2.6.4 薬物動態試験の概要文

小野薬品工業株式会社

目次

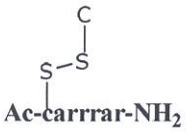
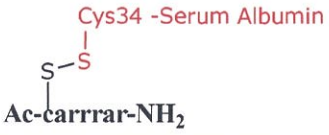
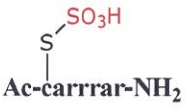
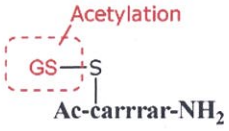
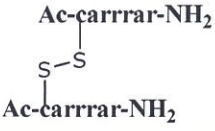
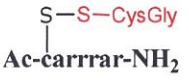
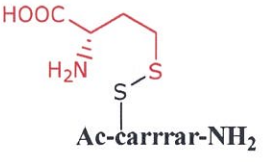
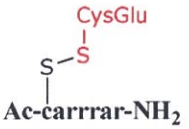
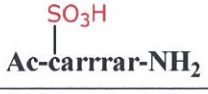
2.6.4 薬物動態試験の概要文 5
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.2 分析法 9
2.6.4.3 吸収 10
2.6.4.4 分布 19
2.6.4.5 代謝 24
2.6.4.6 排泄 29
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 31
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 32
2.6.4.9 考察及び結論 35
2.6.4.10 図表 37
2.6.4.11 参考文献 37

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エテルカルセチド塩酸塩

略号一覧

略号	略さない表現又は説明
[^{14}C]エテルカルセチド	^{14}C 標識したエテルカルセチド
Ala	アラニン
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	投与後無限大時間まで外挿した AUC
AUClast	投与後定量可能最終時点までの AUC
BCRP	Breast cancer resistance protein
BLQ	定量下限未満
BSEP	Bile salt export pump
CKD	慢性腎臓病
CL	クリアランス
Cmax	最高濃度
Cxh	投与後 x 時間における濃度
Cxmin	投与後 x 分における濃度
CYP	チトクロム P450
Cys	システイン
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型質量分析
LSC	液体シンチレーションカウンター
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
PEPT	Peptide transporter
P-gp	P-糖蛋白質
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
Radio-HPLC	放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー
S9	組織ホモジネート 9000g 上清
SD	Sprague Dawley
SH	チオール
SHPT	二次性副甲状腺機能亢進症
T1/2	消失半減期
Tmax	最高濃度到達時間
Vss	定常状態での分布容積
Vz	消失相での分布容積

関連化合物の一覧

名称	構造	説明及びその他の名称
エテルカルセチド		エテルカルセチド（フリー体）
SAPC		エテルカルセチドの D-アミノ酸ペプチド体と血清アルブミンとの複合体（Serum albumin peptide conjugate）
M1		ジスルフィド結合を介したチオ硫酸化体（硫酸抱合体）
M3		M10 のアセチル化体
M10		ジスルフィド結合を介したグルタチオン抱合体
M11		L-Cys 脱離体 生体内変換物質の還元処理物質（Total M11）
M12		ジスルフィド結合を介した M11 の二量体
M13		ジスルフィド結合を介した L-Cys-L-Gly 抱合体
M14		ジスルフィド結合を介した L-ホモシステイン抱合体
M15		ジスルフィド結合を介したγ-Glu-L-Cys 抱合体
M28		チオ硫酸化体

Ac-carrrar-NH_2 = *N*-acetyl-D-cysteinyl-D-alanyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-argininamide , C＝L-Cys, S＝硫黄.

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

有効性薬理試験及び毒性試験と同種同系統のラット（SD 系）及びイヌ（ビーグル）を用いて，エテルカルセチド又は[^{14}C]エテルカルセチドの薬物動態を臨床投与経路と同じ静脈内投与で評価した．両腎摘ラットは腎機能不全モデルとして，5/6 腎摘ラットは腎機能低下モデルとして用いた．また，ラット，イヌ及びヒトでの *in vitro* 血漿蛋白結合率，並びに *in vitro* での代謝を検討した．血漿中エテルカルセチド濃度及びエテルカルセチド生体内変換物質の分析には LC/MS/MS を用いた．生体試料中放射能濃度の測定には LSC を，試料中放射能の組成分析には radio-HPLC を，組織分布試験には QWBA を用いた．薬物動態パラメータはノンコンパートメント法により算出した．

各試験において，エテルカルセチドの塩酸塩，酢酸塩あるいはフリー体を使用したが，本資料では，投与量及び薬物濃度はすべてフリー体の量として表記した．

2.6.4.1.1 吸収

正常ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したとき，血漿中放射能は 5.78 時間の T1/2 で消失した．一方，両腎摘ラットにおける T1/2 は 23.1 時間であり，正常ラットと比較して遅延が認められた．正常ラット及び両腎摘ラットにエテルカルセチドを単回静脈内急速投与したとき，血漿中エテルカルセチド濃度は投与量に比例して増加した．両腎摘ラットにおけるエテルカルセチドの全身 CL は，正常ラットの 0.3 倍であったことから，エテルカルセチドの消失には腎 CL の寄与が大きいと考えられた．

雌雄ラット及び雌雄イヌにエテルカルセチドを静脈内急速投与あるいは雄イヌにエテルカルセチドを静脈内持続投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度は，それぞれ投与量に比例して増加した．ラットでは静脈内急速投与後の血漿中エテルカルセチド濃度推移は雌で若干高かったものの，イヌでは性差はなかった．雌雄ラット及び雌雄イヌにエテルカルセチドを 6 カ月間又は 9 カ月間反復静脈内投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度推移は初回投与時の 2 倍程度であり，顕著な蓄積は認められなかった．

2.6.4.1.2 分布

ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したとき，血漿を含む多くの組織で投与後 1 時間までに Cmax を示した．血球，中枢組織及び生殖器に対する放射能分布は低かった．組織中放射能濃度の Tmax において，血漿と比較して高濃度の放射能が分布した組織は，骨端線，軟骨，腎臓などであった．また，放射能の T1/2 が血漿より長かった組織はハーダー氏腺，甲状腺，骨髄などであった．放射能組織分布に性差は認められず，メラニン

に対する親和性は低いと考えられた．妊娠ラットにエテルカルセチドを静脈内急速投与したとき，エテルカルセチドの胎児移行性は低かった．

エテルカルセチド（50～10000 ng/mL）の *in vitro* 血漿蛋白結合率は，ラットで 16～28%，イヌで 30～39%，健康成人で 42～52%及び CKD 患者で 37～44%であり低かった．

2.6.4.1.3 代謝

エテルカルセチドのラット，イヌ及びヒトの *in vitro* 代謝において，CYP などの代謝酵素は関与しなかった．エテルカルセチドは，分子内の L-Cys と生体内 SH 基含有物質との非酵素的なジスルフィド置換反応により，種々の物質に変換された．ラット及びヒトの肝・腎試料中で多く認められた生体内変換物質はグルタチオン抱合体（M10），L-Cys 脱離体（M11），M11 の二量体（M12）などであった．ラット及びヒトの *in vitro* 血液中で最も多く認められた生体内変換物質は SAPC であった．ヒト試料中で検出された生体内変換物質はラットにおいても認められ，ヒト特異的な生体内変換物質はなかった．ラット及びヒトの生体内変換物質を還元処理したとき，ほとんどが M11（Total M11）に変換されたことから，エテルカルセチド由来の生体内変換物質は主に D-アミノ酸ペプチド骨格を保持した構造であることが示された．ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したときの血漿中に認められた生体内変換物質は，*in vitro* 試験の結果と同様であった．ヒト血液を用いた *in vitro* 試験において，エテルカルセチドから SAPC への生成速度定数はその逆反応の 18.5 倍大きく，更にエテルカルセチドから生体内変換物質（SAPC を除く）への生成速度定数はその逆反応の 2.1 倍大きかったが，それら生成反応はいずれも可逆的であった．

2.6.4.1.4 排泄

胆管カニューレ処置したラット（腎機能正常）に[^{14}C]エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したとき，投与放射能の約 80%が尿中に排泄され，そのうちの約 35%がエテルカルセチドであった．一方，両腎摘ラットでは投与された放射能はほとんど排泄されなかった．したがって，エテルカルセチド及びその生体内変換物質は主に腎排泄されることが確認された．ウシ血液を用いた *in vitro* 透析試験において，非結合型のエテルカルセチドは速やかに除去された．したがって，CKD 患者において，エテルカルセチドは血液透析により除去されると考えられた．

授乳中雌ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したとき，放射能が乳汁中に排泄された．

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

エテルカルセチドは各 CYP 分子種に対して 5 μg/mL まで阻害作用を示さず，更に 5 μmol/L（5.24 μg/mL）まで時間依存的阻害作用を示さなかった．また，エテルカルセチドは各 CYP 分子種に対して 10 μg/mL まで誘導作用を示さなかった．このことから，エテルカルセチドは CYP 阻害あるいは誘導によって，薬物相互作用を引き起こさないと考えられた．エテルカルセチドは各トランスポーターの基質ではなく，更に各トランスポーターに対して 50 μmol/L（52.4 μg/mL）まで阻害作用を示さなかった．このことから，エテルカルセチドはトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こさないと考えられた．

非臨床薬物動態試験の概要を表 2.6.4.1-1 に示す．

表 2.6.4.1-1 非臨床薬物動態試験の概要

CTD 記載箇所	試験系	投与経路／投与量，又は添加濃度	試験目的
吸収			
[5.3.2.3-1]	ブタ培養細胞	5 μmol/L，^{14}C 標識体	LLC-PK1 細胞株における[^{14}C]エテルカルセチドの膜透過を検討する．
[4.2.2.2-1]	雄 SD 系ラット（正常，BN）	静脈内急速／2.5 mg/kg，^{14}C 標識体	正常及び両腎摘ラットに単回静脈内急速投与したときの[^{14}C]エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.2.2-2]	雄 SD 系ラット（正常，5/6，BN）	静脈内急速／0.3，1 mg/kg	正常，5/6 腎摘及び両腎摘ラットに単回静脈内急速投与したときのエテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.1.3-1]	雄ビーグル犬	静脈内急速／1.5 mg/kg	イヌにおける薬理試験で，エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.1.1-6]	雄ビーグル犬	静脈内持続／1，8，20 μg/kg/h	イヌにおける薬理試験で，エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.3.2-2]	雌雄 SD 系ラット	静脈内急速／0.3，1，3 mg/kg	ラットにおける 28 日間反復静脈内投与毒性試験で，エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.3.2-4]	雌雄 SD 系ラット	静脈内急速／0.3，1，3 mg/kg	ラットにおける 6 カ月間反復静脈内投与毒性試験で，エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.3.2-6]	雌雄ビーグル犬	静脈内急速／0.1，0.3，1.5 mg/kg	イヌにおける 27 日間反復静脈内投与毒性試験で，エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.3.2-7]	雌雄ビーグル犬	静脈内急速／0.2，0.5，0.9 mg/kg	イヌにおける 6 カ月間反復静脈内投与毒性試験で，エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
[4.2.3.2-8]	雌雄ビーグル犬	静脈内急速／0.2，0.5，1.2/0.9 mg/kg	イヌにおける 9 カ月間反復静脈内投与毒性試験で，エテルカルセチドの薬物動態を検討する．
分布			
[4.2.2.3-1]	雌雄 SD 系ラット 雄 LE 系ラット	静脈内急速／2.5 mg/kg，^{14}C 標識体	ラットにおける[^{14}C]エテルカルセチドの組織分布を検討する．
[4.2.2.3-2]	ラット，イヌ，ヒト血漿	50～10000 ng/mL	限外濾過法を用いて，ラット，イヌ及びヒトにおけるエテルカルセチドの *in vitro* 血漿蛋白結合を検討する．

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エテルカルセチド塩酸塩

CTD 記載箇所	試験系	投与経路／投与量，又は添加濃度	試験目的
[4.2.2.3-3]	ラット，ヒト（健康成人，CKD）血液	0.1～10 μ mol/L，^{14}C 標識体	ラット及びヒトにおける[^{14}C]エテルカルセチドの *in vitro* 血球移行を検討する．
[4.2.3.5.3-1]	妊娠 SD 系ラット	静脈内急速／0.75，1.5，3 mg/kg	妊娠ラットにおけるエテルカルセチドの胎盤移行性を検討する．
代謝			
[4.2.2.4-1]	ラット，イヌ及びヒトの肝ミクロソーム，S9，サイトゾール	182 ng/mL	ラット，イヌ及びヒトの肝ミクロソーム，S9，サイトゾールにおけるエテルカルセチドの *in vitro* 代謝を検討する．
[5.3.2.2-1]	ヒト肝ミクロソーム，S9	5 μ mol/L	ヒト肝ミクロソーム，S9 におけるエテルカルセチドの *in vitro* 代謝を検討する．
[4.2.2.3-3]	ラット，ヒトの肝細胞，肝 S9，腎 S9，血液	5 又は 10 μ mol/L，^{14}C 標識体	ラット，ヒトの肝細胞，肝 S9，腎 S9，及びラット，ヒト（健康成人）の血液における[^{14}C]エテルカルセチド生体内変換物質を検索する． ラット及びヒト（健康成人，CKD 患者）血清アルブミンに対する SAPC の構造を解析する．
[4.2.2.2-1]	雌雄 SD 系ラット（正常，BDC，BN）	静脈内急速／1.84，2.5 mg/kg，^{14}C 標識体	ラットにおける[^{14}C]エテルカルセチド生体内変換物質を検索する．
排泄			
[4.2.2.2-1]	雌雄 SD 系ラット（正常，BDC，BN）	静脈内急速／1.84，2.5 mg/kg，^{14}C 標識体	ラットにおける[^{14}C]エテルカルセチドの尿，胆汁，糞，呼気中排泄を検討する．
[4.2.2.5-1]	授乳中雌ラット	静脈内急速／2.5 mg/kg，^{14}C 標識体	授乳中雌ラットにおける[^{14}C]エテルカルセチドの乳汁中排泄を検討する．
薬物相互作用			
[5.3.2.2-3]	ヒト肝ミクロソーム	0.2，1，5 μ g/mL	CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4 に対するエテルカルセチドの直接阻害作用を検討する．
[5.3.2.2-4]	ヒト肝ミクロソーム	5 μ mol/L	CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A に対するエテルカルセチドの時間依存的阻害を検討する．
[5.3.2.2-5]	ヒト肝細胞	0.4，2，10 μ g/mL	CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 に対するエテルカルセチドによる誘導作用を検討する．
[5.3.2.3-1]	ヒトトランスポーター発現細胞	基質：1～20 μ mol/L，^{14}C 標識体 阻害：0.01～50 μ mol/L	P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1，OAT3，PEPT1 及び PEPT2 に対する[^{14}C]エテルカルセチドの基質性を検討する．P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 に対するエテルカルセチドの阻害を検討する．
[5.3.2.3-2]	BSEP 発現膜ベシクル	0～133 μ mol/L	BSEP に対するエテルカルセチドの阻害を検討する．
その他			
[5.3.2.2-2]	ヒト（健康成人）血液	エテルカルセチド：5 μ mol/L，SAPC：2.5 μ mol/L	ヒト血液中における生体内変換物質の生成反応の可逆性について検討する．
[4.2.2.7-1]	ウシ血液	0.21，2.12 μ mol/L，^{14}C 標識体	ウシ血液からの[^{14}C]エテルカルセチドの透析による除去を検討する．

BDC＝bile duct cannulated，BN＝bilaterally nephrectomized，5/6＝5/6 腎摘，LE＝Long-Evans.

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 被験物質

薬物動態試験では，エテルカルセチドの N 末端 D-Cys のアセチル基を ^{14}C 標識した放射性標識体（以下，[^{14}C]Ac-エテルカルセチド），エテルカルセチドの N 末端 D-Cys に隣接する D-Ala を ^{14}C 標識した放射性標識体（以下，[^{14}C]Ala-エテルカルセチド），及び非標識エテルカルセチドを用いた．[^{14}C]Ac-エテルカルセチドは Amgen 社又は PolyPeptide Laboratories 社で合成し，比放射能はそれぞれ 28.2 mCi/mmol 又は 60.3 mCi/mmol，放射化学的純度はいずれも 95.1％以上であった．[^{14}C]Ala-エテルカルセチドは PolyPeptide Laboratories 社で合成し，比放射能は 56.3 mCi/mmol，放射化学的純度は 97%以上であった．エテルカルセチドは Amgen 社又は Bachem 社で合成した．

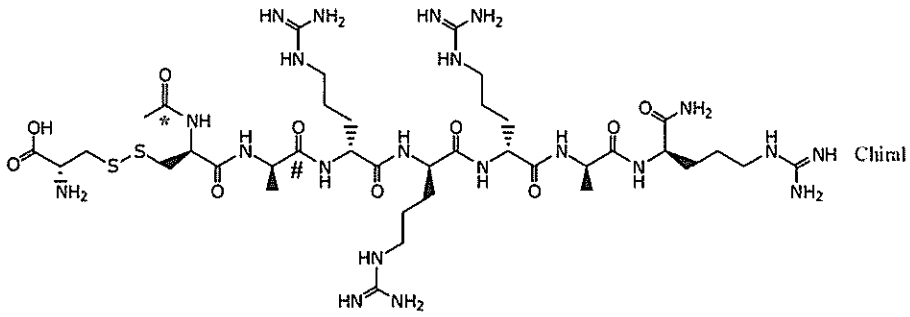


図 2.6.4.2.1-1 [^{14}C]エテルカルセチドの構造式
*=[^{14}C]Ac-エテルカルセチドの ^{14}C 標識部位，#=[^{14}C]Ala-エテルカルセチドの ^{14}C 標識部位．

2.6.4.2.2 標識化合物を用いた試験の分析法

生体試料中の放射能濃度は LSC で測定し，組織分布試験における放射能濃度はバイオイメージングアナライザーによる QWBA で測定した．生体内変換物質の組成分析には radio-HPLC を，構造推定及び同定には LC/MS/MS を用いた．

2.6.4.2.3 非標識化合物を用いた試験の分析法

[評価資料：4.2.2.1-1，4.2.2.1-2，4.2.2.1-3，4.2.2.1-4，4.2.2.1-5]

エテルカルセチドの分析には LC/MS/MS を用いた．非 GLP 試験及び GLP 試験ともに，FDA ガイダンス [1] に準拠したバリデーションを実施した LC/MS/MS 法によりマウス，ラット，ウサギ及びイヌの血漿中エテルカルセチド濃度を測定した．内標準物質としてエテルカルセチドの安定同位体標識体（KAI-2129）を用いた．本分析法による定量範囲は，マウス血漿において 1.00～500 ng/mL，ラット血漿において 1.09～545 ng/mL，イヌ血漿において 1.00～500 ng/mL 又は 1.09～545 ng/mL，ウサギ血漿において 2.00～1000 ng/mL であった．

本分析法は，選択性，直線性，真度，精度，再現性，マトリックスの影響，再注入時の安定性及び血漿中安定性に関するすべてのバリデーション基準を満たした．

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単層培養細胞における膜透過

［評価資料：5.3.2.3-1］

ブタ腎臓近位尿細管由来の上皮細胞株（LLC-PK1 細胞株）を単層培養し，[^{14}C]Ac-エテルカルセチド（5 μmol/L）の膜透過性を評価した．LLC-PK1 細胞株の頂端膜側に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加したときの基底膜側への見かけの透過係数は 0.6×10^{-6} cm/s であり，[^{14}C]Ac-エテルカルセチドの膜透過性は低かった．

2.6.4.3.2 単回投与後の血漿中濃度

2.6.4.3.2.1 ラット

1） 静脈内急速投与（放射性標識体）

［評価資料：4.2.2.2-1］

正常及び両腎摘雄ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを，及び正常雄ラットに[^{14}C]Ala-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中放射能濃度推移を図 2.6.4.3.2.1-1 に，薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.1-1 に示した．

正常ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチド又は[^{14}C]Ala-エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したときの血漿中放射能濃度推移は同様であった．両腎摘ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したときの総放射能の C5min，AUClast 及び T1/2 は，正常ラットのそれぞれ 1.5 倍，18.1 倍及び 4.0 倍であった．

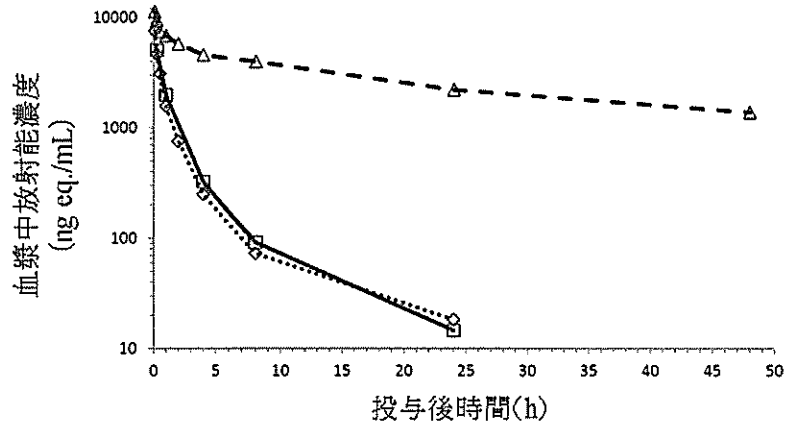


図 2.6.4.3.2.1-1　正常ラット及び両腎摘ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中放射能濃度推移

データは各投与群の平均値で示した.
◇＝正常ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを投与，□＝正常ラットに[^{14}C]Ala-エテルカルセチドを投与，△＝両腎摘ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを投与.

