1%CMC			5%DMA、35% PEG400、60%PBS		
投与経路:	PO			IV		
投与量 （mg/kg）:	10			5		
分析対象:	放射能			放射能		
アッセイ: LSC	**投与量に対する割合（%）**					
排泄経路:	**尿**	**胆汁**	**糞**	**尿**	**胆汁**	**糞**
0-8 h	0.63	39.1	NS	12.8	57.9	NS
0-24 h	12.1	49.7	13.2	17.5	59.0	10.4
0-48 h	15.1	53.9	15.6	17.8	59.1	10.5

平均値

CMC = カルボキシメチルセルロース; DMA = ジメチルアセトアミド; IV = 静脈内投与; LSC = 液体シンチレーションカウンター; NS =組織摘出せず; PBS = リン酸緩衝化生理食塩水; PEG = ポリエチレングリコール; PO = 経口投与

2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1. ヒト P 糖タンパク（p-gp）との相互作用：ヒト P-gp との相互作用（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.5

試験系又は動物種/系統: コントロール LLC-PK1 及びヒト P-gp 発現 LLC-PK1

処理: CC-10004、ジゴキシン（P-gp 基質）及びケトコナゾール（P-gp 阻害薬）

方法: LC/MS/MS; LSC; 蛍光プレートリーダー　**ヒト P-gp と CC-10004 の相互作用**

	コントロール LLC-PK1 での P_{app}		P-gp 発現 LLC-PK1 での P_{app}			P-gp 発現 LLC-PK1 での P_{app} に対するジゴキシンの作用				
CC-10004（μmol/L）	**A→B**	**B→A**	**A→B**	**B→A**	**Net Efflux**	**CC-10004（μmol/L）**	**A→B**	**B→A**	**Net Efflux**	**阻害率（%）**
1	27	31	1.6	55	30	0.01	0.69	14	21	-54
3	27	34	2.2	55	20	0.03	0.72	14	19	-42
10	36	40	3.4	64	17	0.08	0.67	13	20	-49
20	38	38	3.9	64	17	0.2	0.80	14	17	-29
35	37	40	4.7	62	12	0.51	0.70	14	20	-48
50	36	43	6.2	65	8.6	1.3	0.82	13	16	-22
						3.2	0.88	13	15	-11
10	36	40	3.4	64	17	8	0.83	13	16	-20
10 + KTZ	42	36	33	39	1.4	20	0.89	13	15	-6.4
						50	1.3	12	9.7	31
						KTZ なし	0.89	12	14	0
						KTZ あり	4.1	5.4	1.3	98

追加情報: CC-10004 が P-gp の基質であること及び 20 μmol/L 以下の濃度では P-gp を阻害しないが高濃度では弱い阻害作用を示す可能性があることを示唆している。

LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLC-PK1 = ブタ腎上皮細胞; LSC = 液体シンチレーション計測; P_{app} = みかけの透過係数（units x10^{-6} cm/sec）; KTZ = ケトコナゾール（30 μmol/L）; P-gp = P 糖タンパク

2.6.5.15.2. その他の薬物トランスポーターとの相互作用（1）：OAT1 及び OAT3 の阻害（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.6

試験系又は動物種/系統: コントロール Xenopus laevis 卵母細胞、OAT1-cRNA 又は OAT3-cRNA 注入 Xenopus laevis 卵母細胞						
処理: CC-10004（2 及び 10 µmol/L）、3 µmol/L パラアミノ馬尿酸 （OAT1 基質）、2 µmol/L エストロン硫酸（OAT3 基質）、300 µmol/L プロベネシド（OAT1 阻害薬）及び 1000 µmol/L チオプロニン（OAT3 阻害薬）						
方法: LSC	**OAT1 及び OAT3 介在取込みに対する CC-10004 の阻害**					
	[^{3}H]-パラアミノ馬尿酸の OAT1 介在取込み			**[^{3}H]-エストロン硫酸の OAT3 介在取込み**		
CC-10004（µmol/L）	**コントロール細胞** [a] (pmol/卵母細胞/h)	**OAT1 発現細胞** [a] (pmol/卵母細胞/h)	**阻害%**	**コントロール細胞** [a] (pmol/卵母細胞/h)	**OAT3 発現細胞** [a] (pmol/卵母細胞/h)	**阻害%**
0	0.053 (0.0091)	4.6 (2.4)	NA	0.072 (0.029)	1.2 (0.66)	NA
2	0.086 (0.024)	6.6 (2.1)	-42	0.068 (0.024)	1.3 (0.62)	-4.9
10	0.058 (0.024)	3.7 (1.7)	21	0.077 (0.036)	1.5 (0.65)	-22
300 µmol/L プロベネシド	0.061 (0.021)	0.21 (0.088)	97	NA	NA	NA
1000 µmol/L チオプロニン	NA	NA	NA	0.068 (0.040)	0.77 (0.41)	40