表 2.6.4.3.2.1-1　正常ラット及び両腎摘ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの薬物動態パラメータ

標識化合物	モデル	例数	C5min (ng eq./mL)	C15min (ng eq./mL)	AUClast (ng eq.·h/mL)	T1/2 (h)
[^{14}C]Ac	正常	10	7563	4648	7419	5.78
	両腎摘	6	11303	9408	134451	23.1
[^{14}C]Ala	正常	2	NA	5050	9283	4.95

データは平均値で示した.
T1/2 は，消失相の評価に十分な採血時点が得られなかったため参考値として記載した.
NA＝not applicable，[^{14}C]Ac＝[^{14}C]Ac-エテルカルセチド，[^{14}C]Ala＝[^{14}C]Ala-エテルカルセチド.

2)　静脈内急速投与（非標識化合物）

［評価資料：4.2.2.2-2］

正常，5/6 腎摘及び両腎摘雄ラットにエテルカルセチドを 0.3 及び 1 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度推移を図 2.6.4.3.2.1-2 に，薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.1-2 に示した.

正常ラット，5/6 腎摘ラット，両腎摘ラットいずれも血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUClast は投与量に比例して増加した．C5min はモデル間で差はなかった．5/6 腎摘ラット及び両腎摘ラットの全身 CL は正常ラットのそれぞれ 0.7～0.9 倍及び 0.3 倍，T1/2 はそれぞれ 1.2～1.6 倍及び 5.1～5.2 倍であった.

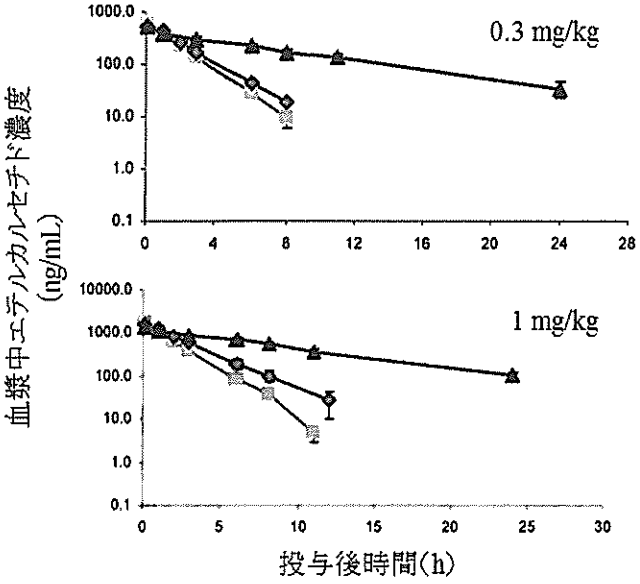


図 2.6.4.3.2.1-2　正常ラット，5/6 腎摘ラット及び両腎摘ラットにエテルカルセチドを 0.3 及び 1 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度推移
データは平均値±標準誤差で示した．
□＝正常ラット，◇＝5/6 腎摘ラット，▲＝両腎摘ラット．

表 2.6.4.3.2.1-2　正常ラット，5/6 腎摘ラット及び両腎摘ラットにエテルカルセチドを 0.3 及び 1 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	モデル	例数	C5min (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	全身 CL (mL/h/kg)	Vss (mL/kg)	T1/2 (h)
0.3	正常	4	552±20	1258±62	238	444	1.28
	5/6 腎摘	4	536±53	1473±170	204	438	1.54
	両腎摘	3	537±53	3895±380	77	640	6.70
1	正常	4	1662±94	3738±165	268	512	1.33
	5/6 腎摘	4	1560±85	5121±370	195	528	2.16
	両腎摘	3	1428±99	11412±578	88	735	6.73

C5min 及び AUClast は平均値±標準誤差で示した．全身 CL，Vss 及び T1/2 は平均血漿中エテルカルセチド濃度を用いて算出した．

2.6.4.3.2.2　イヌ

1)　静脈内急速投与

［評価資料：4.2.1.3-1］

雄イヌにエテルカルセチドを 1.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度推移を図 2.6.4.3.2.2-1 に，薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2-1 に示した．

血漿中エテルカルセチド濃度は単回静脈内急速投与後，10.2 時間の T1/2 で低下した．全身 CL 及び Vss はそれぞれ 422 mL/h/kg 及び 3719 mL/kg であった．

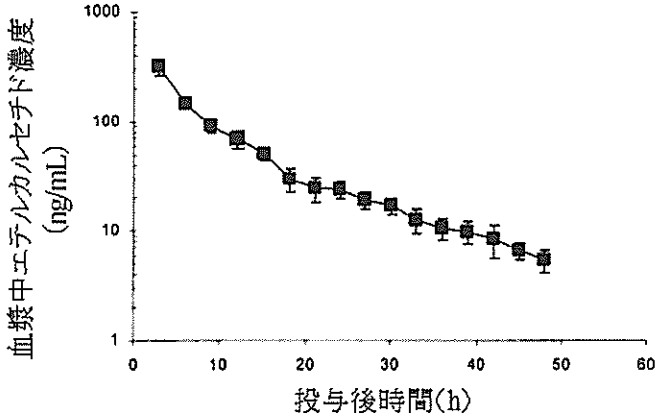


図 2.6.4.3.2.2-1　雄イヌにエテルカルセチドを 1.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度推移
データは平均値±標準偏差で示した．

表 2.6.4.3.2.2-1　雄イヌにエテルカルセチドを 1.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	例数	C3h (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	全身 CL (mL/h/kg)	Vss (mL/kg)	T1/2 (h)
1.5	4	315±53	3549±565	422±70	3719±949	10.2±1

データは平均値±標準偏差で示した．

2)　静脈内持続投与

［評価資料：4.2.1.1-6］

雄イヌにエテルカルセチドを 1～20 μg/kg/h で 24 時間単回静脈内持続投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度推移を図 2.6.4.3.2.2-2 に，薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2-2 に示した．

血漿中エテルカルセチド濃度は投与量に比例して増加し，24 時間の静脈内持続投与により定常状態に達した．投与終了後の血漿中エテルカルセチド濃度の測定時点が十分に得られず，薬物動態パラメータが適切に算出されていない 1 μg/kg/h 投与群を除く 8 及び 20 μg/kg/h 投与群では，C24h 及び AUClast は投与量に比例して増加し，全身 CL，Vz 及び T1/2 は投与量に依らず，概ね一致した．

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エテルカルセチド塩酸塩

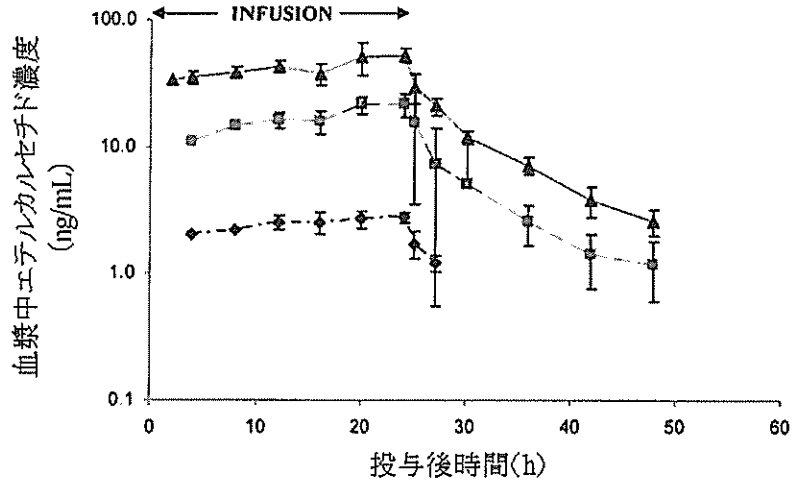


図 2.6.4.3.2.2-2　雄イヌにエテルカルセチドを 1，8 及び 20μg/kg/h で 24 時間単回静脈内持続投与したときの血漿中エテルカルセチド濃度推移
データは平均値±標準偏差で示した.
◆＝1μg/kg/h，□＝8μg/kg/h，▲＝20μg/kg/h.

表 2.6.4.3.2.2-2　雄イヌにエテルカルセチドを 1，8 及び 20μg/kg/h で 24 時間単回静脈内持続投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

投与量 (μg/kg/h)	例数	C24h (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	全身 CL (mL/h/kg)	Vz (mL/kg)	T1/2 (h)
1	4	2.8±0.2	63.0±8.5	378.8±45.2	1429.3±167.2	2.6±0.2
8	4	21.5±6.6	457.0±128.4	432.6±99.1	4037.9±301.9	5.8±0.6
20	4	52.8±7.6	1207.2±159.3	392.6±48.5	4609.7±932.0	8.2±1.4

データは平均値±標準偏差で示した.

2.6.4.3.3　　反復投与後の血漿中濃度

2.6.4.3.3.1　　ラット

1)　28 日間反復静脈内急速投与

［評価資料：4.2.3.2-2］

雌雄ラットにエテルカルセチドを 0.3～3 mg/kg で 1 日 1 回 28 日間反復静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.3.1-1 に示した.

血漿中エテルカルセチドの初回及び最終回投与後の C5min 及び AUCinf は，雌雄ともに投与量に比例して増加した．C5min 及び AUCinf は雌の方が若干高かったが，その差は 1.6 倍未満であった．また，最終回投与後の血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUCinf は初回投与後のそれぞれ 1.06～1.91 倍及び 1.04～1.64 倍とその差はわずかであり，顕著な蓄積性は認められなかった．以上から 28 日間反復静脈内投与による薬物動態への影響は小さいと考えられた.

表 2.6.4.3.3.1-1　雌雄ラットにエテルカルセチドを 0.3，1 及び 3 mg/kg で 1 日 1 回 28 日間反復静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

時点	性	例数	投与量 (mg/kg)	C5min (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	AUCinf (ng·h/mL)	T1/2 (h)
1 日目 (初回)	雄	3	0.3	368±5.86	476±6.05	480	1.53
		3	1	1010±95.9	1410±99.1	1430	1.60
		3	3	3400±363	4510±365	4580	1.77
	雌	3	0.3	480±19.3	617±39.4	623	1.59
		3	1	1550±60.1	2010±109	2030	1.59
		3	3	3270±1650	4720±1540	4810	1.75
28 日目 (最終回)	雄	3	0.3	462±34.4	582±39.4	588	1.62
		3	1	1070±507	1570±567	1600	1.58
		3	3	4900±214	6170±264	6240	1.71
	雌	3	0.3	529±60.5	646±65.9	651	1.59
		3	1	1690±31.8	2140±55.4	2160	1.75
		3	3	6260±695	7810±774	7910	1.78

C5min 及び AUClast は平均値±標準誤差で示した．AUCinf 及び T1/2 は平均血漿中エテルカルセチド濃度を用いて算出した．

2)　6 カ月間反復静脈内急速投与

［評価資料：4.2.3.2-4］

雌雄ラットにエテルカルセチドを 0.3～3 mg/kg で 1 日 1 回 6 カ月間（182 日間）反復静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.3.1-2 に示した．

血漿中エテルカルセチドの初回及び最終回投与後の C5min 及び AUClast は，雌雄ともに投与量に比例して増加した．C5min 及び AUClast の性差は 2 倍未満であった．最終回投与後の C5min 及び AUClast は初回投与後のそれぞれ 1.40～2.44 倍及び 1.49～2.34 倍とその差は 2 倍程度であり，顕著な蓄積性は認められなかった．

以上から 6 カ月間反復静脈内投与による薬物動態への影響は小さいと考えられた．なお，6 カ月間反復静脈内急速投与試験の 1 及び 3 mg/kg 群の半減期は，28 日間反復静脈内急速投与試験の全群の半減期と比較して長い傾向が認められた．これは，両試験における初回及び最終回投与後の最終採血時点の違い（6 カ月間反復静脈内急速投与試験：投与後 24 時間，28 日間反復静脈内急速投与試験：投与後 8 時間）によるもので，6 カ月間反復静脈内急速投与試験における半減期の算出には，投与後 8 時間以降 24 時間までの間の緩やかな消失が反映されたためと考えられた．

表 2.6.4.3.3.1-2　雌雄ラットにエテルカルセチドを 0.3，1 及び 3 mg/kg で 1 日 1 回 6 カ月間反復静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

時点	性	例数	投与量 (mg/kg)	C5min (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	AUCinf (ng·h/mL)	T1/2 (h)
1 日目 (初回)	雄	6	0.3	386	492	498	1.67
		6	1	1380	1780	1800	1.66
		6	3	3050	4260	4280	4.12
	雌	6	0.3	425	528	531	1.48
		6	1	1280	1730	1750	1.58
		6	3	4470	5800	5820	4.27
182 日目 (最終回)	雄	6	0.3	823	1070	NC	1.79
		6	1	2840	3830	NC	5.16
		6	3	7440	9970	NC	5.41
	雌	6	0.3	714	914	NC	1.79
		6	1	2240	3060	NC	4.87
		6	3	6240	8630	NC	5.12

各時点 3 例から採血し，平均血漿中エテルカルセチド濃度を用いて薬物動態パラメータを算出した．
0.3 mg/kg 群の 1 日目及び 182 日目の投与後 24 時間，1 mg/kg 群の 1 日目の投与後 24 時間の血漿中エテルカルセチド濃度は全例で定量下限値未満（＜1.00 ng/mL）であった．それら投与群では，投与後 8 時間までの測定値から T1/2 を算出した．
NC＝not calculated.

2.6.4.3.3.2　　イヌ

1)　27 日間反復静脈内急速投与

［評価資料：4.2.3.2-6］

雌雄イヌにエテルカルセチドを 0.1～1.5 mg/kg で 1 日おきに 27 日間反復静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.3.2-1 に示した．

血漿中エテルカルセチドの初回及び最終回投与後の C5min 及び AUCinf は，雌雄ともに投与量に比例して増加した．血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUCinf に性差はなかった．また，最終回投与後の血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUCinf は初回投与後のそれぞれ 0.95～1.26 倍及び 1.08～1.36 倍とその差はわずかであり，顕著な蓄積性は認められなかった．以上から，27 日間反復静脈内投与による薬物動態への影響は小さいと考えられた．

表 2.6.4.3.3.2-1　雌雄イヌにエテルカルセチドを 0.1，0.3 及び 1.5 mg/kg で 1 日おきに 27 日間反復静脈内投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

時点	性	例数	投与量 (mg/kg)	C5min (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	AUCinf (ng·h/mL)	T1/2 (h)
1 日目 (初回)	雄	3	0.1	209±15.3	259±17.4	270±26.4	6.88±2.33
		3	0.3	516±37.3	699±37.7	730±43.0	6.85±0.179
		5	1.5	3210±451	4250±751	4450±824	6.81±0.569
	雌	3	0.1	183±26.9	243±33.9	249±41.0	5.49±2.07
		3	0.3	543±50.6	721±126	755±140	7.19±0.905
		5	1.5	3050±236	3820±219	3950±223	6.24±0.428
27 日目 (最終回)	雄	3	0.1	222±5.00	292±8.34	305±8.93	7.17±0.536
		3	0.3	491±67.5	810±48.7	854±48.9	7.33±0.510
		5	1.5	3080±444	4540±1120	4790±1180	7.67±0.280
	雌	3	0.1	219±27.5	288±28.3	301±30.3	7.09±0.133
		3	0.3	686±76.5	894±117	943±127	7.54±0.378
		5	1.5	3500±739	5020±527	5360±579	8.13±0.653

データは平均値±標準偏差で示した.

2)　6 カ月間反復静脈内急速投与

[評価資料：4.2.3.2-7]

雌雄イヌにエテルカルセチドを 0.2～0.9 mg/kg で 1 日おきに 6 カ月間反復静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.3.2-2 に示した.

血漿中エテルカルセチドの初回及び最終回投与後の C5min 及び AUClast は，雌雄ともに投与量に比例して増加した．血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUCinf に性差はなかった．最終回投与後の血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUClast は初回投与後のそれぞれ 0.90～1.13 倍及び 0.90～1.17 倍とその差はわずかであり，顕著な蓄積性は認められなかった．以上から，6 カ月間反復静脈内投与による薬物動態への影響は小さいと考えられた.

表 2.6.4.3.3.2-2　雌雄イヌにエテルカルセチドを 0.2，0.5 及び 0.9 mg/kg で 1 日おきに 6 カ月間反復静脈内投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

時点	性	例数	投与量 (mg/kg)	C5min (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	AUCinf (ng·h/mL)	T1/2 (h)
1 日目 (初回)	雄	3	0.2	480±57.0	524±44.8	540±49.5	6.04±0.775
		4	0.5	1240±123	1400±79.0	1450±86.4	6.35±0.382
		6	0.9	2030±123	2410±207	2510±223	6.96±0.633
	雌	4	0.2	458±52.9	570±40.9	591±42.5	6.37±0.573
		4	0.5	1180±75.1	1470±123	1530±135	6.41±0.603
		5	0.9	2300±260	2660±293	2760±321	6.84±0.701
181 日目 (最終回)	雄	4	0.2	529±55.2	614±94.0	NC	8.42±1.26
		4	0.5	1400±182	1590±224	NC	8.86±0.976
		6	0.9	1830±687	2160±763	NC	8.41±0.446
	雌	4	0.2	430±55.6	529±60.3	NC	7.61±0.996
		4	0.5	1060±149	1390±165	NC	8.60±0.482
		6	0.9	2100±193	2670±230	NC	7.63±0.872

データは平均値±標準偏差で示した.
NC＝not calculated.

3)　9 カ月間反復静脈内急速投与

[参考資料：4.2.3.2-8]

雌雄イヌにエテルカルセチドを 0.2～1.2/0.9 mg/kg で 1 日おきに 9 カ月間反復静脈内急速投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.3.2-3 に示した. 最高投与量群では動物の状態悪化のため，雄は投与 25 日目，雌は投与 27 日目より投与量を 1.2 mg/kg から 0.9 mg/kg に減量した.

血漿中エテルカルセチドの反復投与期間中における C5min 及び AUCinf は，雌雄ともに投与量に比例して増加した. 血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUCinf に性差はなかった. 投与後 91 日目の血漿中エテルカルセチドの C5min 及び AUCinf は初回投与後のそれぞれ 0.41～0.94 倍及び 0.49～0.83 倍であり，低下傾向が認められた. 一方，最終回投与後の C5min 及び AUCinf は初回投与後のそれぞれ 1.07～2.14 倍及び 0.91～1.77 倍とその差は 2 倍程度であり，顕著な蓄積性は認められなかった. 以上から，9 カ月間反復静脈内投与による薬物動態への影響は小さいと考えられた.

表 2.6.4.3.3.2-3　雌雄イヌにエテルカルセチドを 0.2，0.5 及び 1.2/0.9 mg/kg で 1 日おきに 9 カ月間反復静脈内投与したときの血漿中エテルカルセチドの薬物動態パラメータ

時点	性	例数	投与量 (mg/kg)	C5min (ng/mL)	AUClast (ng·h/mL)	AUCinf (ng·h/mL)	T1/2 (h)
1 日目 (初回)	雄	6	0.2	366±39.3	595±58.9	621±64.1	6.68±0.393
		6	0.5	1040±125	1480±165	1540±174	6.68±0.543
		10	1.2	2790±260	4020±344	4220±378	7.34±0.904
	雌	6	0.2	484±46.3	729±63.0	757±67.1	6.31±0.691
		6	0.5	1270±186	1920±238	1990±257	6.43±0.419
		10	1.2	3550±390	4820±459	5030±503	6.82±0.554
91 日目	雄	6	0.2	345±46.7	469±82.6	514±89.8	8.69±1.31
		6	0.5	751±171	977±129	1070±158	8.86±1.56
		10	0.9 [a]	1680±297	2340±395	2580±472	9.13±0.962
	雌	6	0.2	255±47.3	402±56.2	448±67.0	9.53±1.23
		6	0.5	544±88.3	895±99.0	967±117	7.99±0.803
		10	0.9 [a]	1440±329	2400±613	2650±804	8.48±1.32
183 日目	雄	3	0.2	496±82.7	722±140	782±179	8.40±1.94
		3	0.5	1330±75.1	1880±203	2020±219	8.83±0.685
		5	0.9 [a]	2850±274	4100±561	4420±677	8.83±1.13
	雌	3	0.2	402±58.3	731±41.5	768±42.9	7.10±0.514
		3	0.5	1100±342	1910±275	2020±254	7.19±0.802
		5	0.9 [a]	2480±274	3600±248	3800±246	7.31±0.430
273 日目 (最終回)	雄	3	0.2	720±28.8	908±121	965±139	7.61±0.551
		3	0.5	2230±95.0	2550±278	2720±320	8.59±0.491
		5	0.9 [a]	4000±682	4720±695	5020±771	8.18±0.628
	雌	3	0.2	718±110	951±139	1010±146	7.64±0.799
		3	0.5	1990±34.6	2320±120	2410±135	6.87±0.280
		5	0.9 [a]	3800±338	4330±388	4560±403	7.54±0.396

データは平均値±標準偏差で示した.
a＝最高投与量群では動物の状態悪化のため，雄は投与 25 日目，雌は投与 27 日目より投与量を 1.2 mg/kg から 0.9 mg/kg に減量した.

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　ラットにおける組織分布

2.6.4.4.1.1　白色ラット

［評価資料：4.2.2.3-1］

雌雄白色ラット（SD 系）に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの組織中放射能の薬物動態パラメータを表 2.6.4.4.1.1-1 及び表 2.6.4.4.1.1-2 に示した.

雄ラットの組織中放射能は，血漿を含む多くの組織で投与後 1 時間までに Cmax を示した. 投与後 1 時間までの各組織の Cmax は骨端線（血漿の 14.1 倍），硝子軟骨（17.0 倍），椎間軟骨（9.43 倍），関節軟骨（5.82 倍），腎髄質（1.83 倍）の順に高かった. 甲状腺（0.275

倍）では投与後 5 分に，肝臓（74.5 倍）では投与後 12 時間に，腎皮質（3900 倍）及び腎臓（2730 倍）では投与後 24 時間に Cmax を示した．中枢組織及び生殖器を含むその他の組織の Cmax は血漿中放射能濃度より低かった．投与後 168 時間までの血液／血漿中濃度比は 0.8 未満であり，血球への放射能の分布はほとんどなかった．組織中放射能濃度の T1/2 は，ハーダー氏腺で 1327 時間と最も長く，その他の組織で血漿（T1/2：86.2 時間）よりも明らかに長かったのは，甲状腺で 260 時間，骨髄で 194 時間であった．

雌ラットの組織中放射能は，血漿を含む多くの組織で投与後 1 時間までに Cmax を示した．投与後 1 時間までの各組織の Cmax は骨端線（血漿の 9.73 倍），椎間軟骨（6.63 倍），腎髄質（1.99 倍），関節軟骨（1.81 倍）の順に高かった．甲状腺（0.274 倍）では投与後 5 分に，腎皮質（1290 倍），腎臓（1040 倍），硝子軟骨（941 倍），肝臓（115 倍）では投与後 12 時間に Cmax を示した．中枢組織及び生殖器を含むその他の組織の Cmax は血漿中放射能濃度より低かった．投与後 168 時間までの血液／血漿中濃度比は 0.8 未満であり，血球への放射能の分布はほとんどなかった．組織中放射能濃度の T1/2 は，腎皮質で 730 時間と最も長く，その他の組織で血漿（T1/2：143 時間）よりも明らかに長かったのは，脳下垂体で 539 時間，骨端線で 457 時間，胸腺で 331 時間，腎臓で 313 時間であった．以上から，雌における放射能組織分布は概ね雄と同様であり，性差は認められなかった．

表 2.6.4.4.1.1-1　雄白色ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの組織中放射能の薬物動態パラメータ

組織	Tmax (h)	Cmax (ng eq./g)	T/P	T1/2 (h)
血漿	0.083	9710	NR	86.2 [a]
血液	0.083	5670	0.584	99.3 [a]
大脳	0.083	124	0.0128	NC
小脳	0.083	125	0.0129	2.24 [a]
脳下垂体	0.083	2260	0.233	110 [a]
脊髄	0.083	96.2	0.00991	2.02 [a]
眼球	0.25	422	0.0853	48.5 [a]
ハーダー氏腺	0.083	2090	0.215	1327 [a]
甲状腺	0.083	2670	0.275	260 [a]
胸腺	0.083	1040	0.107	152 [a]
肺	0.083	5410	0.557	90.3 [a]
肝臓	12	3040	74.5	84.4 [a]
腎臓	24	31400	2730	90.9 [a]
腎髄質	0.083	17800	1.83	94.3 [a]
腎皮質	24	44800	3900	92.7 [a]
副腎	0.25	1880	0.380	101 [a]
脾臓	0.083	1910	0.197	115 [a]
膵臓	0.083	1840	0.189	133 [a]
白色脂肪	0.083	295	0.0304	NC

組織	Tmax (h)	Cmax (ng eq./g)	T/P	T1/2 (h)
筋肉	0.083	946	0.0974	123 [a]
骨	1	639	0.272	NC
骨端線	0.5	52000	14.1	73.0 [a]
硝子軟骨	1	40000	17.0	76.2 [a]
椎間軟骨	0.5	34800	9.43	78.9 [a]
関節軟骨	0.25	28800	5.82	83.8 [a]
皮膚	0.083	3250	0.335	48.4
骨髄	0.083	1490	0.153	194 [a]
リンパ節	0.083	3050	0.314	101 [a]
動脈血管壁	0.083	8140	0.838	98.8 [a]
精巣	0.25	636	0.128	150 [a]
精巣上体	0.25	1670	0.337	102 [a]
精嚢	0.083	475	0.0489	NC
前立腺	0.083	1470	0.151	81.6 [a]
胃	0.083	4620	0.476	105 [a]
小腸	0.083	3590	0.370	91.5 [a]
大腸	0.083	5460	0.562	84.8 [a]
膀胱	0.25	3240	0.655	131 [a]

表中の値は各時点 1 例の値を示した.
血漿及び血液中放射能は LSC，他の組織中放射能は QWBA により測定した.
T/P＝組織中放射能濃度の Tmax における組織／血漿中放射能濃度比，BLQ＝＜17.0 ng eq.
[^{14}C]Ac-エテルカルセチド/g，NC＝not calculated，NR＝not reportable，a＝消失相の評価に十分な組織採取時点が得られなかったため参考値として記載した.

表 2.6.4.4.1.1-2　雌白色ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの組織中放射能の薬物動態パラメータ

組織	Tmax (h)	Cmax (ng eq./g)	T/P	T1/2 (h)
血漿	0.083	11500	NR	143 [a]
血液	0.083	6430	0.560	161 [a]
大脳	0.083	107	0.00930	0.506 [a]
小脳	0.083	141	0.0123	0.512 [a]
脳下垂体	0.083	2740	0.238	539 [a]
脊髄	0.083	112	0.00974	2.17 [a]
眼球	0.083	418	0.0363	7.61
ハーダー氏腺	0.083	1780	0.155	76.7 [a]
甲状腺	0.083	3150	0.274	73.1 [a]
胸腺	0.083	1260	0.110	331 [a]
肺	0.083	6420	0.558	108 [a]
肝臓	12	4880	115	NC
腎臓	12	44100	1040	313 [a]
腎髄質	0.083	22900	1.99	NC
腎皮質	12	54800	1290	730 [a]
副腎	0.083	2720	0.237	134 [a]
脾臓	0.083	2560	0.223	117 [a]

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エテルカルセチド塩酸塩

組織	Tmax (h)	Cmax (ng eq./g)	T/P	T1/2 (h)
膵臓	0.083	2020	0.176	203 [a]
白色脂肪	0.083	360	0.0313	1.45
筋肉	0.083	1080	0.0939	150 [a]
骨	0.083	821	0.0714	5.74
骨端線	0.5	40100	9.73	457 [a]
硝子軟骨	12	40000	941	57.7 [a]
椎間軟骨	0.5	27300	6.63	208 [a]
関節軟骨	0.5	7460	1.81	NC
皮膚	0.25	3120	0.519	NC
骨髄	0.083	2320	0.202	228 [a]
リンパ節	0.25	3480	0.579	215 [a]
動脈血管壁	0.083	9030	0.785	111 [a]
卵巣	0.083	3880	0.337	NC
子宮	0.083	7600	0.661	92.5 [a]
胃	0.083	4060	0.353	NC
小腸	0.083	2770	0.241	NC
大腸	0.083	4990	0.434	NC
膀胱	0.083	3060	0.266	224 [a]

表中の値は各時点 1 例の値を示した.
血漿及び血液中放射能は LSC，他の組織中放射能は QWBA により測定した.
T/P＝組織中放射能濃度の Tmax における組織／血漿中放射能濃度比，BLQ＝＜17.0 ng eq. [^{14}C]Ac-エテルカルセチド/g，NC＝not calculated，NR＝not reportable，a＝消失相の評価に十分な組織採取時点が得られなかったため参考値として記載した.

2.6.4.4.1.2　　有色ラット

［評価資料：4.2.2.3-1］

雄有色ラット（Long-Evans 系）に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの組織中放射能の薬物動態パラメータを表 2.6.4.4.1.2-1 に示した.

雄有色ラットにおける組織中放射能は，血漿を含む多くの組織で投与後 1 時間までに Cmax を示し，血漿中放射能濃度の T1/2 は 142 時間であった．メラニン含有組織である有色ラットの有色皮膚及び眼球の組織中放射能濃度は，それぞれ有色ラットの白色皮膚及び白色ラットの眼球と同程度であり，それらの放射能濃度は低く推移した．有色ラットの組織中放射能濃度の T1/2 は，有色皮膚で 196 時間，白色皮膚で 181 時間，眼球で 521 時間であった.

表 2.6.4.4.1.2-1　雄有色ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの組織中放射能の薬物動態パラメータ

組織	Tmax (h)	Cmax (ng eq./g)	T/P	T1/2 (h)
血漿	0.083	10600	NR	142 [a]
眼球	0.083	684	0.0645	521 [a]
白色皮膚	0.083	3650	0.344	181 [a]
有色皮膚	0.083	3860	0.364	196 [a]

表中の値は各時点 1 例の値を示した.
血漿及び血液中放射能は LSC，他の組織中放射能は QWBA により測定した.
T/P＝組織中放射能濃度の Tmax における組織／血漿中放射能濃度比，BLQ＝＜17.0 ng eq. [^{14}C]Ac-エテルカルセチド/g，NR＝not reportable，a＝消失相の評価に十分な組織採取時点が得られなかったため参考値として記載した.

2.6.4.4.2　　*In vitro* における血漿蛋白結合

［評価資料：4.2.2.3-2］

エテルカルセチドを血液中でインキュベーションし，その血液試料から血漿を採取した．血漿試料にトリクロロ酢酸を添加した後に遠心処理にて得た上清，及び限外濾過液のエテルカルセチド濃度を測定することで非共有結合様式の血漿蛋白結合率を求めた.

エテルカルセチド（50～10000 ng/mL）の非共有結合様式の血漿蛋白結合率は，ラットで 16～28%（平均値：23%），イヌで 30～39%（33%），健康成人で 42～52%（47%）及び CKD 患者で 37～44%（41%）であった．すべての種において蛋白結合率は低く，エテルカルセチド濃度に依らず概ね一定であった.

2.6.4.4.3　　*In vitro* における血球移行

［評価資料：4.2.2.3-3］

[^{14}C]Ac-エテルカルセチド（0.1～10 μmol/L）の *in vitro* での血液／血漿中濃度比は，ラットで 0.51～0.54，健康成人で 0.50～0.56 及び CKD 患者で 0.64～0.69 であり，[^{14}C]Ac-エテルカルセチドの血球への移行性は低かった.

2.6.4.4.4　　ラットにおける胎盤通過

［評価資料：4.2.3.5.3-1］

妊娠ラットに妊娠 7 日からエテルカルセチドを 0.75～3 mg/kg で 1 日 1 回反復静脈内急速投与した．妊娠 21 日において，エテルカルセチド投与後約 1 時間の母体，及び投与後 2 時間以内の胎児の血漿中エテルカルセチド濃度を表 2.6.4.4.4-1 に示した.

妊娠 21 日における胎児／母体血漿中濃度比は 2.39～2.99%であり，胎盤を介したエテルカルセチドの胎児移行性は低かった.

表 2.6.4.4.4-1　妊娠ラットにエテルカルセチドを 0.75～3 mg/kg で反復静脈内急速投与したときの母体及び胎児中エテルカルセチド濃度

時点	投与量 (mg/kg)	例数	母体血漿中濃度 (ng/mL)	胎児血漿中濃度 (ng/mL)	胎児／母体 (%)
妊娠 21 日	0.75	4	234±43.4	6.76±2.10	2.99±1.22
	1.5	3	487±141	13.5±2.03	2.86±0.462
	3	3	928±61.4	22.3±4.02	2.39±0.290

データは平均値±標準偏差で示した．胎児血漿はそれぞれの母体毎にプールした．

2.6.4.5　代謝

2.6.4.5.1　肝由来試料を用いた *in vitro* 代謝

［評価資料：4.2.2.4-1，5.3.2.2-1］

ラット，イヌ及びヒトの肝由来試料（ミクロソーム，S9 及びサイトゾール）を用いて，各試料の熱処理の有無によるエテルカルセチド（182 ng/mL）の *in vitro* 代謝を検討した結果を表 2.6.4.5.1-1 に示した．更に，ヒト肝由来試料（ミクロソーム及び S9）を用いて，エテルカルセチド（5 μmol/L）の *in vitro* 代謝における CYP 阻害剤などの影響を検討した結果を表 2.6.4.5.1-2 に示した．

NADPH 生成系存在下で 37℃，60 分間反応させたときのエテルカルセチド残存濃度は熱処理の有無に係わらず大きな差はなかった．また，CYP 阻害剤 1-aminobenzotriazole（ABT，5 mmol/L）を添加したときのエテルカルセチドの残存率は，ABT 非添加試料と同程度であった．したがって，ヒト肝由来試料中におけるエテルカルセチドの減少に CYP は関与していないと考えられた．一方，ヒト肝由来試料中にギ酸（最終濃度：1%）を添加したところ，エテルカルセチドは減少せず安定であった．SH 基やジスルフィド結合部位における置換反応速度は酸性条件下で低下することが報告されている [2] ことから，エテルカルセチドの代謝安定性には，分子内の L-Cys におけるジスルフィド置換反応が関与していると考えられた．すなわち，肝由来試料中のエテルカルセチドは，生体内ジスルフィド置換反応により減少したと示唆された．

表 2.6.4.5.1-1 ラット，イヌ及びヒトの肝由来試料（ミクロソーム，S9 及びサイトゾール）中でエテルカルセチドを代謝させたときのエテルカルセチド残存率

動物種	試料	エテルカルセチド残存率，熱処理：なし／あり（%）
ラット	肝ミクロソーム	100
	肝 S9	74
	肝サイトゾール	84
イヌ	肝ミクロソーム	95
	肝 S9	88
	肝サイトゾール	94
ヒト	肝ミクロソーム	104
	肝 S9	85
	肝サイトゾール	96

データは 2 例の平均値で示した．エテルカルセチド残存率は，対照試料（熱処理によって不活化した各肝由来試料）におけるエテルカルセチド残存濃度を 100%として算出した（反応条件：37℃，60 分，1.8 mg protein/mL，NADPH 生成系存在下）．

表 2.6.4.5.1-2 ヒト肝由来試料（ミクロソーム及び S9）中でエテルカルセチドを代謝させたときの NADPH，ABT 及び酸処理による影響

反応条件	プレインキュベーション（15 分）	エテルカルセチド残存率（%）	
		肝ミクロソーム	肝 S9
＋NADPH	なし	44.1	24.2
－NADPH	なし	40.8	32.0
＋ABT，＋NADPH	あり	46.1	18.4
－ABT，＋NADPH	あり	49.9	19.0
＋ギ酸	なし	96.0	90.5

データは 2 例の平均値で示した．エテルカルセチド残存率は対照試料（反応時間 0 分試料）におけるエテルカルセチド残存濃度を 100%として算出した（反応条件：37℃，60 分，1 mg protein/mL）．
＋＝存在下，－＝非存在下．

2.6.4.5.2 肝及び腎試料中における[^{14}C]Ac-エテルカルセチド生体内変換物質組成

［評価資料：4.2.2.3-3］

ラット及びヒトの肝細胞，並びに補酵素非添加の肝 S9 及び腎 S9 中で[^{14}C]Ac-エテルカルセチド（10 μmol/L）を 37℃で 2 時間インキュベーションした．[^{14}C]Ac-エテルカルセチドより生成した生体内変換物質を radio-HPLC 及び LC/MS/MS で分析し，得られた生体内変換物質組成を表 2.6.4.5.2-1 に示した．

ラット及びヒト肝試料で生成した主な生体内変換物質は，エテルカルセチドの D-Cys の SH 基部位が修飾されたグルタチオン抱合体（M10）であった．ヒト腎 S9 ではエテルカルセチドから L-Cys が脱離した D-アミノ酸ペプチド体（M11），ラット及びヒト肝細胞では D-Cys の SH 基を介した M11 の二量体（M12）が多く認められ，その他に 20 種程度の生体内

変換物質が各試料中に認められた．インキュベーション後の各試料を還元剤 tris(2-carboxyethyl)phosphine（TCEP）により還元処理したとき，総放射能の大部分が M11 として検出された（Total M11）ことから，エテルカルセチド生体内変換物質はラット及びヒトとも主としてD-アミノ酸ペプチド骨格を保持した構造であることが示された．

表 2.6.4.5.2-1 ラット及びヒトの肝細胞，肝 S9 及び腎 S9 で[^{14}C]Ac-エテルカルセチドをインキュベーションしたときの生体内変換物質組成

試料	種	%放射活性								
		エテルカルセチド	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	Others
肝細胞	ラット	12.9	68.9	ND	15.8	ND	ND	ND	2.4	ND
	ヒト	35.1	30.3	ND	26.1	2.6	0.5	2.9	1.1	ND
肝 S9	ラット	16.3	74.0	ND	1.2	ND	3.2	ND	ND	5.3
	ヒト	72.7	ND	3.6	ND	ND	6.6	ND	ND	4.1
腎 S9	ラット	75.4	3.8	ND	3.8	ND	ND	ND	ND	14.8
	ヒト	45.3	ND	20.7	3.8	ND	3.1	ND	ND	20.3

各生体試料はプールされたものを用いた．S9 反応溶液中には補酵素を添加しなかった．
Others＝1%未満のピークの合計，ND＝not detected.

2.6.4.5.3 血液中における[^{14}C]Ac-エテルカルセチド生体内変換物質組成

［評価資料：4.2.2.3-3］

ラット及びヒト（健康成人）の血液中で[^{14}C]Ac-エテルカルセチド（5 μmol/L）を 37℃で 4 時間インキュベーションした．[^{14}C]Ac-エテルカルセチドより生成した生体内変換物質を radio-HPLC 及び LC/MS/MS で分析し，得られた生体内変換物質組成を表 2.6.4.5.3-1 に示した．

血液試料から血漿を採取し，有機溶媒により生体内変換物質を抽出したとき，添加した放射能の回収率は 30.8～47.5%であった．ラット及びヒト血漿を 0.1%ギ酸で希釈した試料（有機溶媒抽出なし）を radio-HPLC 及び LC/MS/MS で分析したところ，SAPC が全放射能の 58.9%及び 71.4%認められた．その他，エテルカルセチドの D-Cys の SH 基が修飾された硫酸抱合体（M1）や M10 なども認められた．ヒトで検出された生体内変換物質はラットでも検出された．インキュベーション後のラット及びヒト血漿を還元処理したところ，放射能の大部分が Total M11 として検出された．したがって，エテルカルセチド生体内変換物質は，ラット及びヒトとも主として D-アミノ酸ペプチド骨格を保持した構造であることが示された．

表 2.6.4.5.3-1 ラット及びヒト血液中で[^{14}C]Ac-エテルカルセチドをインキュベーションしたときの生体内変換物質組成

種	%放射活性										
	エテルカルセチド	SAPC	M1	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M28	Others
ラット	11.7	58.9	5.6	14.2	2.3	1.6	1.4	1.9 [a]		1.6	0.9
ヒト	14.1	71.4	1.4	1.1	1.2	1.7	3.9	ND	1.5	1.8	1.9

Others＝1%未満のピークの合計，ヒト＝健康成人，a＝M14 及び M15 は LC から共溶出した．

2.6.4.5.4 SAPC の構造解析

［評価資料：4.2.2.3-3］

ラット及びヒト（健康成人，CKD 患者）の血液中でエテルカルセチド又は[^{14}C]Ala-エテルカルセチド（各々200 μmol/L）を 37℃で 4 時間インキュベーションし，採取した血漿を 0.1%ギ酸で希釈した試料を LC/MS/MS で分析した結果，血清アルブミンに 927～929 Da の物質が付加した MS ピークが認められた．これらはエテルカルセチド又は[^{14}C]Ala-エテルカルセチドの D-アミノ酸ペプチド体と同じ分子量であることから，血清アルブミンと D-アミノ酸ペプチド体が 1：1 で結合していると考えられた．その他の血清アルブミン付加体は認められなかった．

ヒト（健康成人，CKD 患者）の血液中で[^{14}C]Ala-エテルカルセチド（200 μmol/L）を 37℃で 4 時間インキュベーションし，採取した血漿をアフィニティークロマトグラフィーにより分画した．血漿蛋白を含むフラクションをセリンプロテアーゼ Lys-C により消化し，アルブミン蛋白を断片化した．得られた試料を LC/MS/MS で分析した結果，血清アルブミンの断片ペプチド（^{21}ALVLIAFAQYLQQ^{34}CPFEDHV^{41}K）に含まれる 34 位の L-Cys（下線部）にエテルカルセチドの D-アミノ酸ペプチド体がジスルフィド結合していることが示された．SAPC の構造は健康成人と CKD 患者で同様であった．

2.6.4.5.5 ラット *in vivo* における[^{14}C]エテルカルセチド生体内変換物質組成

［評価資料：4.2.2.2-1］

正常の雌雄ラット及び両腎摘した雄ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 1.84 又は 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与し，経時的に採血した．各採血時点の血漿を混合して，投与後 24 時間又は 48 時間までの血漿中放射能に占める生体内変換物質組成を評価した．また，胆管カニューレ処置した雌雄ラット（腎機能正常）に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 1.84 mg/kg で単回静脈内急速投与し，投与後 72 時間までに尿へ排泄された生体内変換物質組成を評価した．分析には radio-HPLC 及び LC/MS/MS を用い，得られた生体内変換物質組成を表 2.6.4.5.5-1 に示した．更に，生体内変換物質プロファイルを図 2.6.4.5.5-1 に示した．

正常ラット又は両腎摘ラットの混合血漿試料中の放射能を有機溶媒抽出したところ，放射能の回収率は 45.9～49.9%であった．血漿（有機溶媒抽出なし）を LC/MS/MS で分析したところ，エテルカルセチドが 24.3～34.5%，SAPC が 18.7～42.3%認められた．その他，M1 や M10 が多く認められた．血漿を還元処理したところ，全放射能の大部分が Total M11 として検出されたことから，エテルカルセチド由来の生体内変換物質は主として D-アミノ酸ペプチド骨格を保持した構造であることが示された．胆管カニューレ処置したラットの尿中には，エテルカルセチドが 34.9～36.8%と最も多く認められた．その他，M10 のアセチル化体（M3），構造不明の M2b，M1 などが認められた．尿を還元処理したところ，全放射能の大部分が Total M11 として検出されたことから，尿中に排泄された生体内変換物質は主として D-アミノ酸ペプチド骨格を保持した構造であることが示された．

表 2.6.4.5.5-1 ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したときの血漿及び尿中生体内変換物質組成

モデル	性	例数	投与量 (mg/kg)	試料	%放射活性						
					エテルカルセチド	SAPC	M1	M2a	M3, M2b	M10	M11
正常	雄	10	2.5	血漿	34.5	42.3	4.3	ND	ND	10.8	2.0
BDC	雄	4	1.84	尿	36.8	ND	8.13	5.23	11.4	1.63	<0.1
BDC	雌	4	1.84	尿	34.9	ND	8.72	4.31	10.6	0.89	<0.1
両腎摘	雄	6	2.5	血漿	24.3	18.7	17.8	ND	ND	19.9	5.8

BDC＝bile-duct cannulated, ND＝not determined.