LSC = 液体シンチレーションカウンター; NA = 該当データなし; cRNA =相補的リボ核酸; OAT =有機アニオントランスポーター;
[a] 平均値（標準偏差）

2.6.5.15.3. その他の薬物トランスポーターとの相互作用（2）：排泄トランスポーターの阻害（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.7

試験系又は動物種/系統: コントロール膜小胞、BCRP、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4 又は MRP8 含有膜小胞

処理: CC-10004 （2 及び 20 µmol/L）、100 µmol/L メトトレキサート（BCRP 基質）、エストラジオール 17β-D-グルクロン酸抱合体（MRP1、MRP2、MRP3、MRP4 及び MRP8 の基質としてそれぞれ 10、50、5、50 又は 10 µmol/L）、5 µmol/L スルファサラジン（BCRP 阻害薬）、100 µmol/L エストロン-3-硫酸（MRP1 阻害薬）、100 µmol/L MK-571（MRP2 阻害薬）、200 µmol/L エストロン-3-硫酸（MRP3、MRP4 及び MRP8 阻害薬）

方法: LSC	**コントロール BCRP、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4 及び MRP8 介在 efflux に対する CC-10004 阻害**											
	[^{3}H]-メトトレキサートの BCRP 介在 efflux		**[^{3}H]-エストラジオール 17β-D-グルクロン酸抱合体の MRP1 介在 efflux**		**[^{3}H]-エストラジオール 17β-D-グルクロン酸抱合体の MRP2 介在 efflux**		**[^{3}H]-エストラジオール 17β-D-グルクロン酸抱合体の MRP3 介在 efflux**		**[^{3}H]-エストラジオール 17β-D-グルクロン酸抱合体の MRP4 介在 efflux**		**[^{3}H]-エストラジオール 17β-D-グルクロン酸抱合体の MRP8 介在 efflux**	
CC-10004（µmol/L）	**取込み速度 [a]**	**阻害%**	**取込み速度 [a]**	**阻害%**	**取込み速度 [a]**	**阻害%**	**取込み速度 [a]**	**阻害%**	**取込み速度 [a]**	**阻害%**	**取込み速度 [a]**	**阻害%**
0	630	0.0	16.7	0.0	558	0.0	116	0.0	148	0.0	16.5	0.0
2	759	-20.5	24.3	-45.6	632	-13.2	89.7	22.8	193	-30.2	9.44	42.7
20	746	-18.3	22.0	-31.7	641	-14.8	90.9	21.8	166	-11.8	6.63	59.8
5 µmol/L スルファサラジン	79.0	87.5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
100 µmol/L エストロン-3-硫酸	NA	NA	4.25	74.5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
100 µmol/L MK-571	NA	NA	NA	NA	200	64.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
200 µmol/L エストロン-3-硫酸	NA	NA	NA	NA	NA	NA	47.1	59.4	44.7	69.8	6.86	58.4

追加情報: CC-10004 は、20 µmol/L 以下の濃度で BCRP、MRP1、MRP2 及び MRP4 を阻害せず、MRP3 に対しては弱い阻害作用を示した。CC-10004 は MRP8 介在輸送を阻害したが、当該阻害作用と臨床上の関連性は不明である。

BCRP = 乳がん耐性タンパク質 LSC = 液体シンチレーションカウンター; MRP = 多剤耐性関連タンパク質; NA = 該当データなし

[a] 単位 pmol/mg/min

2.6.5.15.4. その他の薬物トランスポーターとの相互作用（3）：OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.8