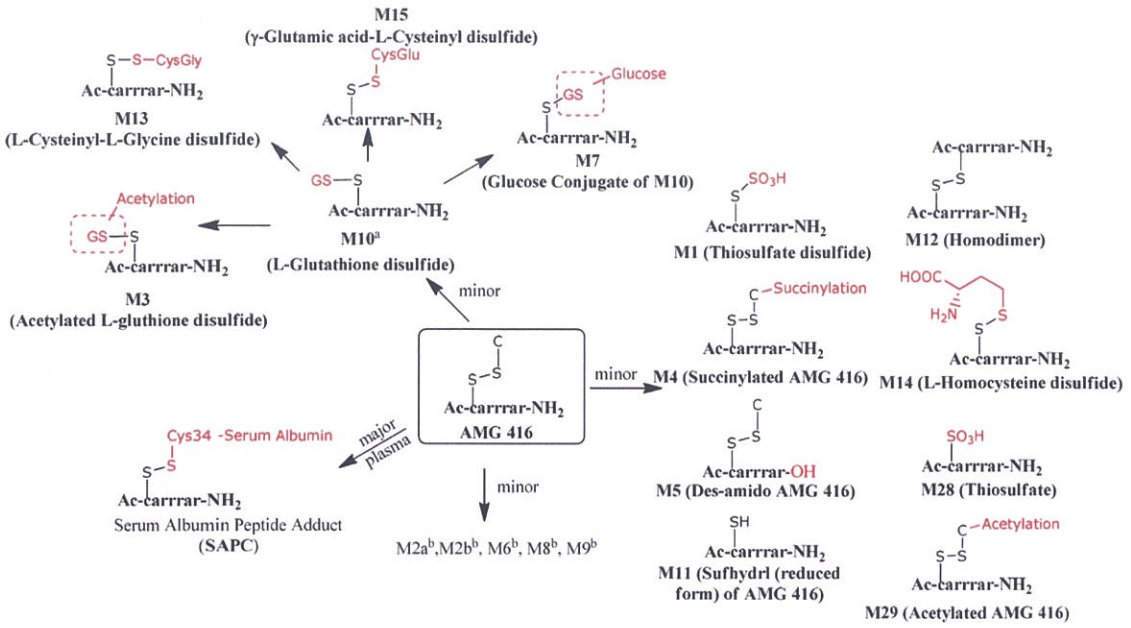


図 2.6.4.5.5-1　エテルカルセチド生体内変換物質プロファイル
AMG 416＝エテルカルセチド，a＝標品を用いて，構造同定した．b＝D-アミノ酸ペプチド体を保持した生体内変換物質であるが，構造の詳細は未確定である．

2.6.4.6　排泄

2.6.4.6.1　ラットにおける尿，胆汁，糞及び呼気中排泄

［評価資料：4.2.2.2-1］

胆管カニューレ処置した雌雄ラット（腎機能正常）に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 1.84 mg/kg 又は[^{14}C]Ala-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与し，尿，胆汁，糞中へ排泄された放射能を測定した．また，正常の雄ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチド又は[^{14}C]Ala-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与し，呼気に排泄された放射能を測定した．更に，両腎摘した雄ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与し，糞中へ排泄された放射能を測定した．以上の結果を表 2.6.4.6.1-1 に示した．

胆管カニューレ処置したラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチド又は[^{14}C]Ala-エテルカルセチドを単回静脈内投与したとき，投与後 72 時間までに投与放射能量の 76.6～83.8%が尿中に，0.28～0.64%が胆汁に，1.34～3.90%が糞中に排泄された．ケージ洗浄液と合わせて，放射能総回収率は 83.1～87.7%であり，放射能の排泄パターンは雌雄で同様であった．また，投与した 2 種の ^{14}C 標識化合物による差も認められなかった．正常ラットにおける投与後 24 時間までに呼気中に排泄された放射能は投与放射能の 1%未満であった．両腎摘ラットにおける投与後 48 時間までに糞中に排泄された放射能は投与放射能の 1.2%であった．以上から，ラットに投与された[^{14}C]エテルカルセチド由来放射能は主に尿中に排泄された．

表 2.6.4.6.1-1 ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを静脈内急速投与したときの尿，胆汁，糞及び呼気中放射能累積排泄率

モデル	性	例数	投与量 (mg/kg)	投与化合物	採取期間 (h)	累積排泄率（% of dose）						
						尿	胆汁	糞	呼気	洗浄液	消化管内容物	合計
BDC	雄	4	1.84	[^{14}C]Ac	0－72	83.8	0.52	1.34	NA	2.13	NA	87.7
BDC	雌	4	1.84	[^{14}C]Ac	0－72	76.6	0.28	3.90	NA	2.30	NA	83.1
BDC	雄	4	2.5	[^{14}C]Ala	0－72	77.3	0.64	3.79	NA	2.30	NA	84.1
正常	雄	1	2.5	[^{14}C]Ac	0－24	NA	NA	NA	0.19	NA	NA	0.19
正常	雄	1	2.5	[^{14}C]Ala	0－24	NA	NA	NA	0.03	NA	NA	0.03
両腎摘	雄	6	2.5	[^{14}C]Ac	0－48	NA	NA	1.20	NA	0.03	10.9	12.1

データは平均値で示した.
BDC＝bile-duct cannulated，NA＝not applicable，[^{14}C]Ac＝[^{14}C]Ac-エテルカルセチド，[^{14}C]Ala＝[^{14}C]Ala-エテルカルセチド.

2.6.4.6.2 ラット乳汁排泄

［評価資料：4.2.2.5-1］

分娩後 11 日の授乳中雌ラット（3 例／群）に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中及び乳汁中放射能濃度推移を図 2.6.4.6.2-1 に示した.

乳汁中放射能濃度は投与後 8 時間で Cmax を示し，その時点の濃度は血漿中放射能濃度の 3.31 倍であった．その後，乳汁中及び血漿中放射能濃度は継時的に減少し，投与後 24 時間以降の乳汁／血漿中放射能濃度比は 1.06～1.44 倍であった．以上から，エテルカルセチド由来物質が乳汁中に排泄されることが示された.

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エテルカルセチド塩酸塩

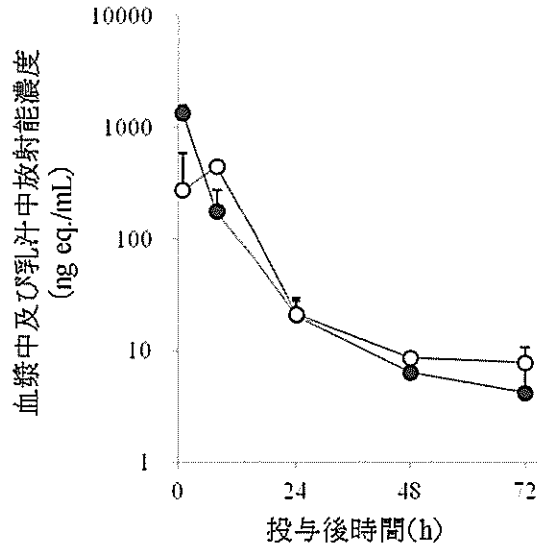


図 2.6.4.6.2-1　授乳中雌ラットに[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを 2.5 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの血漿中及び乳汁中放射能濃度推移
データは平均値＋標準偏差で示した.
●＝血漿，○＝乳汁.

2.6.4.7　　薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1　　CYP 阻害作用

［評価資料：5.3.2.2-3，5.3.2.2-4］

ヒト肝ミクロソームでの CYP 分子種の酵素活性に対するエテルカルセチド（0.2，1 及び 5 μg/mL）の直接阻害作用，及びエテルカルセチド（5 μmol/L）の時間依存的阻害作用を検討した.

エテルカルセチドは最大濃度である 5 μg/mL においても各 CYP 分子種（CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4）に対する阻害率は−17～3%であり，エテルカルセチドは各 CYP 分子種に対して直接阻害作用を示さなかった．また，ヒト肝ミクロソーム中での各 CYP 分子種（CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A）に対して，5 μmol/L（5.24 μg/mL）のエテルカルセチドは時間依存的阻害作用を示さなかった.

2.6.4.7.2　　CYP 誘導作用

［評価資料：5.3.2.2-5］

ヒト肝細胞をエテルカルセチド存在下で培養し，各 CYP 分子種の酵素活性より各 CYP 分子種の酵素活性に対するエテルカルセチドの誘導作用を検討した．培地交換は毎日実施し，エテルカルセチドは 3 濃度（1 日目は 0.2，1 及び 5 μg/mL，2 及び 3 日目はその 2 倍濃度にあたる 0.4，2 及び 10 μg/mL）で評価した.

エテルカルセチドは最大濃度の 10μg/mL においても，各 CYP 分子種（CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4）に対して誘導作用を示さなかった．

2.6.4.7.3 トランスポーターに対する基質性

［評価資料：5.3.2.3-1］

ヒトのトランスポーター発現細胞（P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1，OAT3，PEPT1 又は PEPT2）を用いた[^{14}C]Ac-エテルカルセチドの経細胞輸送又は細胞内取り込み試験により，これらトランスポーターに対する基質性を検討した．

[^{14}C]Ac-エテルカルセチドは経細胞輸送又は細胞内取り込みされなかったことから，エテルカルセチドはこれらトランスポーターの基質ではなかった．

2.6.4.7.4 トランスポーターに対する阻害作用

［評価資料：5.3.2.3-1，5.3.2.3-2］

ヒトのトランスポーター発現細胞（P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 又は OAT3）及び発現膜ベシクル（BSEP）を用いて，典型的基質の経細胞輸送又は取り込みに対するエテルカルセチドの阻害作用を検討した．

いずれのトランスポーターに対しても，エテルカルセチドは 50μmol/L（52.4μg/mL）まで阻害作用を示さなかった．

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 生体内変換物質のジスルフィド結合の可逆性

［評価資料：5.3.2.2-2］

エテルカルセチドは，分子内の L-Cys と生体内 SH 基含有物質との非酵素的なジスルフィド置換反応により，ジスルフィド結合を有する生体内物質へと変換することが示されている（2.6.4.5）．そこで，生体内変換物質のジスルフィド結合の形成及び解離に関する速度論的解析を実施した．健康成人（3 例）のプール血液にエテルカルセチド（5μmol/L）又は SAPC（2.5μmol/L）を添加して，37℃でインキュベーションした．経時的に血液から血漿を調製し，血漿中エテルカルセチド，SAPC，SAPC を含まない生体内変換物質（M10，M11，M12 及び M13），及び Total M11 濃度を測定した．各物質の濃度推移を図 2.6.4.8.1-1 に示した．

エテルカルセチドを添加したとき及び SAPC を添加したときのジスルフィド交換反応によって生成した物質濃度推移を速度論的に解析した．その結果，エテルカルセチドから SAPC が生成する速度定数は，その逆反応の 18.5 倍大きかった．エテルカルセチドから生体

内変換物質（SAPC を除く）が生成する速度定数は，その逆反応の 2.1 倍大きかった．エテルカルセチドから SAPC を含む生体内変換物質を生成する速度定数は，その逆反応の 10.6 倍大きかった．すなわち，エテルカルセチドと SAPC を含む生体内変換物質との間に起きるジスルフィド交換反応は可逆的であり，生体内変換物質を生成する速度定数はエテルカルセチドを生成する速度定数より大きいことが示された．エテルカルセチドの生体内変換メカニズムの概念図を図 2.6.4.8.1-2 に示した．

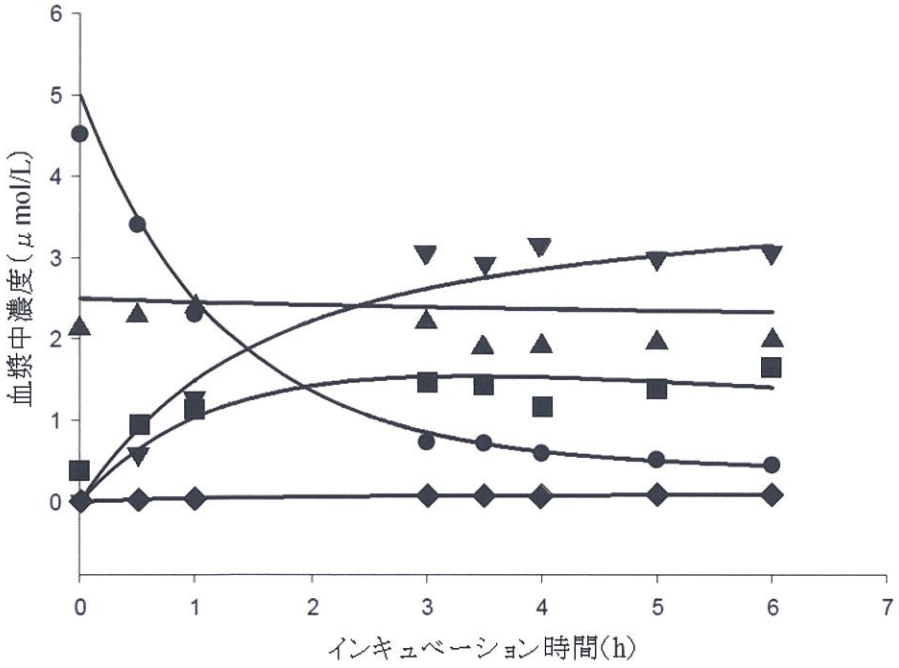


図 2.6.4.8.1-1　ヒト血液中にエテルカルセチド及び SAPC を添加したときの生体内変換物質濃度推移

エテルカルセチドを添加したときのエテルカルセチド濃度（●），SAPC（▼）及び SAPC を除く生体内変換物質（■）；SAPC を添加したときの SAPC 濃度（▲）及びエテルカルセチド濃度（◆）．

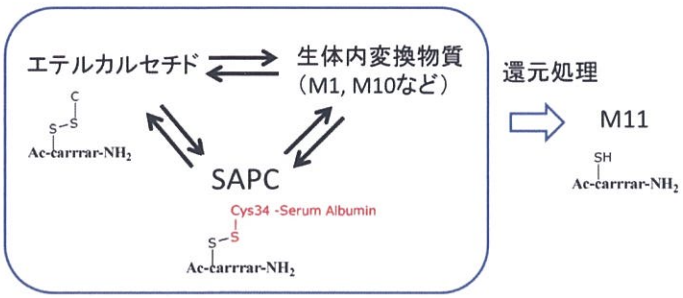


図 2.6.4.8.1-2　エテルカルセチドの生体内変換メカニズムの概念図

2.6.4.8.2 *In vitro* 透析

［評価資料：4.2.2.7-1］

中空糸型透析器（Optiflux® F160NR，high-flux semi-permeable polysulfone membrane，10 kDa cutoff）を用いて，透析液又はウシ血液中[^{14}C]Ac-エテルカルセチドに対する *in vitro* 透析試験を実施し，その結果を表 2.6.4.8.2-1 に示した．クレアチニン，尿素及びビタミン B_{12} を *in vitro* 透析試験における陽性対照物質として用いた．

透析液に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加したときの放射能及びエテルカルセチドの血液透析クリアランス（CL_{HD}），透析開始から 15 分間の除去率及び抽出率は，陽性対照物質と同様であり良好であった．また，血液透析装置（チューブを含む）に対する放射能の吸着は認められなかった．ウシ血液に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加して，添加直後に血液透析を開始したときの放射能及びエテルカルセチドの *in vitro* 透析パラメータは，透析液に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加したときのパラメータより小さくなる傾向が認められたものの，陽性対照と同程度であった．一方，[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加したウシ血液をプレインキュベーション（37℃，3 時間）してから血液透析を開始した結果，総放射能の CL_{HD} はプレインキュベーションなしの約 1/3 に低下した．

表 2.6.4.8.2-1　中空糸型透析器を用いたときの *in vitro* 透析パラメータ

被験物質を添加する試料	プレインキュベーション	測定対象	CL_{HD} (mL/min)	15 分間の血液透析除去率 (%)	抽出率 (%)
透析液	なし	総放射能	37	70	74
		エテルカルセチド	57	73	114
		クレアチニン	50	72	100
		尿素	47	76	94
		ビタミン B_{12}	45	74	90
ウシ血液	なし	総放射能	21	59	42
		エテルカルセチド	20	57	40
		クレアチニン	31	60	62
		尿素	30	62	60
		ビタミン B_{12}	27	56	54
ウシ血液	あり	総放射能	8	23	16
		エテルカルセチド	NC	NC	NC

CL_{HD}＝（透析開始直後の総量）／（血液チャンバー中測定対象の AUCinf）
血液透析除去率（%）＝｛（透析開始直後の総量）－（透析開始後 15 分の総量）｝／（透析開始直後の総量）×100
抽出率（%）＝CL_{HD}／Q_B（50 mL/min，血液チャンバーにおける流速）×100
クレアチニン，尿素，ビタミン B_{12}＝血液透析の陽性対照，NC＝not calculated.

2.6.4.9 考察及び結論

ラット及びイヌにエテルカルセチドを静脈内急速投与あるいは静脈内持続投与したとき，血漿中エテルカルセチド濃度は，すべての動物種，用法において概ね投与量に比例して増加した．ラット，イヌとも反復投与による顕著な蓄積は認められず，性差もほとんど認められなかった．ラットの全身 CL は腎機能の低下に応じて低下したことから，エテルカルセチドの消失には腎 CL の寄与が大きいと推察された．また，両腎摘ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを静脈内急速投与したとき，血漿中放射能の T1/2 は正常ラットに比べて約 4 倍遅延し，生体内変換物質の消失もエテルカルセチドと同様に腎が重要であると考えられた．

ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを静脈内投与したとき，血漿を含む多くの組織で投与後 1 時間までに Cmax を示し，組織に速やかに分布した．血球，中枢組織及び生殖器に対する放射能分布は低かった．血漿と比較して高濃度の放射能が分布した組織（骨端線，軟骨，腎臓など），及び放射能の T1/2 が血漿より長かった組織（ハーダー氏腺，甲状腺，骨髄など）が一部認められたが，これらの組織に毒性所見は認められていない［2.6.6.3］．有色ラットの眼球中放射能濃度の T1/2 は白色ラットより長かったが，有色ラットの有色皮膚と白色皮膚の T1/2 は同程度であり，メラニンに対する親和性は強くないと考えられた．

エテルカルセチドの非共有結合様式の血漿蛋白結合率は，ラット，イヌ及びヒトともに低く，蛋白結合の置換に基づく薬物相互作用はないと考えられた．

エテルカルセチドをラット及びヒトの血液中でインキュベーションすると，その多くが D-アミノ酸ペプチド体と血清アルブミンとの結合体である SAPC に変換した．その他，エテルカルセチドの D-Cys の SH 基部位が修飾された硫酸抱合体（M1）やグルタチオン抱合体（M10）が認められた．SAPC の結合様式は D-アミノ酸ペプチド体の D-Cys の SH 基と血清アルブミンの 34 位の L-Cys の SH 基によるジスルフィド結合であった．更に，SAPC はヒトの血液中の L-Cys とのジスルフィド交換反応によりエテルカルセチドに可逆的に変換すると考えられた [3]．すなわち，エテルカルセチドと SAPC は可逆的な変換により血液中で一定の平衡状態を保っていると推察され，血液中に多く存在する SAPC はエテルカルセチドを体内にプールする役割を担っていると考えられた．日本人 SHPT 患者にエテルカルセチドを 5 mg で反復静脈内投与したとき，定常状態の血漿中エテルカルセチドの Cmax は 356 ng/mL であることから［表 2.7.2.2-4］，最大投与量 15 mg を反復静脈内投与したときのエテルカルセチドの Cmax は約 1.1 μg/mL（約 1 μmol/L）と推定された．一方，ヒト血漿中にはエテルカルセチドが約 17%，SAPC が約 73%存在した［2.7.2.2.3.4］．したがって，日本人 SHPT 患者にエテルカルセチドを 15 mg で反復静脈内投与したときの SAPC の Cmax は約 4.4 μmol/L と概算された．SAPC 濃度は還元型血清アルブミン濃度（約 400 μmol/L）[4] の約

1/100 であり，血清アルブミンに対する D-アミノ酸ペプチド体の結合は飽和しないことから，SAPC において蛋白結合の置換に基づく薬物相互作用はないと考えられた．

ラット，イヌ及びヒトの肝由来試料中において，エテルカルセチドは減少した．また，NADPH 非存在下，CYP 阻害剤共存下又は熱処理により不活化した肝由来試料においてもエテルカルセチドは同様に減少したことから，エテルカルセチドの代謝に CYP などの代謝酵素は関与せず，エテルカルセチドは非酵素的に生体内変換されると考えられた．したがって，エテルカルセチドの薬物動態は CYP の阻害薬又は誘導薬との併用による影響を受けないと考えられた．

ラット及びヒトの肝及び腎試料中で[^{14}C]エテルカルセチドをインキュベーションしたとき，多く認められた生体内変換物質はグルタチオン抱合体（M10），L-Cys 脱離体（M11），M11 の二量体（M12）などであった．ヒト試料中で検出された生体内変換物質はラットでも認められ，ヒト特異的な生体内変換物質はなかった．

ラットに[^{14}C]エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したときの血漿中には，主にエテルカルセチド，SAPC，M10 及び M1 が認められ，その代謝物（生体内変換物質）組成は *in vitro* 代謝試験の結果と類似していた．*In vitro* 及び *in vivo* 試料を還元処理すると，生体内変換物質の大部分は M11 に集約される（Total M11）ことから，生体内変換物質は D-アミノ酸ペプチド骨格を保持した構造と推察された．血液透析下の CKD 患者を対象としたマスバランス試験で採取した血漿中にはエテルカルセチド及び SAPC が，透析液中にはエテルカルセチド，M1，M10 及び M13 などが主に認められた［5.3.3.2-2］．したがって，エテルカルセチドの生体内変換メカニズムに種差はないと考えられた．

胆管カニューレ処置したラット（腎機能正常）に[^{14}C]エテルカルセチドを単回静脈内急速投与したとき，投与放射能の約 80%が尿中に排泄された．一方，CKD モデルである両腎摘ラットに投与された放射能は体内からほとんど排泄されなかった．したがって，エテルカルセチド及びその生体内変換物質の消失には腎の寄与が大きいことが示唆された．この結果は，正常ラットと両腎摘ラットにおける血漿中濃度推移の差とも一致する結果であった．

ウシ血液を用いた *in vitro* 透析試験において，血漿蛋白との非結合型物質は血液透析によって速やかに除去されたが，SAPC（約 67 kDa）は透析膜の分子量カットオフ値（10 kDa）より大きいため，SAPC の生成に伴って血液透析クリアランスが低下したと考えられた．この結果から，CKD 患者では血液透析により血漿中エテルカルセチド及び生体内変換物質が除去される，及び SAPC は非結合型物質に変換しながら徐々に体外に除去されると推察された．

日本人 SHPT 患者にエテルカルセチドを 15 mg で反復静脈内投与したときの定常状態の Cmax（推定値）は約 1.1 μg/mL であった．エテルカルセチドは CYP 分子種に対して 5

μg/mL まで阻害作用を示さず，更に 5μmol/L（5.24μg/mL）まで時間依存的阻害作用を示さなかった．また，エテルカルセチドは CYP 分子種に対して 10μg/mL まで誘導作用も示さなかった．このことから，エテルカルセチドは CYP 阻害あるいは誘導によって，薬物相互作用を与える可能性はないと考えられた．エテルカルセチドはトランスポーターの基質ではなく，更にトランスポーターに対して 50μmol/L（52.4μg/mL）まで阻害作用を示さなかった．このことから，エテルカルセチドはトランスポーターを介した薬物相互作用を与える可能性はないと考えられた．

2.6.4.10　　図表

図表は本文中に記載した．

2.6.4.11　　参考文献

1）　Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, FDA, May 2001

2）　Nagy P. Kinetics and Mechanisms of Thiol-Disulfide Exchange Covering Direct Substitution and Thiol Oxidation-Mediated Pathways. Antioxid Redox Signal. 2013;18:1623-41.

3）　Himmelfarb J, McMenamin E, McMonagle E. Plasma aminothiol oxidation in chronic hemodialysis patients. Kidney Int. 2002;61:705-16.

4）　Soejima A, Matsuzawa N, Hayashi T, Kimura R, Ootsuka T, Fukuoka K, et al. Alteration of Redox State of Human Serum Albumin before and after Hemodialysis. Blood Purif. 2004;22:525-9.

2.6.5 薬物動態試験の概要表

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.5 薬物動態試験の概要表 4
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 4
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 6
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 7
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 10
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 21
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 31
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 32
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 34
2.6.5.9 薬物動態試験：*In vivo* における代謝 35
2.6.5.10 薬物動態試験：*In vitro* における代謝 37
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 41
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 42
2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄 45
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 47
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 48
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 51

2.6.5 薬物動態試験の概要表
エテルカルセチド塩酸塩

略号一覧

略号	略さない表現又は説明
[^{14}C]エテルカルセチド	^{14}C 標識したエテルカルセチド
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	投与後無限大時間まで外挿した AUC
AUClast	投与後定量可能最終時点までの AUC
BCRP	Breast cancer resistance protein
BSEP	Bile salt export pump
CKD	慢性腎臓病
CL	全身クリアランス
Cxh	投与後 x 時間における濃度
Cxmin	投与後 x 分における濃度
CYP	チトクロム P450
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型質量分析
LSC	液体シンチレーションカウンター
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
PBS	リン酸緩衝生理食塩液
PEPT	Peptide transporter
P-gp	P-糖蛋白質
S9	組織ホモジネート 9000g 上清
SAPC	エテルカルセチドの D-アミノ酸ペプチド体と血清アルブミンとの複合体（Serum albumin peptide conjugate）
SD	Sprague Dawley
T1/2	消失半減期
Tmax	最高濃度到達時間
Vss	定常状態での分布容積
Vz	消失相での分布容積

2.6.5 薬物動態試験の概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

被験物質：エテルカルセチド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
吸収					
膜透過	LLC-PK1 細胞	*In vitro*	Amgen, Inc.	118052	[5.3.2.3-1]
単回投与	雄 SD 系ラット	静脈内急速	Amgen, Inc.	118436	[4.2.2.2-1]
単回投与	雄 SD 系ラット	静脈内急速	KAI Pharmaceuticals, Inc.	4169-NC-114	[4.2.2.2-2]
単回投与	雄ビーグル犬	静脈内急速	[redacted]	4169-NC-102	[4.2.1.3-1]
単回投与	雄ビーグル犬	静脈内持続		4169-NC-103	[4.2.1.1-6]
反復投与	雌雄 SD 系ラット	静脈内急速		4169-NC-107	[4.2.3.2-2]
反復投与	雌雄 SD 系ラット	静脈内急速		119037	[4.2.3.2-4]
反復投与	雌雄ビーグル犬	静脈内急速		4169-NC-106	[4.2.3.2-6]
反復投与	雌雄ビーグル犬	静脈内急速		119036	[4.2.3.2-7]
反復投与	雌雄ビーグル犬	静脈内急速		4169-NC-132	[4.2.3.2-8]
分布					
組織分布（全身，単回投与）	雌雄 SD 系ラット，雄 Long-Evans 系ラット	静脈内急速	[redacted]	117581	[4.2.2.3-1]
血漿蛋白結合	ラット，イヌ及びヒト（健康成人，CKD）血液	*In vitro*	Amgen, Inc.	119313	[4.2.2.3-2]
血球移行	ラット及びヒト（健康成人，CKD）血液	*In vitro*	Amgen, Inc.	118358	[4.2.2.3-3]
胎盤通過	妊娠 SD 系ラット	静脈内急速	[redacted]	116847	[4.2.3.5.3-1]

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
代謝					
In vitro 代謝	ヒト肝ミクロソーム，S9	*In vitro*	Amgen, Inc.	119917	[5.3.2.2-1]
In vitro 代謝	ラット，イヌ及びヒト肝ミクロソーム，S9，サイトゾール	*In vitro*	KAI Pharmaceuticals, Inc.	4169-NC-119	[4.2.2.4-1]
生体内変換物質組成，SAPC 構造解析	ラット及びヒト（健康成人）の肝細胞，肝 S9，腎 S9，血液，ヒト（CKD）の血液	*In vitro*	Amgen, Inc.	118358	[4.2.2.3-3]
単回投与時の生体内変換物質組成	雌雄 SD 系ラット	静脈内急速	Amgen, Inc.	118436	[4.2.2.2-1]
排泄					
排泄（尿，胆汁，糞及び呼気）	雌雄 SD 系ラット	静脈内急速	Amgen, Inc.	118436	[4.2.2.2-1]
乳汁排泄（単回投与）	授乳中雌ラット	静脈内急速	小野薬品工業株式会社	Y[redacted]AG004	[4.2.2.5-1]
薬物動態学的薬物相互作用					
CYP 直接阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	[redacted]	4169-NC-124	[5.3.2.2-3]
CYP 時間依存的阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	Amgen, Inc.	119314	[5.3.2.2-4]
CYP 誘導	ヒト肝細胞	*In vitro*	[redacted]	4169-NC-125	[5.3.2.2-5]
トランスポーターに対する基質性及び阻害作用	ヒトトランスポーター発現細胞	*In vitro*	Amgen, Inc.	118052	[5.3.2.3-1]
BSEP に対する阻害作用	ヒト BSEP 発現膜ベシクル	*In vitro*	Amgen, Inc.	119513	[5.3.2.3-2]
その他					
生体内変換反応の可逆性	ヒト血液	*In vitro*	Amgen, Inc.	119414	[5.3.2.2-2]
In vitro 透析	ウシ血液	*In vitro*	Amgen, Inc.	119413	[4.2.2.7-1]

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

動物種	ラット	イヌ	イヌ	マウス	ウサギ
試験番号	4169-NC-110	4169-NC-109	119079	116950	119174
血漿への酸添加	添加 [a]	非添加	添加 [b]	添加 [c]	添加 [b]
内標準物質			KAI-2129		
前処理方法	蛋白沈殿	蛋白沈殿	蛋白沈殿	固相抽出	蛋白沈殿
検量線範囲（ng/mL）	1.09～545	1.09～545	1.00～500	1.00～500	2.00～1000
LLOQ（ng/mL）	1.09	1.09	1.00	1.00	2.00
希釈を考慮したときの ULOQ（ng/mL）	5450	5450	5000	5000	10000
精度			≦15%（LLOQ については 20%）		
−20℃長期保存安定性（day）	48	NA	130	321	41
−70℃長期保存安定性（day）	152	7	203	321	41
凍結融解における保存安定性 [d]	5	4	5	5	5
短期保存安定性（室温又は冷蔵）（h）	24（on ice）	4（on ice）	24	24	24
再注入時の安定性（h）	54	110	99	144	151
CTD における記載箇所	[4.2.2.1-1]	[4.2.2.1-2]	[4.2.2.1-3]	[4.2.2.1-4]	[4.2.2.1-5]

LLOQ＝定量下限濃度，ULOQ＝定量上限濃度，RT＝室温，NA＝not applicable，a＝1.2%になるようにギ酸／水混液（50：50）を添加，b＝2%になるようにギ酸／水混液（50：50）を添加，c＝2%になるようにギ酸を添加，d＝−70℃ to RT.

追記：（1）血漿試料に酸を添加することによりエテルカルセチドの安定性が向上した．安定性の向上は，チオレートアニオン形成の減少と，それに続くチオールジスルフィド置換反応の減少のためと考えられた．（2）試験施設情報は個々の報告書に記載した．（3）分析法とバリデーションの報告書にはヒト血漿中エテルカルセチドと Total M11 が分析可能であることが記載されている．詳細は臨床での分析法の概観［2.7.1］を参照．（4）非 GLP 適用の薬物動態試験で用いたエテルカルセチドと Total M11 の測定法は個々の報告書に記載した．

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3.1 ラット（非標識体）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統 試験番号 GLP 適用	ラット／SD 4169-NC-114 不適		ラット／SD 4169-NC-114 不適		ラット／SD 4169-NC-114 不適	
腎機能 性別（雄／雌）／動物数 給餌 媒体／投与形態 投与方法 定量（対象）物質 定量法 試料	正常 雄／4 非絶食 生理食塩液／溶液 静脈内急速 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿		5/6 腎摘 雄／4 非絶食 生理食塩液／溶液 静脈内急速 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿		両腎摘 雄／3 非絶食 生理食塩液／溶液 静脈内急速 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿	
PK パラメータ： 投与量（mg/kg）	0.3	1	0.3	1	0.3	1
C5min（ng/mL）	552±20	1662±94	536±53	1560±85	537±53	1428±99
AUClast（ng·h/mL）	1258±62	3738±165	1473±170	5121±370	3895±380	11412±578
CL（mL/h/kg）	238	268	204	195	77	88
Vss（mL/kg）	444	512	438	528	640	735
T1/2（h）	1.28	1.33	1.54	2.16	6.70	6.73
CTD における記載箇所	[4.2.2.2-2]		[4.2.2.2-2]		[4.2.2.2-2]	

C5min と AUClast は平均値±標準誤差で示した．CL，Vss 及び T1/2 は平均血漿中エテルカルセチド濃度を用いて算出した．追記：（1）健康成人及び血液透析を受けている CKD 患者における血漿中濃度推移は［2.7.2.2.2］及び［2.7.2.2.3］に記載した．

2.6.5.3.2 ラット（放射性標識体）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

動物種／系統	ラット／SD	ラット／SD	ラット／SD
試験番号	118436	118436	118436
GLP 適用	不適	不適	不適
腎機能	正常	両腎摘	正常
性別（雄／雌）／動物数	雄／10	雄／6	雄／2
給餌	非絶食	非絶食	非絶食
媒体／投与形態	PBS／溶液	PBS／溶液	PBS／溶液
投与方法	静脈内急速	静脈内急速	静脈内急速
定量（対象）物質	[^{14}C]エテルカルセチド[a]	[^{14}C]エテルカルセチド[a]	[^{14}C]エテルカルセチド[a]
^{14}C 標識位置[b]	Ac	Ac	Ala
定量法	LSC	LSC	LSC
試料	血漿	血漿	血漿
PK パラメータ：			
投与量（mg/kg）	2.5	2.5	2.5
C5min（ng eq./mL）	7563	11303	NA
AUClast（ng eq.·h/mL）	7419	134451	9283
T1/2（h）	5.78[c]	23.1[c]	4.95[c]
CTD における記載箇所	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]

データは平均値で示した.

NA＝not applicable，a＝すべての[^{14}C]エテルカルセチド由来放射能，b＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識，Ala：D-システインに隣接する D-アラニンを ^{14}C 標識，c＝消失相の評価に十分な採血時点が得られなかったため参考値として記載した.

追記（1）T1/2 は放射能の消失速度定数 λ より ln2/λ で求めた．（2）健康成人及び血液透析を受けている CKD 患者における血漿中濃度推移は［2.7.2.2.2］及び［2.7.2.2.3］に記載した.

2.6.5.3.3　　イヌ

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統 試験番号 GLP 適用	イヌ／ビーグル 4169-NC-102 不適	イヌ／ビーグル 4169-NC-103 不適		
腎機能 性別（雄／雌）／動物数 給餌 媒体／投与形態 投与方法 定量（対象）物質 定量法 試料	正常 雄／4 非絶食 生理食塩液／溶液[a] 静脈内急速 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿	正常 雄／4 非絶食 20 mmol/L コハク酸含有 0.81%食塩溶液（pH 4.5±1）／溶液 静脈内持続[b] エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿		
PK パラメータ： 投与量（mg/kg）	1.5	0.024 (1 μg/kg/h)	0.192 (8 μg/kg/h)	0.48 (20 μg/kg/h)
C3h（ng/mL）	315±53	NA	NA	NA
C24h（ng/mL）	NA	2.8±0.2	21.5±6.6	52.8±7.6
AUClast（ng·h/mL）	3549±565	63.0±8.5	457.0±128.4	1207.2±159.3
CL（mL/h/kg）	422±70	378.8±45.2	432.6±99.1	392.6±48.5
Vss（mL/kg）	3719±949	NA	NA	NA
Vz（mL/kg）	NA	1429.3±167.2[c]	4037.9±301.9	4609.7±932.0
T1/2（h）	10.2±1	2.6±0.2[c]	5.8±0.6	8.2±1.4
CTD における記載箇所	[4.2.1.3-1]	[4.2.1.1-6]		

データは平均値±標準偏差で示した．
NA＝not applicable，a＝媒体の組成は 10 mmol/L コハク酸，2%マンニトール，1%グリシン及び 1%トレハロース，（pH4.5±0.1），b＝24 時間持続投与，c＝消失相の評価に十分な採血時点が得られなかったため参考値として記載した．

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4.1 ラット（28 日）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統 試験番号 GLP 適用	ラット／SD 4169-NC-107 適		ラット／SD 4169-NC-107 適		ラット／SD 4169-NC-107 適		ラット／SD 4169-NC-107 適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／3（1 日目）， 3（28 日目）		雌／3（1 日目）， 3（28 日目）		雄／3（1 日目）， 3（28 日目）		雌／3（1 日目）， 3（28 日目）	
給餌	非絶食		非絶食		非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	0.3		0.3		1		1	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿		血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目	28 日目	1 日目	28 日目	1 日目	28 日目	1 日目	28 日目
C5min（ng/mL）	368±5.86	462±34.4	480±19.3	529±60.5	1010±95.9	1070±507	1550±60.1	1690±31.8
AUClast（ng·h/mL）	476±6.05	582±39.4	617±39.4	646±65.9	1410±99.1	1570±567	2010±109	2140±55.4
AUCinf（ng·h/mL）	480	588	623	651	1430	1600	2030	2160
T1/2（h）	1.53	1.62	1.59	1.59	1.60	1.58	1.59	1.75
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-2]		[4.2.3.2-2]		[4.2.3.2-2]		[4.2.3.2-2]	

C5min 及び AUClast は平均値±標準誤差で示した．AUCinf 及び T1/2 は平均血漿中エテルカルセチド濃度を用いて算出した．
a＝媒体の組成は 0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン及び 1%D-(+)-トレハロース二水和物，（pH4.5±0.1）．

2.6.5.4.1　　ラット（28 日）（続き）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	ラット／SD		ラット／SD	
試験番号	4169-NC-107		4169-NC-107	
GLP 適用	適		適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／3（1 日目），3（28 日目）		雌／3（1 日目），3（28 日目）	
給餌	非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	3		3	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目	28 日目	1 日目	28 日目
C5min（ng/mL）	3400±363	4900±214	3270±1650	6260±695
AUClast（ng·h/mL）	4510±365	6170±264	4720±1540	7810±774
AUCinf（ng·h/mL）	4580	6240	4810	7910
T1/2（h）	1.77	1.71	1.75	1.78
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-2]		[4.2.3.2-2]	

C5min 及び AUClast は平均値±標準誤差で示し，AUCinf 及び T1/2 は平均値で示した．
a＝媒体の組成は 0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン及び 1%D-(+)-トレハロース二水和物，（pH4.5±0.1）．

2.6.5.4.2　　ラット（6カ月）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	ラット／SD		ラット／SD		ラット／SD		ラット／SD	
試験番号	119037		119037		119037		119037	
GLP 適用	適		適		適		適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／6 [a]		雌／6 [a]		雄／6 [a]		雌／6 [a]	
給餌	非絶食		非絶食		非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水 [b]／溶液		注射用水 [b]／溶液		注射用水 [b]／溶液		注射用水 [b]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	0.3		0.3		1		1	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿		血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目	182 日目	1 日目	182 日目	1 日目	182 日目	1 日目	182 日目
C5min（ng/mL）	386	823	425	714	1380	2840	1280	2240
AUClast（ng·h/mL）	492	1070	528	914	1780	3830	1730	3060
AUCinf（ng·h/mL）	498	NC	531	NC	1800	NC	1750	NC
T1/2（h）	1.67	1.79	1.48	1.79	1.66	5.16	1.58	4.87
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-4]		[4.2.3.2-4]		[4.2.3.2-4]		[4.2.3.2-4]	

NC＝not calculated，a＝各時点3例から採血し，平均血漿中濃度を用いてPKパラメータを算出した．b＝媒体の組成は0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース及び0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1）．

2.6.5.4.2　　ラット（6カ月）（続き）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	ラット／SD		ラット／SD	
試験番号	119037		119037	
GLP 適用	適		適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／6 [a]		雌／6 [a]	
給餌	非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水 [b]／溶液		注射用水 [b]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	3		3	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目	182 日目	1 日目	182 日目
C5min（ng/mL）	3050	7440	4470	6240
AUClast（ng·h/mL）	4260	9970	5800	8630
AUCinf（ng·h/mL）	4280	NC	5820	NC
T1/2（h）	4.12	5.41	4.27	5.12
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-4]		[4.2.3.2-4]	

NC＝not calculated，a＝各時点3例から採血し，平均血漿中濃度を用いてPKパラメータを算出した．b＝媒体の組成は0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース及び0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1）．