試験系又は動物種/系統: コントロール HEK293 細胞、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 発現 HEK293 細胞									
処理: CC-10004（2 及び 20 µmol/L）、5 µmol/L[^{14}C]-臭化テトラエチルアンモニウム（OCT2 基質）、300 µmol/L ベラパミル（OCT2 阻害薬）、50 nmol/L [^{3}H]-エストラジオールグルクロン酸抱合体（OATP1B1 及び OATP1B3 基質）及び 10 µmol/L リファンピシン（OATP1B1 及び OATP1B3 阻害薬）									
方法: LSC	**OCT2-、OATP1B1-及び OATP1B3-介在取込みの CC-10004 による阻害**								
	[^{14}C]-臭化テトラエチルアンモニウムの OCT2 介在取込み			**[^{3}H]-エストラジオールグルクロン酸抱合体の OATP1B1 介在取込み**			**[^{3}H]-エストラジオールグルクロン酸抱合体の OATP1B3 介在取込み**		
CC-10004（µmol/L）	**コントロール細胞 [a]**	**OCT2 発現細胞 [a]**	**コントロールに対する%**	**コントロール細胞 [a]**	**OATP1B1 発現細胞 [a]**	**コントロールに対する%**	**コントロール細胞 [a]**	**OATP1B3 発現細胞 [a]**	**コントロールに対する%**
0	1.37（0.15）	55.5（3.6）	100.0	1.32（0.06）	10.6（1.0）	100.0	0.396（0.053）	4.78（0.33）	100.0
2	1.39（0.15）	50.1（5.3）	90.0	1.76（1.00）	11.7（2.2）	107.1	0.398（0.027）	5.51（0.22）	116.6
20	1.51（0.46）	50.0（5.7）	89.6	0.739（0.104）	7.60（0.35）	73.9	0.367（0.044）	5.48（0.24）	116.6
300 µmol/L ベラパミル	0.402（0.166）	19.9（0.7）	36.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10 µmol/L リファンピシン	NA	NA	NA	0.991（0.287）	1.80（0.58）	8.7	0.374（0.134）	0.475（0.064）	2.3
追加情報: CC-10004 は、20 µmol/L 以下の濃度で OCT2 及び OATP1B3 を阻害せず、OATP1B1 に対しては 20 µmol/L で弱い阻害作用を示した。									

HEK = ヒト胎児腎臓; LSC = 液体シンチレーションカウンター; NA = 該当データなし; OAT =有機アニオントランスポーター; OATP =有機アニオントランスポーターポリペプチド; OCT = 有機カチオントランスポーター:

[a] Cleared volume（µL/mg タンパク）、3 回の測定の平均値（標準偏差）

2.6.5.15.5. その他の薬物トランスポーターとの相互作用（4）：BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する基質性（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.9

試験系又は動物種/系統: コントロール LLC-PK1、BCRP-発現 LLC-PK1

処理: CC-10004（1 及び 10 µmol/L）、10 nmol/L [^{3}H]-プラゾシン（BCRP 基質）、300 nmol/L Ko143（BCRP 阻害薬）、1 µmol/L [^{14}C]-マンニトール（細胞単分子層完全性マーカー）

方法: LC/MS/MS; LSC		**コントロール LLC-PK1 での P_{app}**			**BCRP 発現 LLC-PK1 での P_{app}**			**Net Efflux Ratio**
化合物	**阻害薬**	**A→B**	**B→A**	**Efflux Ratio**	**A→B**	**B→A**	**Efflux Ratio**	
CC-10004（1 µmol/L）	なし	19.7（0.7）	25.3（0.8）	1.3	22.2（0.9）	31.7（0.6）	1.4	1.1
	300 nmol/L Ko143	23.1（1.2）	29.2（0.9）	1.3	27.6（1.4）	36.7（1.7）	1.3	1.0
CC-10004（10 µmol/L）	なし	23.4（1.4）	20.4（0.6）	0.9	26.3（1.0）	27.9（2.7）	1.1	1.2
	300 nmol/L Ko143	25.5（0.5）	22.4（2.4）	0.9	28.1（0.7）	27.5（0.7）	1.0	1.1
プラゾシン（10 nmol/L）	なし	34.7（2.1）	36.5（2.4）	1.1	9.97（0.31）	93.0（4.3）	9.3	8.5
	300 nmol/L Ko143	32.7（1.5）	36.7（2.6）	1.1	40.6（1.1）	50.8（1.5）	1.3	1.2
マンニトール（1 µmol/L）	なし	3.01（0.55）	2.62（0.24）	0.9	2.09（1.63）	0.747（0.106）	0.4	0.4

追加情報: CC-10004 は、BCRP の基質ではない。

3 回の測定の平均値（標準偏差）

BCRP = 乳がん耐性タンパク質; LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析; LLC-PK1 = ブタ腎上皮細胞; LSC = 液体シンチレーションカウンター; OAT =有機アニオントランスポーター; OATP =有機アニオントランスポーターポリペプチド; OCT = 有機カチオントランスポーター: P_{app} = みかけの透過係数（units x10^{-6} cm/sec）

2.6.5.15.6. その他の薬物トランスポーターとの相互作用（5）：BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する基質性（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.9

試験系又は動物種/系統: コントロール S_2 細胞、OAT1 又は OAT3 発現 S_2 細胞

処理:CC-10004（1 及び 10 µmol/L）、1 µmol/L [^{3}H]-パラアミノ馬尿酸（OAT1 基質）、500 nmol/L [^{3}H]-エストロン-3-硫酸（OAT3 基質）、100 µmol/L プロベネシド （OAT1 及び OAT3 阻害薬）