2.6.5.4.3　　イヌ（27 日）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル	
試験番号	4169-NC-106		4169-NC-106		4169-NC-106		4169-NC-106	
GLP 適用	適		適		適		適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／3		雌／3		雄／3		雌／3	
給餌	非絶食		非絶食		非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	0.1		0.1		0.3		0.3	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿		血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目	27 日目	1 日目	27 日目	1 日目	27 日目	1 日目	27 日目
C5min（ng/mL）	209±15.3	222±5.00	183±26.9	219±27.5	516±37.3	491±67.5	543±50.6	686±76.5
AUClast（ng·h/mL）	259±17.4	292±8.34	243±33.9	288±28.3	699±37.7	810±48.7	721±126	894±117
AUCinf（ng·h/mL）	270±26.4	305±8.93	249±41.0	301±30.3	730±43.0	854±48.9	755±140	943±127
T1/2（h）	6.88±2.33	7.17±0.536	5.49±2.07	7.09±0.133	6.85±0.179	7.33±0.510	7.19±0.905	7.54±0.378
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-6]		[4.2.3.2-6]		[4.2.3.2-6]		[4.2.3.2-6]	

データは平均値±標準偏差で示した．
a＝媒体の組成は 0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%マンニトール，1%グリシン及び 1%トレハロース，（pH4.5±0.1）．

2.6.5.4.3　　イヌ（27 日）（続き）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル	
試験番号	4169-NC-106		4169-NC-106	
GLP 適用	適		適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／5		雌／5	
給餌	非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	1.5		1.5	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目	27 日目	1 日目	27 日目
C5min（ng/mL）	3210±451	3080±444	3050±236	3500±739
AUClast（ng·h/mL）	4250±751	4540±1120	3820±219	5020±527
AUCinf（ng·h/mL）	4450±824	4790±1180	3950±223	5360±579
T1/2（h）	6.81±0.569	7.67±0.280	6.24±0.428	8.13±0.653
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-6]		[4.2.3.2-6]	

データは平均値±標準偏差で示した．

a＝媒体の組成は 0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%マンニトール，1%グリシン及び 1%トレハロース，（pH4.5±0.1）．

2.6.5.4.4　　イヌ（6カ月）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル	
試験番号	119036		119036		119036		119036	
GLP 適用	適		適		適		適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／4		雌／4		雄／4		雌／4	
給餌	非絶食		非絶食		非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	0.2		0.2		0.5		0.5	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿		血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目[b]	181 日目	1 日目	181 日目	1 日目	181 日目	1 日目	181 日目
C5min（ng/mL）	480±57.0	529±55.2	458±52.9	430±55.6	1240±123	1400±182	1180±75.1	1060±149
AUClast（ng·h/mL）	524±44.8	614±94.0	570±40.9	529±60.3	1400±79.0	1590±224	1470±123	1390±165
AUCinf（ng·h/mL）	540±49.5	NC	591±42.5	NC	1450±86.4	NC	1530±135	NC
T1/2（h）	6.04±0.775	8.42±1.26	6.37±0.573	7.61±0.996	6.35±0.382	8.86±0.976	6.41±0.603	8.60±0.482
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-7]		[4.2.3.2-7]		[4.2.3.2-7]		[4.2.3.2-7]	

データは平均値±標準偏差で示した．
NC＝not calculated，a＝媒体の組成は 0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース二水和物及び 0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1），b＝3 例．

2.6.5.4.4　　イヌ（6カ月）（続き）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	イヌ／ビーグル		イヌ／ビーグル	
試験番号	119036		119036	
GLP 適用	適		適	
性別（雄／雌）／動物数	雄／6		雌／6	
給餌	非絶食		非絶食	
媒体／投与形態	注射用水[a]／溶液		注射用水[a]／溶液	
投与方法	静脈内急速		静脈内急速	
投与量（mg/kg）	0.9		0.9	
定量（対象）物質	エテルカルセチド		エテルカルセチド	
定量法	LC/MS/MS		LC/MS/MS	
試料	血漿		血漿	
PK パラメータ：	1 日目	181 日目	1 日目[b]	181 日目
C5min（ng/mL）	2030±123	1830±687	2300±260	2100±193
AUClast（ng·h/mL）	2410±207	2160±763	2660±293	2670±230
AUCinf（ng·h/mL）	2510±223	NC	2760±321	NC
T1/2（h）	6.96±0.633	8.41±0.446	6.84±0.701	7.63±0.872
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-7]		[4.2.3.2-7]	

データは平均値±標準偏差で示した．
NC＝not calculated，a＝媒体の組成は 0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース二水和物及び 0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1），b＝5 例．

2.6.5.4.5　　イヌ（9カ月）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統 試験番号 GLP適用	イヌ／ビーグル 4169-NC-132 適				イヌ／ビーグル 4169-NC-132 適			
性別（雄／雌）／動物数 給餌 媒体／投与形態 投与方法 投与量（mg/kg） 定量（対象）物質 定量法 試料	雄／6 非絶食 注射用水[a]／溶液 静脈内急速 0.2 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿				雌／6 非絶食 注射用水[a]／溶液 静脈内急速 0.2 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿			
	1日目	91日目	183日目	273日目	1日目	91日目	183日目	273日目
例数	6	6	3	3	6	6	3	3
PKパラメータ：								
C5min（ng/mL）	366±39.3	345±46.7	496±82.7	720±28.8	484±46.3	255±47.3	402±58.3	718±110
AUClast（ng·h/mL）	595±58.9	469±82.6	722±140	908±121	729±63.0	402±56.2	731±41.5	951±139
AUCinf（ng·h/mL）	621±64.1	514±89.8	782±179	965±139	757±67.1	448±67.0	768±42.9	1010±146
T1/2（h）	6.68±0.393	8.69±1.31	8.40±1.94	7.61±0.551	6.31±0.691	9.53±1.23	7.10±0.514	7.64±0.799
CTDにおける記載箇所	[4.2.3.2-8]				[4.2.3.2-8]			

データは平均値±標準偏差で示した.

a＝媒体の組成は0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース及び0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1）.

2.6.5.4.5　　イヌ（9カ月）（続き）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統 試験番号 GLP適用	イヌ／ビーグル 4169-NC-132 適				イヌ／ビーグル 4169-NC-132 適			
性別（雄／雌）／動物数 給餌 媒体／投与形態 投与方法 投与量（mg/kg） 定量（対象）物質 定量法 試料	雄／6 非絶食 注射用水[a]／溶液 静脈内急速 0.5 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿				雌／6 非絶食 注射用水[a]／溶液 静脈内急速 0.5 エテルカルセチド LC/MS/MS 血漿			
	1日目	91日目	183日目	273日目	1日目	91日目	183日目	273日目
例数	6	6	3	3	6	6	3	3
PKパラメータ：								
C5min（ng/mL）	1040±125	751±171	1330±75.1	2230±95.0	1270±186	544±88.3	1100±342	1990±34.6
AUClast（ng·h/mL）	1480±165	977±129	1880±203	2550±278	1920±238	895±99.0	1910±275	2320±120
AUCinf（ng·h/mL）	1540±174	1070±158	2020±219	2720±320	1990±257	967±117	2020±254	2410±135
T1/2（h）	6.68±0.543	8.86±1.56	8.83±0.685	8.59±0.491	6.43±0.419	7.99±0.803	7.19±0.802	6.87±0.280
CTDにおける記載箇所	[4.2.3.2-8]				[4.2.3.2-8]			

データは平均値±標準偏差で示した.

a＝媒体の組成は0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース及び0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1）.

2.6.5.4.5　　イヌ（9カ月）（続き）

被験物質：エテルカルセチド

動物種／系統	イヌ／ビーグル				イヌ／ビーグル			
試験番号	4169-NC-132				4169-NC-132			
GLP 適用	適				適			
性別（雄／雌）／動物数	雄／10				雌／10			
給餌	非絶食				非絶食			
媒体／投与形態	注射用水[a]／溶液				注射用水[a]／溶液			
投与方法	静脈内急速				静脈内急速			
投与量（mg/kg）	1.2/0.9[b]				1.2/0.9[b]			
定量（対象）物質	エテルカルセチド				エテルカルセチド			
定量法	LC/MS/MS				LC/MS/MS			
試料	血漿				血漿			
	1 日目	91 日目	183 日目	273 日目	1 日目	91 日目	183 日目	273 日目
例数	10	10	5	5	10	10	5	5
PK パラメータ：								
C5min（ng/mL）	2790±260	1680±297	2850±274	4000±682	3550±390	1440±329	2480±274	3800±338
AUClast（ng·h/mL）	4020±344	2340±395	4100±561	4720±695	4820±459	2400±613	3600±248	4330±388
AUCinf（ng·h/mL）	4220±378	2580±472	4420±677	5020±771	5030±503	2650±804	3800±246	4560±403
T1/2（h）	7.34±0.904	9.13±0.962	8.83±1.13	8.18±0.628	6.82±0.554	8.48±1.32	7.31±0.430	7.54±0.396
CTD における記載箇所	[4.2.3.2-8]				[4.2.3.2-8]			

データは平均値±標準偏差で示した．

a＝媒体の組成は 0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース及び 0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1），b＝最高投与量群では動物の状態悪化のため，雄は投与 25 日目，雌は投与 27 日目より投与量を 1.2 mg/kg から 0.9 mg/kg に減量した．

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［4.2.2.3-1］
試験番号：117581

動物種：	ラット
系統／性別（雄／雌）／動物数：	SD／雌雄各 10（各時点 1），Long-Evans／雄 16（各時点 1）
媒体／投与形態：	PBS／溶液
投与方法：	静脈内急速
投与量：	2.5 mg/kg，動物あたり約 35 μ Ci
放射性核種：	^{14}C
^{14}C 標識位置[a]：	Ac
定量（対象）物質／定量法：	66 組織を定量的全身オートラジオグラフィーで分析した．血液と血漿試料中の総放射能量を LSC で分析した．定量的全身オートラジオグラフィーの定量下限は 17.0 ng eq. [^{14}C]エテルカルセチド/g tissue であった．
計測時間：	SD：0.083，0.25，0.5，1，4，12，24，48，96，168 h Long-Evans：0.083，0.25，0.5，1，4，12，24，48，72，96，168，336，1008，1512，2016 h[b]

結果のまとめ：	(1) 放射能の血液／血漿中濃度比の平均は 0.66 であった． (2) 組織中放射能濃度，組織／血漿中濃度比，及び T1/2 の抜粋を下表に示した．曝露量は腎臓で最も高かった．[^{14}C]エテルカルセチド由来の放射能の曝露は軟骨（椎間軟骨，硝子軟骨，及び関節軟骨），骨端線，脾臓，骨髄，及びリンパ節でも高かった．脳，生殖組織，及びメラニン含有組織への分布は低かった．

a＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識，b＝投与後 3024 時間における分析を計画していたが，不要と判断して動物を安楽死させた．

2.6.5.5　　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	雄 SD ラット							
	0.083 h		1 h		48 h		168 h	
組織	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P
血漿	9710	NR	2350	NR	8.66	NR	3.47	NR
血液	5670	0.584	1350	0.577	6.44	0.744	2.77	0.799
大脳	124	0.0128	102	0.0434	ND	NA	ND	NA
小脳	125	0.0129	52.9	0.0225	ND	NA	ND	NA
脳下垂体	2260	0.233	784	0.334	155	17.9	63.0	18.2
脊髄	96.2	0.00991	40.2	0.0171	ND	NA	ND	NA
眼球	277	0.0285	243	0.103	19.7	2.27	BLQ	NA
ハーダー氏腺	2090	0.215	354	0.151	67.9	7.84	66.9	19.3
甲状腺	2670	0.275	977	0.416	147	17.0	106	30.5
胸腺	1040	0.107	334	0.142	97.0	11.2	56.2	16.2
肺	5410	0.557	1670	0.711	215	24.8	84.9	24.5
肝臓	1670	0.172	2190	0.932	2220	256	764	220
腎臓	19000	1.96	16900	7.19	25500	2940	10200	2940
腎髄質	17800	1.83	7040	3.00	6000	693	3270	942
腎皮質	19400	2.00	21800	9.28	34300	3960	15100	4350
副腎	1720	0.177	725	0.309	365	42.1	159	45.8
脾臓	1910	0.197	1440	0.613	948	109	467	135
膵臓	1840	0.189	607	0.258	87.3	10.1	46.9	13.5
白色脂肪	295	0.0304	98.9	0.0421	BLQ	NA	BLQ	NA

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	雄 SD ラット							
	0.083 h		1 h		48 h		168 h	
組織	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P
褐色脂肪	1680	0.173	344	0.146	70.0	8.08	38.2	11.0
筋肉	946	0.0974	277	0.118	26.2	3.03	BLQ	NA
骨	561	0.0578	639	0.272	46.4	5.36	ND	NA
骨端線	21600	2.22	51300	21.8	1010	117	294	84.7
硝子軟骨	17600	1.81	40000	17.0	1440	166	1210	349
椎間軟骨	9970	1.03	27800	11.8	846	97.7	293	84.4
関節軟骨	20800	2.14	27500	11.7	608	70.2	223	64.3
皮膚	3250	0.335	1480	0.630	147	17.0	26.9	7.75
骨髄	1490	0.153	826	0.351	719	83.0	470	135
リンパ節	3050	0.314	1500	0.638	705	81.4	317	91.4
動脈血管壁	8140	0.838	4440	1.89	99.8	11.5	43.1	12.4
精巣	628	0.0647	382	0.163	46.1	5.32	25.6	7.38
精巣上体	927	0.0955	736	0.313	98.7	11.4	43.6	12.6
精嚢	475	0.0489	202	0.0860	24.9	2.88	ND	NA
前立腺	1470	0.151	656	0.279	65.6	7.58	23.3	6.71
胃	4620	0.476	1580	0.672	108	12.5	49.5	14.3
小腸	3590	0.370	1250	0.532	151	17.4	60.2	17.3
大腸	5460	0.562	1220	0.519	221	25.5	88.1	25.4
膀胱	2440	0.251	2310	0.983	90.5	10.5	53.5	15.4

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	雌 SD ラット							
	0.083 h		1 h		48 h		168 h	
組織	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P
血漿	11500	NR	2160	NR	8.00	NR	4.55	NR
血液	6430	0.560	1220	0.568	5.38	0.672	3.28	0.721
大脳	107	0.00930	31.1	0.0144	ND	NA	ND	NA
小脳	141	0.0123	24.1	0.0112	ND	NA	ND	NA
脳下垂体	2740	0.238	821	0.380	92.1	11.5	103	22.6
脊髄	112	0.00974	44.3	0.0205	ND	NA	ND	NA
眼球	418	0.0363	185	0.0856	BLQ	NA	BLQ	NA
ハーダー氏腺	1780	0.155	423	0.196	66.6	8.32	22.1	4.86
甲状腺	3150	0.274	964	0.446	98.2	12.3	84.9	18.7
胸腺	1260	0.110	367	0.170	77.6	9.70	60.9	13.4
肺	6420	0.558	1780	0.824	158	19.8	81.9	18.0
肝臓	2220	0.193	2860	1.32	2090	261	1550	341
腎臓	23400	2.03	17000	7.87	17900	2240	15600	3430
腎髄質	22900	1.99	8890	4.12	4320	540	3460	760
腎皮質	23800	2.07	23800	11.0	27200	3400	24400	5360
副腎	2720	0.237	689	0.319	276	34.5	158	34.7
脾臓	2560	0.223	1480	0.685	742	92.8	649	143
膵臓	2020	0.176	453	0.210	57.2	7.15	51.6	11.3
白色脂肪	360	0.0313	131	0.0606	BLQ	NA	ND	NA

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	雌 SD ラット							
	0.083 h		1 h		48 h		168 h	
組織	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P
褐色脂肪	2150	0.187	510	0.236	45.4	5.68	49.1	10.8
筋肉	1080	0.0939	208	0.0963	BLQ	NA	ND	NA
骨	821	0.0714	434	0.201	ND	NA	ND	NA
骨端線	22000	1.91	34900	16.2	685	85.6	576	127
硝子軟骨	9280	0.807	11500	5.32	1620	203	1040	229
椎間軟骨	13900	1.21	21800	10.1	621	77.6	412	90.5
関節軟骨	5970	0.519	6450	2.99	305	38.1	290	63.7
皮膚	2130	0.185	1530	0.708	67.4	8.43	84.2	18.5
骨髄	2320	0.202	813	0.376	583	72.9	561	123
リンパ節	2070	0.180	1250	0.579	499	62.4	501	110
動脈血管壁	9030	0.785	3220	1.49	89.2	11.1	61.5	13.5
卵巣	3880	0.337	1300	0.602	139	17.4	185	40.7
子宮	7600	0.661	2390	1.11	126	15.8	123	27.0
胃	4060	0.353	2110	0.977	76.2	9.52	86.2	18.9
小腸	2770	0.241	937	0.434	77.9	9.74	97.9	21.5
大腸	4990	0.434	2010	0.931	214	26.8	111	24.4
膀胱	3060	0.266	1920	0.889	53.5	6.69	52.6	11.6

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	雄 Long-Evans ラット											
	0.083 h		1 h		48 h		168 h		1008 h		2016 h	
組織	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P
血漿	10600	NR	2170	NR	9.42	NR	4.78	NR	BLQ	NR	BLQ	NR
血液	5970	0.562	1270	0.586	6.84	0.726	3.98	0.833	BLQ	NA	BLQ	NA
大脳	116	0.0109	50.6	0.0233	ND	NA	ND	NA	ND	NA	ND	NA
小脳	104	0.00981	47.0	0.0217	ND	NA	ND	NA	ND	NA	ND	NA
脳下垂体	3190	0.301	1060	0.488	181	19.2	145	30.3	38.5	NA	ND	NA
脊髄	150	0.0142	36.8	0.0170	ND	NA	ND	NA	ND	NA	ND	NA
眼球	684	0.0645	312	0.144	53.7	5.70	36.3	7.59	22.3	NA	18.4	NA
ハーダー氏腺	1530	0.144	818	0.377	93.0	9.87	43.3	9.06	BLQ	NA	ND	NA
甲状腺	3490	0.329	983	0.453	168	17.8	134	28.0	59.5	NA	53.7	NA
胸腺	1460	0.138	372	0.171	110	11.7	99.1	20.7	40.1	NA	49.8	NA
肺	6370	0.601	1720	0.793	184	19.5	85.6	17.9	17.5	NA	ND	NA
肝臓	1930	0.182	2260	1.04	2000	212	1170	245	70.9	NA	ND	NA
腎臓	25000	2.36	18700	8.62	24600	2610	17700	3700	1400	NA	155	NA
腎髄質	25600	2.42	10300	4.75	6580	699	5330	1120	640	NA	151	NA
腎皮質	24700	2.33	27100	12.5	34900	3700	20600	4310	1560	NA	163	NA
副腎	2990	0.282	826	0.381	393	41.7	241	50.4	120	NA	90.8	NA
脾臓	2440	0.230	1250	0.576	1010	107	774	162	202	NA	176	NA
膵臓	2050	0.193	534	0.246	82.0	8.70	66.3	13.9	BLQ	NA	BLQ	NA
白色脂肪	413	0.0390	66.1	0.0305	BLQ	NA	ND	NA	ND	NA	ND	NA

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	雄 Long-Evans ラット											
	0.083 h		1 h		48 h		168 h		1008 h		2016 h	
組織	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P	T	T/P
褐色脂肪	2040	0.192	358	0.165	57.8	6.14	58.1	12.2	18.5	NA	ND	NA
筋肉	1200	0.113	241	0.111	20.3	2.15	ND	NA	ND	NA	ND	NA
骨	618	0.0583	634	0.292	25.2	2.68	ND	NA	ND	NA	ND	NA
骨端線	34900	3.29	44300	20.4	1010	107	524	110	124	NA	ND	NA
硝子軟骨	16400	1.55	30700	14.1	2910	309	539	113	1190	NA	532	NA
椎間軟骨	21600	2.04	36200	16.7	1020	108	592	124	229	NA	85.1	NA
関節軟骨	11700	1.10	9170	4.23	536	56.9	400	83.7	80.9	NA	ND	NA
白色皮膚	3650	0.344	1070	0.493	133	14.1	58.7	12.3	BLQ	NA	ND	NA
有色皮膚	3860	0.364	1330	0.613	106	11.3	99.8	20.9	BLQ	NA	ND	NA
骨髄	1850	0.175	856	0.394	901	95.6	1110	232	242	NA	69.3	NA
リンパ節	3050	0.288	1350	0.622	901	95.6	579	121	402	NA	43.7	NA
動脈血管壁	9980	0.942	4090	1.88	147	15.6	85.1	17.8	ND	NA	ND	NA
精巣	828	0.0781	487	0.224	57.5	6.10	40.8	8.54	18.8	NA	ND	NA
精巣上体	2340	0.221	1400	0.645	129	13.7	73.2	15.3	BLQ	NA	ND	NA
精嚢	468	0.0442	232	0.107	26.1	2.77	ND	NA	ND	NA	ND	NA
前立腺	1580	0.149	481	0.222	61.9	6.57	35.9	7.51	BLQ	NA	ND	NA
胃	4690	0.442	1930	0.889	107	11.4	91.5	19.1	23.4	NA	BLQ	NA
小腸	2890	0.273	905	0.417	141	15.0	137	28.7	34.9	NA	32.1	NA
大腸	5530	0.522	1960	0.903	196	20.8	125	26.2	BLQ	NA	ND	NA
膀胱	3040	0.287	2090	0.963	81.3	8.63	95.8	20.0	38.6	NA	ND	NA

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5　　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

組織	PKパラメータ					
	雄／SDラット		雌／SDラット		雄／Long-Evansラット	
	Tmax（h）	T1/2（h）	Tmax（h）	T1/2（h）	Tmax（h）	T1/2（h）
血漿	0.083	86.2 [a]	0.083	143 [a]	0.083	142 [a]
血液	0.083	99.3 [a]	0.083	161 [a]	0.083	181 [a]
大脳	0.083	NC	0.083	0.506 [a]	0.5	0.277 [a]
小脳	0.083	2.24 [a]	0.083	0.512 [a]	0.5	0.295 [a]
脳下垂体	0.083	110 [a]	0.083	539 [a]	0.083	461
脊髄	0.083	2.02 [a]	0.083	2.17 [a]	0.083	7.87 [a]
眼球	0.25	48.5 [a]	0.083	7.61	0.083	521 [a]
ハーダー氏腺	0.083	1327 [a]	0.083	76.7 [a]	0.083	NC
甲状腺	0.083	260 [a]	0.083	73.1 [a]	0.083	8584 [a]
胸腺	0.083	152 [a]	0.083	331 [a]	0.083	NC
肺	0.083	90.3 [a]	0.083	108 [a]	0.083	359
肝臓	12	84.4 [a]	12	NC	12	231
腎臓	24	90.9 [a]	12	313 [a]	12	283
腎髄質	0.083	94.3 [a]	0.083	NC	0.083	563
腎皮質	24	92.7 [a]	12	730 [a]	12	250
副腎	0.25	101 [a]	0.083	134 [a]	0.083	1316 [a]
脾臓	0.083	115 [a]	0.083	117 [a]	0.083	NC
膵臓	0.083	133 [a]	0.083	203 [a]	0.083	NC
白色脂肪	0.083	NC	0.083	1.45	0.083	4.07

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	PKパラメータ					
	雄／SDラット		雌／SDラット		雄／Long-Evansラット	
組織	Tmax（h）	T1/2（h）	Tmax（h）	T1/2（h）	Tmax（h）	T1/2（h）
褐色脂肪	0.083	131 [a]	0.083	111 [a]	0.083	482 [a]
筋肉	0.083	123 [a]	0.083	150 [a]	0.083	NC
骨	1	NC	0.083	5.74	0.5	145 [a]
骨端線	0.5	73.0 [a]	0.5	457 [a]	0.5	403
硝子軟骨	1	76.2 [a]	12	57.7 [a]	0.5	868 [a]
椎間軟骨	0.5	78.9 [a]	0.5	208 [a]	0.5	706 [a]
関節軟骨	0.25	83.8 [a]	0.5	NC	0.25	369
白色皮膚	0.083	48.4	0.25	NC	0.083	181 [a]
有色皮膚	NR	NR	NR	NR	0.083	196 [a]
骨髄	0.083	194 [a]	0.083	228 [a]	0.083	559 [a]
リンパ節	0.083	101 [a]	0.25	215 [a]	0.083	468
動脈血管壁	0.083	98.8 [a]	0.083	111 [a]	0.083	224 [a]
精巣	0.25	150 [a]	NA	NA	0.083	726 [a]
精巣上体	0.25	102 [a]	NA	NA	0.083	107
精嚢	0.083	NC	NA	NA	0.083	NC
前立腺	0.083	81.6 [a]	NA	NA	0.083	197 [a]
卵巣	NA	NA	0.083	NC	NA	NA
子宮	NA	NA	0.083	92.5 [a]	NA	NA
胃	0.083	105 [a]	0.083	NC	0.083	649

補足説明は組織分布試験の最終ページに示した.

2.6.5.5　　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

	PK パラメータ					
	雄／SD ラット		雌／SD ラット		雄／Long-Evans ラット	
組織	Tmax（h）	T1/2（h）	Tmax（h）	T1/2（h）	Tmax（h）	T1/2（h）
小腸	0.083	91.5 [a]	0.083	NC	0.083	702
大腸	0.083	84.8 [a]	0.083	NC	0.083	372 [a]
膀胱	0.25	131 [a]	0.083	224 [a]	0.083	685 [a]

T＝組織中濃度（ng eq. [^{14}C]エテルカルセチド/g），P＝液体シンチレーションカウンターで計測した血漿中 ^{14}C 濃度（ng eq. [^{14}C]エテルカルセチド/g），T/P＝組織／血漿中放射能濃度比，BLQ＝定量下限未満（＜17.0 ng eq. [^{14}C]エテルカルセチド/g），ND＝not detected（試料形状がバックグラウンドや周辺組織から識別できなかった），NA＝not applicable（組織が切片に存在しなかった），NC＝not calculated，NR＝not reportable，a＝消失相の評価に十分な組織採取時点が得られなかったため参考値として記載した．

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

被験物質：エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［4.2.2.3-2］
試験番号：119313

実験系：	*In vitro*
試験系：	ラット，イヌ及びヒト（健康成人，CKD）血液
方法：	エテルカルセチドを血液中で 37℃，4 時間インキュベーションした．血漿を採取し，限外濾過法にて非共有結合様式の血漿蛋白結合を評価した．分析には LC/MS/MS を用いた．
GLP 適用：	不適

濃度	Fu			
	ラット	イヌ	ヒト（健康成人）	ヒト（CKD）
50 ng/mL	0.72±0.022	0.70±0.033	0.48±0.12	NR
1000 ng/mL	0.75±0.31	0.69±0.015	0.58±0.082	0.56±0.012
10000 ng/mL	0.84±0.028	0.61±0.027	0.56±0.013	0.63±0.085
上記 3 濃度における Fu の平均値	0.77	0.67	0.53	0.59

データは平均値±標準偏差で示した．
Fu＝非結合型分率，NR＝not reportable：非結合型分率が 1.34±0.10 と生物学的にありえない数値であった．
追記：（1）エテルカルセチドは血漿蛋白（主に血清アルブミン）と共有結合する．詳細は 2.6.5.10 に示した．

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

被験物質：エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［4.2.3.5.3-1］
試験番号：116847

胎盤移行性

動物種／系統：	ラット／SD
GLP 適用	適
給餌	非絶食
妊娠日数／動物数：	妊娠 21 日／各群 4
媒体／投与形態：	注射用水[a]／溶液
投与方法：	静脈内急速（妊娠 7～21 日にエテルカルセチドを 1 日 1 回，計 15 回投与）
投与量（mg/kg）：	0.75，1.5，3
定量（対象）物質：	エテルカルセチド
定量法：	LC/MS/MS
試料：	血漿

投与量（mg/kg）	妊娠 21 日		
	母体血漿中濃度（ng/mL）	胎児血漿中濃度（ng/mL）	胎児／母体（%）
0.75	234±43.4	6.76±2.10	2.99±1.22
1.5[b]	487±141	13.5±2.03	2.86±0.462
3[b]	928±61.4	22.3±4.02	2.39±0.290

データは平均値±標準偏差で示した．胎児血漿はそれぞれの母体毎にプールした．
a＝0.27%コハク酸二ナトリウム六水和物，2%D-マンニトール，1%グリシン，1%トレハロース二水和物，0.9%ベンジルアルコール，（pH4.5±0.1），b＝3 例（妊娠していないラットを除外した）．

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［4.2.2.5-1］
試験番号：Y[redacted]AG004

乳汁排泄

動物種／系統：	ラット／SD
GLP 適用	不適
授乳期間／動物数：	11 日／3
給餌：	非絶食
媒体／投与形態：	PBS／溶液
投与方法：	静脈内急速
投与量（mg/kg）：	2.5
^{14}C 標識位置 [a]：	Ac
比放射能（MBq/mg）	1.6
定量（対象）物質／定量法：	^{14}C／LSC

試料	放射能濃度（ng eq./mL）				
	1 h	8 h	24 h	48 h	72 h
乳汁	275±311	450±39	21.3±8.3	8.67±0.84	7.80±3.00
血漿	1330±240	176±99	20.7±7.4	6.37±1.92	4.19±3.65 [b]
乳汁／血漿	0.20±0.21	3.31±2.20	1.06±0.36	1.44±0.41	1.43 [c]

データは平均値±標準偏差で示した．
a＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識，b＝1 例において放射能濃度が検出されなかったため，ゼロとして計算した．c＝2 例の平均値．

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.1 血球移行

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［4.2.2.3-3］
試験番号：118358

実験系：	*In vitro*
試験系：	ラット及びヒト（健康成人，CKD）血液
方法：	[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを各種プール血液に添加し，37℃で 4 時間インキュベーションした．血液及び血漿中放射能濃度を測定することにより，血液／血漿中濃度比を評価した．
GLP 適用：	不適
比放射能：	28.2 mCi/mmol
^{14}C 標識位置 [a]：	Ac
定量（対象）物質／定量法：	^{14}C／LSC

濃度	血液／血漿中濃度比		
	ラット	ヒト（健康成人）	ヒト（CKD）
0.1 μ mol/L	0.51	0.50	0.69
1 μ mol/L	0.54	0.54	0.66
10 μ mol/L	0.52	0.56	0.64

追記：[^{14}C]エテルカルセチド由来放射能の血球移行は *in vitro*（［4.2.2.3-3］，［5.3.2.3-1］）及び *in vivo*（［4.2.2.2-1］，［4.2.2.3-1］）で血液／血漿中濃度比として評価した．すべての試験において血液／血漿中濃度比は 1 未満であった．
a＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識．

2.6.5.9 薬物動態試験：*In vivo* における代謝

動物種	ラット	ラット	ラット	ヒト
系統又は民族	SD 系	SD 系	SD 系	アフリカ系アメリカ人 5 人，白人 1 人
腎機能	正常	正常	両腎摘	CKD で血液透析を受けている
性別（雄／雌又は男性／女性）／数	BDC：雄／4，雌／4 正常：雄／10，雌／4	雄／8	雄／6	男性／3，女性／3
給餌又は食事	非絶食	非絶食	非絶食	非絶食
被験物質	[^{14}C]エテルカルセチド	[^{14}C]エテルカルセチド	[^{14}C]エテルカルセチド	[^{14}C]エテルカルセチド塩酸塩
溶媒／投与形態	PBS／溶液	PBS／溶液	PBS／溶液	0.85%食塩/10 mmol/L コハク酸溶液／溶液
投与方法	急速静脈内	急速静脈内	急速静脈内	血液透析後に急速静脈内
投与量／投与放射能量	1.84-2.5 mg/kg／25-50 μ Ci	2.5 mg/kg／38 μ Ci	2.5 mg/kg／50 μ Ci	エテルカルセチドとして 10 mg／0.75 μ Ci
^{14}C 標識位置 [a]	Ac	Ala	Ac	Ac
測定（対象）物質／定量法／構造解析法	^{14}C/LSC, LC-FC-^{14}C/Topcount, HRMS	^{14}C/LSC, LC-FC-^{14}C/Topcount, HRMS	^{14}C/LSC, LC-FC-^{14}C/Topcount, HRMS	^{14}C/AMS, LC-FC-^{14}C/AMS，HRMS
GLP 適用	不適	不適	不適	不適
試験番号	118436	118436	118436	20130147
CTD における記載箇所	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]	[5.3.3.2-2]

補足説明は次ページに示した.

2.6.5.9　　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

動物種	ラット（雄）	ラット（雄，BDC）	ラット（雌，BDC）	ラット（雄，両腎摘）	ヒト		
試料	血漿	尿	尿	血漿	血漿	透析液	尿
計測時間又は期間	0～24 h	0～72 h	0～72 h	0～48 h	0～68 h	約 68～72 h [c]	0～240 h
試料中の投与量に対する%	NA	83.8	76.6	NA	NA	NA	1.8
化合物 [b]	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of dose)	(% of dose)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)
エテルカルセチド	34.5	36.8	34.9	24.3	17.4	48.0	22.3
SAPC	42.3	ND	ND	18.7	72.9	ND	ND
M1	4.3	8.13	8.72	17.8	ND	10.3 [d]	5.5 [d]
M2a	ND	5.23	4.31	ND	ND	ND	4.1
M3，M2b	ND	11.4	10.6	ND	ND	ND	4.0 [e]
M10	10.8	1.63	0.89	19.9	0.5	2.1	ND
M11	2.0	＜0.1	＜0.1	5.8	ND	ND	ND
Total M11	NR	NR	NR	NR	83.8	77.8	67.4

群毎にプールした試料を分析した．

AMS＝加速器質量分析，BDC＝胆管カニュレーション処置，FC＝fraction collection，HRMS＝高分解能質量分析，LC＝液体クロマトグラフィー，TCEP＝tris(2-carboxyethyl)phosphine（ジスルフィド結合還元薬），NA＝not applicable，ND＝not detected，NR＝not reportable，TopCount＝マイクロプレートシンチレーションカウンター，a＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識，Ala：D-システインに隣接する D-アラニンを ^{14}C 標識，b＝他のすべての生体内変換物質は血漿中放射能の 6%未満又は尿中に排泄された放射能の 5%未満であった．c＝投与後最初の血液透析で得られた透析液，d＝M13 と共溶出した．e＝M3，M2b 及び M29 の合計．M2b と M29 は共溶出した．

追記：（1）^{14}C の血液／血漿中濃度比は 1 未満であった．（2）生体内変換プロファイルは 2 種の ^{14}C ラベル体間で類似していたため，Ac の結果のみ示した．（3）糞（ラット，両腎摘ラット及びヒト：<5% of dose）と胆汁（ラット：<1% of dose）は放射能が低かったため分析しなかった（2.6.5.13）．（4）ラット血漿及び尿試料を TCEP を用いて還元処理したところ，放射能の大部分が Total M11 として検出された．（5）生体内変換物質の構造は 2.6.5.11 に示した．

2.6.5.10 薬物動態試験：*In vitro* における代謝

2.6.5.10.1 生体試料中での代謝物組成

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［4.2.2.3-3］
試験番号：118358

^{14}C 標識位置[a]：	Ac，Ala
測定（対象）物質／定量法，構造解析法：	^{14}C／LC-^{14}C-HRMS
GLP 適用：	不適

試料	血液／血漿[b]		肝細胞		肝 S9		腎 S9	
動物種	ラット	ヒト[e]	ラット	ヒト[e]	ラット	ヒト[e]	ラット	ヒト[e]
基質濃度（μmol/L）	5	5	10	10	10	10	10	10
化合物	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)	(% of ^{14}C chromatogram)
エテルカルセチド	11.7	14.1	12.9	35.1	16.3	72.7	75.4	45.3
SAPC	58.9	71.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
M1	5.6	1.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M10	14.2	1.1	68.9	30.3	74.0	ND	3.8	ND
M11	2.3	1.2	ND	ND	ND	3.6	ND	20.7
M12	1.6	1.7	15.8	26.1	1.2	ND	3.8	3.8
M13	1.4	3.9	ND	2.6	ND	ND	ND	ND
M14	1.9[d]	ND	ND	0.5	3.2	6.6	ND	3.1
M15	–[d]	1.5	ND	2.9	ND	ND	ND	ND
M16	ND	ND	2.4	1.1	ND	ND	ND	ND
M28	1.6	1.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
その他[c]	0.9	1.9	ND	ND	5.3	4.1	14.8	20.3

補足説明は次ページに示した.

2.6.5.10.1　　生体試料中での代謝物組成（続き）

生体内変換プロファイルは2種の ^{14}C ラベル体間で類似していたため，[^{14}C]Ac-エテルカルセチドの結果のみを示した．

HRMS＝高分解能質量分析，LC＝液体クロマトグラフィー，NA＝not applicable，ND＝not detected，TCEP＝tris(2-carboxyethyl)phosphine（ジスルフィド結合還元薬），Lys-C＝リジルエンドプロテイナーゼ，SDS-PAGE＝ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動，a＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識，Ala：D-システインに隣接する D-アラニンを ^{14}C 標識，b＝血液中でインキュベーションし，得られた血漿を直接分析した．c＝それぞれの生体試料内変換生成物は試験系中の 1%未満であった．d＝M14 と M15 が共溶出した．e＝健康成人：CKD 患者での血液中変換と類似していた．

追記：（1）^{14}C の血液／血漿中濃度比は 1 未満であった．（2）ラット及びヒトの血漿，肝及び腎試料を TCEP を用いて還元処理したところ，放射能の大部分が Total M11 として検出された．（3）生体内変換物質の構造は 2.6.5.11 に示した．（4）SAPC を評価するため，[^{14}C]Ala-エテルカルセチド（200 μ mol/L）をヒト血液中でインキュベーションし，SAPC を直接 LC-^{14}C-HRMS で分析した．あわせて，SAPC をアフィニティーゲルクロマトグラフィーで分離したのち，SDS-PAGE 及び Lys-C 消化に供した．PAGE のゲルはクマーシーブルー染色したのち ^{14}C イメージングに供し，Lys-C 消化物は LC-^{14}C-HRMS で分析した．エテルカルセチドは血清アルブミンと 1：1 のモル比でジスルフィド結合していた．アルブミンの 34 位のシステイン残基が SAPC の結合部位として唯一認められた．

2.6.5.10.2 肝細胞画分中での安定性

被験物質：エテルカルセチド酢酸塩
CTD における記載箇所：［4.2.2.4-1］
試験番号：4169-NC-119

実験系：	*In vitro*
試験系：	ラット，イヌ，ヒト肝サイトゾール，S9 及びミクロソーム画分
方法：	エテルカルセチド酢酸塩（エテルカルセチドとして 182 ng/mL）を各細胞画分（1.8 mg protein/mL）及び NADPH 生成系存在下で 37℃，60 分インキュベーションし，エテルカルセチドを LC/MS/MS で定量した．熱処理により不活性化させた各細胞画分で反応させた試料を対照試料とした．
GLP 適用：	不適

動物種	試料	エテルカルセチド濃度（ng/mL）		エテルカルセチド残存率，熱処理なし／あり（%）
		熱処理なし	熱処理あり	
ラット	肝ミクロソーム	139	139	100
	肝 S9	51	69	74
	肝サイトゾール	49	69	84
イヌ	肝ミクロソーム	137	143	95
	肝 S9	113	127	88
	肝サイトゾール	195	207	94
ヒト	肝ミクロソーム	179	171	104
	肝 S9	130	152	85
	肝サイトゾール	70	72	96

データは 2 例の平均値で示した．エテルカルセチド残存率は，対照試料（熱処理によって不活化した各肝由来試料）におけるエテルカルセチド残存濃度を 100%として算出した．

2.6.5.10.3 生体内変換へのチトクロム P450 の関与

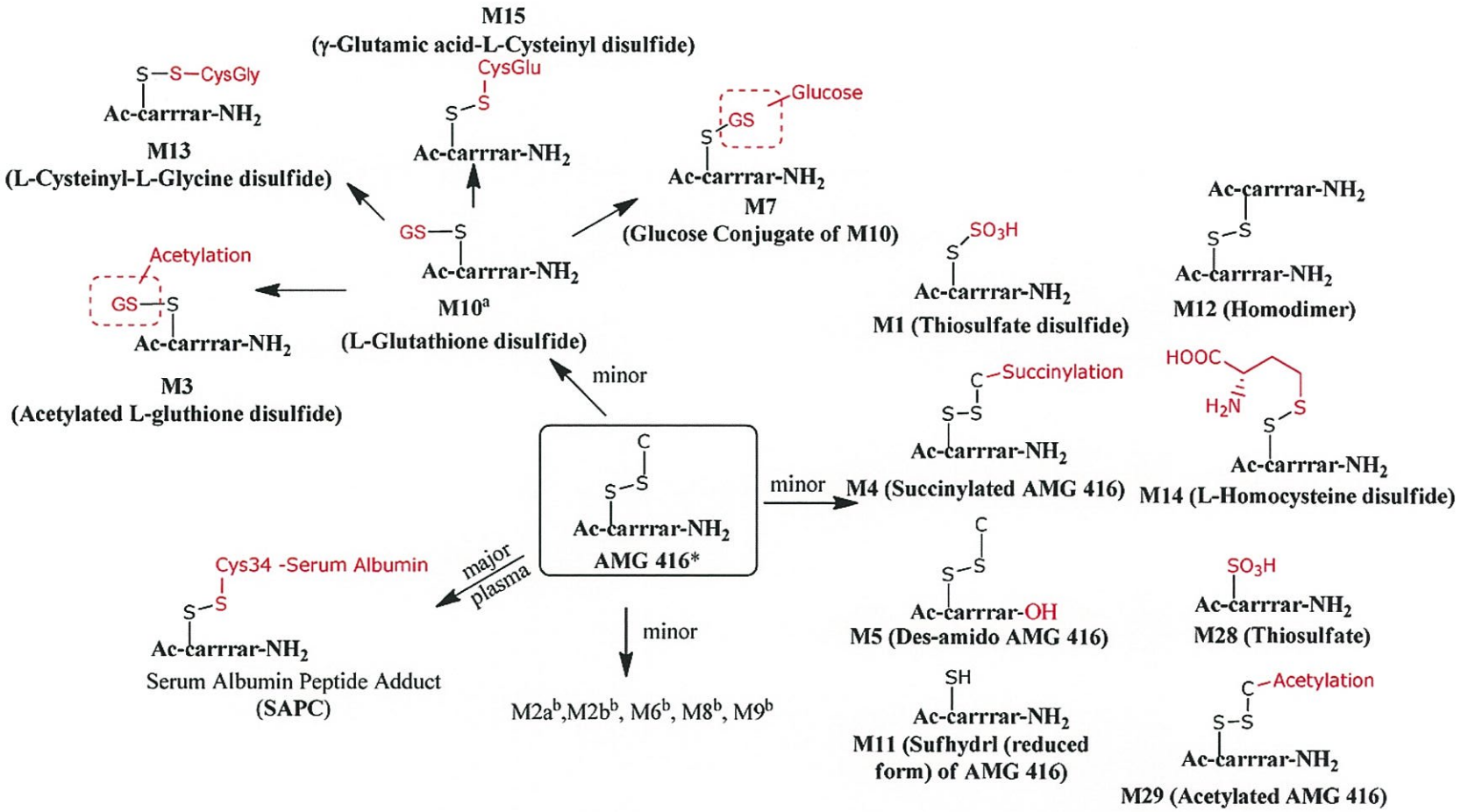
被験物質：エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［5.3.2.2-1］
試験番号：119917

実験系：	*In vitro*
試験系：	ヒト肝 S9 及びミクロソーム画分
方法：	エテルカルセチド（5 μmol/L）をヒト肝細胞画分中（1 mg protein/mL）で 37℃，60 分インキュベーション後，エテルカルセチドを LC/MS/MS で定量した．NADPH（1 mmol/L）及びギ酸（0.5 及び 1%）の有無，CYP 阻害剤である ABT（5 mmol/L）とのプレインキュベーションの有無の影響を検討し，生体内変換への CYP の関与を評価した．
GLP 適用：	不適

反応条件	プレインキュベーション (15 min)	エテルカルセチド残存率（%）	
		肝ミクロソーム	肝 S9
＋NADPH	なし	44.1	24.2
－NADPH	なし	40.8	32.0
＋ABT，＋NADPH	あり	46.1	18.4
－ABT，＋NADPH	あり	49.9	19.0
＋ギ酸（0.5%）	なし	92.9	94.9
＋ギ酸（1%）	なし	96.0	90.5

データは 2 例の平均値で示した．エテルカルセチド残存率は対照試料（反応時間 0 分試料）におけるエテルカルセチド残存濃度を 100%として算出した．
＋＝存在下，－＝非存在下，ABT＝1-aminobenzotriazole.