化合物	Cleared Volume（µL/mg タンパク）							
	阻害薬なし		100 µmol/L プロベネシド		阻害薬なし		100 µmol/L プロベネシド	
	コントロール細胞	OAT1 発現細胞	コントロール細胞	OAT1 発現細胞	コントロール細胞	OAT3 発現細胞	コントロール細胞	OAT3 発現細胞
CC-10004（1 µmol/L）	34.7（2.9）	29.6（1.3）	52.2（14.0）	48.4（1.3）	48.5（5.3）	31.1（1.3）	49.9（3.9）	33.3（3.5）
CC-10004（10 µmol/L）	42.1（7.0）	40.5（2.0）	44.5（4.0）	43.2（3.9）	55.9（4.3）	33.5（2.7）	49.3（5.7）	33.0（3.6）
[^{3}H]-パラアミノ馬尿酸（1 µmol/L）	0.491（0.045）	59.4（2.3）	0.488（0.141）	3.18（0.51）	NA	NA	NA	NA
[^{3}H]-エストロン-3-硫酸（500 nmol/L）	NA	NA	NA	NA	2.81（0.15）	35.0（1.3）	3.18（0.26）	3.05（0.36）

追加情報: CC-10004 は、OAT1 及び OAT3 の基質ではない。

3 回の測定の平均値（標準偏差）

BCRP = 乳がん耐性タンパク質; NA = 該当データなし; OAT =有機アニオントランスポーター; OATP =有機アニオントランスポーターポリペプチド; OCT = 有機カチオントランスポーター

2.6.5.15.7. その他の薬物トランスポーターとの相互作用（6）：BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する基質性（評価資料）

被験物質：アプレミラスト

添付資料番号：4.2.2.6.9

試験系又は動物種／系統: コントロール HEK293 細胞、OATP1B1、OATP1B3 又は OCT2 発現 HEK293 細胞

処理: CC-10004（1 及び 10 µmol/L）、50 nmol/L [^{3}H]-エストラジオール 17β-グルクロン酸抱合体（OATP1B1 及び OATP1B3 基質）、10 µmol/L リファンピシン（OATP1B1 及び OATP1B3 阻害薬）、10 µmol/L [^{14}C]-メトフォルミン（OCT2 基質）及び 300 µmol/L キニジン（OCT2 阻害薬）

化合物	Cleared Volume（µL/mg タンパク）											
	阻害薬なし		10 µmol/L リファンピシン		阻害薬なし		10 µmol/L リファンピシン		阻害薬なし		300 µmol/L キニジン	
	コントロール細胞	OATP1B1 発現細胞	コントロール細胞	OATP1B1 発現細胞	コントロール細胞	OATP1B3 発現細胞	コントロール細胞	OATP1B3 発現細胞	コントロール細胞	OCT2 発現細胞	コントロール細胞	OCT2 発現細胞
CC-10004（1 µmol/L）	48.7 (12.9)	37.4 (6.3)	38.4 (14.8)	27.0 (1.3)	50.9 (9.9)	39.1 (2.1)	23.4 (2.3)	26.2 (1.0)	30.4 (0.8)	25.1 (2.1)	17.9 (1.1)	18.1 (1.5)
CC-10004（10 µmol/L）	34.6 (5.1)	35.9 (5.6)	27.0 (3.1)	30.6 (3.6)	42.1 (3.6)	37.7 (4.8)	26.6 (3.3)	31.1 (3.4)	26.7 (2.9)	25.8 (4.1)	20.4 (2.4)	15.0 (3.1)
[^{3}H]-エストラジオール 17β-グルクロン酸抱合体（50 nmol/L）	0.324 (0.015)	5.10 (0.45)	0.194 (0.050)	0.407 (0.037)	0.300 (0.077)	27.3 (0.6)	0.560 (0.347)	0.794 (0.043)	NA	NA	NA	NA
[^{14}C]-メトフォルミン（10 µmol/L）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.04 (0.10)	58.0 (0.9)	0.235 (0.032)	1.12 (0.01)

追加情報: CC-10004 は OAT1 及び OCT2 の基質ではない。

3 回の測定の平均値（標準偏差）

BCRP = 乳がん耐性タンパク質; HEK = ヒト胎児腎臓; NA = 該当データなし; OAT =有機アニオントランスポーター; OATP =有機アニオントランスポーターポリペプチド; OCT = 有機カチオントランスポーター

2.6.5.16. 薬物動態試験：その他

その他の薬物動態試験は実施されていない。