2.6.5.11　　薬物動態試験：推定代謝経路



*AMG 416＝エテルカルセチド，GS＝L-グルタチオン，minor＝5% of ^{14}C dose 未満（尿）又は 5% of ^{14}C chromatogram 未満（血漿），a＝標品を用いて，構造同定した．b＝D-アミノ酸ペプチド体を保持した生体内変換物質であるが，構造の詳細は未確定である．

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 ヒト CYP に対する可逆的阻害

被験物質：エテルカルセチド塩酸塩
CTD における記載箇所：［5.3.2.2-3］
試験番号：4169-NC-124

実験系：	*In vitro*
試験系：	ヒト肝ミクロソーム
方法：	エテルカルセチド塩酸塩（エテルカルセチドとして 0.2，1 及び 5 μg/mL）をヒト肝ミクロソーム（0.5 mg protein/mL）及び NADPH 生成系存在下，CYP 分子種特異的基質と 37℃で 30 分インキュベーションした．各基質の代謝物を LC/MS/MS で定量した．
GLP 適用：	適

CYP 分子種	マーカー反応	基質濃度（μmol/L）	%Control		
			エテルカルセチド濃度（μg/mL）		
			0.2	1	5
CYP1A2	Phenacetin *O*-deethylation	150	100	103	105
CYP2A6	Coumarin 7-hydroxylation	2	99	101	101
CYP2B6	Bupropion hydroxylation	150	112	109	114
CYP2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylation	20	99	102	97
CYP2C9	Tolbutamide methyl-hydroxylation	100	95	97	110
CYP2C19	(*S*)-Mephenytoin 4′-hydroxylation	35	96	106	103
CYP2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	10	100	101	104
CYP2E1	Chlorzoxazone 6-hydroxylation	150	99	100	97
CYP3A4	Testosterone 6β-hydroxylation	75	91	88	117

%Control＝エテルカルセチド塩酸塩添加時の活性値／エテルカルセチド塩酸塩非添加時の活性値×100

2.6.5.12.2　ヒト CYP に対する時間依存的阻害

被験物質：エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［5.3.2.2-4］
試験番号：119314

実験系：	*In vitro*
試験系：	ヒト肝ミクロソーム
方法：	ヒト肝ミクロソーム（1 mg protein/mL）をエテルカルセチド（5 μmol/L）存在下及び非存在下，NADPH（1 mmol/L）存在下及び非存在下で 30 分プレインキュベーションした．反応液を 10 倍希釈し，NADPH（1 mmol/L）存在下で CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 又は CYP3A 特異的な基質とインキュベーションした．各基質の代謝物を LC/MS/MS で定量した．
GLP 適用：	不適

CYP 分子種	マーカー反応	基質濃度（μmol/L）	反応時間（min）	阻害率（%）
CYP1A2	Phenacetin *O*-deethylation	300	20	＜10
CYP2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylation	40	20	＜10
CYP2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	100	10	＜10
CYP2C19	(*S*)-Mephenytoin 4′-hydroxylation	50	20	＜10
CYP2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	30	10	＜10
CYP3A	Midazolam 1′-hydroxylation	20	5	＜10

阻害率（%）＝［1－｛（エテルカルセチド添加，NADPH 添加時のピークエリア比／エテルカルセチド非添加，NADPH 添加時のピークエリア比）／（エテルカルセチド添加，NADPH 非添加時のピークエリア比／エテルカルセチド非添加，NADPH 非添加時のピークエリア比）｝］×100

2.6.5.12.3 CYP 誘導

被験物質：エテルカルセチド塩酸塩
CTD における記載箇所：［5.3.2.2-5］
試験番号：4169-NC-125

実験系：	*In vitro*
試験系：	ヒト肝細胞
方法：	ヒト肝細胞（3 ロット）をエテルカルセチド塩酸塩含有培地で 3 日間処理した．培地は毎日交換した．エテルカルセチド濃度は，1 日目は 0.2，1 及び 5μg/mL，それ以降は 0.4，2 及び 10μg/mL とした．処理後の肝細胞を CYP1A2，CYP2B6 又は CYP3A4 の典型的な基質とインキュベーションし，得られた代謝物を LC/MS/MS で定量した．CYP 分子種及びロットごとに一元配置分散分析で解析し，有意差が認められた場合にエテルカルセチド塩酸塩処理群と溶媒対照群を Dunnet 検定で解析した．Dunnet 検定で有意差が認められた群で相対誘導能を算出した．
GLP 適用：	適

分子種	肝細胞のロット	誘導倍率（%）				相対誘導能（%）			一元配置分散分析の p 値
		エテルカルセチド濃度（μg/mL）			陽性対照	エテルカルセチド濃度（μg/mL）			
		0.2/0.4	1/2	5/10		0.2/0.4	1/2	5/10	
CYP1A2	Hu4161	112	124	130 *	1683	0.7	1.4	1.7	0.0415
	Hu4198	48 *	61	78	1745	−5.4	−4.0	−2.3	0.0278
	Hu4227	105	97	98	214	NC	NC	NC	0.863
CYP2B6	Hu4161	98	101	106	365	NC	NC	NC	0.545
	Hu4198	67	69	88	262	NC	NC	NC	0.0940
	Hu4227	101	104	109	359	NC	NC	NC	0.863
CYP3A4	Hu4161	96	102	105	1203	NC	NC	NC	0.513
	Hu4198	94	107	96	4055	NC	NC	NC	0.793
	Hu4227	81	70*	89	2409	−1.0	−1.7	−0.6	0.0196

データは 3 例の平均値より算出した．
NC＝Dunnet 検定で有意差が認められなかったため算出しなかった．*＝p≦0.05（溶媒対照に対する Dunnet 検定）．
誘導倍率（%）＝溶媒対照に対する比×100
相対誘導能（%）＝（エテルカルセチド塩酸塩処理細胞における酵素活性－溶媒対照における酵素活性）／（陽性対照における酵素活性－溶媒対照における酵素活性）×100

2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄

動物種／系統	ラット／SD	ラット／SD	ラット／SD	ラット／SD
腎機能	正常	正常	正常	両腎摘
性別（雄／雌）／動物数	雄／4（BDC）	雌／4（BDC）	雄／4（BDC）	雄／6
給餌	非絶食	非絶食	非絶食	非絶食
溶媒／投与形態	PBS／溶液	PBS／溶液	PBS／溶液	PBS／溶液
投与方法	静脈内急速	静脈内急速	静脈内急速	静脈内急速
投与量（mg/kg）／投与放射能量（μCi）	1.84／約 25	1.84／約 25	2.5／約 38	2.5／約 50
被験物質	[^{14}C]エテルカルセチド	[^{14}C]エテルカルセチド	[^{14}C]エテルカルセチド	[^{14}C]エテルカルセチド
^{14}C 標識位置 [a]	Ac	Ac	Ala	Ac
定量（対象）物質／定量法	^{14}C／LSC	^{14}C／LSC	^{14}C／LSC	^{14}C／LSC
計測時間	0～72 h	0～72 h	0～72 h	0～48 h
GLP 適用	不適	不適	不適	不適
	累積回収率（% of dose）			
尿	83.8±4.13	76.6±5.94	77.3±7.91	NA
胆汁	0.52±0.34	0.28±0.09	0.64±0.62	NA
糞	1.34±0.69	3.90±2.77	3.79±1.98	1.20±0.57
呼気	NA	NA	NA	NA
ケージ洗浄液	2.13±0.11	2.30±0.81	2.30±1.09	0.03±0.02
透析液	NA	NA	NA	NA
消化管	NA	NA	NA	10.9±2.76
合計	87.7±4.47	83.1±4.79	84.1±9.32	12.1±2.45
試験番号	118436	118436	118436	118436
CTD における記載箇所	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]

データは平均値±標準偏差で示した.
BDC＝胆管カニュレーション処置，NA＝not applicable，a＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識，Ala：D-システインに隣接する D-アラニンを ^{14}C 標識.

2.6.5.13　　累積排泄（続き）

動物種／系統又は民族	ラット／SD	ラット／SD	ヒト／アフリカ系アメリカ人 5 人，白人 1 人
腎機能	正常	正常	CKD
性別（雄／雌又は男性／女性）／数	雄／1	雄／1	男性／3，女性／3
給餌又は食事	非絶食	非絶食	非絶食
溶媒／投与形態	PBS／溶液	PBS／溶液	PBS／溶液
投与方法	静脈内急速	静脈内急速	血液透析後に静脈内急速
投与量（mg/kg）／投与放射能量（μCi）	2.5／約 50	2.5／約 38	10 mg／0.75
被験物質	[^{14}C]エデルカルセチド	[^{14}C]エデルカルセチド	[^{14}C]エデルカルセチド塩酸塩
^{14}C 標識位置 [c]	Ac	Ala	Ac
定量（対象）物質／定量法	^{14}C／LSC	^{14}C／LSC	^{14}C／AMS
計測時間	0～24 h	0～24 h	0～175 days
GLP 適用	不適	不適	不適
	累積回収率（% of dose）[a]		推定累積回収率（% of dose）[b]
尿	NA	NA	3.2
胆汁	NA	NA	NA
糞	NA	NA	4.5
呼気	0.19	0.03	NA
ケージ洗浄液	NA	NA	NA
透析液	NA	NA	59.6
合計	0.19	0.03	67.2
試験番号	118436	118436	20130147
CTD における記載箇所	[4.2.2.2-1]	[4.2.2.2-1]	[5.3.3.2-2]

AMS＝加速器質量分析，NA＝not applicable，a＝1 例の値，b＝実測値（6 例の平均）と推定値（4 例の平均）の合計，c＝Ac：D-システインに隣接するアセチル基を ^{14}C 標識，Ala：D-システインに隣接する D-アラニンを ^{14}C 標識.

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

2.6.5.13 に示した.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

本項のほか，2.6.5.12 に示した．

2.6.5.15.1 トランスポーターに対する基質性

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［5.3.2.3-1］
試験番号：118052

実験系：	*In vitro*
試験系：	LLC-PK1 細胞 ヒト P-gp 発現 LLC-PK1 細胞，ヒト BCRP 発現 MDCK Ⅱ 細胞 OAT1，OAT3，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，PEPT1 及び PEPT2 発現 HEK293 細胞
方法：	[^{14}C]Ac-エテルカルセチド（5 μ mol/L）を LLC-PK1 細胞の頂端膜側に添加して，基底膜側への透過性を評価した．放射能は LSC で分析した． [^{14}C]Ac-エテルカルセチド（1～20 μ mol/L）をヒト P-gp 発現 LLC-PK1 細胞とインキュベーションした．双方向性の経細胞輸送試験より P-gp に対する基質性を評価した．放射能は LSC で分析した． [^{14}C]Ac-エテルカルセチド（5 μ mol/L）をヒト BCRP 発現 MDCK Ⅱ 細胞とインキュベーションした．双方向性の経細胞輸送試験より BCRP に対する基質性を評価した．放射能は LSC で分析した． [^{14}C]Ac-エテルカルセチド（10 μ mol/L）を OAT1，OAT3，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，PEPT1 及び PEPT2 発現 HEK293 細胞と 5 又は 30 分インキュベーションした．細胞内取り込み試験より，各トランスポーターに対する基質性を評価した．放射能は LSC で分析した．
GLP 適用：	不適

結果：LLC-PK1 細胞（頂端膜側→基底膜側）における[^{14}C]Ac-エテルカルセチドの透過係数は 0.6×10^{-6} cm/s であった．
[^{14}C]Ac-エテルカルセチドは経細胞輸送及び細胞内取り込みされなかったことから，エテルカルセチドはこれらトランスポーターの基質ではなかった．

2.6.5.15.2 トランスポーターに対する阻害作用

被験物質：エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［5.3.2.3-1］
試験番号：118052

実験系：	*In vitro*
試験系：	ヒト P-gp 発現 LLC-PK1 細胞，ヒト BCRP 発現 MDCK II 細胞， OAT1，OAT3，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT2 発現 HEK293 細胞
方法：	エテルカルセチド（0.01～50 μmol/L）をヒト P-gp 発現 LLC-PK1 細胞及びヒト BCRP 発現 MDCK II 細胞とインキュベーションした．典型的基質を用いて P-gp 及び BCRP に対するエテルカルセチドの阻害作用を評価した．放射能は LSC で分析した． エテルカルセチド（0.1～50 μmol/L）を OAT1，OAT3，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT2 発現 HEK293 細胞とインキュベーションした．典型的基質を用いて各トランスポーターに対するエテルカルセチドの阻害作用を評価した．放射能は LSC で分析した．
GLP 適用：	不適

結果：いずれのトランスポーターに対しても，エテルカルセチドは 50 μmol/L まで阻害作用を示さなかった．

2.6.5.15.3 BSEP 阻害

被験物質：エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［5.3.2.3-2］
試験番号：119513

実験系：	*In vitro*
試験系：	ヒト BSEP 発現膜ベシクル
方法：	エテルカルセチド（0～133 μmol/L）を[^{3}H]タウロコール酸及びヒト BSEP 発現膜ベシクルとインキュベーションした．膜ベシクルに取り込まれた放射能を LSC で分析した．
GLP 適用：	不適

結果：ヒト BSEP に対して，エテルカルセチドは 133 μmol/L まで阻害作用を示さなかった．

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

2.6.5.16.1 ウシ血液での *in vitro* 透析

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［4.2.2.7-1］
試験番号：119413

実験系：	*In vitro*
試験系：	ウシ血液，透析液
目的：	以下のクリアランスを求めることを目的とした：（a）血液を含まない場合の固有透析クリアランス，（b）血液に[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加した直後の[^{14}C]Ac-エテルカルセチド由来物質の血液透析クリアランス，（c）血液中での生体内変換が定常状態になったのちの[^{14}C]Ac-エテルカルセチド由来物質の血液透析クリアランス
方法：	閉ループの *in vitro* 血液透析装置を用い，3 種の検討を実施した．血液透析装置は，2 台の蠕動ポンプを 2 個のチャンバー及び臨床で使用されている透析カートリッジと透析チューブで接続して作成した．ポンプをそれぞれ独立に作動させ，血液又は透析液を血液側（チャンバーA）及び透析液側（チャンバーB）から送り込み，それぞれ逆方向に透析チューブを流して透析した．反応開始後 0～120 分にチャンバーA 及び B から液を採取した．LSC で ^{14}C を分析し，LC/MS/MS でエテルカルセチドとビタミン B_{12} を分析した．クレアチニンと尿素は比色分析法で定量した．以下の 3 種の試験を実施した． （a）チャンバーA に透析液と[^{14}C]Ac エテルカルセチドを添加し，直ちに血液透析を開始した．クレアチニン，尿素，ビタミン B_{12} を併せて陽性対照として添加した． （b）チャンバーA にウシ血液と[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加し，直ちに血液透析を開始した．クレアチニン，尿素，ビタミン B_{12} を併せて陽性対照として添加した． （c）チャンバーA にウシ血液と[^{14}C]Ac-エテルカルセチドを添加し，37℃で 3 時間インキュベーションした後，血液透析を開始した．
GLP 適用：	不適

2.6.5.16.1　　ウシ血液での *in vitro* 透析（続き）

被験物質：[^{14}C]エテルカルセチド

チャンバーA に添加した試料	プレインキュベーション	測定対象	CL_{HD} (mL/min)	15 分間の血液透析除去率（%）	抽出率（%）
透析液	なし	総放射能	37	70	74
		エテルカルセチド	57	73	114
		クレアチニン	50	72	100
		尿素	47	76	94
		ビタミン B_{12}	45	74	90
ウシ血液	なし	総放射能	21	59	42
		エテルカルセチド	20	57	40
		クレアチニン	31	60	62
		尿素	30	62	60
		ビタミン B_{12}	27	56	54
ウシ血液	あり	総放射能	8	23	16
		エテルカルセチド	NC	NC	NC

血液透析クリアランス CL_{HD}＝（透析開始直後の総量）／（血液チャンバー中測定対象の AUCinf）
血液透析除去率（%）＝｛（透析開始直後の総量）－（透析開始後 15 分の総量）｝／（透析開始直後の総量）×100
抽出率（%）＝CL_{HD}／Q_B（50 mL/min，血液チャンバーにおける流速）×100
クレアチニン，尿素，ビタミン B_{12}＝血液透析の陽性対照，NC＝not calculated.

2.6.5.16.2 生体内変換の可逆性

被験物質：エテルカルセチド
CTD における記載箇所：［5.3.2.2-2］
試験番号：119414

実験系：	*In vitro*
試験系：	健康成人血液
目的：	エテルカルセチド又は SAPC をヒト血液中でインキュベーションしたときの生体内変換を速度論的に解析した.
方法：	エテルカルセチド（5 μ mol/L）又は SAPC（2.5 μ mol/L）を 37℃でインキュベーションし，反応開始後 0～6 時間に血液を採取した．血液より血漿を調製し，エテルカルセチド，M10，M11，M12，M13，Total M11 及び $SA_{21-41}PC$ を定量した．生体内変換物質の構造は 2.6.5.11 に示した．生体内変換の速度定数を推定するために，以下の 2 種の速度論モデルにデータを当てはめた. モデル 1： エテルカルセチドから SAPC を生成する反応及びその逆反応の速度定数を推定した．エテルカルセチドから SAPC 以外の生体内変換物質を生成する反応及びその逆反応の速度定数を併せて推定した. モデル 2： エテルカルセチドから，SAPC を含むすべての生体内変換物質を生成する反応及びその逆反応の速度定数を推定した.
GLP 適用：	不適

結果：	エテルカルセチドの 90%は生体内変換された．ほとんどのジスルフィド置換は反応開始後 3 時間までに起こり，M10～M13 及び SAPC を生成した．反応開始後 3 時間以降での主要な生成物は SAPC であり，エテルカルセチド由来生成物の 60%を占めた．M10～M13 は最初の採取時点では認められたが，3 時間以後では合わせてもエテルカルセチド由来生成物の約 10%程度であった．M10～M13 それぞれでは量が少なく，信頼できる速度定数を算出できなかった．定量した化合物の合計は，反応開始後 1 時間で Total M11 の約 90%，6 時間で約 77%を占めた. SAPC はジスルフィド置換反応を受け，エテルカルセチド及び M10～M13 を生成した．SAPC の生体内変換速度はエテルカルセチドより遅かった．ほとんどのジスルフィド置換反応は反応開始後 3 時間までに起こった．反応開始後 3 時間以降は SAPC の約 12%が生体内変換を受けた．エテルカルセチドが主要な生成物で，SAPC の約 3%であった．M10～M13 は少なく，合わせて SAPC の約 8%であった. モデル 1 では，エテルカルセチドから SAPC を生成する速度定数はその逆反応の 18.5 倍と推定され，モデルは実測値をよく反映していた．エテルカルセチドから SAPC を除く生体内変換物質を生成する反応の速度定数はその逆反応の 2.1 倍と推定された．モデル 2 では，エテルカルセチドからすべての生体内変換物質を生成する反応の速度定数はその逆反応の 10.6 倍と推定された.

$SA_{21-41}PC$＝SAPC をトリプシン処理して得たペプチド，TCEP＝tris(2-carboxyethyl)phosphine，Total M11＝D-アミノ酸骨格を有するエテルカルセチド由来生成物すべての測定値.